

소아 신장질환에서 소변 내 산화질소의 변화

고려대학교 의과대학 소아과학교실

김종화 · 정지인 · 임형은 · 유기환 · 홍영숙 · 이주원

= Abstract =

Changes in Urinary Nitric Oxide in Pediatric Renal Diseases

Jong Hwa, Kim, M.D., Ji In Jung, M.D., Hyung Eun Yim, M.D., Kee Hwan Yoo, M.D.
Young Sook Hong, M.D. and Joo Won Lee, M.D.

Department of Pediatrics, Korea University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose : Nitric oxide(NO) is a very potent vasodilator synthesized from L-arginine by endothelial cells. We investigated whether urinary NO excretion was altered in various renal diseases in children and whether urinary NO excretion could be used in predicting pathologic causes and fibrosis in renal diseases in children.

Methods : We recruited 48 patients(32 minimal change nephrotic syndrome[MCNS] and 16 vesicoureteral reflux[VUR] patients) from the pediatric renal clinic in Korea University Guro Hospital. We measured the concentration of nitrite(NO₂) and nitrate(NO₃) by Griess reaction and that of creatinine(Cr) by Jaffe method in randomized spot urines. We then analyzed the urinary(NO₂+NO₃)/Cr ratios and compared the values between each patient group. Urinary (NO₂+NO₃)/Cr ratios were also evaluated according to the recurrence and the degree of proteinuria at sampling in the MCNS group and compared according to the presence of renal scarring and the grade of reflux in the VUR group.

Results : The ratios of urinary(NO₂+NO₃)/Cr were significantly increased in the VUR and MCNS groups, as compared to the control group. In the MCNS group, a higher level of urine (NO₂+NO₃)/Cr was observed in frequent relapse patients(relapse over four times within one year after first diagnosis) and the patients with severe proteinuria at sampling, respectively. The VUR group with renal scars also showed a higher level of urinary(NO₂+NO₃)/Cr compared to that without scars.

Conclusions : In summary, NO may play a role in the pathogenesis of VUR and MCNS. NO also seems to affect proteinuria and renal scar formation. (J Korean Soc Pediatr Nephrol 2007;11:24-31)

Key Words : Nitric Oxide, Proteinuria, Fibrosis

서 론

산화질소(nitric oxide, NO)는 인체 내에서 합성되는 강력한 혈관확장제이다[1]. 1980년 Furchgott 등[2]은 혈관의 내피세포에서 혈관의 평활근을 이완시키는 물질이 생성됨을 밝혀냈고 이를

접수 : 2007년 3월 20일, 승인 : 2007년 4월 9일
책임저자 : 유기환, 서울 구로구 구로동 80번지
고려의대 구로병원 소아과
Tel : 02)2626-3152 Fax : 02)858-9396
E-mail : guoped@korea.ac.kr

내피세포이완인자로 명명하였으며, 1987년 이 물질이 NO라는 것이 규명되었다[3]. NO는 생체내의 혈관내피세포에 존재하는 산화질소합성효소에 의해 L-아르기닌으로부터 합성된다. 생성된 NO는 guanylate cyclase를 활성화시키고 cGMP를 생성하여 이에 의해 인접한 혈관 평활근의 조절이 이루어지게 된다[1-3].

NO는 신장에서 주로 합성되는 것으로 알려졌으며 신경전달, 면역반응, 혈소판 기능 조절 등에 관련된 다양한 작용을 하고, 특히 강력한 혈관확장능이 있어 신장에서 수분과 전해질 평형을 조절하는데 중요한 인자로 작용한다[1, 4]. 따라서 NO의 기저합성이 차단되면 신 혈류량과 사구체여과율의 감소가 초래된다[1]. NO는 성인보다 신생아기에 더욱 중요한 역할을 하는데 이는 신생아의 혈관운동계가 과활성화 되어있어서 흔히 발생할 수 있는 해로운 혈관수축자극들, 예를 들면 주산기 가사 같은 상황에서 가역적인 신 혈관 수축을 예방하거나 치료하는데 사용될 수 있다[1]. 또한 신장 외에도 인체의 여러 기관에서 혈관내 압력을 조절하는데 관여하고 있는데 특히 신생아의 폐 고혈압 지속증의 치료에 이용되기도 한다. NO 흡입 치료는 현재 유일한 선택적 폐혈관 확장제로서 고식적인 혈관확장제 치료의 부작용인 전신성 저혈압이 나타나지 않는 장점이 있다[5].

실험동물 및 신세포 배양에서 유발된 사구체 신염을 통해 유도성 산화질소합성효소(inducible nitric oxide synthase, iNOS)의 과다발현이 조직학적 손상을 일으킨다는 등의 NO의 병리적 역할이 증명되었는데[6-9], 신염이 있는 사구체에서는 NO 생성이 증가하며[10], 배양된 매산지움 세포에서 tumor necrosis factor- α , interferon- γ 에 의해 iNOS 발현이 증가한다[8]. NO는 또한 신염에서의 면역학적 손상을 매개한다고 알려져 있으며[11], 현재까지 NO의 작용 기전에 대한 많은 연구가 행해지고 있으나 아직 뚜렷이 알려진 바는 없다.

본 연구에서는 미세변화형 신증후군과 방광 요

관 역류 환아에서 소변 내 NO의 배설에 유의한 변화가 있는가를 살펴보고, 특히 신증후군에 있어서는 단백뇨의 정도와 재발횟수 등에 따른 소변 내 NO의 배설의 변화를 알아보았으며 방광 요관 역류에서는 역류의 정도와 신반흔 유무에 따른 소변 내 NO 변화를 분석하였다. 즉, 소변 내 NO가 소아 신장질환의 조직학적 원인 및 섬유화 여부를 추정하는데 사용될 수 있는가를 알아보기 위해 이번 연구를 시행하게 되었다.

대상 및 방법

고대구로병원 소아신장클리닉에 1년 이상 치료를 받고 있는 환아들 중 48명(방광요관 역류[vesicoureteral reflux, VUR] 16명, 미세변화형 신증후군[minimal change nephrotic syndrome, MCNS]32명)을 대상으로 하였다. 대조군은 신장 질환이 없는 외래 환아 12명으로 하였다.

소변은 1세 이하의 소아에서는 소변 수집 주머니를 사용하였고 1세 이상 소아에서는 소변 컵을 사용하여 아침 첫 소변을 채취하였다. 소변은 채취 즉시 원심 분리한 후, 상청액을 분리하여 영하 20℃에서 냉동 보관하였으며, 그 중 일정 수의 시료만을 꺼내어 얼음물에서 서서히 해동시켜 실험하였다.

소변 내 NO의 반감기는 매우 짧아서 소변 내에서의 NO 대사산물인 NO₂와 NO₃를 측정하여 간접적으로 NO의 생산을 측정하는 Griess 방법[12]이 이미 알려져 있다. 이것은 소변과 발색시약(Griess reagent: 1% sulfanilamide, 0.1% naphthyl ethylenediamine hydrochloride, 2.5% phosphoric acid를 1:1:3의 비율로 섞은 것)을 혼합 하였을 때 소변 내(NO₂+NO₃)의 농도가 높을수록 발색이 진하게 되어 광학적 밀도가 증가하는 원리를 이용한 것이다. 발색시약에 반응시킨 시료는 어두운 곳에서 10분간 배양 후 542 nm에서 흡광도(optical density)를 측정, NO₂+NO₃ 농도를 구하였다. 소변 내 크레아티닌 농도 측정은 Jaffe

Rate법(Creatinine Reagent Kit, Beckman Instruments, Inc., Brea, CA, USA)으로 ASTRA-8 Beckman Instruments Inc., Brea, CA, USA) 자동분석기를 이용하여 측정하였다. 각 환자군과 대조군의 소변 내($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)/Cr 비율을 비교하였으며 MCNS 환자군에서는 재발횟수 및 단백뇨의 정도에 따른 상관관계를, VUR군에서는 신장 반흔 유무와 방광 요관 역류의 정도에 따른 소변 내 ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)/Cr의 차이를 비교분석하였다. 신장 반흔은 요로감염 후 첫 1주 및 3개월 후에 DMSA 신스캔을 시행하여 마지막 검사에서 양성인 경우에 신 반흔으로 간주하였으며 국소성 병변 없이 매끄러운 윤곽을 동반한 신위축 소견을 보이는 경우는 제외하였으며 VUR은 배뇨성 방광요도 조영술을 통해 국제역류분류에 따라 진단하였다 [13]. 통계 처리는 Jandel corporation사의 통계 프로그램인 sigmastat version 2.0을 사용하여 시행하였고, 그래프는 SPSS사의 sigmaplot version 4.0을 사용하였다. 모든 통계분석에 있어서 $P < 0.05$ 인 경우를 통계적 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. 각 질환별 소변 내($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)/Cr 비의 차이

방광 요관 역류군(mean \pm SE, 0.020 ± 0.004), MCNS군(0.013 ± 0.002)은 모두 대조군(0.005 ± 0.001)보다 소변 내($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)/Cr 값이 통계적으로 의미 있게 높았다($P < 0.05$, Fig 1).

2. MCNS군에서 재발횟수와($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)/Cr 비의 상관관계

진단 후 첫 1년간 4회 이상 재발했던 빈번 재발군(0.054 ± 0.024)에서 4회 미만으로 재발했던 군(0.013 ± 0.003)보다 소변 내($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)/Cr 값이 통계적으로 의미 있게 높았다($P < 0.05$, Fig 2).

3. MCNS군에서 단백뇨의 정도와($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)/Cr 비의 상관관계

MCNS군에서 채취 당시 단백뇨 1+ 이상이었던 군이 단백뇨 trace 이하인 군보다($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)/Cr 값이 통계적으로 의미 있게 높았다($P < 0.05$, Fig 3).

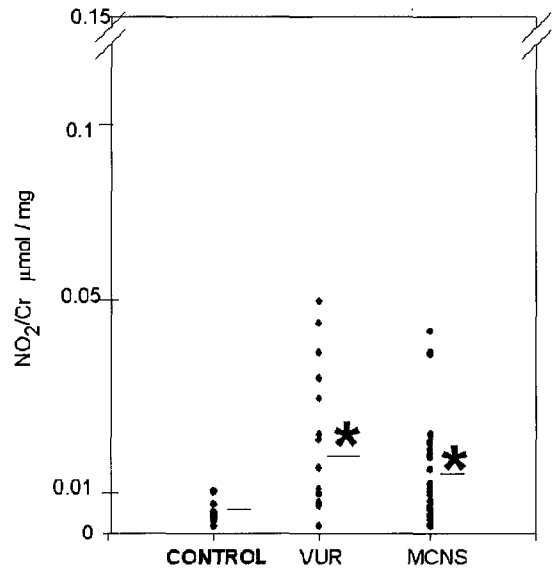


Fig. 1. In the vesicoureteral reflux group(mean \pm SE, 0.020 ± 0.004) and minimal change nephrotic syndrome(0.013 ± 0.002) group, the ratios of urinary ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)/Cr were significantly increased, as compared to the control group($P < 0.05$).

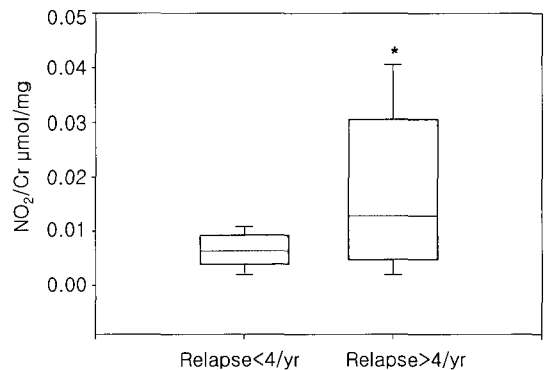


Fig. 2. Frequent relapse group(relapse over four times in one year after diagnosis) in minimal change nephrotic syndrome group showed higher level of urine($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)/Cr than non-frequent relapse group($P < 0.05$).

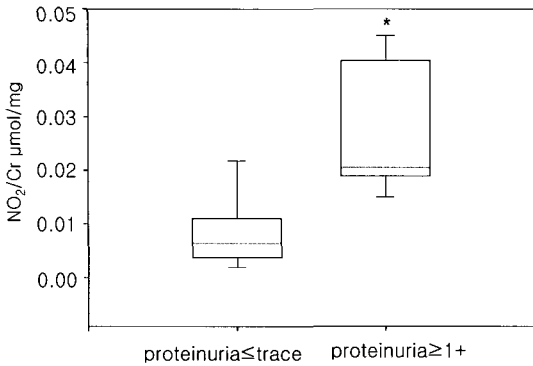


Fig. 3. The level of urinary(NO_2+NO_3)/Cr in minimal change nephrotic syndrome group with more proteinuria($\geq 1+$) was higher than that with less proteinuria(\leq trace)($P<0.05$).

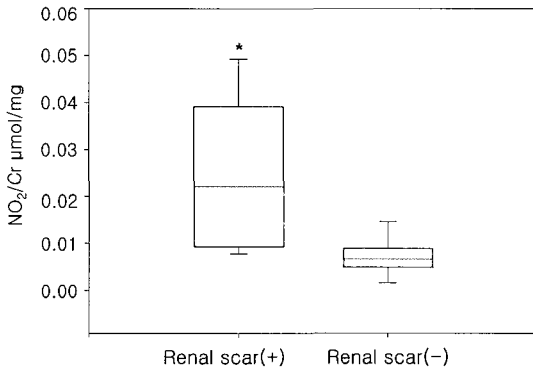


Fig. 4. Vesicoureteral reflux group with renal scars showed higher urinary level of(NO_2+NO_3)/Cr compared to that without scars. However, there was no significant difference between the grade of reflux and the level of urinary(NO_2+NO_3)/Cr ($P<0.05$).

4. 방광 요관 역류군에서 신장 반흔의 유무 및 방광요관 역류의 정도와(NO_2+NO_3)/Cr 비의 상관관계

방광 요관 역류군에서 신장 반흔이 있는 경우(0.026 ± 0.005)가 반흔이 없는 경우(0.007 ± 0.002)보다(NO_2+NO_3)/Cr 값이 통계적으로 의미 있게 높았으나($P<0.05$, Fig 4), 방광 요관 역류의 정도(grade)와는 관련이 없었다.

고 찰

NO의 체액 내에서의 반감기는 아주 짧아서 2-30초에 불과하여 계속적으로 NO가 생산되지 않으면 그 효과 역시 급격히 감소하며 혈관은 다시 수축하게 된다[1]. NO는 guanylate cyclase같은 heme단백질이나 그 외의 다른 heme를 포함한 단백질과 활발하게 반응하여 혈색소를 methemoglobin으로 만드는 등의 작용을 일으킨다[14]. 또한 NO는 혈관 벽이나 체액 속에 존재하는 superoxide radical이나 산소에 의해 nitric acid와 nitrous acid 단계를 거쳐 최종 산물인 아질산염(NO_2)과 질산염(NO_3)이 생성되는데 이 대사산물들은 생체 내에서 NO보다 훨씬 안정적이며 체액에서 쉽게 측정 가능하다[15]. 소변 내에서의 NO 대사산물인 NO_2 와 NO_3 를 측정하여 간접적으로 NO의 생산을 측정하는 것은 이미 앞선 여러 조사들에서 연구되어진 바 있다[12].

신 손상 시 NO의 병리적 역할이 여러 연구에 의해 증명되었는데[6-9], 실험동물이나 배양 신세포에 유발된 사구체 신염에서 유도성 산화질소합성효소(iNOS)의 과다발현이 조직학적 손상을 초래할 수 있다[7]. Njoku 등[16]은 루푸스 신염 동물실험에서 iNOS의 선택적 억제제 소변 내 NO(nitrite+nitrate)를 감소시킨다고 하였으며 Brooks 등[17, 18]도 만성 신 질환 유발 동물실험에서 iNOS의 선택적 억제제인 aminoguanidine을 투여하면 단백뇨가 감소된다고 보고하였다. 또 다른 일련의 실험에서는 L-아르기닌 투여 시 기질증가로 메산지움 세포의 iNOS 의존성 조직손상이 증가되어 결과적으로 조직의 섬유화가 유발됨이 관찰되었다[19]. 항산화제인 N-아세틸 시스테인을 투여한 다른 실험에서는 항산화제가 iNOS에 의한 NO 생성을 제한시켜 reactive oxygen species(ROS) 합성과 메산지움 세포의 손상을 억제한 것이 증명되었으며[20], 또한 실험적으로 유발시킨 혈철소증에서는 과다한 철분에 의한 촉매작용과 침착으로 ROS 활

성이 증가되고 NO의 생성이 증가되어 신 손상을 초래함이 확인되었다[21].

한편, NO는 생체 내에서 독성과 보호의 양면적 기능을 갖는데[22], 일측성 요관 폐쇄를 유발시켰을 때 iNOS 유전자를 제거한 쥐들에서 정상대조군에 비해 급속히 악화되는 간질 섬유화 현상이 나타났다. 이것은 iNOS에 의해 생산된 NO가 정상적으로는 보호적 기능을 수행하고 있음을 말해준다[23, 24]. 신장 뿐 아니라 호흡기에서도, 정상적인 상피세포의 iNOS는 폐를 보호하는 기능을 하지만 만성 섬유증증에 이환된 상피세포에는 iNOS발현이 감소되어 있음이 관찰되는데 이것은 만성 섬유증증의 병태생리에서 감소된 iNOS의 발현이 중요한 역할을 하고 있음을 시사하는 것이다[25]. 정상 신장에서의 iNOS 생산은 아주 제한적으로 낮은 농도범위에서 이루어지는데 이와 대조적으로 사구체 신염에 이환되어 염증세포의 침착이 있는 경우는 대식세포나 림프구 등의 고농도 iNOS 생산이 관찰된다[26].

본 연구에서는 소아신장클리닉에 내원한 신장병 환아들 중 48명(VUR 16명, MCNS 32명)을 대상으로 소변을 채취하여($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$) 농도를 구하여($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)/Cr 비로 보정한 값으로 각 질환 별로 집단 간의 차이를 비교하였다. 이 중 VUR군, MCNS군에서 대조군보다 소변 내 ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)/Cr 값이 통계적으로 의미 있게 높았다. 또한 MCNS군에서 진단 후 첫 1년간 4회 이상 재발했던 빈번 재발군이 4회 미만으로 재발했던 군보다 ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)/Cr 값이 통계적으로 의미 있게 높았으며, MCNS군에서 채취 당시 단백뇨 1+ 이상이었던 군이 단백뇨 trace 이하인 군보다 소변 내 ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)/Cr 값이 통계적으로 의미 있게 높았다. VUR군에서 신장 반흔이 있는 경우가 반흔이 없는 경우보다 소변 내($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)/Cr 값이 통계적으로 의미 있게 높았으나, VUR의 정도(grade)와는 관련이 없었다.

본 연구에서 소아의 MCNS에서 소변 내($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)의 농도가 높았는데 이것은 iNOS의 과다

발현에 의한 NO의 증가가 신장질환과 밀접하게 연관되어 있음을 뜻한다. 또한 MCNS 중에서도 재발횟수가 많은 경우와 심한 단백뇨를 동반한 경우에 NO의 분비가 더 많았다는 것은 신장질환의 심한 정도와 소변 내($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$)의 농도가 서로 비례하는 관계를 보인다고 추론할 수 있으며, 특히 MCNS에서 NO의 정량적 측정이 질병의 현재 상태나 차후의 경과를 판단할 수 있는 지표로서의 유용성이 있음을 강하게 시사한다. Heeringa 등[27]은 신장염 환자에서 신손상의 정도와 비례해서 iNOS의 발현정도가 비례한다고 하였다. 이는 iNOS가 과다 발현되면 단백뇨가 증가되고 iNOS 발현이 억제되면 단백뇨가 감소하는 다른 여러 실험들과도 일치하는 결과를 나타낸다[17, 18, 28, 29].

Amore 등[30]은 cyclosporin A이 여러 신세포에 세포자멸사를 유발하는데 이러한 과정이 현저히 증가된 iNOS에 의해 매개되며 이러한 기전을 통해 cyclosporin A 신독성의 특징인 무세포성 섬유화가 유발된다고 하였고, Eberhardt 등[31]은 NO의 이상 생성이 만성신장질환에서 사구체 경화증과 세뇨관 간질성 섬유화를 유발시킨다고 보고하였다. 또한 비사구체 신장질환인 일측성 요관 폐쇄가 있는 동물 모델에서 L-아르기닌의 섭취가 손상 24시간 후 신여과율과 신혈류를 개선시켜 신손상을 감소시킨다는 연구가 있었으며[32, 33]. NO가 여러 사이토카인을 매개하여 역류성 신병증 환자에서 신손상과 신 섬유화를 유도한다는 보고가 있었으나[34, 35], 본 연구와 관련하여 역류의 정도에 따른 NO의 증가에 관한 연구는 아직 이루어진 바가 없다. 특히 신장 반흔이 있는 경우가 반흔이 없는 경우보다 NO의 생산이 높게 추정되었다는 점은 특기할만한 결과인데, 이는 만성적인 질병상태에서 조직 손상이 반복되어 조직의 섬유화를 일으키는 과정에 NO가 관여함을 기존의 연구들보다 훨씬 직접적으로 시사하고 있으며, 또한 이제까지의 연구들이 실험적으로 유발된 전형적 동물실험이 대부분이었던 것에 반해 직접 신장

질환 소아들을 대상으로 후향적인 연구를 통해 NO의 병리적 역할을 입증한 것에 이번 연구의 큰 의의가 있다고 할 것이다.

결론적으로 MCNS, 특히 단백뇨의 발생기전에 NO가 관여할 가능성이 있으며 신장 내 반흔의 형성에도 NO가 관여할 수 있음을 확인하였다.

한 글 요 약

목적 : 본 연구는 소아신장질환에서 소변 내 산화질소(NO)의 배설이 변화 되는가 또한 소변 내 NO가 소아 신장질환의 조직학적 원인 및 섬유화 여부를 추정하는데 사용될 수 있는가를 알아보았다.

방법 : 고대구로병원 소아신장 클리닉에 다니는 방광 요관 역류(VUR) 환자 16명, 미세 변화 신 증후군(MCNS) 환자 32명을 대상으로 하였다. 대조군은 신장 질환이 없는 환자 12명으로 하였다. 소변은 채취 즉시 원심 분리한 후, 상청액을 분리하여 Griess 반응으로 아질산염(NO₂)과 질산염(NO₃)농도를 측정하였고 Jaffe 방법으로 크레아티닌(Cr)을 측정하여 소변 내(NO₂+NO₃)/Cr 농도비를 구하여 질환별로 집단 간의 차이를 비교하였다. 또한, MCNS 군에서는 재발 및 단백뇨의 정도와, VUR 군에서는 신반흔의 유무 및 역류의 정도와 소변 내(NO₂+NO₃)/Cr 비율의 차이를 각각 비교하였다.

결과 : VUR군과 MCNS 환자 군 모두 대조군에 비해 소변 내(NO₂+NO₃)/Cr 값이 통계적으로 의미 있게 높았다. MCNS군의 경우 진단 후 첫 1년간 4회 이상 재발했던 빈번 재발 군이 4회 미만의 군보다, 단백뇨 1+ 이상이었던 군이 단백뇨 trace 이하인 군보다 소변 내(NO₂+NO₃)/Cr 값이 통계적으로 의미 있게 높았다. VUR군에서는 신장 반흔이 있는 경우가 없는 경우보다 소변 내(NO₂+NO₃)/Cr 값이 통계적으로 의미 있게 높았으나, 역류의 정도와는 관련이 없었다.

결론 : VUR과 MCNS의 발생, 특히 단백뇨의

발생기전에 NO가 관여할 가능성이 있으며, 요로 감염 후 신장 내 반흔의 형성에도 NO가 관여할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Ballevre L, Solhaug MJ, Guignard JP. Nitric oxide and the immature kidney. *Biol Neonate* 1996;70:1-14.
- 2) Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-6.
- 3) Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, Wood KS. Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res* 1987;61:866-79.
- 4) Baylis C, Qiu C. Importance of nitric oxide in the control of renal hemodynamics. *Kidney Int* 1996;49:1727-31.
- 5) Konduri GG. New approaches for persistent pulmonary hypertension of newborn. *Clin Perinatol.* 2004;31:591-611.
- 6) Eberhardt W, Beeg T, Beck KF, Walpen S, Gauer S, Bohles H, et al. Nitric oxide modulates expression of matrix metalloproteinase-9 in rat mesangial cells. *Kidney int* 2000;57:59-69.
- 7) Vinas JL, Sola A, Genesca M, Alfaro V, Pi F, Hotter G. NO and NOS isoforms in the development of apoptosis in renal ischemia/reperfusion. *Free Radic Biol Med* 2006;40:992-1003.
- 8) Pfeilschifter J, Rob P, Mulsch A, Fandrey J, Vosbeck K. and Busse R. Interleukin 1 beta and tumour necrosis factor alpha induce a macrophage-type of nitric oxide synthase in rat renal mesangial cells, *Eur J Biochem* 1992;203:251-5.
- 9) Chatterjee PK, Patel NS, Kvale EO, Cuzzocrea S, Brown PA, Stewart KN, et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney int* 2002;61:862-71.

- 10) Cattell V, Cook T, Moncada S. Glomeruli synthesize nitrite in experimental nephrotoxic nephritis. *Kidney int* 1990;38:1056-60.
- 11) Narita I, Border WA, Ketteler M, Noble NA. Nitric oxide mediates immunologic injury to kidney mesangium in experimental glomerulonephritis. *Lab Invest* 1995;72:17-24.
- 12) Tsikas D, Gutzki FM, Stichtenoth DO. Circulating and excretory nitrite and nitrate as indicators of nitric oxide synthesis in humans: methods of analysis. *Eur J Clin Pharmacol* 2006;62:51-9.
- 13) Lebowitz RL, Olbing H, Parkkulainen KV, Smellie JM, Tamminen-Mobius TE. International system of radiographic grading of vesicoureteric reflux. *Pediatr Radiol* 1985;15:105-9.
- 14) Huanf Z, Luderback JG, Goal M, Azizi F, King SB, Kim-Sapiro DB. Nitric oxide binding to oxygenated hemoglobin under physiological conditions. *Biochem Biophys Acta* 2001;1568:252-60.
- 15) Myers PR, Minor RL Jr, Guerra R Jr, Bates JN, Harrison DG. Vasorelaxant properties of the endothelium-derived relaxing factor more closely resemble S-nitrosocysteine than nitric oxide. *Nature* 1990;345:161-3.
- 16) Njoku CJ, Patrick KS, Ruiz P Jr, Oates JC. Inducible nitric oxide synthase inhibitors reduce urinary markers of systemic oxidant stress in murine proliferative lupus nephritis. *J Investig Med* 2005;53:347-52.
- 17) Brooks DP, Contino LC. Involvement of nitric oxide synthase in proteinuria associated with chronic renal disease in rats. *Pharmacology* 1998;56:257-61.
- 18) Ni Z, Vaziri ND. Downregulation of nitric oxide synthase in nephrotic syndrome: role of proteinuria. *Biochem Biophys Acta* 2003;1638:129-37.
- 19) Peters H, Border WA, Noble NA. L-Arginine supplementation increases mesangial cell injury and subsequent tissue fibrosis in experimental glomerulonephritis. *Kidney Int* 1999;55:2264-73.
- 20) Mosley K, Waddington SN, Ebrahim H, Cook T, Cattell V. Inducible nitric oxide synthase induction in Thy 1 glomerulonephritis is complement and reactive oxygen species dependent. *Exp Nephrol* 1999;7:26-34.
- 21) Zhou XJ, Laszik Z, Wang XQ, Silva FG, Vaziri ND. Association of renal injury with increased oxygen free radical activity and altered nitric oxide metabolism in chronic experimental hemosiderosis. *Lab Invest* 2000;80:1905-14.
- 22) Cattell V. Nitric oxide and glomerulonephritis. *Kidney Int* 2002;61:816-21.
- 23) Hochberg D, Johnson CW, Chen J, Cohen D, Stern J, Vaughan ED Jr, Poppas D, Felsen D. Interstitial fibrosis of unilateral ureteral obstruction is exacerbated in kidneys of mice lacking the gene for inducible nitric oxide synthase. *Lab Invest* 2000;80:1721-8.
- 24) Hocher B, Schwarz A, Slowinski T, Bachmann S, Pfeilschifter J, Neumayer HH, et al. In-vivo interaction of nitric oxide and endothelin. *J Hypertens* 2004;22:111-9.
- 25) Downey D, Elborn JS. Nitric oxide, iNOS, and inflammation in cystic fibrosis. *J Pathol* 2000;190:115-6.
- 26) Ketteler M, Westenfeld R, Gawlik A, Bachmann S, Frey A, Schonfelder G, et al. Nitric oxide synthase isoform expression in acute versus chronic anti-Thy 1 nephritis. *Kidney Int* 2002;61:826-33.
- 27) Heeringa P, Bijl M, de Jager-Krikken A, Van Goor H. Renal expression of endothelial and inducible nitric oxide synthase, and formation of peroxynitrite-modified proteins and reactive oxygen species in Wegener's granulomatosis. *J Pathol* 2001;193:224-32.
- 28) Yu CC, Yang CW, Wu MS, Ko YC, Huang CT, Hong JJ, et al. Mycophenolate mofetil reduces renal cortical inducible nitric oxide synthase mRNA expression and diminishes glomerulosclerosis in MRL/lpr mice. *J Lab Clin Med* 2001;138:69-77.
- 29) Datta PK, Sharma M, Duann P, Lianos EA. Effect of nitric oxide synthase inhibition on proteinuria in glomerular immune injury. *Exp Biol Med* 2006;231:576-84.
- 30) Amore A, Emancipator SN, Cirina P, Conti

- G, Ricotti E, Bagheri N, et al. Nitric oxide mediates cyclosporine-induced apoptosis in cultured renal cells. *Kidney Int* 2000;57:1549-59.
- 31) Eberhardt W, Beeg T, Beck KF, Walpen S, Gauer S, Bohles H, et al. Nitric oxide modulates expression of matrix metalloproteinase-9 in rat mesangial cells. *Kidney Int* 2000;57:59-69.
- 32) Ito K, Chen J, Seshan SV, Khodadadian JJ, Gallager R, El Chaar M, et al. Dietary arginine supplementation attenuates renal damage after relief of unilateral ureteral obstruction in rats. *Kidney Int* 2005;68:515-28.
- 33) Ito K, Chen J, Vaughan ED Jr, Poppas DP, Felsen D. Dietary L-arginine supplementation improves the glomerular filtration rate and renal blood flow after 24 hours of unilateral ureteral obstruction in rats. *J Urol* 2004;171:926-30.
- 34) Rolle U, Shima H, Puri P. Nitric oxide, enhanced by macrophage-colony stimulating factor, mediates renal damage in reflux nephropathy. *Kidney Int* 2002;62:507-13.
- 35) Chertin B, Rolle U, Farkas A, Puri P. The role of nitric oxide in reflux nephropathy. *Pediatr Surg Int* 2002;18:630-4.