

Siklosporin ve takrolimus (FK506) uygulamasının, sıçanlarda yeni oluşan ateroskleroz ve lipid profiline etkisi

The effect of application of cyclosporin and tacrolimus (FK506) on newly formed atherosclerosis and lipid profile in rats

Atalay Mete,¹ Mehmet Erdem Memetoğlu,¹ Ozan Erbasan,¹ İrem Hicran Özbudak,²
İlhan Gölbaş,¹ Cengiz Türkay,¹ Ömer Bayezid¹

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, ²Patoloji Anabilim Dalı, Antalya

Amaç: Bu çalışmada, siklosporin ve takrolimusun (FK506) Apo E^{-/-} sıçanlarda yeni oluşan de novo ateroskleroz üzerine olan etkisi, karşılaştırmalı olarak incelendi.

Çalışma planı: Çalışmada kullanılacak olan Apo E^{-/-} sıçanlar üç gruba ayrıldı; grup 1'deki sıçanlara (kontrol grubu; n=6) dört hafta süresince günlük 0.5 cc zeytinyağı, grup 2'deki (n=4) sıçanlara dört hafta süresince günlük 0.5 cc zeytinyağıyla birlikte 10 mg/kg/gün siklosporin ve grup 3'teki (n=5) sıçanlara dört hafta süresince günlük 0.5 cc zeytinyağıyla birlikte 0.05 mg/kg/gün takrolimus oral yolla uygulandı. Dördüncü haftanın sonunda; sıçanların hematoksilen-eozin x100 ve x400 büyütmedeki ışık mikroskopisi incelemeleri yapıldı. Sıçanların aortundan alınan kan örneğinden her üç grubun total kolesterol, trigliserit ve HDL kolesterol değerleri karşılaştırıldı.

Bulgular: Gruplar arasında total kolesterol ve HDL kolesterol medyanları arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Siklosporin ve takrolimus gruplarındaki trigliserit değerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu fakat her iki grup arasında istatistiksel bir fark olmadığı görüldü. Işık mikroskopisi incelemelerinde; sıçanların ortak karotis arterlerinin intima ve media tabakasında genişleme, kalınlaşma, intima media oranı, aterom plak morfolojisi, endotelial deskuamasyon, subendotelial lipid birikimi, media tabakasındaki elastik lif yapılarında dejenerasyon, endotelial hücre diziliminde düzensizlik yönünden gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi. Siklosporin grubundan bir örnekte, parsiyel intimal kalınlaşma tespit edildi.

Sonuç: Siklosporin grubundan bir örnekte kolesterol düzeyinde anlamlı fark yok iken, intimal kalınlaşmanın tespit edilmesi; siklosporinin, hiperlipidemik etkisinden bağımsız olarak, doğrudan vasküler düz kas proliferasyonunu artırıcı etkisiyle aterosklerozu hızlandırabileceği düşüncesini akla getirdi.

Anahtar sözcükler: Kalp nakli; siklosporin; endotel; FK506; hiperkolesteremi; immünosüpresyon; sıçan; takrolimus; vasküler düz kas.

Background: The aim of this study was to analyse and compare the effects of cyclosporin and tacrolimus (FK506) on de novo atherosclerosis in Apo E^{-/-} rats.

Methods: These experimental Apo E^{-/-} rats were separated into three groups. Group 1 (control group; n=6) rats were fed 0.5 cc/day olive oil, group 2 rats (n=4) were treated with 10 mg/kg/day cyclosporin in a 0.5 cc olive oil diet for four weeks and group 3 rats (n=5) were treated with 0.05 mg/kg/day tacrolimus in a 0.5 cc olive oil diet for four weeks. At the end of the 4th week, morphological analyses were made with light microscope hematoxylin-eosine x100 and x400. Levels of total cholesterol, HDL cholesterol and triglycerides in these three groups were compared in blood samples obtained from the aorta of the rats.

Results: There was no statistical difference with respect to total cholesterol and HDL cholesterol levels between the groups. Triglyceride level was considerably higher in cyclosporin and tacrolimus group than in control group, but there was no statistical difference in both cyclosporin and tacrolimus groups. In the morphological analysis with light microscope, there was no difference with respect to widening, thickening, intima-media proportion, aterom plaque morphology, endothelial desquamation, deposition of sub-endothelial lipid, degeneration in elastic ligaments of media layers, abnormalities in endothelial cell composition in the intima and media layers of the common carotid artery. Partial intimal thickness was detected in one of the cyclosporin group sample.

Conclusion: There was intimal thickening in one of the subjects in cyclosporin group, while there was no significant difference in cholesterol level. This suggests that cyclosporin may potentiate atherosclerosis by stimulation of vascular smooth muscle cell proliferation independent of its hyperlipidemic effect.

Key words: Cardiac transplantation; cyclosporine; endothelium; FK506; hypercholesteremia; immunosuppressions; rat; tacrolimus; vascular smooth muscle.

Geliş tarihi: 10 Eylül 2009 Kabul tarihi: 1 Ekim 2009

Yazışma adresi: Dr. Atalay Mete. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, 46100 Kahramanmaraş. Tel: 0344 - 221 23 37 e-posta: atalaymete@gmail.com

Ateroskleroz, arteriyel duvarın kalınlaştığı, elastisitesini kaybettiği, damar endotelinde lokal lezyonların görüldüğü, kronik ilerleyici bir durumdur.^[1] Aterosklerozun patogenezi sürecinde çevresel, genetik, hemodinamik etkiler ve beslenme gibi birçok faktör rol alır. Hiperlipidemi, hipertansiyon, sigara, diyabetes mellitus ve şişmanlık gibi faktörlerin ateroskleroz sürecine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Aterosklerotik lezyonların oluşmasında makrofaj kökenli köpük (foam) hücreleri ve T lenfositler gibi inflamatuvar hücrelerin rol oynadığı gösterilmiştir.^[2,3]

İmmünsüpresif ajanlardan siklosporin ve takrolimus organ nakillerinde, rejeksiyonu önlemede kullanılan potent T lenfosit süpresörleridir. Hem siklosporin, hem de takrolimus, kalsinörin yolunu inhibe ederek immünsüpresif etkinliklerini gösterirler. Kalsinörin yolu, apoptosiz ve anjiyogenezisde de rol alır. Siklosporin ve takrolimusun aterosklerozu yavaşlattığını gösteren deneysel çalışmaların^[4-5] aksine, bu immünsüpresiflerin transplant aterosklerozun gelişmesinde rol oynadıklarını gösteren çalışmalar da vardır.^[6-7]

Bu çalışmada, siklosporin ve takrolimusun Apo E-/- sıçanlarda yeni oluşan de novo ateroskleroz üzerine etkisi karşılaştırmalı olarak incelendi. Böylece organ nakillerinde kullanılan bu ajanların, özellikle transplantasyonda, erken oluşan aterosklerotik lezyonlara olan olası etkilerinin ortaya konması amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada kullanılan Apo E-/- sıçanlar, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvan ve Araştırma Laboratuvarından temin edildi. Sıçanlar 8-10 haftalık olup, tümü erkekti. Çalışmadaki tüm sıçanlar, 'Laboratuvar Hayvanlarının Bakım ve Kullanımı Kılavuzuna' (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) uygun olarak insancıl bir muameleye tabi tutuldu. Çalışmada kullanılan Apo E-/- sıçanlar; kontrol grubunda altı, siklosporin grubunda dört ve takrolimus grubunda beş hayvan olacak şekilde üç gruba ayrıldı. Grup 1'deki sıçanlara (kontrol grubu; n=6) dört hafta süresince günlük 0.5 cc zeytinyağı, grup 2'deki sıçanlara (n=4) dört hafta süresince günlük 0.5 cc zeytinyağıyla birlikte 10 mg/kg/gün siklosporin (Sandimmun 25 mg kapsül; Novartis Ltd) ve grup 3'teki sıçanlara (n=5) dört hafta süresince günlük 0.5 cc zeytinyağıyla birlikte 0.05 mg/kg/gün takrolimus (Prograf 5 mg kapsül; Astellas) oral yolla uygulandı. Dördüncü haftanın sonunda sıçanlar, eter anestezisini takiben servikal dislokasyona maruz bırakıldı. Sıçanların kalp ve diyafram seviyesine kadar olan tüm aortları, hızlı bir şekilde çıkarıldı ve dokular %4'lük formaldehidde fikse edildi. Her hayvan aortundan bu işlem esnasında 1.5 cc kan örneği alındı ve üç grubun total kolesterol, trigliserit ve HDL kolesterol değerleri karşılaştırıldı. Dördüncü haftanın sonunda,

sıçanların hematoksilen-eozin x100 ve x400 büyütmedeki ışık mikroskopisi incelemelerinde; ortak karotis arterlerinin intima ve media tabakasında genişleme, kalınlaşma, intima media oranı, aterom plak morfolojisi, endotelial deskuamasyon, subendotelial lipid birikimi, media tabakasındaki elastik lif yapılarında dejenerasyon, endotelial hücre dizilimindeki düzensizlikler incelendi.

Grupların tanımlayıcı istatistikleri için ortalama ± standart sapma (SS) değerleri verildi. İstatistiksel analizlerde öncelikle üç grubun parametrelerinin medyanları Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan parametreler için ikili karşılaştırmalarda, Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U-testi kullanıldı. Sonuçlar p<0.05 değerleri için anlamlı kabul edildi. Tüm analizler için SPSS Windows için 15.0 versiyon (SPSS Inc., Chicago, Illionis, USA) paket programı kullanıldı.

BULGULAR

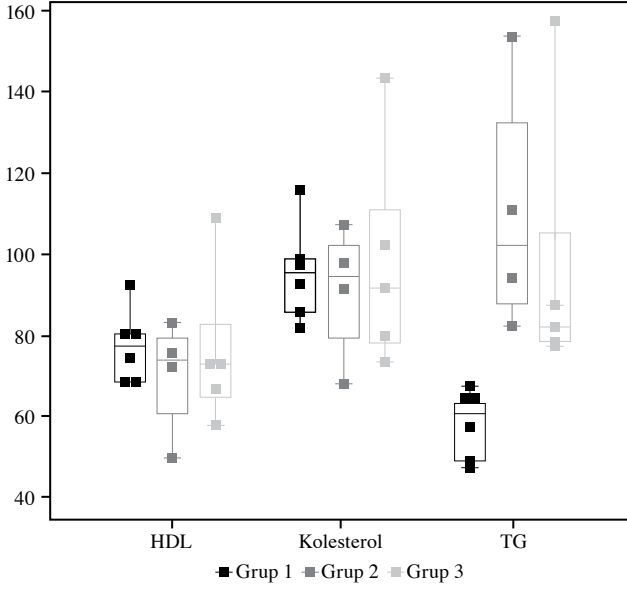
Yapılan istatistiksel analizlerde, üç grubun total kolesterol, trigliserit ve HDL kolesterol medyanları karşılaştırıldı. Kontrol grubu, siklosporin grubu ve takrolimus grubunun total kolesterollerinin ve HDL kolesterollerinin medyanları arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 1). Üç grubun trigliserit değerlerinin medyanları arasındaki fark testinde; en az iki grup arasında fark olduğu görüldü (p=0.005). Bu farkın hangi iki gruptan kaynaklandığını bulmak için yapılan ikili karşılaştırmalarda bulunan p değerleri Bonferroni düzeltmesi yapılarak; bulunan $\alpha=0.0017$ değeri ile kıyaslandı. Bunun sonucunda, kontrol grubunun trigliserit medyanının, hem siklosporin grubu (p=0.010) hem de takrolimus grubunun (p=0.006) medyanından farklı olduğu görüldü. Siklosporin ve takrolimus gruplarındaki trigliserit değerlerinin; kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu fakat siklosporin ve takrolimus gruplarının trigliserit değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü (Şekil 1).

Hematosilen-eozin x 100 ve x 400 büyütmedeki ışık mikroskopisi incelemelerinde; sıçanların ortak karotis arterlerinin intima ve media tabakasında genişleme, kalınlaşma, intima media oranı, aterom plak morfolojisi,

Tablo 1. Grupların total kolesterol, trigliserit ve HDL kolesterol değerleri

Gruplar	Total kolesterol	Trigliserit	HDL kolesterol
	Ort.±SS	Ort.±SS	Ort.±SS
Kontrol	95.7±12.0	57.8±7.7	77.5±9.1
Siklosporin	91.0±16.7	110.3±31.5	70.0±14.7
Takrolimus	97.8±27.9	97.2±35.3	76.6±20.7

Ort.±SS: Ortalama ± standart sapma; HDL: High density lipoprotein.



Şekil 1. Gruplara göre kolesterol ve trigliserit ortalama değerlerinin dağılımı. Grup 1: Kontrol grubu; Grup 2: Siklosporin grubu; Grup 3: Takrolimus grubu; HDL: High density lipoprotein; TG: Trigliserit.

endotelial deskuamasyon, subendotelial lipid birikimi, media tabakasındaki elastik lif yapılarında dejenerasyon, endotelial hücre diziliminde düzensizlik yönünden gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi (Şekil 2, 3). Siklosporin grubundan bir örnekte, parsiyel intimal kalınlaşma tespit edildi (Şekil 4).

TARTIŞMA

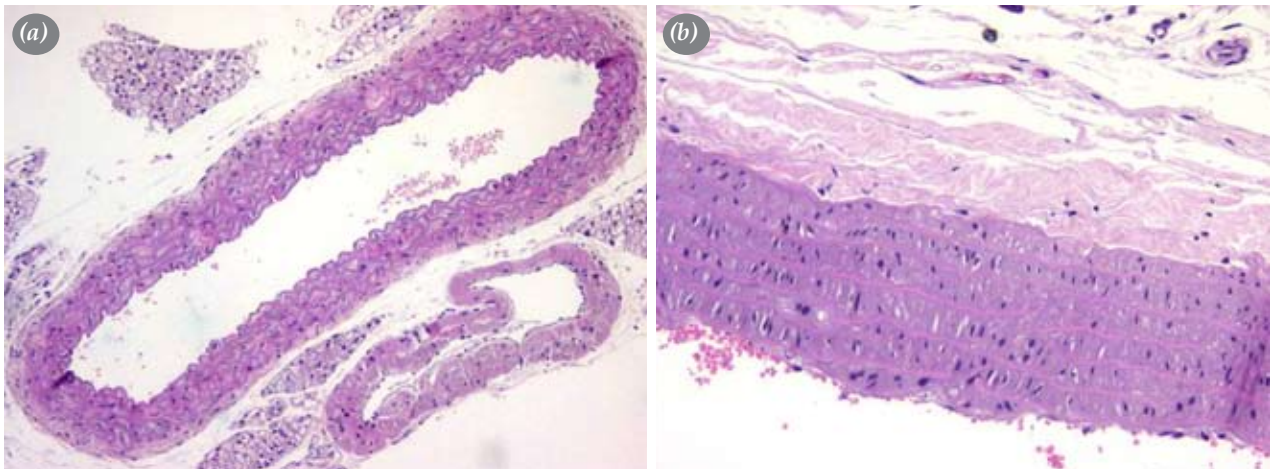
Ateroskleroz kronik inflamatuvar bir süreçtir. Aterosklerotik lezyonların oluşmasında T lenfositlerin etki ve varlığı birçok çalışmada gösterilmiştir.^[1-3] Aktive T yardımcı lenfositler, özellikle erken dönem aterom plaklarında tespit edilmiştir. Aterosklerotik lezyonlarda, T lenfosit miktarı, bölgesel olarak değişmekle birlikte, insanlarda fibröz başlığın (cap) yaklaşık %20 kadarını

oluştururlar.^[8,9] Aterosklerotik plakta düz kas hücreleri (smooth muscle cells; SMCs) ve makrofajlar; aktive T lenfositler tarafından uyarılan ve hücre yüzey proteinlerinden biri olan, class II MHC (major histocompatibility complex) genini de eksprese ederler.^[8]

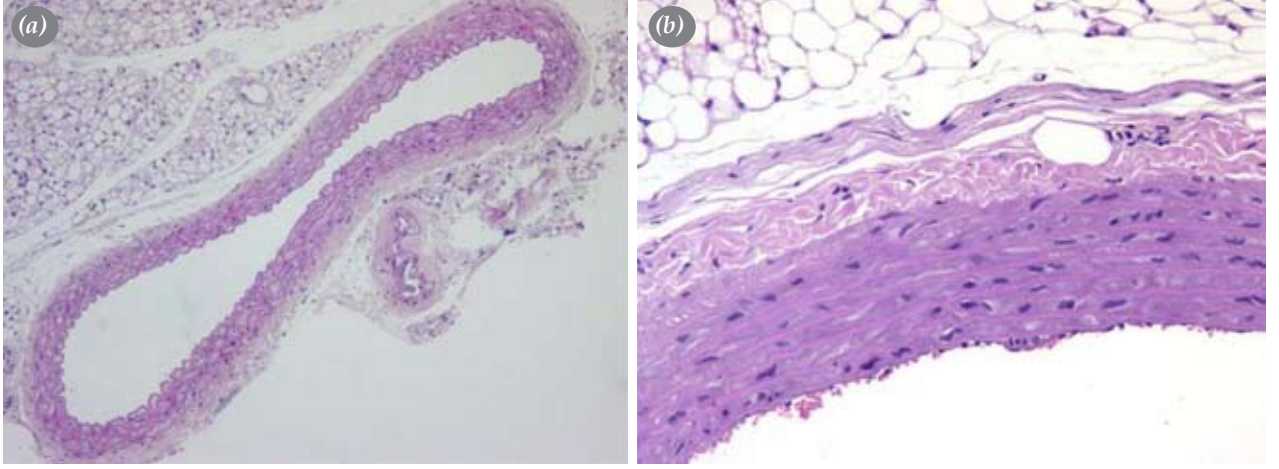
İmmünsüpresif ajanlardan siklosporin ve takrolimus (FK506), organ nakillerinde rejeksiyonu önlemede kullanılan potent T lenfosit süpresörleridir. Hem siklosporin, hem de takrolimus, kalsinörin yolunu inhibe ederek immünsüpresif etkinliklerini gösterirler.^[10] Siklosporin ve takrolimusun T lenfositleri üzerine olan inhibisyon etkisi; bu hücrelerin aterojenik süreçteki yerlerini açıklamada yol gösterici olmuştur.

Takrolimus, siklosporin gibi, T hücre kaynaklı interlökin-2 (IL-2), IL-3 ve interferon gama (IFN-gama) gibi mediatörleri inhibe eder. Takrolimusun, lenfokin ve IL-2 reseptörüne yaptığı etkinin, siklosporine göre 100 kat daha az konsantrasyonda olduğu bildirilmiştir. Organ nakillerinde takrolimusun kronik kullanımında hiperlipidemi ve hipertansiyon gibi aterosklerotik risk faktörleri siklosporine göre daha az görülür.^[11] İmmünsüpresif ajan olarak takrolimus kullanılan organ nakillerinden böbrek nakil hastalarında serum kolesterol seviyeleri düşük bulunurken, karaciğer, akciğer ve kalp nakil hastalarında takrolimusun antihiperlipidemik etkisinin daha belirgin olduğu belirtilmiştir.^[12,13]

Donners ve ark.,^[14] takrolimusun kalsinörün inhibisyonu ile, sıçanlarda, sistemik immünsüpresif etkisinden bağımsız olarak, doğrudan plak fenotipine etki ettiğini göstermişlerdir. Bu çalışmada kullanılan düşük doz takrolimus ile (0.05 mg/kg/gün) kalsinörün inhibisyonu ile ateroskleroz gelişimi ve plak progresyonu önlenmiştir. Yine bu çalışmada takrolimusun, nekrotik çekirdek (core) ihtivasını azaltarak, daha stabil plak fenotipi oluşturduğu ve hücre yoğunluğunu, kollajen ihtivasını artırarak plak progresyonunu önlediği gösterilmiştir.



Şekil 2. Kontrol grubu sıçanların ışık mikroskopisindeki görünümü (a) (H-E x 100), (b) (H-E x 400).



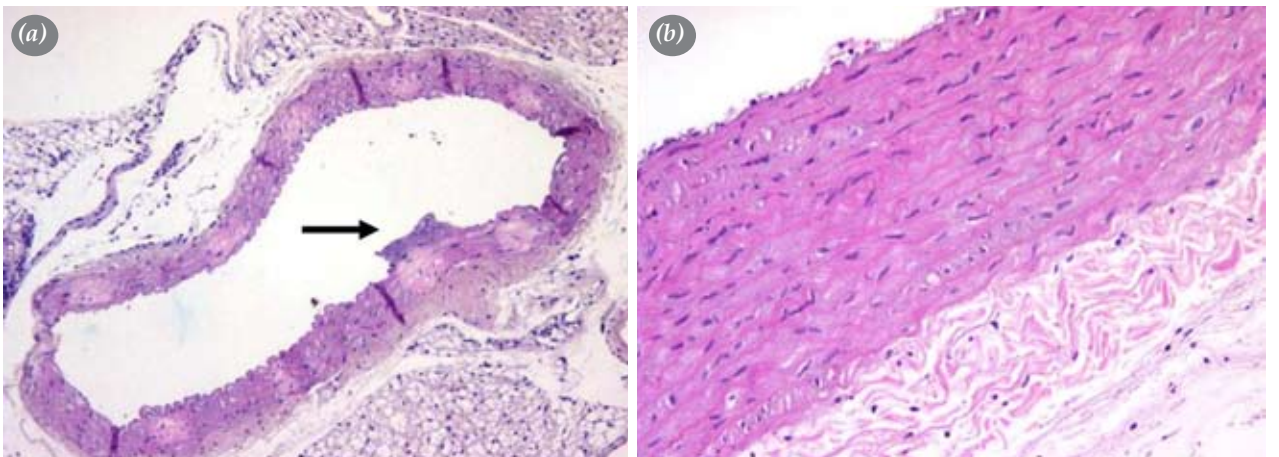
Şekil 3. Takrolimus grubu sıçanların ışık mikroskopisindeki görünümü (a) (H-E x 100), (b) (H-E x 400).

Bu bulgular; daha önce yapılan in vitro çalışmalarda ki, takrolimusun vasküler düz kas hücre apoptozisini önlediği düşüncesiyle uyumludur.^[15,16] Bu çalışmalarda takrolimusun makrofaj apoptozisini etkilemediği ve plak makrofaj sayısının değişmediği gösterilmiştir.

Takrolimusun ateroskleroz üzerine etkisiyle ilgili yapılan birçok çalışmada birbiriyle çelişen sonuçlar elde edilmiştir. Wu ve ark.^[4] ile Cramer ve ark.^[17] takrolimusun, posttransplant sıçanlarda ateroskleroz gelişiminde inhibitör etkisini ortaya koyarken, Matsumoto ve ark.^[6] kolesterol zengin diyetle beslenen tavşanlarda, takrolimusun kolesterol düzeyinden bağımsız olarak makrofaj kökenli köpük hücrelerin, aortik intimada akümüasyonunu artırdığını ve dolayısıyla aterosklerozu stimüle ettiğini bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmada kullanılan takrolimus dozu (0.1 mg/kg/gün), diğer çalışmalara göre yüksektir. Bu sonuçlar, ateroskleroz lehinde veya aleyhindeki farklı sonuçların, takrolimus dozuyla ilgili olabileceği düşüncesini ortaya koymaktadır. Transplantasyon yapılan hastalarda yüksek doz

takrolimus kullanımının, ateroskleroz gelişimini stimüle edebileceği düşünülmektedir. Biz çalışmamızda, takrolimus verilen sıçanların morfolojik incelemesinde ateroskleroz gelişimini düşündürecek histolojik bulguların varlığını tespit edemedik.

Ferns ve ark.^[18] siklosporinin, in vivo olarak balon yaralanmasına maruz bırakılan de-endothelizede tavşan karotis arterlerinde, vasküler düz kas proliferasyonunu artırarak, intima kalınlığını artırdığını göstermişlerdir. Buna karşılık Jonasson ve ark.^[19] siklosporinin, intimal düz kas hücre proliferasyonunu süprese ettiğini göstermişlerdir. Ancak, bu çalışmalardaki travmaya vasküler intima yanıtı; kronik aterosklerotik süreçten farklı olarak, akut hayvan deney modelleri olduğu unutulmamalıdır. Siklosporinin in vitro çalışmalarda, düz kas hücre proliferasyonuna doğrudan etki etmediği, siklosporin uygulamasını takiben endotel hücre kaynaklı düz kas hücre proliferasyonunun inhibe olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla siklosporinin, doğrudan endotel hücrelerine etki ettiği düşünülmüştür.^[20] Biyokimyasal olarak;



Şekil 4. Siklosporin grubu sıçanların ışık mikroskopisindeki görünümü, parsiyel intimal kalınlaşma görülmektedir (a) (H-E x 100), (b) (H-E x 400).

siklosporin, insan lipoprotein metabolizması üzerinde, LDL-kolesterol, trigliserit, VLDL ve apoprotein B seviyelerini artırırken, HDL-kolesterol ve apoprotein A-1 seviyelerini azaltır.^[21,22] Ayrıca siklosporinin, hücre membran hidrofobitesini artırarak, membran akışkanlığını bozduğu ve sonuç olarak LDL klirensini azalttığı gösterilmiştir.^[23] Endotelial permeabilitenin etkilenmesi; proteoglikanların subendotelial boşlukta birikmesine yol açarak, aterosklerotik lezyonlara neden olabilir.

Emeson ve Shen,^[24] siklosporin verilen hayvanlarda, daha geniş aterosklerotik plaklar oluşturmak için hiperlipidemik sıçanlar kullanmışlardır. Bu çalışmada; plak oluşumları 4-8 ay içinde izlenmiştir. Siklosporinin, kolesterolden zengin diyetle beslenen C57BL/6 sıçanlarda, yağlı çizgilenme formasyonunu artırarak, aterosklerotik süreci hızlandırabileceği düşünülse de bu etkinin siklosporinin olası yan etkilerinden hiperlipidemi, artmış LDL oksidasyonu ve hipertansiyonla olan ilişkisi tam olarak gösterilememiştir. Drew ve Tipping^[5] siklosporinin kolesterolden zengin diyetle beslenen tavşanlarda, aortik aterom plak gelişimini ve köpük hücre birikimini önlediğini göstermişlerdir. Siklosporin uygulanmayan grupta alınan aortik doku örneklerinde; siklosporin uygulanan grubun aksine, belirgin T hücre infiltrasyonu izlenmiş ve T lenfositlerin yeni oluşan aterom plağa, neo-antijen gibi davrandığı belirtilmiştir.

Çalışmamızda, sıçanların hematoksilen-eozin x100 ve x400 büyütmedeki ışık mikroskopisi incelemelerinde; çıkan, arkus ve inen aort arterlerinin intima ve media tabakalarında genişleme, kalınlaşma, intima media oranı, aterom plak morfolojisi, endotelial deskuamasyon, subendotelial lipid birikimi, media tabakasındaki elastik lif yapılarında dejenerasyon, endotelial hücre dizilimi yönünden anlamlı olarak fark tespit edilemedi ancak siklosporin grubundan bir doku örneğinde, parsiyel intimal kalınlaşma görüldü. Siklosporin grubunda bir örnekte tespit edilen parsiyel intimal artış, Ferns ve ark.nın^[18] bulgularıyla uyumluydu. Ancak çalışmamızda dikkat çeken nokta, diğer hayvan çalışmalarından farklı olarak, siklosporin ve takrolimus gruplarında görülen izole trigliserit yüksekliğidir. Dört haftalık çalışma süresinin sonunda kolesterol değerleri yönünden anlamlı fark görülmezken, her iki immünesüpresif ilaç grubunda da, kontrol grubuna göre trigliserit düzeyi yüksek tespit edildi. Siklosporin grubundan bir örnekteki intimal kalınlaşmanın kolesterol düzeyinde anlamlı fark bulunmazken tespit edilmesi; siklosporinin, aterojenik süreci doğrudan endotelial etkisiyle hızlandırabileceği düşüncesini akla getirmektedir.

KAYNAKLAR

1. Packard RR, Lichtman AH, Libby P. Innate and adaptive immunity in atherosclerosis. *Semin Immunopathol* 2009;31:5-22.

2. Hansson GK, Libby P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol* 2006;6:508-19.
3. Weber C, Zernecke A, Libby P. The multifaceted contributions of leukocyte subsets to atherosclerosis: lessons from mouse models. *Nat Rev Immunol* 2008;8:802-15.
4. Wu GD, Cramer DV, Chapman FA, Cajulis E, Wang HK, Starzl TE, et al. FK 506 inhibits the development of transplant arteriosclerosis. *Transplant Proc* 1991;23:3272-4.
5. Drew AF, Tipping PG. Cyclosporine treatment reduces early atherosclerosis in the cholesterol-fed rabbit. *Atherosclerosis* 1995;116:181-9.
6. Matsumoto T, Saito E, Watanabe H, Fujioka T, Yamada T, Takahashi Y, et al. Influence of FK506 on experimental atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 1998;139:95-106.
7. Roselaar SE, Schonfeld G, Daugherty A. Enhanced development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits by suppression of cell-mediated immunity. *J Clin Invest* 1995;96:1389-94.
8. Munro JM, van der Walt JD, Munro CS, Chalmers JA, Cox EL. An immunohistochemical analysis of human aortic fatty streaks. *Hum Pathol* 1987;18:375-80.
9. Hansson GK, Seifert PS, Olsson G, Bondjers G. Immunohistochemical detection of macrophages and T lymphocytes in atherosclerotic lesions of cholesterol-fed rabbits. *Arterioscler Thromb* 1991;11:745-50.
10. Plosker GL, Foster RH. Tacrolimus: a further update of its pharmacology and therapeutic use in the management of organ transplantation. *Drugs* 2000;59:323-89.
11. Reichart B, Meiser B, Viganò M, Rinaldi M, Martinelli L, Yacoub M, et al. European Multicenter Tacrolimus (FK506) Heart Pilot Study: one-year results-European Tacrolimus Multicenter Heart Study Group. *J Heart Lung Transplant* 1998;17:775-81.
12. Todo S, Fung JJ, Starzl TE, Tzakis A, Demetris AJ, Kormos R, et al. Liver, kidney, and thoracic organ transplantation under FK 506. *Ann Surg* 1990;212:295-305.
13. Pirsch JD, Miller J, Deierhoi MH, Vincenti F, Filo RS. A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 1997;63:977-83.
14. Donners MM, Bot I, De Windt LJ, van Berkel TJ, Daemen MJ, Biessen EA, et al. Low-dose FK506 blocks collar-induced atherosclerotic plaque development and stabilizes plaques in ApoE^{-/-} mice. *Am J Transplant* 2005;5:1204-15.
15. De Windt LJ, Lim HW, Taigen T, Wencker D, Condorelli G, Dorn GW 2nd, et al. Calcineurin-mediated hypertrophy protects cardiomyocytes from apoptosis in vitro and in vivo: An apoptosis-independent model of dilated heart failure. *Circ Res* 2000;86:255-63.
16. Kim MJ, Jo DG, Hong GS, Kim BJ, Lai M, Cho DH, et al. Calcipain-dependent cleavage of cain/cabin1 activates calcineurin to mediate calcium-triggered cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:9870-5.
17. Cramer DV, Chapman FA, Wu GD, Harnaha JB, Qian SQ, Makowka L. Cardiac transplantation in the rat. II. Alteration of the severity of donor graft arteriosclerosis by modulation of the host immune response. *Transplantation* 1990;50:554-8.

18. Ferns G, Reidy M, Ross R. Vascular effects of cyclosporine A in vivo and in vitro. *Am J Pathol* 1990;137:403-13.
19. Jonasson L, Holm J, Hansson GK. Cyclosporin A inhibits smooth muscle proliferation in the vascular response to injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:2303-6.
20. Leszczynski D, Zhao Y, Yeagley TJ, Foegh ML. Direct and endothelial cell-mediated effect of cyclosporin A on the proliferation of rat smooth muscle cells in vitro. *Am J Pathol* 1993;142:149-55.
21. Stamler JS, Vaughan DE, Rudd MA, Mudge GH, Kirshenbaum J, Young P, et al. Frequency of hypercholesterolemia after cardiac transplantation. *Am J Cardiol* 1988; 62:1268-72.
22. Galle J, Schollmeyer P, Wanner C. Cyclosporin and oxidized low density lipoproteins synergistically potentiate vasoconstriction: influence of the endothelium. *Eur Heart J* 1993;14 Suppl I:111-7.
23. Seki Y, Toba K, Fuse I, Sato N, Niwano H, Takahashi H, et al. In vitro effect of cyclosporin A, mitomycin C and prednisolone on cell kinetics in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Thromb Res* 2005;115:219-28.
24. Emeson EE, Shen ML. Accelerated atherosclerosis in hyperlipidemic C57BL/6 mice treated with cyclosporin A. *Am J Pathol* 1993;142:1906-15.