

SİKLOSPORİNİN FARE BÖBREĞİNDE OLUŞTURDUĞU HISTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

Sema ÖZUYSAAL (*) • Oktan EROL (**)

ÖZET: Bu çalışmada siklosporinin (Cs) fare böbreği üzerindeki etkileri histopatolojik olarak incelenmiştir. Bu amaçla üç ayrı deney grubuna kilogram başına sırasıyla 12.5 mg, 50 mg ve 100 mg Cs, intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Bir ve üç haftalık deney süreleri sonunda tubuler ve interstisyel toksite belirtileri oluşmuştur. Tubuler belirtiler düşük doz düzeylerinde ortaya çıkmış ve doza bağlı olarak artış göstermiştir. Interstisyel belirtiler ise sadece ilacı en yüksek dozda alan grupta düşük görül-müş ve zamana bağlı olarak ilerleyici özellik göstermiştir.

SUMMARY: In this study the histopathological effects of cyclosporin (Cs) on mouse kidney has been investigated. For this purpose 12.5 mg, 50 mg and 100 mg Cs, have been intraperitoneally administered to three separate group. Tubular and interstitial toxicity has been occurred after one and three weeks duration of experiment. Tubular changes has occurred in low doses and increased with dose-dependant. Interstitial changes have been observed only in group of mice, taking highest dose Cs, and have shown increased tendency with the duration of administration.

GİRİŞ VE AMAÇ

Cs, organ transplantasyonlarında kullanılan güçlü bir immunosüpresif (8,17). Ayrıca Cs'nin bazı otoimmün hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde de etkili olduğu görülmektedir (3,5,21,19).

Bu geniş etki alanına rağmen Cs'nin bazı önemli yan etkileri vardır. Bunlar içerisinde en önemli olanı nefrotoksisitedir (22).

Bu çalışmada farelerde Cs'nin doz ve süreye bağlı olarak böbreklerde oluşturduğu morfolojik değişiklikler incelenmiştir. Bu amaçla ilaç, üç farklı dozda verilerek bir ve üç haftalık süreler sonunda oluşan lezyonların cinsi ve şiddetindeki değişiklikler karşılaştırılmıştır.

GEREÇ

Siklosporinin (Sandimmun-Sandoz) 1 mililitrede 50 mg. siklosporin, 650 mg. Cremophor EL (polioksietile edilmiş hint yağı) % 33 alkol (hacim olarak) içeren konsantratu ile mus muskulus albino F 45-1 tipi 52 adet sağlıklı erkek fare kullanıldı.

YÖNTEM

Bu çalışmada üç ayrı deney grubu ve bir kontrol grubu oluşturuldu. Her deney grubunda 14 fare, kontrol grubunda ise 10 fare olmak üzere toplam 52 adet fare kullanıldı.

Birinci deney grubuna 12.5 mg/kg, ikinci deney grubuna 50 mg/kg, üçüncü deney grubuna 100 mg/kg Cs, günlük tek doz halinde intraperitoneal olarak enjekte edildi.

Her bir deney grubu kendi içerisinde A ve B olmak üzere iki alt gruba ayrıldı. A grubunda deneye bir hafta, B grubunda üç hafta devam edildi. Kontrol grubu farelere herhangi bir uygulama yapılmadı. Deney grubuna uygulanan Cs'nin doz ve süreleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tüm hayvanlar deney boyunca Devlet Yem Sanayiinin ürettiği laboratuvar yemleri ile beslendi. İçme suyu olarak şehir şebeke suyu verildi. Yem ve sularında herhangi bir kısıtlama yapılmadı. Hayvanların her biri ayrı ayrı kafeslerde muhafaza edildi.

TABLO 1: DENEY GRUPLARINA UYGULANAN
Cs DOZ VE SÜRELERİ

Grup	Süre (Gün)	Verilen siklosporin dozu (mg/kg/gün)
1	A	7
	B	21
2	A	7
	B	21
3	A	7
	B	21

Deney sürelerinin sonunda kesilerek otopsileri yapılan farelerin böbreklerinin tamamı % 10'luk formalin eriyiği içerisinde tespit edildi. Rutin takip işlemlerinden sonra hazırlanan kesitler Hematoksilen Eozin ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi.

BULGULAR

Makroskopik Bulgular: Deney süreleri sonunda otopsileri yapılan hayvanların iç organlarında makroskopik olarak patolojik bulgu saptanmamıştır.

Mikroskopik Bulgular: Kontrol grubu farelerin böbreklerinde interstisyel damarlarda konjesyon dışında patolojik değişim saptanmamıştır.

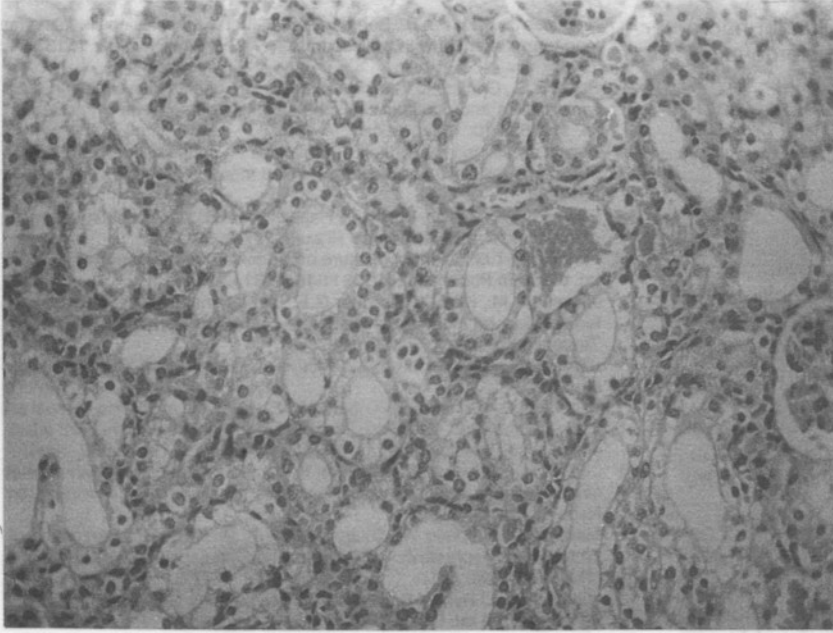
Deney gruplarının ilkinde bir hafta sonunda proksimal tubulus epitel hücrelerinde hafif derecede vakuolizasyon gözlenmiştir. Üç hafta sonunda histopatolojik görüntüde belirgin bir fark oluşmamıştır.

İkinci grupta bir hafta sonunda proksimal tubulus hücrelerindeki vakuolizasyon biraz daha belirgindir (Resim 1). Bu grupta da üç haftalık süre sonunda lezyonlarda belirgin bir farklılık gözlenmemiştir.

Üçüncü grupta bir hafta sonunda alınan örneklerde vakuolizasyon daha yaygın ve şiddetli idi. Ayrıca kortekste, interstisyel dokuda çizgi şeklinde fibrozis alanları ve fibröz doku artışının belirgin olduğu kısımlarda tubuluslarda atrofi tespit edildi (Resim 2). Interstisyel dokuda yer yer damarlar çevresinde tpuloklar oluşturan mono nükleer iltihap hücreleri gözlemlendi. Bu grupta üçüncü haftanın sonunda distal tubulus lümenlerinde mikrokalsifikasyonların olduğu görüldü. Fibrozis, tubular atrofi, mono nükleer iltihabi hücre infiltrasyonu

* Uzm. Dr.; Uludağ Üniv. Tıp Fak. Patoloji Ana Bilim Dalı

** Prof. Dr.; Uludağ Üniv. Tıp Fak. Patoloji Ana Bilim Dalı
Öğretim Üyesi



Resim 1. Tubulus epitellerinde yaygın ve şiddetli vakuolizasyon (H.E. 10X20/0.45).

rasyonu gibi interstisyel lezyonların şiddetinde ise belirgin bir artış mevcuttu.

Glomerül ve damarlarda hiçbir grupta kayda değer bir özellik tespit edilmedi.

Tüm deney gruplarında interstisyumdaki damarlarda konjesyon mevcuttu. Ancak kontrol grubunda da benzer değişikliklerin görülmesi nedeniyle bu durumun, hayvanın öldürülme işlemi sırasında oluşmuş olabileceği düşünüldü ve ilaca bağlı bir etki olmadığı kanısına varıldı.

TARTIŞMA

Cs'nin böbreklerde oluşturduğu morfolojik lezyonlar iki ana grupta toplanabilir (14,16). tubuler ve/veya vasküler-interstisyel lezyonlar.

Tubuler toksisitede görülen morfolojik değişiklikler tubulus epitel hücrelerinde inklüzyon cisimcikleri, tubuler vakuolizasyon ve mikrokalsifikasyondur. Bu bulgular Cs nefrotoksitesisi için spesifik değildir. Ancak oldukça karakteristiktir [14,15]. Tubuler lezyonlar başlıca proksimal tubuluslardadır [12].

Vasküler-interstisyel toksisitenin en sık görülen lezyonları arteriolopati ve interstisyel fibrozistir. Vasküler lezyonlar başlıca periferik damarlardadır. Vakaların çoğunda arterioler duvarlarda sirküler protein birikimleri oluşup lümenin daralması, hatta tıkanmasına yol çabılır. Diğer bir şekil ise, sonuçta vasküler lümenin daralmasına yol açan mukoid kalınlaşmadır [13,14,16]. İnterstisyel fibrozis arteriolopati ile birliktedir ya da onu takip eder. Renal kortekste düzensiz odaklar veya çizgiler şeklinde fibrozis ve atrofik tubuluslar gözlenir. Fibrotik alanlarda dağınık mono nükleer hücre infiltrasyonu sıklıkla

bulunur. Glomerüler değişkenlikler genellikle belirgin değildir (9,13,16).

Cs nefrotoksitesisi doza bağımlıdır (9,16). Nefrotoksitesinin ortaya çıkmasındaki etkili faktörler:

1) İskemi, ilaçlar, rejeksiyon gibi risk faktörlerinin birlikte bulunması;

2) Bireysel duyarlılıkta görülen farklılıklardır (15). Bu faktörlere bağlı olarak nefrotoksitesite düşük doz düzeylerinde de oluşabilir.

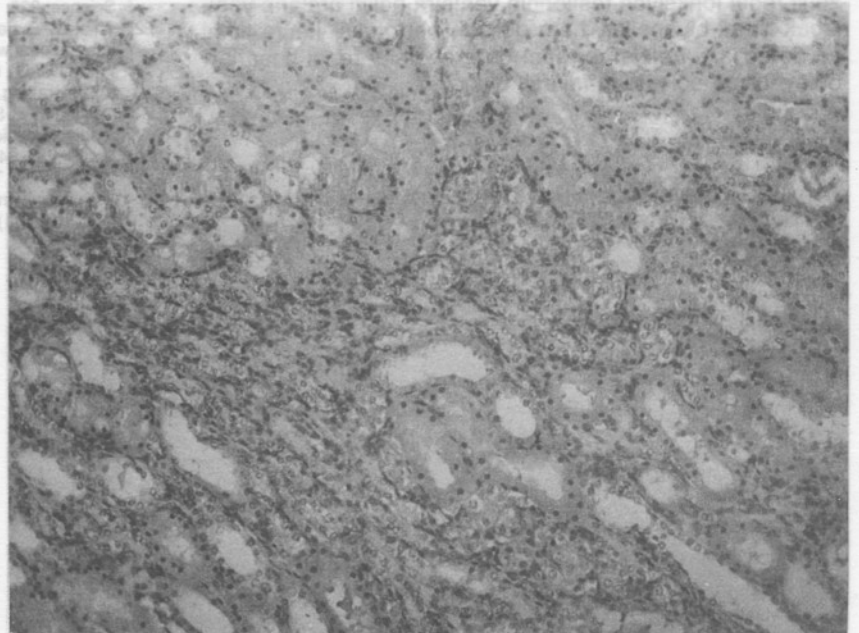
Yaptığımız bu çalışmada üç ayrı gruba ayrılan erkek farelere, her gün kilogram başına sırasıyla 12.5 mg, 50 mg ve 100 mg olmak üzere üç ayrı dozda Cs, intraperitoneal olarak uygulanmıştır.

Böbreklerin bir ve üç hafta sonunda yapılan histopatolojik incelemesinde kontrol grubunda belirgin bir lezyon gözlenmemiştir. Birinci ve ikinci gruplarda başlıca proksimal tubuluslarda belirgin olmak üzere epitel hücrelerinde vakuolizasyon, üçüncü grupta buna ilave olarak distal tubulus lümenlerinde mikrokalsifikasyonlar tespit edilmiştir. Bu değişiklikler Cs'nin tubuler toksisitesinin göstergesi

olup daha önce Cs ile yapılmış pek çok çalışmada bildirilmiştir (4,6,11,12,24,25).

Minatsch, çalışmasında (12) tubuler vakuolizasyonun görülmesi için genellikle 10 mg/kg'dan yüksek dozlar verilmesi gerektiğini belirtmiştir. Bizim birinci grupta verdiğimiz doz, Mihatsch'ın belirttiği dozun biraz üzerindedir ve bir hafta sonunda oluşan tubuler vakuolizasyon oldukça hafif ve sınırlı alanlardadır. 50 ve 100 mg/kg'lık dozlarda ise lezyonlarda belirgin bir artış izlenmektedir. Bu bulgular Cs toksisitesinin doza bağımlı olduğunu destekler niteliktedir.

Üçüncü grupta tubuler toksisite belirtilerine interstisyel değişiklikler eklenmiştir. Bunlar, kortekste çizgi şeklinde



Resim 2. İnterstisyel dokudaki fibrozis alanları ve atrofik tubuluslar (H.E. 10x10/0.25).

fibrozis alanları ve interstisyel mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonudur. Fibrozisin belirgin olduğu bölgelerde tubuluslarda atrofi ve rejeneratif değişiklikler mevcuttur. Yayınlarda vasküler-interstisyel toksisitenin iki aydan önce nadiren bulunduğu, fakat Cs tedavisinin birinci haftası içerisinde bile gelişebileceği belirtilmektedir (10,18). Tubuler lezyonlar ise hızla gelişir (1,12,25).

Bizim çalışmamızda hem tubuler hem de interstisyel toksisitenin gelişmesi için bir haftalık süre yeterli olmuştur. İnterstisyel belirtilerin erken dönemde oluşmasında uyguladığımız dozun çok yüksek olmasının rolü olabilir. Benzer şekilde Jackson ve arkadaşlarının çalışmasında (7) 100 mg/kg/lık dozda 4-10 gün gibi kısa bir süre içerisinde interstisyel fibrozis, tubuler atrofi ve interstisyumda mononükleer karakterde hücre artışı bildirilmiştir.

Çalışmamızda 12.5 ve 50 mg/kg Cs verilen gruplarda interstisyel toksisite belirtisi gözlenmemiştir. Bu dozlarda bu belirtilerin ortaya çıkması için muhtemelen daha uzun süre gerekmektedir.

Tubuler lezyonlarda bir ve üç haftalık süreler arasında belirgin bir farklılık mevcut değildir. İnterstisyel fibrozis ve buna bağlı tubuler atrofi, interstisyel mononükleer hücre infiltrasyonu gibi belirtilerin şiddetinde ise üç hafta sonunda artış gözlenmiştir. Mihatsch'ın 1988 yılında yayınladığı makalede [14] fonksiyonel ve tubuler toksisitenin reversibl karakterde olduğu, vasküler-interstisyel toksisitenin ise irreversibl renal hasarlanma ile sonuçlanabileceği belirtilmiştir. Bizim bulgularımız da interstisyel lezyonların ilerleyici nitelikte olduğunu düşündürmektedir.

İnterstisyel lezyonlar bu çalışmada 100 mg/kg gibi yüksek doz düzeylerinde oluşmuştur. Ancak kaynaklarda üç aydan daha uzun süreli kullanım sonucunda, 5-10 mg/kg gibi düşük dozlarda bile vasküler-interstisyel lezyonların oluşabileceği belirtilmektedir. Bu lezyonların reversibl olup olmadığı bilinmemektedir. Ayrıca yine kaynaklardan glomerüller filtrasyon oranları ve fonksiyonel bozukluklarla morfolojik lezyonlar arasında kesin bir korelasyonun bulunmadığı anlaşılmaktadır (2,12,20).

Bu nedenle uzun süre Cs tedavisi olan hastalarda düzenli renal fonksiyon testlerinin yanısıra belirli aralarla yapılacak renal biyopsiler, hem gelişen nefrotoksisitenin tipini ve derecesini belirleme, hem de irreversibl renal hasarları önleyebilme açısından faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Backman L., Brandt I., Dallner G.: Tissue distribution of cyclosporine in mice. *Transplant Proc.* 20 (2): 684-691. 1988.
- Backman J., Sundelin B., Bohman S.O.: Chronic renal lesions in rats after long term treatment with cyclosporine A. *Transplant Proc.* 22: 1, 133-34, 1990.
- Baker B.S., Griffiths C.E.M., Lambert S.: The effects of cyclosporin A on lymphocytes and dendritic cell subpopulation in psoriasis. *Br. J. Dermatol.* 116: 503-10, 1987.
- Boland J., Atkinson K., Britton K., Daveniza P., Johnson S.: Tissue distribution and toxicity of cyclosporin A in the mouse. *Pathology* 16 (2): 117-23, 1983.
- Bowles C., Gabriel S., Bunch T., Handwerker B.S.: Cyclosporin treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 30 (4): 58, 1987.
- Farthing M.T.G., Clark M.: Nature of the toxicity of cyclosporine A in the rat. *Biochem Pharmacol.* 30: 3311-16, 1981.
- Jackson N.M., Hsu C., Visscher G.E.: Alterations in renal structure and function in a rat model of cyclosporine nephrotoxicity. *The J Pharm Exp Therapeutics.* 242: 2.749-56, 1987.
- Kahan B.D.: Cyclosporin A: A selective anti T cell agent. *Clin Haematol.* 11: 743, 1982.
- Klintmalm G., Bohman S.O., Sundelin B.: Interstisyel fibrozis in renal allografts after 12 to 46 months of cyclosporin treatment. Beneficial effect of low doses in early post-transplantation period. *Lancet.* 2: 950, 1984.
- Leithner C., Schwarz M., Sinzinger H.: Limited value of III Indivine platelet scintigraphy in renal transplant patients receiving cyclosporine. *Clin Nephrol* 25: 141, 1986.
- Makowka L., Lopatin W., Gilas T., Falk J., Phillips M.J.: Prevention of cyclosporine nephrotoxicity by synthetic prostaglandins. *Clin Nephrol* 25 (1): 89-94, 1986.
- Mihatsch M.J., Ryffel B., Hermle M.: Morphology of cyclosporine nephrotoxicity in the rat. *Clin Nephrol.* Vol 25.1: 2-8, 1986.
- Mihatsch M.J., Thiel G., Basler V.: Morphological patterns in cyclosporine treated renal recipient. *Transplant Proc.* 17: 101, 1985.
- Mihatsch M.J., Thiel G., Ryffel B.: Histopathology of cyclosporine nephrotoxicity. *Transplant Proc.* 20: 3, 759-71.
- Mihatsch M.J., Thiel G., Ryffel B.: Morphology of cyclosporin nephropathy. *Prog Allergy.* 38: 447, 1986.
- Mihatsch M.J., Thiel G., Spichtin H.P.: Morphological findings in kidney transplant after treatment with cyclosporine. *Transplant Proc.* 15: 2821, 1983.
- Morris P.J.: Some experimental and clinical studies of cyclosporine A in renal transplantation. *Transplant Proc.* 14: 525, 1982.
- Neild G.N., Reuben R., Hartley R.B.: Glomerular thrombi in renal allografts associated with cyclosporin treatment. *J Clin Pathol.* 38: 253, 1985.
- Nyeberg H.R., Gyerstad L.: Immunopharmacological treatment in myasthenia gravis. *Transplant Proc.* 20 (3): 201-10, 1988.
- Palastine A.G., Austin H.A., Balow J.E.: Renal histopathologic alterations in patients treated with cyclosporine for uveitis. *New Engl J Med.* 314: 20, 1293-97, 1986.
- Stiller C.R., Dupre J., Gent M., Jenner M.R.: Effects of cyclosporine immunosuppression in insulin-dependent diabetes mellitus on recent onset. *Science.* 223: 1362, 1984.
- Thiel G.: Experimental cyclosporine A nephrotoxicity: a sum mary of the international workshop. *Clin Nephrol.* 25 (1): 205-210, 1986.
- White D.J.G., Calne R.Y.: The use of cyclosporin A immunosuppression in organ grafting. *Immunol Rev.* 65: 115, 1982.
- Whiting P.H., Simpson J.G., Davidson R.J.L.: Pathological changes in rats receiving cyclosporin A at immunotherapeutic dosage for 7 weeks. *Br J Exp Pathol.* 64: 4, 737-44, 1983.
- Whiting P.H., Thomson A.W., Simpson J.G.: Cyclosporine toxicity, metabolism and drug interactions. Implications from animal studies. *Transplant Proc.* 4 (1): 133-44, 1985.