

Glycerol이 흰쥐 신장에서의 Malondialdehyde 함량과 Superoxide Dismutase 활성도 및 요중 단백질 배설량과 N-acetyl- β -D-glucosaminidase 활성도에 미치는 영향

한양대학교 의과대학 약리학교실

신 인 철 · 고 현 철

=Abstract=

Effects of Glycerol on the Malondialdehyde Level and Superoxide Dismutase Activity in the Kidney and Urinary Protein Excretion and N-acetyl- β -D-glucosaminidase Activity of the Rats

In Chul Shin and Hyun Chul Koh

Department of Pharmacology, College of Medicine, Hanyang University

In an attempt to define the early biochemical determinants that participate in the pathogenesis of glycerol-induced nephrotoxicity, especially focusing on oxygen free radicals and N-acetyl- β -D-glucosaminidase(NAG) activity, we studied 24-hours urine outflow, 24-hours urinary protein excretion and urinary NAG activity after the injection of glycerol and also we studied malondialdehyde(MDA) level and superoxide dismutase(SOD) activity in the kidney of rats at 24hr after the injection of glycerol.

Sprague-Dawley albino rats weighing 240 to 260 gm 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 lower urine outflow level and urinary protein excretion level and higher urinary NAG activity after the injection as compared to those of control group. Also the group treated with glycerol showed significantly higher MDA level and lower SOD activity at 24hr 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 and higher urinary NAG activity is an index of renal tubular cell damage in the glycerol-induced nephrotoxicity.

Key Words: Glycerol, Nephrotoxicity, Urinary protein excretion, Urinary NAG activity, Malondialdehyde(MDA), Superoxide dismutase(SOD)

서 론

Glycerol은 점활제(demulcent), 완하제(laxative), 안압강하제, 뇌압강하제, 연동운동 항진제, 대장설사제, 피부연화제 및 용매 매개물로 쓰이고 있는 화학물질로서 유해작용으로 두통, 구토, 과혈당증, 경련, 마비, 용혈 및 신부전 등이 나타난다(Gilman등, 1990). Bywaters와 Beall(1941)은 골격근 손상의 중요한 임상 속발증으로 myoglobin 뇨증을 수반하는 근육용해인 횡문근 변성(rhabdomyolysis)을 보고하였고, 횡문근 변성이 오래 지속되면 신부전이 생긴다고 하였다(Grossman등, 1974; Koffler등, 1976; Knochel, 1981; Gabow등, 1982; Paller, 1988). 횡문근 변성은 정상인에서도 과격한 운동 후 발생될 수 있으며(Olerud등, 1975), 횡문근 변성에 의한 급성 신부전을 유발시키는 물질로서 가장 광범위하게 사용되고 있는 것은 glycerol이다(Hostetter등, 1983).

호기성 세포에서는 superoxide radical(O_2^-), hydroxyl radical($OH\cdot$) 및 hydrogen peroxide(H_2O_2)가 발생할 수 있으며, 어떤 유해물질이나 약물 등에 폭로되었을 때나 병적상태에서는 이들이 과다하게 생성되어 조직에 치명적인 손상을 입힐 수 있다(Goldberg & Stern, 1977; Simon등, 1981; Moody & Hassan, 1982; Weiss & Lobuglio, 1982; Fantone & Ward, 1985; Baud & Ardaillou, 1986; Junqueira등, 1986; Weiss, 1986). Guidet과 Shah(1989)는 glycerol 유발 신부전이 생긴 흰쥐에서 hydrogen peroxide의 생성이 증가되었다고 하였고, Shah와 Walker(1988)는 hydroxyl radical이 glycerol 유발 신부전의 원인이라고 보고하였다.

N-acetyl- β -D-glucosaminidase(NAG)는 용해소체 효소로 신세뇨관 상피세포에 많이 존재하며 분자량이 크기 때문에 사구체를 통과할 수 없다고 함으로(Wellwood등, 1975) 요중 NAG는 신세뇨관 상피세포로부터 유리된 것이며, 요중 NAG 활성도의 증가는 신세뇨관 상피세포의 손상을 의미

한다(Dance등, 1970). Robinson등(1967)은 흰쥐에 uranium nitrate를 투여하여 신장의 손상과 요중 NAG 활성도의 증가를 관찰하였고, Coonrod와 Peterson(1969)는 흰쥐에 염화제 2 수은을 투여하여 요중 NAG 활성도의 증가를 관찰하였으며 사람에서도 사구체신염, nephrose 증후군 및 급성 신부전증등의 신장질환에서도 요중 NAG 활성도가 질병의 진행정도에 비례하여 증가되어 있음이 보고되어 있다(Wellwood등, 1975; Mattenheimer, 1977; Kunin등, 1978). 본 연구에서는 glycerol 유발 신독성 흰쥐에 있어서 신장에서의 malondialdehyde(MDA) 함량과 superoxide dismutase(SOD) 활성도, 요배설량, 요중 단백질 배설량 및 요중 NAG 활성도를 관찰하여 glycerol 유발 신독성에 대한 지견을 얻고자 실험을 시도하였다.

재료 및 방법

실험동물은 체중 240~260 gm의 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였으며 실험기간중 사료와 물은 임의로 섭취하게 하였다. 흰쥐 7마리씩을 한군으로 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 투여 직 후부터 24시간 동안 대사 cage에서 24시간 요를 채집하여 요배설량, 요중 단백질 배설량 및 요중 NAG 활성도를 측정하였다. 요중 단백질 배설량은 Lowry법(Lowry등, 1951)으로 측정하였다. 요중 NAG 활성도는 Horak등(1981)의 방법에 따라 p-nitrophenyl-N-acetyl- β -D-glucosaminide를 기질로 사용하여 NAG 작용에 의해 유리된 p-nitrophenol을 alkali 용액으로 발색시켜 410 nm에서 그흡광도를 측정하고 p-nitrophenol 표준용액으로 작성한 표준곡선을 기준으로 1분 동안 기질을 분해시켜 1 nM의 p-nitrophenol을 유리시키는 효소의 활성도를 1단위로 정하였고 동일시료에서 creatinine을 자동화학 분석기(Gilford SBA-300, Ohio, USA)를 이용하

여 측정하여 creatinine 1 mg당 효소 활성도 단위수(Unit/mg creatinine)로 요중 NAG 활성도를 표시하였다. 한편 glycerol 주사종류 24시간 후에 동물을 단두도살한 후 개복하여 phosphate buffered saline(PBS)을 복부동맥을 통해 오른쪽 신장으로 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(Shah등, 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, 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 SOD 활성도의 분석은 mg 단백질에 대한 함량과 활성도로 표현되며, 단백질은 Lowry법(Lowry등, 1951)으로 측정하였다.

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

결 과

1) 요 배설량(ml/24 hours)

대조군에서는 21.60 ± 3.21 이고, glycerol(50% 용액) 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 14.80 ± 2.77 (대조치의 69%), 12.80 ± 1.64 (대조치의 59%), 12.60 ± 1.82 (대조치의 58%)로 glycerol 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서 $P < 0.01$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 증가되었다(Table 1, Fig. 1).

2) 요 단백질량(mg/24 hours)

대조군에서는 28.80 ± 4.01 이고, glycerol(50%

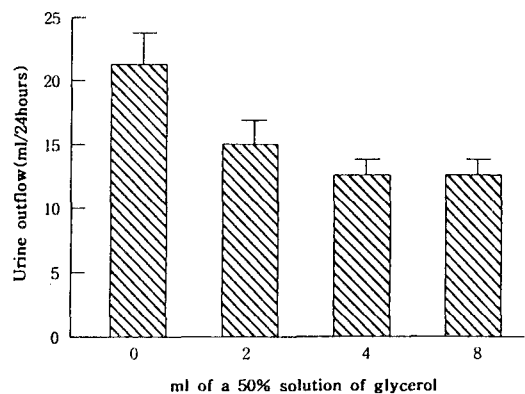


Fig. 1. 24-hours urine outflow in the rats treated with glycerol. Results are expressed as means ± S.D..

Table 1. Effects of glycerol on the 24-hours urine outflow, 24-hours urinary protein excretion and urinary NAG activity in rats

	Control	Glycerol-treated		
		2 ml	4 ml	8 ml
Urine outflow(ml/24 hours)	21.60 ± 3.21	$14.80 \pm 2.77^*$	$12.80 \pm 1.64^*$	$12.60 \pm 1.82^*$
Urinary protein excretion(mg/24 hours)	28.80 ± 4.01	23.89 ± 6.70	$18.55 \pm 3.25^*$	$16.26 \pm 2.24^*$
Urinary NAG activity(unit/mg creatinine)	9.99 ± 1.44	$26.90 \pm 4.60^*$	$42.78 \pm 7.19^*$	$66.91 \pm 13.59^*$

Glycerol(50% solution) was injected intramuscularly

The data represent the means ± S.D..

*: $P < 0.01$ (n=7) vs Control

용액) 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 23.89 ± 6.70 (대조치의 83%), 18.55 ± 3.25 (대조치의 64%), 16.26 ± 2.24 (대조치의 56%)로 glycerol 4 ml 및 8 ml 투여군에서 $P < 0.01$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 감소되었다(Table 1, Fig. 2).

3) 요중 NAG 활성도(unit/mg creatinine)

대조군에서는 9.99 ± 1.44 이고, glycerol(50% 용액) 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 26.90 ± 4.60 (대조치의 269%), 42.78 ± 7.19 (대조치의 428%), 66.91 ± 13.59 (대조치의 670%)로 glycerol 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서 $P < 0.01$ 로 모

두 공히 용량 의존적으로 유의하게 증가되었다(Table 1, Fig. 3).

4) 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, 4 ml 및 8 ml 투여군에서 $P < 0.01$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 증가되었다(Table 2, Fig. 4).

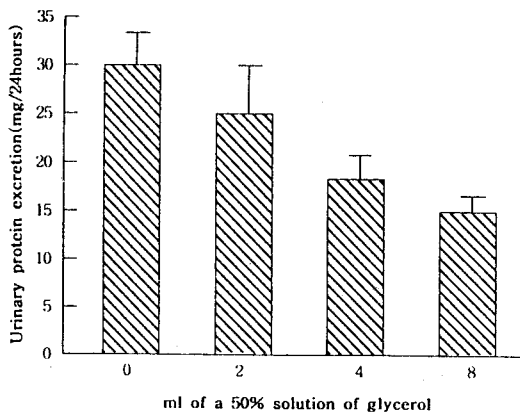


Fig. 2. 24-hours urinary protein excretion in the rats treated with glycerol. Results are expressed as means \pm S.D..

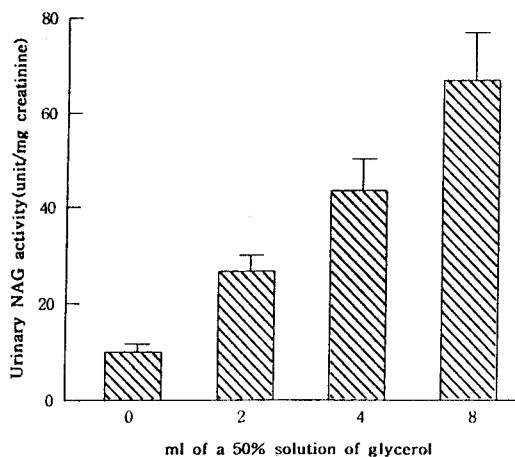


Fig. 3. Urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase(NAG) activity in the rats treated with glycerol. Results are expressed as means \pm S.D..

Table 2. Effects of glycerol on the malondialdehyde(MDA) level and superoxide dismutase(SOD) activity in the kidney of rats

	Control	Glycerol-treated		
		2 ml	4 ml	8 ml
MDA level(nmol/mg protein)	3.09 ± 0.38	$3.50 \pm 0.32^*$	$4.09 \pm 0.59^*$	$6.23 \pm 0.87^*$
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 data represent the means \pm S.D..

*: $P < 0.01$ (n=7) vs Control

고 찰

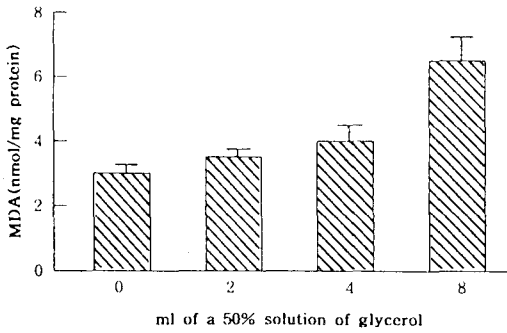


Fig. 4. Malondialdehyde(MDA) level in the kidney of rats treated with glycerol. Results are expressed as means \pm S.D..

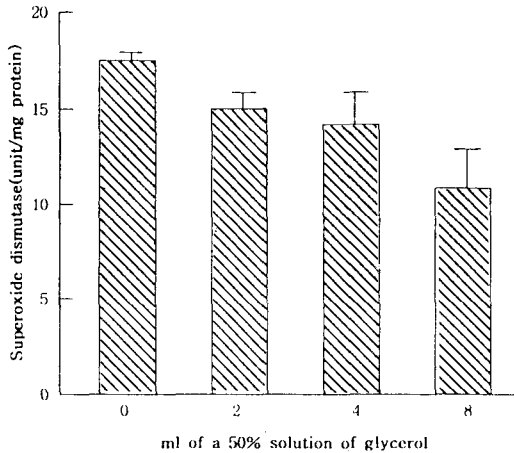


Fig. 5. Superoxide dismutase(SOD) activity in the kidney of rats treated with glycerol. Results are expressed as means \pm S.D..

5) 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, 4 ml 및 8 ml 투여군에서 $P < 0.01$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 감소되었다(Table 2, Fig. 5).

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(Grossman등, 1974; Koffler등, 1976; Knochel, 1981; Gabow등, 1982; Paller, 1988) 이러한 횡문근 변성에 의한 급성 신부전 모형은 고장성 glycerol의 근육주사로서 야기될 수 있다고 하였으며, 그결과 근세포 괴사와 myoglobin 뇨증이 생겨 국소적으로 체액축적이 생긴다고 하였다(Hostetter등, 1983).

호기성 세포에서는 superoxide radical, hydroxyl radical 및 hydrogen peroxide 등과 같은 oxygen free radicals가 발생될 수 있어 어떤 유해 물질이나 약물 등에 폭로되었을 때나 병적 상태에서는 이들이 과다하게 생성되어 지질 과산화반응을 유발시킬 수 있으며(Goldberg & Stern, 1977; Simon등, 1981; Moody & Hassan, 1982; Weiss & Lobuglio, 1982; Fantone & Ward, 1985; Baud & Ardaillou, 1986; Junqueira등, 1986; Weiss, 1986), 이러한 oxygen free radicals는 sulfhydryl oxidation을 통하여 단백질 손상을 야기시킬 수 있다(Freeman & Crapo, 1982; Baud & Ardaillou, 1986)고 한다. Superoxide dismutase(SOD)는 hydrogen ion과 superoxide radical이 반응하여 과산화수소로 전환시키고 과산화수소는 catalase에 의해 물과 산소로 분해됨으로써(Baud & Ardaillou, 1986) superoxide radical과 과산화수소 증가에 따른 조직손상을 방어하는 효과가 있고, superoxide radical과 과산화수소와의 반응을 억제하여 hydroxyl radical의 생성을 저하시키며 이로 인해 조직손상을 방어하는 효과가 있다고 하였다(Frank & Massaro, 1980), 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 신부전에서 hydroxyl radical이 중요한 매개체로서 작용한다고 하였으며 Guidet와 Shah(1989)는 glycerol 유발 신부전이 생긴 흰쥐의 신장에서 과산화수소가 증가된 후 Fenton 반응에 의하여 hydroxyl radical이 생성된다고 하였다.

한편 신세뇨관에는 여러 종류의 효소가 존재하며 세뇨관으로부터 이들 효소의 요중으로의 유리는 신장손상의 조기 증후의 하나로 알려져 있다(Vanderlinde, 1981). 그리하여 이들 효소의 활성도의 변화가 신장 상피세포의 손상을 반영해 주는 지표로서의 활용성에 대한 관심이 고조되어 여러 가지 연구가 이루어 졌으며 muramidase, lactic dehydrogenase, alkaline phosphatase, acid phosphatase, leucine aminopeptidase 및 malic dehydrogenase 등이 검토된 바 있다(Kaller & Lapco, 1967; Ballantyne등, 1968; Sandman등, 1973; Wellwood등, 1973; Keyser등, 1976; Horpacsy등, 1977; Koivula등, 1978). 그러나 이들 효소는 측정방법이 어려우며 분석시간이 길 뿐 아니라 요중에 함유된 효소억제물질들을 제거해야하는 번거로움이 있기 때문에 널리 이용되지 못하였다. 요중 NAG는 이미 각종 신장질환이나 약물에 의한 신독성에 민감한 지표로 알려져 있으며(Wellwood등, 1975; Mattenheimer, 1977; Kunin등, 1978; Donta & Lembke, 1985), NAG는 분자량이 크기 때문에 사구체를 통과하지 못하며 오직 신세뇨관의 손상에 의해서만 요중으로 유리된다고 한다(Dance등, 1970; Wellwood등, 1975). Price와 Dance(1970)는 외과적 수술에 의해 신손상 환자에서 요중 NAG 활성도가 증가되었으며 이는 신장의 손상정도에 비례되었다고 하였다. Dance등(1970)은 요중 NAG 활성도의 측정치는 신손상 환자의 경과를 추적하는데 유용하다고 하였으며, Alderman등(1983)은 요중 NAG 활성도의 측정 은 고혈압 환자에서 신장질환의 유무를 밝히는데 매우 유효하다고 하였다. 본 실험에서는 glycerol 투여로 용량 의존적으로 MDA 함량이 증가

하였는데 이는 지질 과산화반응을 통한 세포손상을 의미하며, SOD 활성도는 용량 의존적으로 감소하였는데 이는 SOD 활성도의 감소에 의한 oxygen free radical의 증가가 glycerol 유발 급성 신독성에 대한 작용기전중의 하나라는 것을 시사해주는 것이다. 또한 glycerol 투여로 용량 의존적으로 요 배설량과 요 단백질이 감소하였는데 이는 glycerol에 의한 신손상을 의미하며, 특히 신세뇨관 상피세포의 손상 유무를 나타내는 지표로 알려져 있는 요중 NAG 활성도가 증가함으로 glycerol 투여로 인하여 신세뇨관 상피세포의 손상이 초래되는 것으로 사료된다. 따라서 임상에서 glycerol 투여로 인한 신손상의 지표로 손쉽게 이용될 수 있는 것은 요중 NAG 활성도이다.

결 론

Glycerol 유발 신독성 흰쥐에 있어서 신장에서 의 malondialdehyde(MDA) 함량과 superoxide dismutase(SOD) 활성도, 요배설량, 요중 단백질 배설량 및 요중 NAG 활성도를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 요 배설량(ml/24 hours)

대조군에서는 21.60 ± 3.21 이고, glycerol(50% 용액) 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 14.80 ± 2.77 (대조치의 69%), 12.80 ± 1.64 (대조치의 59%), 12.60 ± 1.82 (대조치의 58%)로 glycerol 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서 $P < 0.01$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 증가되었다.

2) 요 단백질(mg/24 hours)

대조군에서는 28.80 ± 4.01 이고, glycerol(50% 용액) 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 23.89 ± 6.70 (대조치의 83%), 18.55 ± 3.25 (대조치의 64%), 16.26 ± 2.24 (대조치의 56%)로 glycerol 4 ml 및 8 ml 투여군에서 $P < 0.01$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 감소되었다.

3) 요중 NAG 활성도(unit/mg creatinine)

대조군에서는 9.99 ± 1.44 이고, glycerol(50% 용액) 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서는 각각 26.90 ± 4.60 (대조치의 269%), 42.78 ± 7.19 (대조치의 428%), 66.91 ± 13.59 (대조치의 670%)로 glycerol 2 ml, 4 ml 및 8 ml 투여군에서 $P < 0.01$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 증가되었다.

4) 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, 4 ml 및 8 ml 투여군에서 $P < 0.01$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 증가되었다.

5) 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, 4 ml 및 8 ml 투여군에서 $P < 0.01$ 로 모두 공히 용량 의존적으로 유의하게 감소되었다.

본 실험에서는 glycerol 투여로 용량 의존적으로 MDA 함량이 증가하였는데 이는 지질 과산화 반응을 통한 세포손상을 의미하며, SOD 활성도는 용량 의존적으로 감소하였는데 이는 SOD 활성도의 감소에 의한 oxygen free radical의 증가가 glycerol 유발 급성 신독성에 대한 작용기전중의 하나라는 것을 시사해주는 것이다. 또한 glycerol 투여로 용량 의존적으로 요 배설량과 요 단백량이 감소하였는데 이는 glycerol에 의한 신손상을 의미하며, 특히 신세뇨관 상피세포의 손상 유무를 나타내는 지표로 알려져 있는 요중 NAG 활성도가 증가함으로 glycerol 투여로 인하여 신세뇨관 상피세포의 손상이 초래되는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Alderman MH, Melcher L, Drayer DE and Reidenberg MM: *Increased excretion of urinary N-acetyl- β -glucosaminidase in essential hypertension and its decline with anti-hypertensive therapy.* *N Engl J Med* 309: 1213-1217, 1983
- Ballantyne B, Wood WG and Meffan PM: *Sequential analysis of urinary enzymes in early diagnosis of parenchymal damage after renal transplantation* *Br Med J* 2: 667-669, 1968
- Baud L and Ardaillou R: *Reactive oxygen species: Production and role in the kidney.* *Am J Physiol* 251: F765-F776, 1986
- Bywaters EGL and Beall D: *Crush injuries with impairment of renal function.* *Br Med J* 1: 427-432, 1941
- Cohen G, Dembiec D and Marcus J: *Measurement of catalase activity in tissue extracts.* *Analyt Biochem* 34: 30-38, 1970
- Coonrod D and Peterson PY: *Urine β -glucuronidase in renal injury. I. Enzyme assay conditions and response to mercuric chloride in rats.* *J Lab Clin Med* 73: 6-12, 1969
- Dance N, Price RG, Cattel WR, Landell J and Richards B: *The excretion of N-acetyl- β -D-glucosaminidase and β -D-glucosaminidase and β -galactosidase by patients with renal disease.* *Clin Chim Acta* 27: 87-92, 1970
- Donta ST and Lembke LA: *Comparative effects of gentamicin and tobramycin on excretion of N-acetyl- β -D-glucosaminidase.* *Antimicrob Agents Chemother* 28: 500-503, 1985
- Fantone JC and Ward PA: *Polymorphonuclear leukocyte-mediated cell and tissue injury: oxygen metabolites and their relations to human disease.* *Human Pathol* 16: 973-978, 1985
- Freeman BA and Crapo JD: *Free radicals and tissue injury.* *Lab Invest* 47: 412-426, 1982
- Gabow PA, Kaehny WD and Kelleher SP: *The spectrum of rhabdomyolysis.* *Medicine* 61: 141-152, 1982

- Gilman AG, Rall TW, Nies AS and Taylor P: *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 8th ed. Macmillan Publishing Co., pp 1611-1617, 1990*
- Goldberg B and Stern A: *The role of the superoxide anion as a toxic species in the erythrocyte. Arch Biochem Biophys 178: 218-225, 1977*
- Grossman RA, Hamilton RW, Morse BM, Penn AS and Goldberg M: *Non-traumatic rhabdomyolysis. N Eng J Med 291: 807-811, 1974*
- Guidet B and Shah SV: *Enhanced in vivo H₂O₂ generation by rat kidney in glycerol-induced renal failure. Am J Physiol 257: F440-445, 1989*
- Horpacsy G, Zinsmeyer J, Schroder K and Mebel M: *Value of determination of urinary enzymes after human kidney transplantation: Early warning of rejection or not? Clin Chem 23: 770-771, 1977*
- Hostetter TH, Wilkes BM and Brenner BM: *Acute Renal Failure. Philadelphia, PA: Saunders, pp 109, 1983*
- Junqueira VBC, Simiz K, Videla LA and Barros SB de M: *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, 1986*
- Kaller HA and Lapco L: *Urine beta-glucuronidase activity in urinary tract disease. J Urol 97: 352-356, 1967*
- Keyser JW, Watkins GL and Salaman JR: *N-acetylglucosaminidase and β -glutamyl-transferase in urine of patients with renal transplants: not an early indicator of rejection. Clin Chem 22: 925-926, 1976*
- Knochel JP: *Rhabdomyolysis and myoglobinuria. In The Kidney in Systemic Disease. New York: Wiley, pp 263-284, 1981*
- Koffler A, Friedler RM and Massry SG: *Acute renal failure due to nontraumatic rhabdomyolysis. Ann Intern Med 85: 23-28, 1976*
- Koivula T, Pitkanen E, Turto H and Totterman T: *The excretion of urinary N-acetyl- β -glucosaminidase and glucuronidase as sign impending rejection of kidney transplants. Ann Clin Res 10: 288-290, 1978*
- Kunin CM, Chesney RW, Craig WA, England AC and DeAngelis C: *Enzymuria as a marker of renal injury and disease: Studies of N-acetyl- β -glucosaminidase in the general population and in patients with renal disease. Pediatrics 62: 751-760, 1978*
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ: *Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 193: 265-275, 1951*
- Marklund S and Marklund G: *Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase Eur J Biochem 47: 469-474, 1974*
- Mattenheimer H: *Enzymes in renal diseases. Ann Clin Lab Sci 7: 422-432, 1977*
- Moody CS and Hassan HM: *Mutagenicity of oxygen free radicals. Proc Natl Acad Sci 79: 2855-2859, 1982*
- Olerud JE, Homer LD and Carroll HW: *Serum myoglobin levels predicted from enzyme values. N Eng J Med 293: 483-485, 1975*
- Paller MS: *Hemoglobin- and myoglobin-induced acute renal failure in rat: role of iron in nephrotoxicity. Am J Physiol 255: F539-F544, 1988*
- Price RG, Dance N, Richards B and Cattell WR: *The excretion of N-acetyl- β -D-glucosaminidase and β -galactosidase following surgery to the kidney. Clin Chim Acta 27: 65-72, 1970*
- Robinson D, Price RG and Dance N: *Rat-urine glycosidase and kidney damage. Biochem J 102: 533-538, 1967*
- Sandman R, Margules RM and Kountz SL: *Urinary lysosomal glycosidases after renal allotransplantation: correlation of enzyme excretion with allograft rejection and ischemia. Clin Chim Acta 45: 349-359, 1973*
- Shah SV, Cruz FC and Baricos WH: *NADPH-induced chemiluminescence and lipid peroxidation in kidney microsomes. Kidney Inter-*

- national* 23: 691-698, 1983
- Shah SV and Walker PD: *Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in glycerol-induced acute renal failure. Am J Physiol* 255: F438-443, 1988
- Simon RH, Scoggin CH and Patterson D: *Hydrogen peroxide causes the fatal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. J Biol Chem* 256: 7181-7186, 1981
- Vanderlinde RE: *Urinary enzyme measurements in the diagnosis of renal disorder. Ann Clin Lab Sci* 11: 189-201, 1981
- Weiss SJ: *Oxygen, ischemia and inflammation. Acta. Physiol Scand* 548: 9-37, 1986
- Weiss SJ and Lobuglio AF: *Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. Lab Invest* 47: 5-18, 1982
- Wellwood JM, Ellis BG, Price RG, Hammond K, Thompson AE and Jones NF: *Urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activities in patients with renal disease. Br Med J* 2: 408-411, 1975
- Zager RA: *Combined mannitol and deferoxamine therapy for myoglobinuric renal injury and oxidant tubular stress. Mechanistic and therapeutic implications. J Clin Invest* 90: 711-719, 1992
- Zurovsky Y and Grossman S: *Evidence against oxidant injury and endotoxin underlying glycerol-induced fatal rhabdomyolysis in rats. J Basic Clin Physiol Pharmacol* 3: 239-251, 1992
-