

Cyclosporine A에 의한 신장기능의 변화

고신대학 의학부 생리학교실

정인권, 박양생

Renal Functional Changes by Cyclosporine A

In Kwon Jung, M.D., Yang Saeng Park, Ph.D.

*Department of Physiology,
Kosin Medical College, Pusan 602-030, Korea*

= Abstract =

Changes in the renal function were studied in rats (Sprague-Dawley) treated with cyclosporine A (CsA), an immunosuppressive agent, to elucidate the mechanism of CsA-induced nephrotoxicity. Animals were subcutaneously injected with CsA (Sandimmun, Sandoz, Basel, Switzerland) at a dose of 25mg/kg·day for 4 weeks. Renal functions were tested at 1-week intervals and compared with those observed in control animals (saline-treated). The results are summarized as below.

1. CsA treatment for 4 weeks resulted in a significant elevation of the plasma creatinine, urea and K^+ concentrations and osmolality with no significant change in the Na^+ level.

2. The daily urine volume was significantly increased and the urine osmolality was decreased after 3 weeks of CsA treatment.

3. The urinary excretion of creatinine decreased drastically during the first 2 weeks of CsA treatment, and then remained unchanged during the rest of treatment period. The creatinine clearance determined at the end of 4-week treatment of CsA appeared to be 60% lower than that in the control.

4. The urinary excretions of Na^+ , K^+ , urea and the total osmotic substances decreased significantly after 1-week treatment of CsA, but they returned to the control level thereafter.

5. The fractional excretions of water, Na^+ , K^+ , urea and the

total osmotic substances determined at the end of 4-week treatment of CsA were significantly higher than the control level.

6. The free water reabsorption and renal medullary Na^+ and urea contents appeared to be significantly reduced by 3-4 weeks of CsA treatment.

7. Injection of Pitressin to CsA-treated rats did not restore urine concentration ability.

8. The renal cortical tissue oxygen consumption was significantly reduced, but the active transport capacity of -aminohippurate was not altered in CsA-treated animals.

It is concluded from these results that CsA treatment in rats attenuates glomerular filtration rate and impairs the Na^+ pump system in the ascending Henle's loop, and the latter effect leads to a urinary concentrating defect and polyuria.

서 론

Cyclosporine은 11개의 아미노산으로 구성된 고리형의 지용성 polypeptide이다⁵⁸⁾. 특히 cyclosporine A(CsA)는 cyclosporine B, C 및 D와 달리 신장, 골수, 피부, 심장, 췌장 및 폐 등의 장기이식 후 개체의 자기-비자기 식별(self-nonself discrimination)에 의한 거부반응을 억제시킴으로써 동종이식조직(allograft, allogeneic transplant)의 생존을 연장시키는데 사용되는 유효한 면역억제제이다.^{4,16)} CsA는 임파구에 선택적으로 작용하여 interleukin 2 및 T-cell성장인자를 포함한 lymphokine의 생성을 억제하며^{44,59)} phagocytosis 기능에는 영향을 미치지 않음으로 다른 면역억제제와는 달리 병원균감염의 유발이 적은 것으로 알려져 있다^{22,40)}.

CsA는 1974년경에 개발되어 1978년경부터 임상적으로 사용되어 왔으나 신독성(nephrotoxicity)이 있는 것으로 밝혀져 최근 이에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. CsA에 의한 부작용은 신독성 이외에도 고혈압²⁴⁾, 간기능장애^{2,20)}, 경련^{24,34)}, 고 K^+ 혈증(hyperkalemia)

^{1,16)}, 세소동맥병변(arteriolopathy)^{28,29)} 등이 있으나 가장 심각한 것은 신독성인 것으로 알려져 있다^{28,30,54)}. von Willebrand 및 Häyry⁵⁵⁾는 신장이식을 한 환자에게 CsA를 적은 용량으로 처치하였을 때 약 80%의 경우 신독성이 나타남을 보고한 바 있다. 동물실험결과에 의하면 사람에서 보다 그 정도가 약하기는 하지만 쥐에서도 사람에서 관찰된 것과 유사한 CsA의 신독성이 발생하며, 원숭이, 개, 토끼 및 생쥐는 CsA에 대한 감수성이 적으므로³⁶⁾, CsA 독성기전을 연구하기 위한 실험모델로 일반적으로 쥐가 사용되고 있다^{27,37)}. 체내에 투여된 CsA는 약 5% 정도가 요를 통해 배출되며³⁸⁾, 신장을 통한 CsA의 제거율은 사구체 여과율의 1% 이내인 것으로⁵⁾ 보고되어 있다. 이러한 사실은 사구체를 통해 여과되는 CsA량이 아주 적거나⁵⁾ 여과된 후 신장조직에 고농도로 축적됨을 의미하는데, 실제 면역형광법과 면역과산화효소법(immunoperoxidase method)으로 CsA가 근위세뇨관세포에 축적되는 것이 확인된 바 있지만⁵⁵⁾ 세포내의 어떤 미세구조에 주로 축적되는지는 아직 밝혀지지 않았다³⁸⁾.

환자 및 동물실험에서 관찰된 바에 의하면 CsA신독성은 다음과 같은 특징을 가지고 있다. 즉, 신피질조직에 간질성섬유증식증(interstitial fibrosis)발생^{27, 28, 29)}, 세뇨관의 위축(atrophy)^{28, 37)}, 세뇨관주위 모세혈관울혈(peritubular capillary congestion)^{28, 29)}, 근위세뇨관세포의 형태적변화, 즉 미토콘드리아의 비대(giant mitochondria)^{27, 28, 29)}, 공포 형성(isometric vacuolization)^{14, 27, 28, 29, 52)}, 봉입체(inclusion body)의 출현^{27, 28, 53)} 및 미세석회화(microcalcification)^{26, 53)}, 혈장내 creatinine, 요소, 요산, 포도당 및 K⁺농도의 증가와 Ca²⁺, Mg²⁺의 농도감소^{1, 7, 12, 13, 16, 21, 27, 48, 54)} 및 단백질 농도의 증가¹⁵⁾, 요중 Ca²⁺배설의 증가^{5, 16, 27)}, Na⁺, K⁺, 요소 배설 및 요삼투질농도와 요량의 감소^{5, 16, 27, 42, 48, 49)}, 산성뇨^{5, 27)} 등이 보고되어 있다.

이러한 사실들은 CsA에 의하여 신장에 형태학적변화 뿐만 아니라 여러가지 기능적저해가 초래됨을 나타내는데, 그 기전은 아직 명확히 밝혀진 바 없다. 따라서 본 연구에서는 실험모델로 쥐를 사용하여 CsA처치에 의한 신장의 전해질 및 유기물배설과 요농축능의 변화를 계통적으로 연구하였다.

실험재료 및 방법

실험재료로 체중 250~300 g의 웅성백서(Sprague-Dawley)를 사용하였는데, 대조군과 실험군으로 나누어 사육하면서 실험군에게는 매일 체중 kg당 25 또는 50mg의 CsA(Sandimmun, Sandoz, Basel, Switzerland)를 피하주사하였으며 대조군에게는 동량의 식염수를 주사하였다. 일주일 간격으로 각군의 동물들을 metabolic cage에 수용하면서 24시간뇨를 채취하였는데, 채뇨기간 동안에는 물과 사료를 먹이지 않았다. 요의 증발을 방지하기 위하여 채뇨용 메스실린더 내에 mineral oil를 소량 넣어 oil막을 형성하게 하였다. 요채취가 끝나면 요량을 측정한 후 시료중의 creatinine 농도(Wako Technical Bulletin No. 271-1059,

Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Japan), 단백질 농도(Bio-Rad, U.S.A.), 요소농도(Sigma Technical Bulletin No. 640, St. Louis, Mo, U.S.A.), Na⁺ 및 K⁺ 농도(Radiometer Flame Photometer FLM3, Copenhagen, Denmark) 그리고 삼투질농도(Advanced Osmometer Model 3D2, Needham Heights, Massachusetts, U.S.A.) 등을 각기 측정된 후 이들 물질의 요중배설량을 산출하였다.

4주간의 약물처치기간이 끝난 후에는 동물을 희생하여 심장으로부터 혈액을 채취하여 혈장을 분리한 후 혈장내 creatinine, 전해질 및 삼투질 농도를 측정하였으며, 신장을 적출하여 피질조직의 산소소모능 및 유기산운반능을 조사하였으며, 피질과 수질조직내 Na⁺, K⁺ 및 요소농도를 측정하였다.

신피질조직의 산소소모능은 다음과 같이 측정하였다. 즉 Stadie-Riggs microtome을 이용하여 제작한 조직절편 30~50mg을 37℃에서 대기중의 산소로 포화된 incubation용액(95mM NaCl, 40mM KCl, 1.5mM CaCl₂, 5mM Na-acetate, 40 mM Tris-HCl, 25℃에서 pH 7.5) 3ml 내에 넣고 incubation하면서 용액 내 산소분압(PO₂)의 감소를 Clark Oxygen Electrode를 이용하여 YSI Oxygen Monitor (Model 53, Yellow Springs Instrument Co., Yellow Springs, OH, U.S.A.)로 측정하여 산소소모량을 산출하였다.

신피질조직의 유기산축적능은 p-aminohippurate(PAH)를 기질로 하여 Cross 및 Taggart법⁹⁾에 따라 측정하였다. 즉, 0.5mm두께의 피질절편을 0.1~1.0mM농도로 PAH를 포함하는 incubation 용액(95 mM NaCl, 40 mM KCl, 1.5 mM CaCl₂, 5mM Na-acetate, 40mM Tris-HCl, 25℃에서 pH 7.5)내에 넣고 25℃에서 100% 산소공급하에 15분동안 incubation 한 후 조직절편과 용액내의 PAH 농도를 각기 Smith 등⁴³⁾의 방법으로 측정한 후 능동적으로 이동된 양을 산출하여 Hofstee분석²²⁾

을 시행하였다.

신장조직내 Na^+ , K^+ 및 요소함량은 다음과 같이 측정하였다. 동물에서 신장을 적출한 후 어떤 용액에도 담그지 않고 그대로 Stadie-Riggs microtome을 사용하여 0.5mm 두께로 자른 다음 피질, 외측수질 및 내측수질로 분리하였다. 다음, 조직절편을 여과지위에 놓고 표면의 수분을 모두 제거하여 무게를 측정한 후 3ml의 증류수에 넣고 2일동안 냉소에 보관하면서 조직내의 용질을 용액중으로 빼냈다(leach out). 이 용액내의 Na^+ , K^+ 및 요소농도를 측정한 후 이로부터 조직내 함량을 산출하였다.

실험치는 모두 평균치±표준오차로 나타내었으며 실험군간의 차에 대한 유의성검정에는 student's t-test(unpaired comparison)법을 사용하였다.

결 과

체중변화 : 먼저 cyclosporine A(CsA)에 의한 신장기능변화를 연구하는데 적당한 약물주입량을 찾기 위하여 실험군을 2군으로 나누어 각기 CsA를 25 또는 50mg/kg·day의 용량으로 매일 피하주사하면서 동물의 상태 및 신장기능을 관찰하였다.

제1도는 약물처치 기간중의 체중변화를 나타낸다. 대조군(식염수 처치군)에서는 4주간의 실험기간중 1주일에 약 8%씩 지속적으로 체중이 증가하였으나 CsA처치군에서는 처음 1주간 동안에 8% 이상 급격히 감소하였으며,

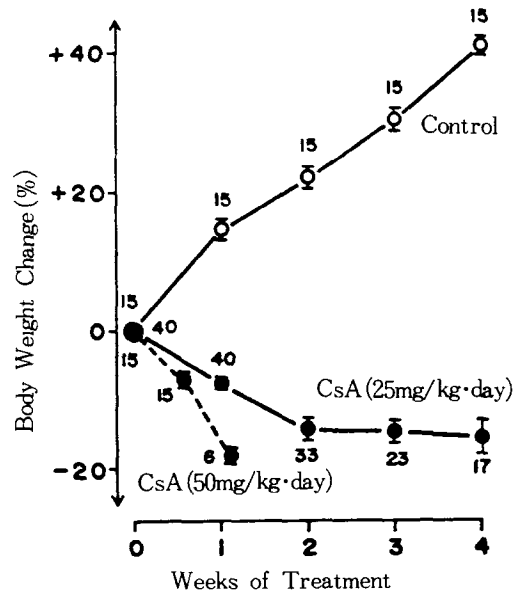


Fig. 1. Changes in body weight

The figure by each data point represents number of animals and the vertical bar represents $\pm$ SE

그 감소정도는 약물주입용량에 비례하였다. 이 기간 동안에 동물의 활동성은 현저히 둔화되었으며, CsA 50mg/kg·day 처치군에서는 생존율이 40% 이하였다. CsA를 25mg/kg·day 처치군에서는 2주후까지 체중감소가 계속되다가 그 이후에는 변화가 없었으며, 생존율이 2주까지는 83%, 3주까지는 58%, 그리고 4주까지는 43%로 나타났다.

이러한 결과를 기초로 하여 이후의 실험에서는 CsA처치용량을 25mg/kg·day로 고정하고 각종 신장기능의 변화를 조사하였다.

Table 1. Plasma Concentrations of Creatinine (Pcr), Urea (Purea), Na^+ (P_{Na^+}), K^+ (P_{K^+}) and Osmotic Substances(Posm)

	Control	CsA	P
Pcr (mg/l)	6.0 $\pm$ 0.5 (11)	9.4 $\pm$ 1.2 (7)	<0.01
Purea (m moles/l)	7.3 $\pm$ 0.4 (7)	12.4 $\pm$ 0.7 (10)	<0.01
P_{Na^+} (mEq/l)	145 $\pm$ 1 (6)	147 $\pm$ 1 (7)	NS
P_{K^+} (mEq/l)	4.3 $\pm$ 0.1 (6)	5.2 $\pm$ 0.2 (7)	<0.01
Posm (mOsm/kg H ₂ O)	306 $\pm$ 1 (6)	317 $\pm$ 1 (7)	<0.01

Data represent mean $\pm$ SE in each group at the end of 4-week treatment of CsA (25mg/kg·day) or saline(Control). () Number of determinations

혈장내 전해질 및 유기물 농도 : 제1표는 4주간 CsA(25mg/kg·day) 처치후 측정된 혈장내 creatinine, 요소, Na^+ , K^+ 및 삼투질농도를 대조군의 성적과 비교한 것이다. CsA군의 creatinine, 요소, K^+ 및 삼투질농도는 대조군에 비하여 유의있게 높았으나 Na^+ 농도는 양군 간에 큰 차이가 없었다. 이러한 성적은 타 연구자들^{1,3,19,54)}에 의하여 관찰된 CsA의 영향과 대체적으로 유사하다.

신장기능 : 제2도는 CsA(25mg/kg·day)처치가 요중으로의 creatinine 배설에 미치는 영향을 보여준다. Creatinine 배설량은 CsA처치 1주후에 이미 유의있게 감소하였으며, 3~4주후에는 대조군에 비해 약 40% 정도 낮았다. 뿐만 아니라 혈장내 creatinine농도는 다소 증가했으므로(제1표) creatinine의 제거율(Ccr)이 CsA 처치로 감소되었을 것으로 생각되는

데, 처치 4주후에 산출된 Ccr은 CsA군(2.64 l/kg·day)이 대조군(6.14 l/kg·day)에 비해 60% 정도 낮았다(제2표). 이러한 사실은 CsA처치로 사구체여과율이 심하게 감소되었음을 나타낸다.

제3도는 CsA(25mg/kg·day)처치 후 요배설량 및 요삼투질농도의 변화를 보여준다. CsA처치 2주까지는 요량이 대조군과 유사하였으나 3주후에는 대조군보다 유의있게(50% 이상) 증가하여 뚜렷한 다뇨증(polyuria) 현상을 나타내었다(제3도 A). 반면에 요삼투질농도는 CsA처치로 낮아져서 3~4주 후에는 대조군의 50~60%수준을 보였다(제3도 B). 전술

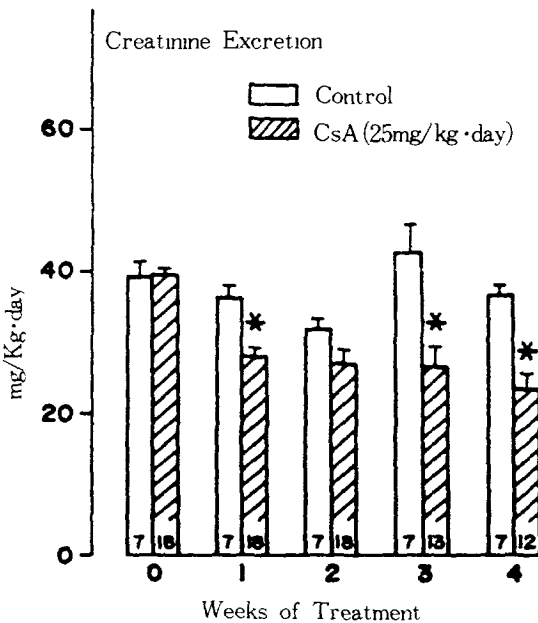


Fig. 2. Urinary excretion of creatinine

The figure inside each column represents number of determinations and the vertical bar represents 1 SE

*significantly different from the control group ($P < 0.05$)

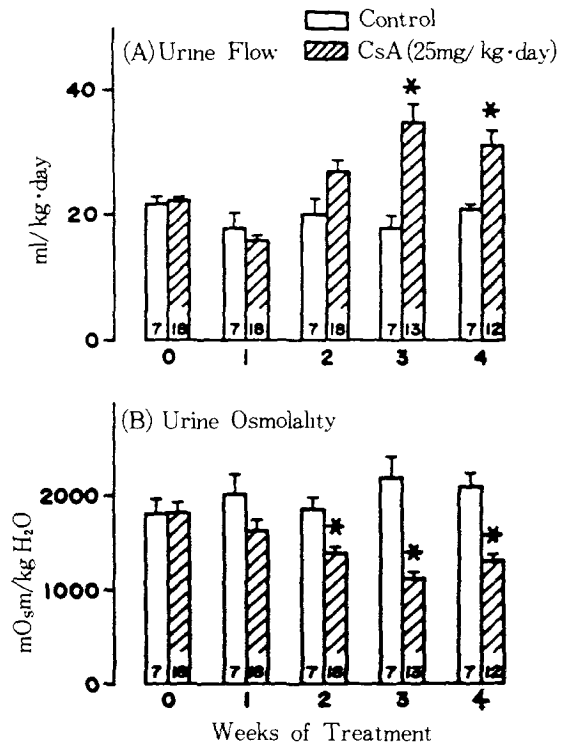


Fig. 3. Daily urine flow(A) and urine osmolality(B)

The figure inside each column represents number of determinations and the vertical bar represents 1 SE

*significantly different from the control group ($P < 0.05$)

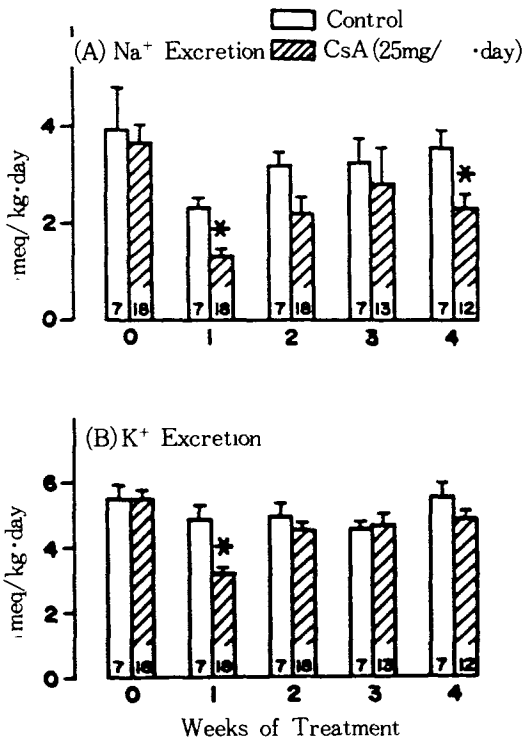


Fig. 4. Urinary excretions of Na⁺(A) and K⁺(B)

The figure inside each column represents number of determinations and the vertical bar represents 1 SE.

*significantly different from the control group(P<0.05)

한 바와 같이 사구체여과율은 CsA 처치로 감소되었으므로 요량과 요삼투질농도의 이러한 변화는 사구체기능의 변화에 기인한다고는 할 수 없으며, 따라서 신세뇨관의 액체 재흡수가 CsA에 의해 감소됨을 나타낸다고 하겠다.

제4도는 Na⁺ 및 K⁺ 배설량을 나타내는데, Na⁺의 경우 CsA 처치 1주후에 현저히 감소된 후 대조군의 수준까지 회복되다가 4주후에는 다시 다소 감소되었다. K⁺의 경우에도 1주후에는 의의있게 감소되었으나 그 후 회복되어 대조군과 차가 없었다. 제5도에서 보는 바와 같이 요소 및 총삼투질배설량 역시 K⁺의 경우와 유사하게 CsA 처치 1주후에 의의있게 감소되다가 2주후에는 대조군의 수준으로 복귀

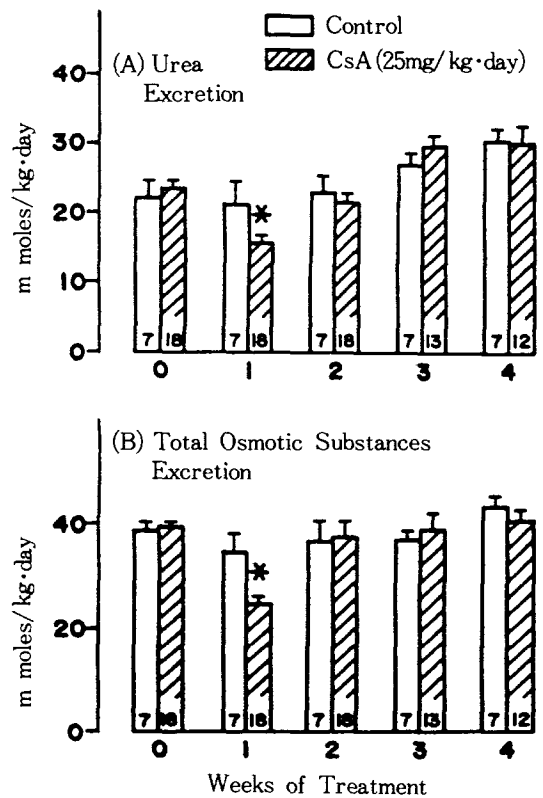


Fig. 5. Urinary excretions of urea(A) and the total osmotic substances(B)

The figure inside each column represents number of determinations and the vertical bar represents 1 SE

*significantly different from the control group(P<0.05)

되었다. 전체적으로 볼 때 용질배설량은 CsA 처치 1주후에는 약 30% 정도 감소되지만 2주후에는 원상태로 회복되는 것으로 나타났다.

제2표는 약물처치 4주후에 측정된 요량 및 각종 물질의 제거율로부터 산출된 fractional excretion(FE)을 나타내는데, CsA군이 대조군에 비해 물 및 Na⁺, K⁺, 요소, 삼투질 등 용질의 fractional excretion이 모두 의의있게 높았다. 이러한 사실은 CsA처치 후반부에 있어서 요중으로 배설되는 이들 물질의 절대량은 대조군과 차이가 없더라도(제4 및 5도)여과된 후 배설되는 비율은 대조군에서 보다 큼

Table 2. Creatinine Clearance(Ccr) and Fractional Excretions of Water (FE_{H_2O}), Na^+ (FE_{Na^+}), K^+ (FE_{K^+}), Urea(FE_{urea}) and Osmotic Substances(FE_{osm})

	Control (N=7)	CsA (N=12)	P
Ccr (1/kg·day)	6.14 ± 0.26	2.64 ± 0.21	<0.01
FE_{H_2O} (%)	0.35 ± 0.02	1.27 ± 0.12	<0.01
FE_{Na^+} (%)	0.40 ± 0.04	0.60 ± 0.07	<0.05
FE_{K^+} (%)	20.8 ± 1.3	37.8 ± 3.9	<0.01
FE_{urea} (%)	60.5 ± 2.8	94.3 ± 9.1	<0.05
FE_{osm} (%)	2.32 ± 0.07	5.18 ± 0.48	<0.01

Data represent mean ± SE in each group at the end of 4-week treatment of CsA(25mg/kg day) or saline(Control)

을 의미하며, 따라서 세뇨관에서의 이들 물질의 재흡수가 CsA 처리로 감소되었음을 알 수 있다.

제2표에서 볼 수 있는 또 한가지 중요한 사실은 CsA 처리에 의해 총삼투질의 fractional excretion은 120% 증가한 반면 물의 fractional excretion은 260%가 증가한 점이다. 이러한 사실은 CsA 처리에 의해 신세뇨관의 물의 재흡수가 용질 재흡수 보다 더 심하게 억제되었음을 의미하며, 따라서 전술한 다뇨증 및 삼투질농도의 감소현상(제3도)는 주로 수분성 이뇨(water diuresis)때문이라고 하겠다.

제6도는 요중 단백질배설량의 변화를 나타내는데, CsA처리 1주 후에 60% 정도 심하게 감소된 후 CsA처리 기간중 회복되지 않고 그대로 유지되었다.

신장조직내 Na^+ , K^+ 및 요소농도 : CsA에 의한 요농축능의 감소기전을 연구하기 위하여 4주간의 약물처치가 끝난 후 동물을 희생하여 신피질과 수질조직내 Na^+ , K^+ 및 요소함량을 조사하였다. 제3표에 요약된 바와 같이 피질(cortex)과 외측수질(outer medulla)에서는 이들 물질의 농도가 양군간에 차가 없었으나 내측수질(inner medulla)에서는 CsA군이 대조군에 비해 Na^+ 농도는 약 20%, 그리고 요소농도는 약 40%가 낮았다. 이러한 사실은 free water 재흡수의 원동력이 되는 피질-수질 간의 삼투질농도경사(cortico-medullary osmotic

gradient)가 CsA에 의해 낮아짐을 의미한다.

Pitressin 처치시 요농축능 : CsA에 의한 요삼투질농도의 감소가 뇌하수체 후엽의 항이뇨호르몬(antidiuretic hormone, ADH)분비 저해를 통해 2차적으로 일어날 가능성이 있으므로 이 점을 규명하기 위해 약 5주간의 약물처리 후 ADH(Pitressin tannate-in-oil, Parke Davis & Co.)를 0.7unit씩 각 동물에 주사한 후 요농축능을 조사하였다. 제4표에 요약한 바와같이 대조군에서는 요삼투질농도(U_{osm})가 약 2800 mOsm/kg H_2O 였으나 CsA군에서는 1800 mOsm/kg H_2O 로 대조군의 64%에 불과하였다. 반면에 요배설량(V)은 CsA군(약 20ml/kg·day)이 대조군(약 11ml/kg·day)에 비해 80% 이상 많았다. 이러한 성적은 CsA에 의한 요농축능의 감소가 ADH분비가 저해되어 나타나는 것이 아님을 시사한다.

신피질조직의 산소소모능 : CsA의 급성신중독시 근위세뇨관세포의 거대한 미토콘드리아(giant mitochondria)가 출현하여^{27, 28, 29} 미토콘드리아내 효소가 감소된다고 보고되어 있다⁵³. 따라서 본 연구에서는 이러한 변화가 근위세뇨관세포의 유기성 대사작용(aerobic metabolism)에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위하여 CsA를 50mg/kg·day용량으로 8일간 처리한 쥐로부터 신피질조직을 분리하여 조직의 산소소모율을 조사하였는데, 제5표에 요약된 바와같이 CsA군의 조직산소소모율(QO_2)이

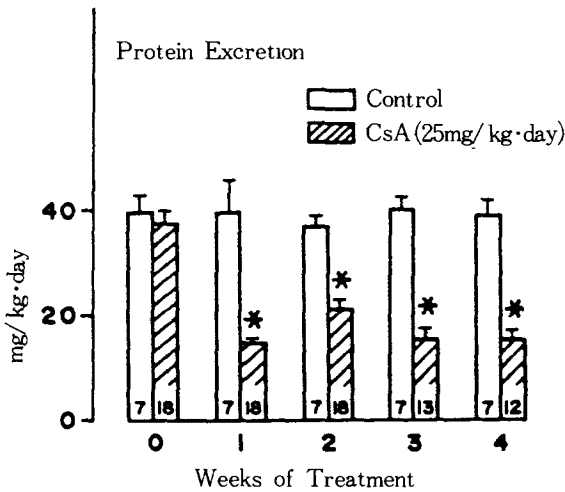


Fig. 6. Urinary excretion of protein

The figure inside each column represents number of determinations and the vertical bar represents 1 SE.

*significantly different from the control group ($P < 0.05$)

대조군에 비해 약 20% 정도 낮았다.

신피질 조직의 *p*-aminohippurate 축적능 :

CsA의 급성신중독이 근위세뇨관의 능동적 유기산분비에 미치는 영향을 조사하기 위하여 CsA를 50mg/kg·day 용량으로 8일간 주입받은 동물의 신피질절편에서 *p*-aminohippurate

(PAH)의 influx를 동력학적으로 분석하였다. 제6표는 대조군과 CsA군에서 얻는 동력학적 상수(kinetic constant)를 요약한 것인데, V_{max} 및 K_m 이 모두 양 군간에 차이가 없게 나타났다. 이러한 사실은 CsA가 신장의 유기 음이온 이동계(organic anion transport system)에는 직접적인 영향을 미치지 않음을 시사한다.

고 찰

사구체여과율 : 본 연구에서 관찰된 뚜렷한 현상 중의 하나는 CsA에 의하여 사구체여과율이 심하게 감소되는 점이다. CsA를 25mg/kg·day 용량으로 4주간 처치한 쥐에서 측정된 24시간 creatinine 제거율(Ccr)은 대조군에 비해 평균 60%가 낮았는데 (제2표), 이는 사구체여과율이 60% 이상 감소되었음을 의미한다. CsA처치 1~3주 사이에는 Ccr을 측정하지 못했으나 요중 creatinine 배설량이 감소된 점(제2도)으로 미루어보아 이 기간 동안에도 사구체여과율이 감소되었을 것으로 추측된다. CsA군에서 혈장내 creatinine 및 요소농도가 증가되는(4주처치 후 60 및 70% 증가, 제1표) 사실도 사구체여과율의 감소를 뒷받침해준다.

Table 3. Renal Tissue Contents of Na^+ , K^+ and Urea

		Control	CsA	P
Na^+ ($\mu Eq/g$ wet wt.)	Cortex	$46.4 \pm 1.6(6)$	$50.7 \pm 2.2(6)$	NS
	Out. Med.	$53.0 \pm 1.2(3)$	$55.5 \pm 4.8(3)$	NS
	In. Med.	$130.9 \pm 1.0(3)$	$105.9 \pm 6.5(3)$	<0.01
K^+ ($\mu Eq/g$ wet wt.)	Cortex	$79.2 \pm 1.7(6)$	$83.8 \pm 3.5(6)$	NS
	Out. Med.	$75.1 \pm 1.2(3)$	$78.7 \pm 1.6(3)$	NS
	In. Med.	$77.6 \pm 5.6(3)$	$78.0 \pm 2.7(3)$	NS
Urea ($\mu moles/g$ wet wt.)	Cortex	$30.9 \pm 4.3(6)$	$39.3 \pm 1.4(6)$	NS
	Out. Med.	$62.4 \pm 8.8(3)$	$66.0 \pm 7.8(3)$	NS
	In. Med.	$302.2 \pm 26.6(3)$	$177.1 \pm 36.5(3)$	<0.05

Values are mean $\pm$ SE in each group at the end of 4-week treatment of CsA(25mg/kg·day) or saline(Control). () Number of determination

Table 4. Unne Flow(V) and Unne Osmolality (Uosm) in Pitressin-treated Rats

	Control	CsA	P
V (ml/kg · day)	10.9 ± 1.4	19.9 ± 2.0	<0.05
Uosm (mOsm/kg H ₂ O)	2779 ± 71	1779 ± 91	<0.01

Data represent the mean ± SE of 6 rats in each group

Each animal was given an intrapentoneal injection of 0.7 units of Pitressin tannate-in-oil at the end of 5-week treatment of CsA (25mg/kg · day) or saline(Control) and unne was collected for the next 48 h without feeding food and water.

Table 5. Oxygen Consumption of Renal Cortical Tissues

	QO ₂ (μ moles O ₂ /100g · min)	P
Control	130.5 ± 3.8(8)	<0.01
CsA (25 mg/kg · day)	105.0 ± 4.5(9)	

Values are mean ± SE in each group at the end of 5-week treatment of CsA (25mg/kg · day) or saline (Control).

() Number of determination.

Table 6. Kinetic Constants of Active p- Aminohippurate Uptake in Renal Cortical Slices

	Control	CsA (50 mg/kg · day)
V _{max} (m moles/kg · 15 min)	3.15 ± 0.35	2.98 ± 0.35
K _m (mM)	0.67 ± 0.08	0.65 ± 0.03

Data represent mean ± SE of 3 determinations at the end of 8-day treatment with CsA or saline (Control)

CsA처치가 사구체여과율을 감소시키는 환자 및 동물실험에서 널리 관찰되고 있지만^{5,12, 21, 27, 46, 49, 53, 56}, 그 기전은 아직 명확히 밝혀지지 않고있다. 사구체여과는 Starling forces에 의해 지배되는 물리적인 과정으로서⁵⁰ 다음과 같이 정의할 수 있다.

$$GFR = K_f [(P_c - P_t) - (\pi_c - \pi_t)]$$

단, GFR은 사구체여과율, K_f는 여과계수(filtration coefficient), P_c 및 P_t는 사구체모세혈관 및 세뇨관내의 정수압, π_c 및 π_t는 사구체모세혈관 및 세뇨관내액의 교질삼투압.

그러므로 만일 CsA가 사구체막에 구조적 변화를 일으켜 K_f를 변화시킨든지, 아니면 사구체혈류역학에 변화를 일으켜 Starling forces (P_c, P_t, π_c 및 π_t)를 변화시킨다면 사구체여과율이 변할 것이다.

Perico 등³⁵이 CsA를 25mg/kg · day 용량으로 20일간 처리한 쥐에서 관찰한 바에 의하면 사구체여과율은 감소되지만 뚜렷한 형태학적 변화는 없었다고 한다. 그러나 Sabbatini 등³⁶은 Munich Wistar rat에서 시행한 micropuncture 실험에서 CsA를 20mg/kg 용량으로 한시간동안 정맥내에 주입했을 때 피질네프론(superficial cortical nephron)의 사구체여과율(single nephron glomerular filtration rate, SNGFR)이 38% 정도 감소되며 K_f가 42% 정도 감소됨을 관찰한 바 있다. 그러므로 CsA 처리시 사구체막에 현미경으로는 관찰되지 않지만 모종의 구조적 변화가 일어나는 것으로 추측된다.

한편 CsA에 의해 신혈류역학이 변화됨은 여러모로 증명되고 있다. 환자¹⁰ 및 실험동물

17, 25, 31, 32, 39)에서 CsA의 급성 및 만성적 처치시 사구체여과율과 함께 신혈류량(renal blood flow, RBF)이 감소됨이 관찰되었다. 이러한 사실은 사구체혈관계의 혈류저항이 증가됨을 나타내는데, Kaskel 등²⁵⁾이 쥐(Sprague-Dawley)에서 시행한 micropuncture 실험결과에 의하면 CsA를 10mg/kg·day 용량으로 7일간 처치(i. m.)했을 때 사구체 전후의 소동맥(afferent arteriole 및 efferent arteriole)이 모두 수축되지만 afferent arteriole이 더 심하게 수축되어 사구체모세혈관압(Pc)이 현저히 떨어졌으며, 이 때 세뇨관내압(Pt)에는 변화가 없었으므로 SNGFR이 감소되었다. 그러나 이러한 혈류 역학상의 변화가 어떻게 해서 초래되는지에 대해서는 의견이 분분하다. Gnatzmann 등¹⁹⁾은 쥐(Wistar)에서 시행된 micropuncture 실험에서 CsA를 급성 또는 만성적으로 처치했을 때 신장의 thick ascending Henle's loop에서의 용질재흡수가 감소됨을 관찰하고 juxtaglomerular apparatus를 통한 tubulo-glomerular feedback 기전으로 신혈관저항이 증가한다고 하였다. 이러한 주장은 tubulo-glomerular feedback이 renin-angiotensin system을 통해 일어난다는 것을 전제로 하고 있는데, 실제로 CsA에 의해 renin-angiotensin system이 활성화되는 것이 보고되어 있다^{31, 32, 33, 42)}. 그러나 Murray 등^{31, 32)}은 쥐에서 CsA에 의해 신혈관이 심하게 수축될 때 혈장내 renin 농도는 높아지지만 captopril에 의해 신혈관수축이 방지되지 않으므로 angiotensin II가 관여하지는 않는다고 주장하였다. 그 후 이들은 신장의 교감신경을 차단하거나 α -adrenergic antagonist인 prazosin을 처치할 경우 CsA에 의한 신혈류량 감소가 방지되는 것을 관찰하고 CsA가 신교감신경에 영향을 미쳐 신혈류 역할을 변화시킨다고 하였다³²⁾. 그러므로 CsA에 의한 GFR의 감소는 여러가지 요인에 의해 나타나는 것으로 사료되는데 주된 요인이 무엇이었는지는 명확히 알 수 없다.

세뇨관 기능 : 본 연구에서 관찰된 CsA에

의한 가장 뚜렷한 신장기능의 변화는 요배설량의 증가(제3도 A)와 요삼투질농도의 감소(제3도 B)현상이다. 이러한 변화는 사구체여과율(Ccr)이 감소된(제2표) 상태에서 일어났으므로 세뇨관에서 용액의 재흡수가 감소되었음을 나타낸다. CsA에 의해 삼투질과 물의 fractional excretion이 모두 증가했지만 전자(120%증가)보다 후자(260%증가)의 증가가 상대적으로 월등히 큰 것으로 보아(제2표) 용질보다 물의 재흡수가 더 심하게 억제되었음을 알 수 있다.

제7도는 CsA에 의한 다뇨증 및 요농축능의 감소기전을 좀 더 명확히 분석하기 위하여 요배설율(V)과 삼투질제거율(Cosm)간의 상관관계를 나타낸 것이다. 만일 사구체여과액이 세뇨관을 통과하는 동안 물과 용질이 같은 비율로 재흡수되면 요의 삼투질농도(Uosm)는 사구체여과액(즉, 혈장)과 동장성(isosmotic)이 되며, 따라서 삼투질제거율($Cosm = Uosm \cdot V / Posm$)과 요배설율(V)은 같게 된다(도표에 점선으로 표시된 것). 그러나 물의 재흡수량이 용질재흡수량 보다 클 경우에는 고장성(hypertonic)인 요를 배설하게 되므로(즉 $Uosm > Posm$) Cosm이 V보다 크며, 따라서 V와 Cosm의 상관점은 점선(isosmotic line)의 하부에 위치하게 된다. 즉 이 점과 점선 간의 수직거리는 용질을 동반하지 않고 재흡수된 물의 양(즉 free water reabsorption)을 나타내는데 이는 항이뇨호르몬(antidiuretic hormone, ADH)작용에 의해 집합관(collecting duct)에서 재흡수되는 물의 양($T \cdot H_2O$)에 해당된다³⁰⁾. 도표에서 볼 수 있는 바와 같이 CsA군에서 얻은 V와 Cosm 간의 상관직선은 대조군의 경우보다 isosmotic line에 더 가까이 위치하는데, 이는 용질배설량이 동일할 때 집합관에서 재흡수되는 free water의 양이 대조군보다 CsA군에서 적음을 의미한다. 이러한 사실은 CsA처치에 의해 신장의 요농축능이 감퇴됨을 강력히 제시한다.

그러면 요농축능의 감퇴기전은 무엇일까?

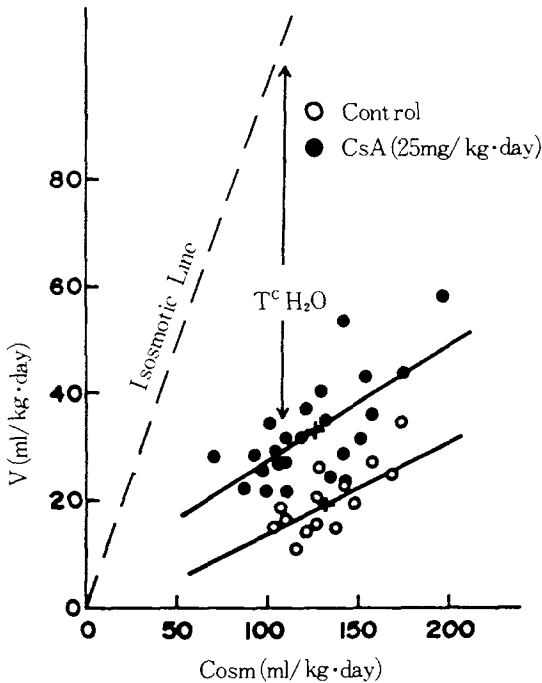


Fig. 7. Relationship between unine flow(V) and osmolar clearance (Cosm) after 3-4 week of CsA or saline treatment
Data represent 14 determinations in the control group and 25 determinations in the CsA group

집합관의 free water 재흡수는 단순한 삼투(osmosis) 현상이므로³⁰⁾ 다음과 같이 표시할 수 있다.

$$T^c H_2O = p(\pi_t - \pi_u)$$

단, p는 물의 투과도, π_t 및 π_u 는 각각 조직 및 세뇨관내액의 삼투질농도.

물의 투과도(p)는 ADH에 의해 조절되는 것으로 뇌하수체후엽의 ADH분비가 감소되든지 세뇨관막의 이상으로 ADH 작용이 원활히 이루어지지 않으면(신성요붕증, nephrogenic diabetes insipidus의 경우처럼) p가 감소하여 free water 재흡수가 감소된다³¹⁾. 단 ADH system에 이상이 없더라도 수질조직의 삼투압(π_t)이 감소되거나 집합관 내액의 삼투압(π_u)이 증가하여도 free water 재흡수가 감소되는데, 이 두가지는 모두 Henle's loop에 존재하

는 countercurrent multiplication system의 작용에 의해 영향을 받는다. 즉 Henle's loop 상행각(이를 diluting segment라고 함)에 존재하는 Na^+ 펌프의 작용에 의해 수질조직에 Na^+ 과 요소가 축적되어 수질조직의 삼투질농도가 높아지며 동시에 세뇨관 내액의 삼투질농도는 낮아져 집합관에서 물이 재흡수 될 수 있도록 π_t 와 π_u 간의 경사가 형성되는데³²⁾, Henle's loop의 Na^+ 펌프에 이상이 있을 때는 π_t 는 낮아지고 π_u 는 증가하여 free water 재흡수가 감소된다.

본 연구에서 수질조직의 Na^+ 및 요소농도는 CsA군이 대조군에 비해 유의있게 낮았는데(제 3표), 이는 Henle's loop 상행각의 Na^+ 펌프기능이 억제되었음을 시사한다. Gnatzmann 등(19)은 쥐에서 시행한 micropuncture 실험에서 CsA에 의해 diluting segment 내액의 전해질 농도가 증가함을 관찰한 바 있는데, 이 역시 Henle's loop 상행각의 Na^+ 펌프의 기능이 CsA에 의해 억제됨을 나타낸다.

수질조직의 용질농도는 수질의 혈류량이 증가하면 낮아진다³⁰⁾. 전술한 바와 같이 CsA는 신혈류량을 감소시키므로^{31, 32, 46)} 본 연구에서도 수질의 혈류량은 아마도 CsA군이 대조군에 비해 낮았을 것이다. 그럼에도 불구하고 수질조직의 용질축적량이 CsA군에서 유의있게 낮은 것은 Henle's loop 상행각의 Na^+ 펌프기능이 심하게 억제되었음을 시사한다. CsA군의 요농축능은 Pitressin 주사 후에도 회복되지 않았다(제4표). 이러한 제 사실들로 미루어 볼 때 CsA에 의한 다뇨증 및 요농축능의 감소는 그 일차적인 원인이 Henle's loop의 Na^+ 펌프저해에 있다고 사료된다. 세뇨관의 ADH 수용체(receptor)에 이상이 초래될 가능성도 배제할 수는 없으나 Pitressin 처치시 CsA군의 요삼투질농도가 1800mOsm/kgH₂O까지 올라가는 것으로(제4표) 미루어보아 이러한 변화가 있다고하더라도 그 정도는 극히 미약할 것으로 사료된다.

본 연구에서 요중으로의 Na^+ , K^+ , 요소 등

의 용질배설량은 CsA처치 초기(1주)에 현저히 감소하다가 2주 후에는 대조군의 수준으로 회복되었다(제3 및 4도). 이와 유사하게 Whiting 등⁵⁷⁾은 쥐(Sprague-Dawley)에서 CsA (50mg/kg·day)처치에 의해 처음 10일 동안은 Na^+ 의 fractional excretion이 감소되지만 그 후에는 회복되는 것을 관찰한 바 있다.

CsA처치 초기의 용질배설량의 감소는 아마도 사구체여과율의 감소 때문일 것이다. Dieperink 등¹¹⁾은 Li^+ clearance법^{41, 57)}을 이용하여 CsA로 처리된(12.5~25mg/kg·day for 14 days) 쥐(Sprague-Dawley)에서 시행한 실험에서 근위세뇨관에서 재흡수되는 Na^+ 의 절대량은 감소되지만 Na^+ 의 fractional reabsorption은 증가되며 원위세뇨관의 Na^+ 및 K^+ 재흡수는 감소됨을 관찰하였다. 이러한 사실은 CsA에 의한 용질배설량의 감소가 세뇨관세포막의 용질재흡수기전이 활성화되기 때문이 아니라 여과량이 감소된데 그 원인이 있음을 시사한다.

CsA를 장기간(2주 이상)처치시 용질배설량이 다시 증가되는 것은 아마도 전술한 바와같이 Henle's loop 상행각의 Na^+ 펌프기능이 저해되기 때문일 것이다. 이러한 Na^+ 펌프의 억제제는 세뇨관내액의 삼투질농도를 높이며 상대적으로 유속을 증가시킬 것인데 이러한 변화는 원위세뇨관에서 K^+ 분비의 원동력(driving force)을 증가시키고¹⁸⁾ 집합관에서 요소재흡수의 원동력을 감소시킬 것이므로⁵⁰⁾ 이들 물질의 요중배설량이 Na^+ 과 함께 증가될 것이다.

끝으로, 본 연구에서 요중 단백질배설량은 CsA처치 1주째에 급격히 감소된 후 그대로 유지되었다. 이러한 현상은 타 연구^{15, 45, 60)}에서도 왕왕 관찰된 바 있으나 그 기전은 전연 밝혀지지 않고있다. 요중으로 배설되는 단백질의 종류도 아직 분석된 바 없으나 CsA에 의해 사구체막이 뚜렷한 손상이 일어나지 않으며²⁷⁾ filtration coefficient가 감소되는 것⁴⁷⁾으로 보아 아마도 분자량이 작은 소위 "low molecular weight protein"일 것으로 추측되는데 이

러한 단백질은 여과된 후 근위세뇨관에서 재흡수되는 것으로 알려져 있다.^{8, 26)} 그러므로 CsA에 의한 단백질배설량의 감소가 근위세뇨관의 단백질재흡수기전의 손상에 의해 나타날 가능성을 상상할 수도 있으나 그 양상이 creatinine 배설량의 변화(제2도)와 유사한 것으로 보아 아마도 사구체여과율의 감소 때문에 2차적으로 나타나는 현상이라고 사료된다.

요 약

임상에서 면역억제제로 사용되고 있는 cyclosporine A(CsA)의 신독성 기전을 연구하기 위하여 동물재료로 Sprague-Dawley계 웅성백서를 사용하여 CsA(Sandimmun, Sandoz, Basel, Switzerland)를 25mg/kg·day용량으로 4주간 피하주사하여 신독성을 유발하면서 1주간격으로 각종 신장기능의 변화를 조사하여 대조군(식염수 주입군)의 성적과 비교하였다.

1. 혈장내 creatinine, 요소, K^+ 및 삼투질 농도는 CsA처치(4주)에 의해 의의있게 증가되었으나 Na^+ 농도는 크게 변화되지 않았다.

2. CsA처치 3주 후부터 요배설량은 의의있게 증가했으나 요삼투농도는 감소되었다.

3. 요중으로의 creatinine 배설량은 CsA처치 2주 때까지 급격히 감소되다가 그 후에는 그대로 유지되었으며, 처치 4주 후에 산출한 creatinine제거율(Ccr)은 대조군에 비해 60% 정도 낮았다.

4. 요중으로서 Na^+ , K^+ , 요소 및 총 삼투질의 배설량은 CsA처치 1주 후에 모두 의의있게 감소되었으나 2주째부터는 대조군의 수준으로 회복되었다.

5. CsA처치 4주 후에 측정된 물, Na^+ , K^+ , 요소 및 삼투질의 fractional excretion은 대조군의 값보다 의의있게 높았다.

6. CsA처치 3~4주 후에는 신세뇨관의 free water 재흡수가 현저히 감소되었으며, 신수질조직의 Na^+ 및 요소농도가 의의있게 감소되었다.

7. CsA처치 후에는 Pitressin 주사 후에도 요농축능이 회복되지 않았다.

8. 신피질조직의 산소소모능은 CsA처치로 약 20% 감소되었으나 *p*-aminohippurate 능동적이동은 CsA에 의해 영향을 받지 않았다.

이상과 같은 결과는 CsA처치시 사구체여과율이 감소되며, 당뇨병 및 요농축능의 저하가 일어나는데, 당뇨병과 요농축능의 저하 기전은 Henle's loop 상행각의 Na^+ 펌프기능이 억제되어 세뇨관으로부터 free water의 재흡수가 감소되기 때문임을 시사한다.

REFERENCES

1. Adu D, Turney J, Michael J, McMaster P : Hyperkalaemia in cyclosporine-treated renal allograft recipients Lancet 2 : 370, 1983.
2. Backman L, Appelkvist E-L, Ringdén O, Dallner G : Effect of cyclosporine A on hepatic protein synthesis. Transplant Proc 20(3)(Suppl 3) : 853, 1988.
3. Batlle DC, Gutterman C, Tarka J, Prasad R : Effect of short-term cyclosporin A administration on urinary acidification Clin Nephrol 25(suppl 1) : S62, 1986.
4. Borel JF, Lafferty KJ : Cyclosporine : speculation about its mechanism of action Transplant Proc 15(3) : 1881, 1983.
5. Caterson RJ, Duggin GG, Critchely L, Baxter C, Horvath JS, Hall BM, Tiller DJ : Renal tubular transport of cyclosporine A(CSA) and associated changes in renal function. Clin Nephrol 25(suppl 1) : S30, 1986.
6. Calne RY : Pharmacological immunosuppression in clinical organ grafting Observations on four agents : Cyclosporin A, Asta 5122(cytimun), lamda carageenan and promethazine hydrochloride, Clin Exper Immunol 35 : 1, 1979.
7. Chapman JR, Griffiths D, Harding NGL, Morris PJ : Reversibility of cyclosporin nephrotoxicity after three months' treatment Lsncet 1 : 128, 1985.
8. Cortney MA, Sawin LL, Weiss DD : Renal tubular protein absorption in the rat J Clin Invest 49 : 1, 1970.
9. Cross RJ, Taggart JV : Renal tubular transport : accumulation of *p*-aminohippurate by rabbit kidney slice Am J Physiol 161 : 181, 1950.
10. Curtis JJ, Laskow DA : Cyclosporine-induced nephrotoxicity : pathophysiology of decreased blood flow Transplant Proc 20(3) (suppl 3) : 540, 1988.
11. Dieperink H, Leyssac PP, Kemp E, Steinbrückl D, Starklint H : Glomerulotubular function in cyclosporine A treated rats Clin Nephrol 25(suppl 1) : S70, 1986.
12. Dieperink H, Starklint H, Leyssac PP : Nephrotoxicity of cyclosporine-an animal model : study of the nephrotoxic effect of cyclosporine on overall renal and tubular function in conscious rats Transplant Proc 15(4) (suppl 1) : 2736, 1983.
13. Duggin GG, Baxter C, Hall BM, Horvath JS, Tiller DJ : Influence of cyclosporine A(CSA) on intrarenal control of GFR Clin Nephrol 25(suppl 1) : S43, 1986.
14. Duncan JJ, Thomson AW, Aldridge RD, Simpson JG, Whiting PH : Cyclosporine-induced renal structural damage : influence of dosage, strain, age and sex with reference to the rat and guinea pig Clin Nephrol 25(suppl 1) : S14, 1986.
15. Erbay B, Karatan O, Duman N, Ertug AE : The effect of cyclosporine in idiopathic nephrotic syndrome resistant to

- immunosuppressive therapy. *Transplant Proc* 20(3)(suppl 4) : 289, 1988.
16. Foley RJ, Hamner RW, Weinman EJ : Cyclosporine(CS) and hyperkalemia (HK) after renal transplantation. *Kidney Int* 25 : 342, 1984.
17. Friedman AI, Kahng KU, Monaco DO, Rosen BD, Wait RB : Cyclosporine nephrotoxicity in conscious sheep *Transplant Proc* 20(3)(suppl 3) : 595, 1988.
18. Giebisch G : Renal potassium transport In : *Membrane Transport in Biology*. Eds Giebisch G, Tosteson DC, Ussing HH Vol. IV A. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1983, pp 215~289.
19. Gnatzmann KH, Hering K, Gutsche H-U : Effect of cyclosporine on the diluting capacity of the rat kidney. *Clin Nephrol* 25(suppl 1) : S51, 1986.
20. Grant D, Black R, Zhong R, Wall W, Stiller C, Duff J : The effect of cyclosporine on liver regeneration. *Transplant Proc* 20(3)(suppl 3) : 877, 1988.
21. Heering P, Westhoff A, Bach D, Sprenger KBG, Passlick J, Helmchen U, Grabensee B : Renin-aldosterone system and renal function under cyclosporine A. *Transplant Proc* 20(3)(suppl 3) : 556, 1988.
22. Hess AD, Esa AH, Colombani PM : Mechanisms of action of cyclosporine : effect on cells of the immune system and on subcellular events in T cell activation *Transplant Proc* 20(suppl 2) : 29, 1988.
23. Hofstee BHJ : Non-inverted versus inverted plots in enzyme kinetics. *Nature* 184 : 1296, 1959.
24. Joss DV, Barrett AJ, Kendra JR, Lucas CF, Desai S : Hypertension and convulsions in children receiving cyclosporin A *Lancet* 1 : 906, 1982.
25. Kaskel FJ, Devarajan P, Arbeit LA, Moore LC : Effects of cyclosporine on renal hemodynamics and autoregulation in rats. *Transplant Proc* 20(3)(suppl 3) : 603, 1988.
26. Maack T : Renal handling low molecular weight proteins *Am J Med* 58 : 57, 1975.
27. Mihatsch MJ, Ryffel B, Hermle M, Brunner FP, Thiel G : Morphology of cyclosporine nephrotoxicity in the rat. *Clin Nephrol* 25(suppl 1) : S2, 1986.
28. Mihatsch MJ, Thiel G, Basler V, Ryffel B, Landmann J, von Overbeck J, Zollinger HU : Morphological patterns in cyclosporine-treated renal transplant recipients. *Transplant Proc* 17(4) (suppl 1) : 101, 1985.
29. Mihatsch MJ, Thiel G, Ryffel B : Histopathology of cyclosporine nephrotoxicity. *Transplant Proc* 20(3)(suppl 3) : 759, 1988.
30. Mihatsch MJ, Thiel G, Spicht in HP, Oberholzer M, Brunner FP, Harder F, Olivieri V, Bremer R, Ryffel B, Stöcklin E, Torhorst J, Gudat F, Zollinger HU, Loertscher R : Morphological findings in kidney transplants after treatment with cyclosporine. *Transplant Proc* 15(suppl 1) : 2821, 1983.
31. Murray BM, Paller MS : Beneficial effects of renal denervation and prazosin on GFR and renal blood flow after cyclosporine in rats *Clin Nephrol* 25(suppl 1) : S37, 1986.
32. Murray BM, Paller MS, Ferns TF : Effect of cyclosporine administration on

- renal hemodynamics in conscious rats
Kidney Int 28 : 767, 1985.
33. Nath KA, Bantle JP, Ferris TF : Effect of cyclosporin A on the renin-angiotensin system and potassium excretion in renal transplant recipients *Kidney Int* 25 (1) : 346, 1984.
34. O'Sullivan DP : Convulsions associated with cyclosporin A *Br Med J* 290 : 858, 1985.
35. Perico N., Benigni A, Bosco E, Rossini M, Orsio S, Ghilardi F, Piccinelli A, Remuzzi G : Acute cyclosporine A nephrotoxicity in rats : which role for renin-angiotensin system and glomerular prostaglandins? *Clin Nephrol* 25(suppl 1) : S83, 1986.
36. Ryffel B, Donatsch PP, Madorin M, Matter BM, Ruttumann G, Schön H, Stoll R, Willson J : Toxicological evaluation of cyclosporin A. *Arch Toxicol* 53 : 107, 1983.
37. Ryffel B, Siegl H, Muller S, Donatsch P, Wilson JT, Mihatsch MJ : The rat as an experimental model of cyclosporine nephrotoxicity *Human Toxicol* 3 : 418, 1984.
38. Ryffel B, Wilson J, Maurer R, Gudat F, Mihatsch MJ : Problems of cyclosporine localization in the renal tissue *Clin Nephrol* 25(suppl 1) : 34, 1986.
39. Sabbatini M, Esposito C, Uccello F, De-Nicola L, Alba M, Conte G, Dal Canton A, Andreucci VE : Acute effects of cyclosporine on glomerular dynamics-micropuncture study in the rat *Transplant Proc* 20(3)(suppl 3) : 544, 1988.
40. Shevach EM : The effect of cyclosporin A on the immune system *Ann Rev Immunol* 3 : 397, 1985.
41. Shirley DG, Walther SJ, Thomsen K : A comparison of micropuncture and lithium clearance methods in the assessment of renal tubular function in rats with diabetes insipidus *Pflugers Arch* 399 : 266, 1983.
42. Siegl H, Ryffel B, Petric R, Shoemaker P, Muller A, Donatsch P, Mihatsch M : Cyclosporine the renin-angiotensin-aldosterone system, and renal adverse reactions *Transplant Proc* 15(4)(suppl 1) : 2719, 1983.
43. Smith HW, Finkelstein N, Alminosa L, Crawford B, Graber M : The renal clearances of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man *J Clin Invest* 24, 388, 1945.
44. Tellides G, Dallman MJ, Morris PJ : Synergistic interaction of cyclosporine A with interleukin 2 receptor monoclonal antibody therapy *Transplant Proc* 20(2)(suppl 2) : 202, 1988.
45. Thaass F, Mihatsch MJ, Batsford S, Vogt A, Schollmeyer P : Effect of cyclosporine on in situ immune complex glomerulonephritis *Clin Nephrol* 25(suppl 1) : S181~185, 1986.
46. Thiel G, Hermle M, Brunner FP : Acutely impaired renal function during intravenous administration of cyclosporine A : a cremophore side-effect *Clin Nephrol* 25(suppl 1) : S40, 1986.
47. Tomlanovich S, Luetscher J, Perlroth M, Myers BD : Nature of chronic glomerular injury induced by cyclosporine *Clin Res* 33 : 589, 1985.
48. Thomson CB, June CH, Sullivan KM, Thoman ED : Association between cyclosporin nephrotoxicity and hypomagnesaemia *Lancet* 2 : 1116, 1984.

49. Tonnesen AS, Hamner RW, Weinman EJ : Cyclosporine and sodium and potassium excretion in the rat. *Transplant Proc* 15(4)(suppl 1) : 2730, 1983.
50. Valtin H : Renal function : mechanisms preserving fluid and solute balance in health 1st ed, Little, Brown and Co, 1973.
51. Valtin H : Renal dysfunction : mechanisms involved in fluid and solute imbalance 1st ed, Little, Brown and Co., 1979.
52. Verani R : Cyclosporine nephrotoxicity in the Fischer rat *Clin Nephrol* 25(suppl 1) : S9, 1986.
53. Verpooten GA, Wybo I, Pattyn VM, Hendrix PG, Giuliano RA, Nouwen EJ, Roels F, De Broe ME : Cyclosporine nephrotoxicity : comparative cytochemical study of rat kidney and human allograft biopsies. *Clin Nephrol* 25(suppl 1) : S18, 1986.
54. von Graffenried B, Harrison WB, Renal Function in patients with autoimmune diseases treated with cyclosporine *Transplant Proc* 17(4)(suppl 1) : 215, 1985.
55. von Willebrand E, Hayry P : Cyclosporin-A deposits in renal allografts *Lancet* 2 : 189, 1983.
56. Whiting PH, Thomson AW, Blar JT, Simpson JG : Experimental cyclosporin A nephrotoxicity *Br J Exp Path* 63 : 88, 1982.
57. Whiting PH, Propper DJ, Simpson JG, McKay J, Jones MC, Catto GRD : The use of lithium clearance measurements to assess renal tubular function in experimental and clinical cyclosporine nephrotoxicity *Transplant Proc* 20(3)(suppl 3) : 675, 1988.
58. Windholz M : The Merck Index. 10th, ed, Rahway, New Jersey, U.S.A., 1983.
59. Yoshimura N, Kahan BD, Matsui S, Kita M, Hamashima T, Oka T : Cyclosporine effect on immunoregulatory cells in kidney transplant recipients : suppression of gamma-interferon and interleukin production. *Transplant Proc* 20(suppl 2) : 69, 1988.
60. Zietse R, Wenting GJ, Kramer P, Schalekamp MADH, Weimar W : Fractional excretion of protein : a marker of the efficacy of cyclosporine A treatment in nephrotic syndrome. *Tranplant Proc* 20(3)(suppl 4) : 280, 1988.