

Glycerol이 흰쥐 신피질에서의 산소유리기반응과 신기능에 미치는 영향

고현철 · 신인철*

한양대학교 의과대학 약리학교실

Effects of Glycerol on the Oxygen Free Radical Reactions and Renal Functions in the Renal Cortex of Rats

Hyun Chul KOH and In Chul SHIN*

Department of Pharmacology, College of Medicine, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

(Received October 25, 1995; accepted November 29, 1995)

Abstract—In an attempt to define the early biochemical determinants that participate in the pathogenesis of glycerol-induced nephrotoxicity, especially focusing on oxygen free radicals, we studied malondialdehyde (MDA) level and the activities of catalase and superoxide dismutase in the renal cortex of rats, and the concentrations of blood urea nitrogen(BUN) and serum creatinine of rats at 24hr after the injection of a 50% solution of glycerol. Sprague-Dawley albino rats weighing 240 to 260 mg were injected intramuscularly with a 50% solution of glycerol(2 ml/kg, 4 ml/kg and 8 ml/kg). The group treated with glycerol showed significantly higher MDA level and catalase activity, lower SOD activity and higher BUN and serum creatinine concentrations at 24 hr after the injection as compared to those of control group. These results suggest that the excessive oxygen free radicals resulting from the depression of SOD activity is an important determinant in the pathogenesis of glycerol-induced nephrotoxicity.

Keywords □ glycerol, nephrotoxicity, oxygen free radicals, malondialdehyde(MDA), catalase, superoxide dismutase(SOD), blood urea nitrogen(BUN), serum creatinine

Glycerol은 경구투여시에는 점활제(demulcent), 완하제(laxative) 및 안압강하제로 이용되고, 정맥주사시에는 뇌압강하제로 이용되고, 직장주사나 좌약으로 투여시에는 연동운동 항진제와 대장설사제로 이용되며, 국소투여시에는 피부연화제와 용매 매개물로 쓰이고 있는 화학물질로서 유해작용으로 경구투여시에는 두통, 구토 및 과혈당증 등이, 주사시에는 경련, 마비, 용혈 및 신부전 등이 나타난다(Gilman 등, 1990). Bywaters와 Beall(1941)은 골격근 손상의 중요한 임상 속발증으로 myoglobin뇨증을 수반하는 근육용해인 횡문근 변성(rhabdomyolysis)을 보고하였고, 횡문근 변성이 오래 지속되면 신부전이 생긴다고 하였다(Grossman 등, 1974; Koffler 등, 1976; Knochel, 1981; Gabow 등, 1982; Paller, 1988). 횡문근 변성은 정상인에서도 과격한 운동 후 발생할 수 있으며(Olerud 등, 1975), 횡문근 변성에 의한 급성 신

부전 모형으로 가장 광범위하게 응용되는 것은 고장성 glycerol의 근육주사로서, 그 결과 근세포 괴사와 myoglobin뇨증이 생겨 국소적으로 체액 축적이 생긴다(Hosletter 등, 1983).

호기성 세포에서는 superoxide radical(O_2^-), hydroxyl radical(OH^\cdot) 및 hydrogen peroxide(H_2O_2)가 발생될 수 있으며, 어떤 유해물질이나 약물 등에 폭로되었을 때나 병적 상태에서는 이들이 과다하게 생성되어 조직에 치명적인 손상을 입힐 수 있다(Goldberg와 Stern, 1977; Simon 등, 1981; Moody와 Hassan, 1982; Weiss와 Lobuglio, 1982; Fantone와 Ward, 1985; Baud와 Ardaillou, 1986; Junqueira 등, 1986; Weiss, 1986). Guidet와 Shah(1989)는 glycerol 유발 신부전이 생긴 흰쥐에서 hydrogen peroxide의 생성이 증가되었다고 하였고, Shah와 Walker(1988)는 hydroxyl radical이 glycerol 유발 신부전의 한 원인이라고 보고하였으므로 본 연구에서는 흰쥐에서 glycerol 유발 신독성과 oxygen free radicals와의

* To whom correspondence should be addressed.

관계를 규명하여 glycerol 유발 신독성에 대한 지견을 얻고자 실험을 시도하였다.

실험방법

실험동물은 체중 240~260 mg의 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였으며 실험기간중 사료와 물은 임의로 섭취하게 하였다. 흰쥐 7마리씩을 한 군으로 하여 glycerol (50% 용액, Sigma사) 을 체중 kg당 2 ml, 4 ml 및 8 ml씩 1회 양 뒷다리에 각각 반씩 근육 주사한 동물을 실험군으로 하였고 동량의 생리식염수를 주사한 동물을 대조군으로 하였다. Glycerol 주사종료 24시간 후에 동물을 단두도살한 후 혈액을 채취하고, 개복하여 phosphate buffered saline(PBS)을 복부동맥을 통해 오른쪽 신장내로 관류시킨 후 오른쪽 신장을 떼어내어 피질과 수질로 분리하였다. 피질을 pellet pestle tube에 넣고 potassium phosphate buffer(pH 7.3)로 균질화(homogenization) 시킨 후 초음파 세포막 분쇄기(ultrasonic cell membrane disruptor, Sonics & Materials Co., Danbury, USA)로 세포막을 파괴 하였다. Thiobarbituric acid를 이용한 방법(Shah 등, 1983)으로 bovine serum albumin(BSA)을 표준으로하여 534 nm에서 그 흡광도를 분광광도계(Gilford 260, Ohio, USA)로 측정하여 지질 과산화 정도를 malondialdehyde(MDA) 함량으로 측정 하였고, KMnO_4 적정을 이용한 방법(Cohen, 등, 1970)으로 480 nm에서 그 흡광도를 분광광도계(Gilford 260, Ohio, USA)로 측정하여 catalase 활성도를 측정하였다. Catalase 활성도는 1차등급 반응상수인 k 로 표현될 수 있으며 그 식은 다음과 같다.

$$k = \log(S_0/S_t) \times 2.3/t$$

여기서 t 는 반응시간(minutes)이고, S_0 는 H_2O_2 의 초기 농도, S_t 는 H_2O_2 의 t 분배의 농도를 의미한다. 그리고 pyrogallol의 autoxidation 억제제를 이용한 Marklund와 Marklund(1974)의 방법으로 bovine kidney SOD를 표준으로 하여 420 nm에서 그 흡광도를 분광광도계 (Gilford 260, Ohio, USA)로 측정하여 superoxide dismutase (SOD) 활성도를 측정하였다. MDA 함량과 catalase와 SOD 활성도의 분석은 mg 단백질에 대한 함량과 활성

도로 표현되며, 단백질은 Lowry법(Lowry 등, 1951)으로 측정하였다. Blood urea nitrogen(BUN)과 혈청 creatinine 농도는 자동화학 분석기(Gilford SBA-300, Ohio, USA)로 측정하였다.

Student's t-test를 이용하여 통계처리하였고, 각 데이터는 평균±표준편차로 나타내었다.

실험결과

MDA 함량 (nmol/mg protein)

대조군에서는 3.09 ± 0.38 이고, glycerol(50% 용액) 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 3.50 ± 0.32 (대조치의 113%), 4.09 ± 0.59 (대조치의 132%), 6.23 ± 0.87 (대조치의 202%)로 glycerol 2 ml 투여군에서는 $p < 0.01$, 4 ml와 8 ml 투여군에서는 $p < 0.005$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 증가되었다(Table I, Fig. 1).

Catalase 활성도 (k/mg protein)

대조군에서는 54.66 ± 14.46 이고, glycerol(50% 용액) 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 165.27 ± 27.05 (대조치의 302%), 69.33 ± 18.49 (대조치의 127%), 222.36 ± 33.88 (대조치의 407%)로 glycerol 2 ml와 8 ml 투여군에서 $p < 0.005$ 로 모두 공히 유의하게 증가되었다 (Table I, Fig. 2).

Superoxide dismutase 활성도 (unit/mg protein)

대조군에서는 17.29 ± 0.59 이고, glycerol(50% 용액) 2

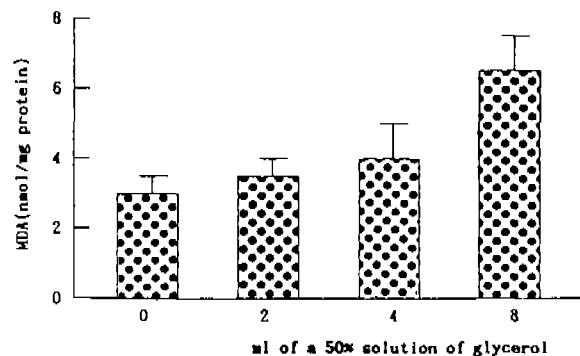


Fig. 1. Malondialdehyde (MDA) level in the renal cortex of rats treated with glycerol. Results are expressed as means±S.D..

Table I. Effects of glycerol on the malondialdehyde(MDA) level, catalase activity and superoxide dismutase(SOD) activity in the renal cortex of rats.

	Control	Glycerol-treated		
		2 ml	4 ml	8 ml
MDA level (nmol/mg protein)	3.09 ± 0.38	$3.50 \pm 0.32^*$	$4.09 \pm 0.59^{**}$	$6.23 \pm 0.87^{**}$
Catalase activity (k/mg protein)	54.66 ± 14.46	$165.27 \pm 27.05^{**}$	69.33 ± 18.49	$222.36 \pm 33.88^{**}$
SOD activity (unit/mg protein)	17.29 ± 0.59	$15.80 \pm 1.35^*$	$14.65 \pm 2.68^{**}$	$11.89 \pm 3.43^{**}$

Glycerol (50% solution) was injected intramuscularly. The k is the first-order rate constant. The data represent the means±S.D.

* $p < 0.01$ (n=7) vs Control ** $p < 0.005$ (n=7) vs Control.

ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 15.80 ± 1.35 (대조치의 91%), 14.65 ± 2.68 (대조치의 85%), 11.89 ± 3.43 (대조치의 69%)로 glycerol 2 ml 투여군에서는 $p < 0.01$, 4 ml와 8 ml 투여군에서는 $p < 0.005$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 감소되었다(Table I, Fig. 3).

BUN 농도 (mg/dl)

대조군에서는 13.55 ± 0.71 이고, glycerol(50% 용액) 2

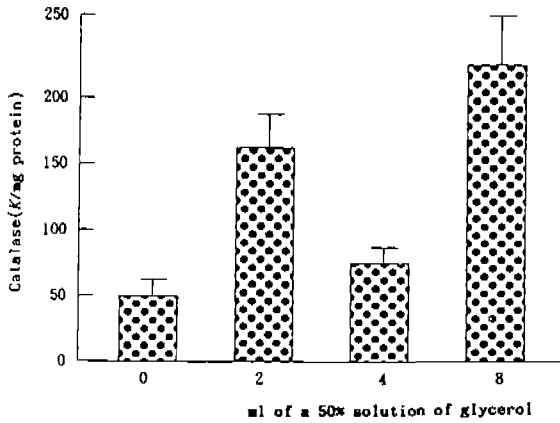


Fig. 2. Catalase activity in the renal cortex of rats treated with glycerol. Results are expressed as means \pm S.D..

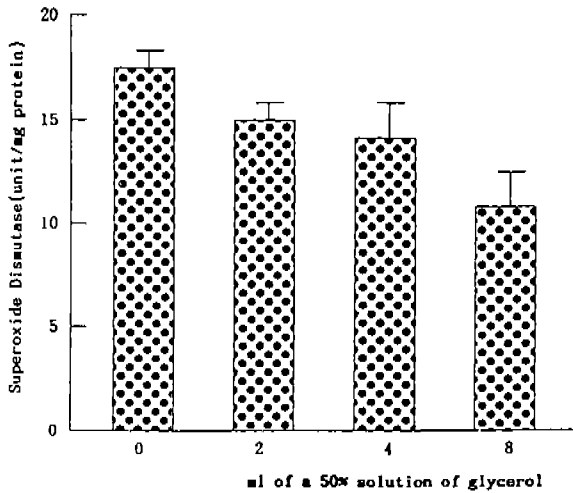


Fig. 3. Superoxide dismutase activity in the renal cortex of rats treated with glycerol. Results are expressed as means \pm S.D..

ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 19.56 ± 2.77 (대조치의 144%), 23.70 ± 3.41 (대조치의 175%), 35.44 ± 4.48 (대조치의 262%)로 glycerol 투여군에서 $p < 0.005$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 증가되었다 (Table II, Fig. 4).

혈청 creatinine 농도 (mg/dl)

대조군에서는 0.48 ± 0.04 이고, glycerol(50% 용액) 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 0.60 ± 0.07 (대조치의 125%), 0.65 ± 0.05 (대조치의 135%), 1.14 ± 0.24 (대조치의 238%)로 glycerol 2 ml 투여군에서는 $p < 0.01$, 4 ml와 8 ml 투여군에서는 $p < 0.005$ 로 모두 공히 용량

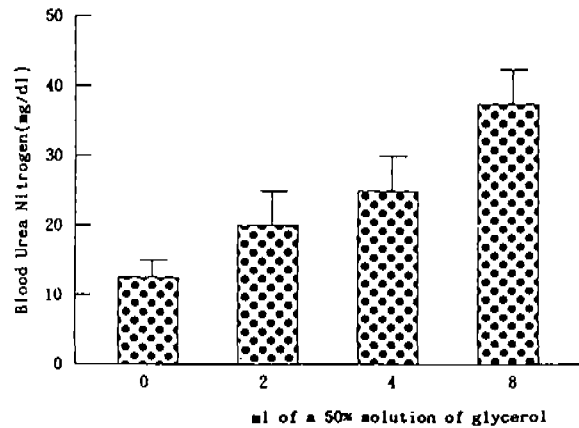


Fig. 4. Blood urea nitrogen concentration of rats treated with glycerol. Results are expressed as means \pm S.D..

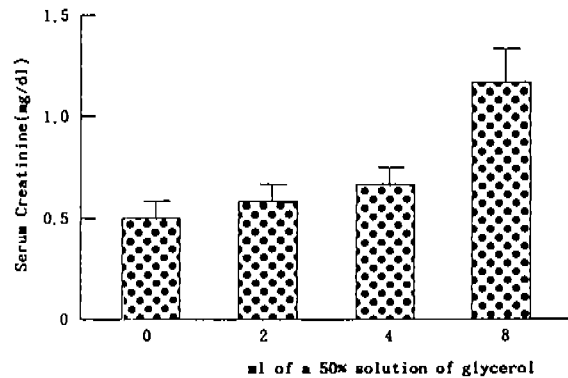


Fig. 5. Serum creatinine concentration of rats treated with glycerol. Results are expressed as means \pm S.D..

Table II. Effects of glycerol on the concentrations of blood urea nitrogen(BUN) and serum creatinine of rats.

	Control	Glycerol-treated		
		2 ml	4 ml	8 ml
BUN (mg/dl)	13.55 ± 0.71	$19.56 \pm 2.77^{**}$	$23.70 \pm 3.41^{**}$	$35.44 \pm 4.48^{**}$
serum creatinine (mg/dl)	0.48 ± 0.04	$0.60 \pm 0.07^*$	$0.65 \pm 0.05^{**}$	$1.14 \pm 0.24^{**}$

Glycerol (50% solution) was injected intramuscularly. The data represent the means \pm S.D.. * $p < 0.01$ (n=7) vs Control ** $p < 0.005$ (n=7) vs Control.

의존적으로 유의하게 증가되었다 (Table II, Fig. 5).

고 찰

Bywaters와 Beall(1941)은 골격근 손상의 중요한 임상 속발증으로 myoglobin 뇨증을 수반하는 근육용해인 횡문근 변성(rhabdomyolysis)을 보고하였고, 횡문근 변성이 오래 지속되면 신부전이 생긴다고 하였는데(Grossman 등, 1974; Koffler 등, 1976; Knochel, 1981; Gabow 등, 1982; Paller, 1988) 이러한 횡문근 변성에 의한 급성 신부전 모형은 고장성 glycerol의 근육주사로서 야기될 수 있다고 하였다(Hostetter 등, 1983).

호기성 세포에서는 superoxide radical, hydroxyl radical 및 hydrogen peroxide 등과 같은 oxygen free radicals가 발생할 수 있어 어떤 유해물질이나 약물 등에 폭로되었을 때나 병적 상태에서는 이들이 과다하게 생성되어 지질 과산화반응을 유발시킬 수 있으며 (Goldberg와 Stern, 1977; Simon 등, 1981; Moody와 Hassan, 1982; Weiss와 Lobuglio, 1982; Fantone와 Ward, 1985; Baud와 Ardaillou, 1986; Junqueira 등, 1986; Weiss, 1986)), 신장 허혈시에는 조직내의 adenosine triphosphate(ATP)감소와 ATP 분해 산물인 adenosine, inosine 및 hypoxanthine의 증가를 초래하며 hypoxanthine의 축적에 의하여 매우 반응적인 oxygen free radicals인 superoxide radical, hydroxyl radical 및 hydrogen peroxide이 생성되어 사립체, 용해소체막 및 원형질막의 지질 과산화반응을 통한 세포손상을 야기시키는데(Paller 등, 1984), 정상적으로 조직은 내인성 제거제(endogenous scavengers)를 함유하고 있어 oxygen free radicals 손상에 대해 방어적으로 작용하며 (Chance 등, 1979; Wendel과 Feuerstein, 1981), 허혈동안에는 내인성 제거제의 공급이 고갈된다(Paller 등, 1984; Wasil 등, 1987)고 하며, 이러한 oxygen free radicals는 sulfhydryl oxidation을 통하여 단백질 손상을 야기시킬 수 있다(Freeman과 Crapo, 1982; Baud와 Ardaillou, 1986)고 한다. Catalase는 다수의 과산화수소 생성효소들과 복합체를 형성하여 peroxisomes에 주로 분포하여(Chance 등, 1979) 과산화수소를 물과 산소로 분해함으로써 과산화수소 증가에 따른 조직손상을 방어하는 효과가 있다고 하였고 (Frank와 Massaro, 1980), 방사선조사, 약물투여 및 환경의 변화 등 생체내에서의 oxygen free radicals 생성을 증가시키는 조건에서 catalase 활성도가 증가되며, 또한 catalase를 투여하면 oxygen free radicals의 과다생성으로 인한 조직손상을 방어할 수 있다고 하였다(Gutteridge 등, 1983; Yoshikawa 등, 1983). Superoxide dismutase (SOD)는 hydrogen ion과 superoxide radical이 반응하여 과산화수소로 전환시키고 과산화수소는 catalase에 의해 물과 산소로 분해됨으로써(Baud와 Ardaillou, 1986) superoxide radical와 과산화수소 증가에 따른 조직손상을

방어하는 효과가 있고, superoxide radical과 과산화수소와의 반응을 억제하여 hydroxyl radical의 생성을 저하시키며 이로 인해 조직손상을 방어하는 효과가 있고 (Frank와 Massaro, 1980), Umeki 등(1988)과 Harauchi와 Yoshizaki(1990)는 신실질 손상(renal parenchymal damage)의 지표인 뇨중 N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) 활성도 증가를 보고하였는데, Cho와 Cho(1993)는 신조직에서의 SOD 활성도 감소는 뇨중 NAG 활성도 증가와 연관성이 있다고 하여 신세뇨관 손상을 의미한다고 하였다.

한편 Zager(1992)와 Zurovsky와 Grossman(1992)은 myoglobin 뇨성 신손상과 oxygen free radicals와의 관계를 보고하였고 Shah와 Walker(1988)는 myoglobin 뇨성 신손상의 모형인 glycerol 유발 급성 신부전에서의 hydroxyl radical의 역할을 관찰하였는데, 즉 glycerol 투여로 신부전이 발생되었으며 hydroxyl radical 제거제인 dimethylthiourea(DMTU)를 투여한 흰쥐에서 신조직의 MDA 함량과, BUN 농도와 혈청 creatinine 농도가 감소하였고, hydroxyl radical 생성에 필요한 iron의 chelator인 deferoxamine을 투여한 흰쥐에서도 역시 신조직의 MDA 함량과, BUN 농도와 혈청 creatinine 농도가 감소하였으므로 glycerol 유발 신부전에는 hydroxyl radical이 중요한 매개체로서 작용한다고 하였다. Guidet와 Shah(1989)는 glycerol 유발 신부전이 생긴 흰쥐의 신장에서 과산화수소가 증가된 후 Fenton 반응에 의하여 hydroxyl radical이 생성된다고 하였다. 본 실험에서는 glycerol 투여로 용량 의존적으로 BUN 농도, 혈청 creatinine 농도 및 MDA 함량이 증가하였는데 이러한 BUN 농도와 혈청 creatinine 농도의 증가는 신손상을 의미하고, MDA 함량의 증가는 지질 과산화반응을 통한 세포손상을 의미하며, glycerol 투여로 catalase 활성도는 증가하였으나 SOD 활성도는 용량 의존적으로 감소하였다. 이는 SOD 활성도의 감소에 의한 oxygen free radical의 증가가 glycerol 유발 급성 신독성에 대한 한 작용기전으로 예측되며, catalase 활성도는 전반적으로 증가되었지만 glycerol 4 ml 투여군에서는 glycerol 2 ml 투여군에서 보다 감소하여 투여용량에 비례하여 증가되지 않았다. 전반적인 catalase 활성도의 증가는 SOD 활성도의 감소에 따른 체내 항상성으로 추측되나 glycerol 4 ml 투여군에서 glycerol 2 ml 투여군에서 보다 감소한 것에 대한 더 깊은 연구가 필요하다고 사료되며 glycerol 유발 신조직손상의 지표로서 catalase 활성도보다 SOD 활성도가 더 관련이 있는 것으로 예측된다.

결 론

흰쥐에서 glycerol로 유발된 신독성과 oxygen free radicals와의 관계를 규명하고자 신피질에서의 malondialdehyde(MDA) 함량, catalase 활성도 및 superoxide dis-

mutase(SOD) 활성도와, blood urea nitrogen(BUN) 농도와 혈청 creatinine 농도를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. MDA 함량 (nmol/mg protein)

대조군에서는 3.09 ± 0.38 이고, glycerol(50% 용액) 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 3.50 ± 0.32 (대조치의 113%), 4.09 ± 0.59 (대조치의 132%), 6.23 ± 0.87 (대조치의 202%)로 glycerol 2 ml 투여군에서는 $p < 0.01$, 4 ml와 8 ml 투여군에서는 $p < 0.005$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 증가되었다.

2. Catalase 활성도 (k/mg protein)

대조군에서는 54.66 ± 14.46 이고, glycerol(50% 용액) 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 165.27 ± 27.05 (대조치의 302%), 69.33 ± 18.49 (대조치의 127%), 222.36 ± 33.88 (대조치의 407%)로 glycerol 2 ml와 8 ml 투여군에서 $p < 0.005$ 로 모두 공히 유의하게 증가되었다.

3. Superoxide dismutase 활성도 (unit/mg protein)

대조군에서는 17.29 ± 0.59 이고, glycerol(50% 용액) 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 15.80 ± 1.35 (대조치의 91%), 14.65 ± 2.68 (대조치의 85%), 11.89 ± 3.43 (대조치의 69%)로 glycerol 2 ml 투여군에서는 $p < 0.01$, 4 ml와 8 ml 투여군에서는 $p < 0.005$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 감소되었다.

4. BUN 농도 (mg/dl)

대조군에서는 13.55 ± 0.71 이고, glycerol(50% 용액) 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 19.56 ± 2.77 (대조치의 144%), 23.70 ± 3.41 (대조치의 175%), 35.44 ± 4.48 (대조치의 262%)로 glycerol 투여군에서 $p < 0.005$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 증가되었다.

5. 혈청 creatinine 농도 (mg/dl)

대조군에서는 0.48 ± 0.04 이고, glycerol(50% 용액) 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 0.60 ± 0.07 (대조치의 125%), 0.65 ± 0.05 (대조치의 135%), 1.14 ± 0.24 (대조치의 238%)로 glycerol 2 ml 투여군에서는 $p < 0.01$, 4 ml와 8 ml 투여군에서는 $p < 0.005$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 증가되었다.

이상의 결과로 부터 SOD 활성도의 감소에 의한 oxygen free radical의 증가가 glycerol 유발 급성 신독성에 대한 한 작용기전으로 예측된다. Catalase 활성도는 전반적으로 증가되었는데 이는 SOD 활성도의 감소에 따른 체내 항상성으로 추측되나 이에 대한 더 깊은 연구가 필요하다고 사료되며 glycerol 유발 신조직손상의 지표로서 catalase 활성도보다 SOD 활성도가 더 관련이 있는 것으로 예측된다.

감사의 말씀

본 연구는 1995년도 교내 신진교수 정착연구비 지원에 의하여 수행하였기에 감사드립니다.

참고문헌

- Baud, L. and Ardaillou, R. (1986). Reactive oxygen species; Production and role in the kidney. *Am. J. Physiol.* **251**, F765-F776.
- Bywaters, E. G. L. and Beall, D. (1941). Crush injuries with impairment of renal function. *Br. Med. J.* **1**, 427-432.
- Chance, B., Sies, H. and Boveris, A. (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.* **59**, 527-605.
- Cho, Y. J. and Cho, K. C. (1993). Effects of cisplatin on free radical scavenging enzymes and inhibitions of cisplatin-induced nephrotoxicity by free radical scavengers. *J. Cath. Med. Coll.* **46**, 753-762.
- Cohen, G., Dembiec, D. and Marcus, J. (1970). Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Analyt. Biochem.* **34**, 30-38.
- Fantone, J. C. and Ward, P. A. (1985). Polymorphonuclear leukocyte-mediated cell and tissue injury: oxygen metabolites and their relations to human disease. *Human Pathol.* **16**, 973-978.
- Frank, L. and Massaro, D. (1980). Oxygen toxicity. *Am. J. Med.* **69**, 117-126.
- Freeman, B. A. and Crapo, J. D. (1982). Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* **47**, 412-426.
- Gabow, P. A., Kaehny, W. D. and Kelleher, S. P. (1982). The spectrum of rhabdomyolysis. *Medicine* **61**, 141-152.
- Gilman, A. G., Rall, T. W., Nies, A. S. and Taylor, P. (1990). *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 8th ed. Macmillan Publishing Co.* pp. 1611-1617.
- Goldberg, B. and Stern, A. (1977). The role of the superoxide anion as a toxic species in the erythrocyte. *Arch. Biochem. Biophys.* **178**, 218-225.
- Grossman, R. A., Hamilton, R. W., Morse, B. M., Penn, A. S. and Goldberg, M. (1974). Non-traumatic rhabdomyolysis. *N. Eng. J. Med.* **291**, 807-811.
- Guidet, B. and Shah, S. V. (1989). Enhanced *in vivo* H₂O₂ generation by rat kidney in glycerol-induced renal failure. *Am. J. Physiol.* **257**, F440-445.
- Gutteridge, J. M. C., Beard, A. P. C. and Quinlan, G. J. (1983). Superoxide-dependent lipid peroxidation. Problems with the use of catalase as a specific probe for Fenton-derived hydroxyl radicals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **117**, 901-907.
- Harauchi, T. and Yoshizaki, T. (1990). A method for determining urinary enzyme activities as nephrotoxic indicators in rats. *Jpn. J. Pharmacol.* **54**, 205-215.
- Hostetter, T. H., Wilkes, B. M. and Brenner, B. M. (1983). *Acute Renal Failure. Philadelphia, PA: Saunders* pp. 109.
- Junqueira, V. B. C., Simiz, K., Videla, L. A., Barros, S. B. and de M. (1986). Dose-dependent study of the effects of acute lindane administration on rat liver superoxide anion production, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation. *Toxicology* **41**, 193-204.
- Knochel, J. P. (1981). *Rhabdomyolysis and myoglobinuria. In: The Kidney in Systemic Disease. New York: Wiley* pp. 263-284.
- Koffler, A., Friedler, R. M. and Massry, S. G. (1976). Acute renal failure due to nontraumatic rhabdomyolysis. *Ann.*

- Intern. Med.* **85**, 23-28.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- Marklund, S. and Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**, 469-474.
- Moody, C. S. and Hassan, H. M. (1982). Mutagenicity of oxygen free radicals. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **79**, 2855-2859.
- Olerud, J. E., Homer, L. D. and Carroll, H. W. (1975). Serum myoglobin levels predicted from enzyme values. *N. Eng. J. Med.* **293**, 483-485.
- Paller, M. S. (1988). Hemoglobin-and myoglobin-induced acute renal failure in rat: role of iron in nephrotoxicity. *Am. J. Physiol.* **255**, F539-F544.
- Paller, M. S., Hoidal, J. R. and Ferris, T. F. (1984). Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J. Clin. Invest.* **74**, 1156-1164.
- Shah, S. V., Cruz, F. C. and Baricos, W. H. (1983). NADPH-induced chemiluminescence and lipid peroxidation in kidney microsomes. *Kidney International.* **23**, 691-698.
- Shah, S. V. and Walker, P. D. (1988). Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in glycerol-induced acute renal failure. *Am. J. Physiol.* **255**, F438-443.
- Simon, R. H., Scoggin, C. H. and Patterson, D. (1981). Hydrogen peroxide causes the fatal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. *J. Biol. Chem.* **256**, 7181-7186.
- Umeki, S., Watanabe, M., Yagi, S. and Soejima, R. (1988). Supplemental fosfomycin and/or steroids that reduce cisplatin-induced nephrotoxicity. *Am. J. Med. Sci.* **295**, 6-10.
- Wasil, M., Halliwell, B., Grootveld, M., Moorhouse, C. P., Hutchison, D. C. S. and Baum, H. (1987). The specificity of thiourea, dimethylthiourea and dimethylsulphoxide as scavengers of hydroxyl radicals. *Biochem. J.* **243**, 867-870.
- Weiss, S. J. (1986). Oxygen, ischemia and inflammation. *Acta Physiol. Scand.* **548**, 9-37.
- Weiss, S. J. and Lobuglio, A. F. (1982). Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab. Invest.* **47**, 5-18.
- Wendel, A. and Feuerstein, S. (1981). Drug-induced lipid peroxidation in mice-1. Modulation by monooxygenase activity, glutathione and selenium status. *Biochem. Pharmacol.* **30**, 2513-2520.
- Yoshikawa, T., Murakami, M., Yoshida, N., Seto, O. and Kondo, M. (1983). Effects of superoxide dismutase and catalase on disseminated intravascular coagulation in rats. *Thromb. Haemostas.* **50**, 869-872.
- Zager, R. A. (1992). Combined mannitol and deferoxamine therapy for myoglobinuric renal injury and oxidant tubular stress. Mechanistic and therapeutic implications. *J. Clin. Invest.* **90**, 711-719.
- Zurovsky, Y. and Grossman, S. (1992). Evidence against oxidant injury and endotoxin underlying glycerol-induced fatal rhabdomyolysis in rats. *J. Basic. Clin. Physiol. Pharmacol.* **3**, 239-251.