J Korean Soc Transplant
2003;17:131-136

□ 원 저 □

신장이식 후 1년 이상 경과한 환자의 말초혈액 단핵구에서 측정한활성산소족 농도와 혈청 크레아티닌과의 상관관계 분석

연세대학교 의과대학 [1]장기이식연구소 및 [2]BK21 의과학사업단, [3]순천향대학교 현암신장연구소, 연세대학교 [4]원주의과대학 외과학교실

김지혜[1,2] · 박제현[1,2] · 하헌주[3] · 이희발[3] · 허규하[1] · 김명수[1,4] · 김순일[1] · 김유선[1,2] · 박기일[1]

Increased Intracellular Reactive Oxygen Species in Peripheral Blood Mononuclear Cells from Renal Transplant Recipients with Decreased Graft Function

Ji Hye Kim, B.S.[1,2], **Jehyun Park,** B.S.[1,2], **Hunjoo Ha,** Ph.D.[3], **Hi Bahl Lee,** M.D.[3], **Kyu Ha Huh,** M.D.[1], **Myoung Soo Kim,** M.D.[1,4], **Soon Il Kim,** M.D.[1], **Yu Seun Kim,** M.D.[1,2], and **Kiil Park,** M.D.[1]

[1]The Research Institute for Transplantation and [2]BK21 for Medical Science, Yonsei University College of Medicine, Seoul, [3]Hyonam Kidney Laboratory, Soon Chun Hyang University, Seoul, and [4]Department of Surgery, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju, Korea

Purpose: Oxidative stress plays an important role in the development and progression of renal injury. However, the role of reactive oxygen species (ROS) in renal allograft dysfunction is not clear. The present study examined the level of intracellular ROS in healthy control (kidney donor, n=37), end-stage renal disease (ESRD) patients (n=36), transplant recipients with serum creatinine (Scr) less than 1.5 mg% (n=33), and recipients with Scr between 1.5 and 5.0 mg% (n=36) at least one year after renal transplantation. **Methods:** Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated by Ficoll-Hypaque gradient method. Dichlorofluorescein (DCF)-sensitive ROS was measured by flow cytometry and expressed as an arbitrary unit. **Results:** Basal ROS production in PBMC was significantly increased in ESRD patients compared to healthy control. Basal ROS production in both transplant patient groups was not significantly different from healthy control. Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) and hydrogen peroxide significantly enhanced intracellular ROS in all 4 groups. PMA- and hydrogen peroxide-induced cellular ROS was significantly higher in renal recipients with Scr between 1.5 and 5.0 mg% than in both healthy control and patients with Scr below 1.5 mg%. In regression analysis all, PMA- and hydrogen peroxide-induced as well as basal intracellular ROS in PBMC was correlated with Scr. **Conclusion:** Our results demonstrate that oxidative stress correlates with the declining of renal graft function. **(J Korean Soc Transplant 2003;17:131-136)**

Key Words: Reactive oxygen species, Peripheral blood mononuclear cells, Transplantation, Graft function

중심 단어: 활성산소족, 말초혈액 단핵구, 신장이식, 신기능

서 론

신이식 후 발생하는 만성 이식신 기능부전증(chronic allograft nephropathy)은 이식신의 장기 생존을 저해하는 주된 요소로서 주요 병리 소견은 혈관경화증(transplant arteriosclerosis), 섬유화(fibrosis) 및 사구체경화증(glomerulosclerosis) 등으로 대별될 수 있다.(1) 만성 이식신 기능부전의 원인으로는 면역학적인 원인과 비면역학적인 원인이 있으며, 면역학적인 주요원인으로는 급성거부반응의 발생시기와 횟수, HLA 조직 적합도 등이고, 비면역학적인 원인으로는 허혈 및 재관류 손상, 상대적 신원용량의 부족, cytomegalovirus 감염, 공여자의 연령, 지질대사의 장애, 고혈압 및 당뇨병 등이 거론되고 있다.(2)

활성산소족은 반응성이 높은 산소물질로 병원균, 바이러스 및 암세포 등을 제거하는 역할을 하는 한편 세포내 신호전달자로 작용하여 세포를 활성화시킴으로써 노화 및 각종

책임저자 : 김유선, 서울특별시 서대문구 신촌동 134번지
연세대학교 의과대학 외과학교실, 120-752
Tel: 02-361-5563, Fax: 02-313-8289
E-mail: yukim@yumc.yonsei.ac.kr
하헌주의 현 주소: 이화여자대학교 약학대학

본 연구는 한국과학재단 2003년 특정기초연구(R01-2001-000-00119-0)지원으로 이루어졌음.
본 논문의 내용은 World Congress of Nephrology 2003(독일 베를린)과 제 8차 아시아 이식학회(말레이시아 쿠알라룸푸르)에서 발표되었음.

질병의 진행에 관여한다.(3) 특히, 고혈압이나 동맥경화증 같은 혈관질환,(4,5) 당뇨병성 신증을 비롯한 혈관합병증(6,7) 등의 주된 원인으로 활성산소족의 역할이 최근들어 인식되고 있다. 허혈/재관류에 의한 조직 손상은 대표적인 산화성 스트레스에 의한 조직손상이지만, 아직까지 만성 이식신 기능부전증 에서의 활성산소족 역할에 대한 연구는 한정되어 있다.(8-10)

말초혈액 단핵구(peripheral blood mononuclear cells)는 염증반응에 관여하는 주된 세포로서 활성화되면 활성산소족을 분비하거나 혈관 내피세포에 부착되어 조직 내로 유입되고 대식세포로 분화하여 항원제시세포작용과 식작용을 한다. 실제로 알부민뇨가 나오는 당뇨환자의 말초혈액 단핵구 내 산화성 스트레스가 알부민뇨가 없는 당뇨환자나 정상 대조군에 비하여 증가되어 있어,(11) 말초혈액 단핵구에서의 산화성 스트레스 증가가 신손상의 지표가 될 수 있음을 제시하고 있다.

본 연구에서는 신장이식 환자에서 말초혈액 단핵구에서의 세포 내 활성산소족과 신기능과의 상관관계를 검색하고자 이식 후 1년이 경과된 환자를 대상으로 하여 혈청 크레아티닌 농도 1.5 mg%를 기준으로 구분하여, 말초혈액 단핵구의 기저 활성산소족을 측정하고, 말초혈액 단핵구를 비롯한 대부분의 세포내 활성산소족을 증가시키는 PMA와 hydrogen peroxide로 자극한 후 활성산소족을 측정하였다.

방 법

1) 실험대상

실험대상은 신장이식 후 1년 이상 경과한 환자를 대상으로 하여 혈청 크레아티닌 1.5 mg%를 기준으로 2군으로 분류하였으며, 장기공여를 위하여 입원한 건강인을 일반대조군으로, 신장이식을 위하여 입원한 환자를 말기신부전환자군으로 하였다.

- 일반 대조군(장기공여자): n=37
- 이식 대조군(혈청 크레아티닌 1.5 mg% 미만): n=33
- 말기신부전 환자군(이식직전 환자, 혈청 크레아티닌 5.0 mg% 이상): n=36
- 이식 환자군(혈청 크레아티닌 1.5 mg% 이상): n=36

2) 말초혈액 단핵구의 분리

말초혈액 단핵구의 분리는 Hofmann 등(12)의 Ficoll-Hypaque gradient 방법으로 시행하였고, 간략하면 다음과 같다. 헤파린으로 코팅된 시험관에 채취한 혈액 10 mL을 준비한 Ficoll-Hypaque plus 용액 5 mL이 들어있는 시험관에 섞이지 않도록 부어준 후, 상온에서 2,800 rpm으로 20분간 원심분리하였다. 말초혈액 단핵구가 함유된 층을 분리하여 Hank's balanced salt solution (HBSS; GIBCO BRL. Gaithersburg, MD, U.S.A.)을 사용하여 3회 세척한 후 실험에 사용하였다.

Table 1. Clinical and biochemical characteristics of subjects

	Healthy control	ESRD patinets before transplantation	Transplant recipients (Scr < 1.5)	Transplant recipients ((Scr ≥ 1.5)
Number of patients	37	36	33	36
Sex ratio M/F (%)	18/19 (48.6/51.4%)	18/18 (50/50%)	21/12 (63.6/36.4%)	25/11 (69.4/30.6%)
Age	32.62±14.99	39.06±12.15	47.8±10.86	40.19±11.29
Serum creatinine (mg/dl)	0.90±0.23	9.79±3.48	1.13±0.19	2.54±1.34
Relation (%)				
Related (1haplo-identical)			14 (42.4%)	21 (58.3%)
Related (2haplo-identical)			5 (15.2%)	4 (11.1%)
Unrelated			14 (42.4%)	11 (30.6%)
Body mass index (H^2/W)		466.41±107.37	497.55±61.27	471.98±113.71
Acute rejection episode within the first 3 months: number of patients (%)			6 (18.2%)	9 (25%)
Immunos uppressive treatment CsA/FK506 (%)			28/5 (84.8/15.2%)	34/2 (94.4/5.6%)
Pre-transplant Dialysis (%)				
No dialysis		5 (13.9%)	3 (9.1%)	4 (11.1%)
Hemodialysis		23 (63.9%)	24 (72.7%)	25 (69.4%)
Peritoneal dialysis		8 (22.2%)	6 (18.2%)	7 (19.5%)
Duration of dialysis (months)		32.25±49.72	18.73±25.55	8.14±16.8

3) 말초혈액 단핵구의 세포 내 활성산소족 측정

분리한 말초혈액 단핵구는 hemocytometer를 사용하여 1 $\times 10^6$ cells/ml이 되도록 분주한 후 산화에 민감한 형광염료인 5-(and-6)-chloromethyl-2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA; Molecular probe, Eugene, Oregon, U.S.A.) 5 μM을 첨가하여 20분간 37°C 세포배양기에 방치하였다. 세포내로 유입되지 않은 DCFH-DA를 제거하기 위해 HBSS로 씻어준 후 flow cytometry (Becton Dickinson Immunocytometry system, Mountain View, CA, U.S.A.)로 exitation 488 nm, emission 534 nm에서 형광을 측정하여 세포 내 활성산소족을 측정하였다. 양성대조군으로 세포 내 활성산소족을 유도할 수 있는 phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA; Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, U.S.A.) 80 nM과 hydrogen peroxide (Junsei, Tokyo, Japan) 100 μM을 활성산소족 측정 15분과 5분 전에 각각 처리하였다.

4) 통계처리

말초혈액 단핵구내 활성산소족의 측정치는 "평균(mean) ± 표준 오차(standard error)"로 나타내었고, 환자의 임상 및 생화학적 지표는 "평균(mean)±표준 편차(standard deviation)"으로 나타내었다. 각 군 간의 통계학적인 비교는 분산분석(ANOVA)과 Student's t-test를 시행하였고, 세포내 활성산소족과 혈청 크레아티닌과의 상관관계는 회귀분석(regression analysis)을 이용하여 P값이 0.05 미만인 경우에 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1) 실험대상 환자의 임상 및 생화학적 지표

대상 환자의 임상 및 생화학적 지표는 Table 1과 같다. 각 실험군의 분류기준인 혈청 크레아티닌 수준을 제외한 다른 지표에서 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.

2) 기저상태에서 각 군간 말초혈액 단핵구의 세포 내 활성산소족 비교

기저상태에서의 활성산소족은 일반 대조군(6.53±0.25)에 비해 말기신부전 환자군(8.64±0.99)에서 유의하게 증가하였고($P<0.05$), 이식 대조군(7.30±0.59)과 이식 환자군(7.09±0.27)은 일반 대조군과 차이가 없었다($P>0.05$, Fig 1A). 회귀분석을 시행한 결과 말초혈액 단핵구의 세포내 활성산소족과 모든 환자의 혈청 크레아티닌 수준은 유의한 상관관계가 있었다($P<0.05$, $R^2=0.0861$, Fig 1B).

3) PMA와 hydrogen peroxide 투여 후 각 군간 말초혈액 단핵 구의 세포 내 활성산소족 비교

PMA 80 nM과 hydrogen peroxide 100 μM은 모든 군에서 말초혈액 단핵구의 세포 내 활성산소족을 통계적으로 유의하게 상향조절 하였다($P<0.05$).

PMA와 hydrogen peroxide 투여 후 각각 말초혈액 단핵구의 세포 내 활성산소족은 말기신부전 환자군(23.54±2.19, 21.63±1.69)에서 일반 대조군(15.62±1.15, 13.08±0.74)에 비해 유의하게 증가하였고($P<0.05$), 이식 환자군(22.62±2.51, 20.57±1.25)에서는 일반 대조군(15.62±1.15, 13.08±0.74)이나 이식 대조군(16.31±1.84, 16.56±0.68)에 비해 유

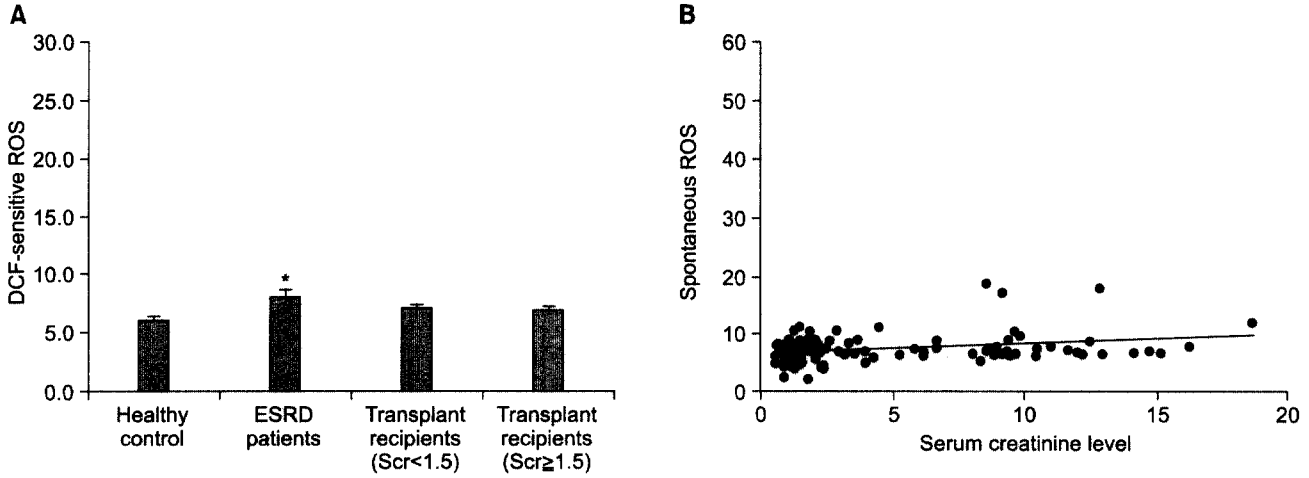

Fig. 1. Basal intercellular ROS in PBMC of each group. (A) Spontaneous ROS in PBMC. Data are presented as the mean±SE of 33~38 experiments. *$P<0.05$ vs. healthy control. (B) Relationship between spontaneous ROS and serum creatinine level ($P<0.05$, $R^2=0.0861$, $Y=6.4625+0.1614X$).

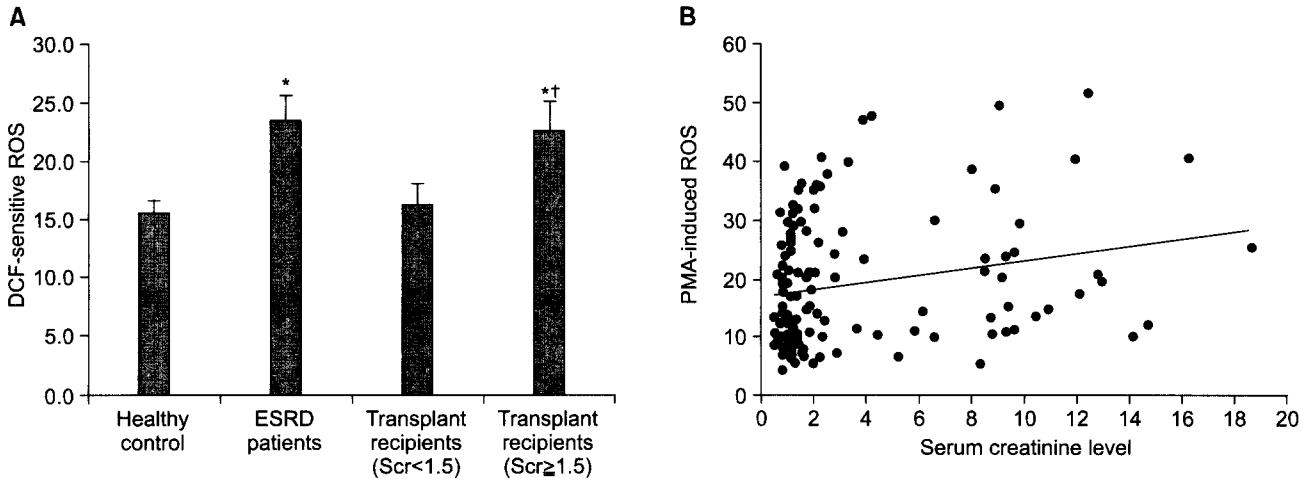

Fig. 2. PMA-induced intercellular ROS in PBMC of each group. (A) PMA-induced ROS in PBMC. Data are presented as the mean ± SE of 33~38 experiments. *P<0.05 vs. healthy control. †P<0.05 vs transplant recipients (Scr<1.5). (B) Relationship between intracellular ROS and serum creatinine level (P<0.05, R^2=0.0481, Y=16.833+0.6122X).

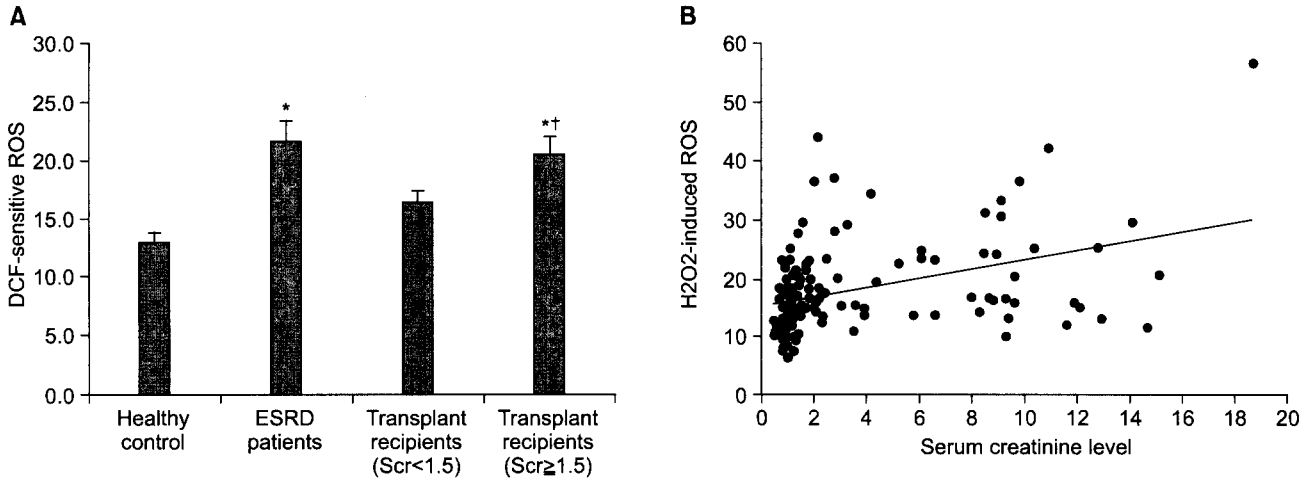

Fig. 3. Hydrogen peroxide-induced intercellular ROS in PBMC of each group. (A) hydrogen peroxide-induced ROS in PBMC. Data are presented as the mean±SE of 33~38 experiments. *P<0.05 vs. healthy control. †P<0.05 vs transplant recipients (Scr<1.5). (B) Relationship between intracellular ROS and serum creatinine level (P<0.05, R^2=0.1581, Y=15.23+0.7878X).

의하게 증가하였다(P<0.05). 이식 대조군(16.31±1.84, 16.56±0.68)은 일반 대조군(15.62±1.15, 13.08±0.74)과 차이가 없었다(P>0.05). 또한, 이식 환자군(22.62±2.51, 20.57±1.25)은 이식 대조군(16.31±1.84, 16.56±0.68)과 비교했을 때 유의하게 증가했다(P<0.05, Fig 2A, 3A). 회귀분석을 시행한 결과 말초혈액 단핵구의 세포 내 활성산소족과 환자의 혈청 크레아티닌 수준은 PMA (P<0.05, R^2=0.0481, Fig 2B)와 hydrogen peroxide (P<0.05, R^2=0.1581, Fig 2B) 투여군 모두에서 유의한 상관관계가 있었다.

고 찰

본 연구의 결과는 신장이식 후 1년이 경과한 이식 환자중 혈청 크레아티닌이 1.5 mg% 미만인 환자의 말초혈액 단핵구내 기저치와 PMA나 hydrogen peroxide에 의한 활성산소족은 일반 대조군과 비교하여 변화가 없었으나, 혈청 크레아티닌이 1.5 mg% 이상인 환자의 말초혈액 단핵구내 활성산소족은 PMA나 hydrogen peroxide 자극 시 일반 대조군이나 이식 대조군보다 의미있게 증가되어 있음과, 기저치와 자극 후 말초혈액 단핵구 활성산소족과 혈청 크레아티닌은 양의 상관관계가 있음을 보였다.

활성산소족은 동맥경화증을 비롯한 혈관질환(*4,5*) 뿐 아니라 당뇨병성 신증(*6,7*)과 같은 신장 질환의 주된 병인으로 거론 되고 있다. 기저상태에서 말초혈액 단핵구내 활성산소족은 말기신부전증 환자에서만 유의하게 증가하였다. 이는 말기신부전증 환자에서 산화성 스트레스가 증가하고, 혈액투석이나 복막투석에 의하여 말초혈액 단핵구내 활성산소족이 더 증가한다는 기존의 결과(*13-15*)와 일치한다. 이식 환자군에서는 이식신 기능의 저하에도 불구하고 활성산소족의 수준이 일반 대조군에 비해 차이가 없었다. 이는 본 연구 대상인 이식 환자군의 혈청 크레아티닌이 2.51±1.31로서 말기신부전증 환자의 9.79±3.48보다 의미 있게 낮은 것이 한 원인이 될 것으로 사료된다. Cristol 등(*8*)은 조직 생검에 의해 확인된 만성이식신 거부반응 환자의 혈중 지질과산화가 증가되어 있음을 보고하였다.

활성산소족의 증가는 세포 내 신호전달체계를 활성화하여 염증반응이나 조직 섬유화의 발생과 진행에 관여함이 최근 제시되고 있다.(*3-7,16-21*) 따라서 적절한 자극에 의하여 활성산소족의 생산이 증가된 말초혈액 단핵구가 신장내 염증반응을 유도함으로써 신장 손상을 유발할 수 있을 것으로 생각된다. 본 연구에서는 이식 후 신기능의 소실과 말초혈액 단핵구내 활성산소족과의 상관관계만을 제시한 것으로 말초혈액 단핵구내 활성산소족 증가가 신장내 염증반응을 초래하는지와 그에 따라 신기능의 소실이 동반되는지에 대한 추후 연구가 필요할 것으로 생각된다. 그러나 Albrecht 등(*10*)은 만성이식신 기능부전증 환자의 신장 생검 소견에서 활성산소족과 nitrotyrosine에 양성 반응을 보이는 세포가 세뇨관 간질 내에 증가되어 있다고 보고하였고, Hofmann 등(*11*)은 당뇨병성 신증 환자에서는 말초혈액 단핵구내 활성산소족 증가에 따른 NF-κB 활성화를 관찰하여 신손상과 관계가 있음을 시사하였다.

한편 이식 환자에게 투여되는 면역억제제는 활성산소족 생산을 억제할 수 있으나,(*20,21*) 본 연구대상인 환자들에게 투여된 cyclosporine이나 tacrolimus는 활성산소족 생산을 유발하는 것으로 알려져 있다.(*22*) 따라서 이식 후에 사용하는 면역억제제가 말초혈액 단핵구내 활성산소족에 미치는 영향이 경우에 따라 다르게 나타날 수 있을 것이나, 본 연구의 결과는 신기능에 손상이 진행되어 혈청 크레아티닌이 1.5 mg% 이상이 되면 자극받은 말초혈액 단핵구내 활성산소족이 증가됨을 제시하였다.

세포 내 활성산소족은 생산과 제거에 의하여 조절됨으로, 생산 기전의 증가뿐 아니라 제거 기전의 억제가 세포 내 활성산소족을 또한 증가시킨다. PMA와 hydrogen peroxide를 투여한 후 말초혈액 단핵구내 활성산소족은 일반 대조군이나 이식대조군에 비해 말기신부전 환자군과 이식 환자군에서 높게 나타났다. Hydrogen peroxide 투여 시 활성산소족이 유의하게 증가한 것은 세포 내 항산화 기전이 감소되어 있음을 시사한다. 한편 PMA 투여 시 이식 환자군의 말초혈액 단핵구내 활성산소족이 이식 대조군이나 일반 대조군보다 유의하게 증가한 것은 말초혈액 단핵구내 활성산소족 생산 기전이 증가되어 있음을 시사한다. 5/6 신절제 흰쥐의 신장 내 Cu, Zn-와 Mn-superoxide dismutase (SOD)의 단백 표현이 억제되는 등 항산화 방어 기전은 저하되어 있고 활성산소족을 생산하는 NADPH oxidase 구성성분인 $gp91^{phox}$ 단백표현은 상향 조절되어 있고,(*23*) 조직 생검에 의해 확인된 만성 이식신 거부반응 환자의 혈중 지질과산화 증가와 함께 적혈구내 항산화계인 Vitamin E와 SOD 활성이 의미있게 저하되어 있음이 보고된 바 있다.(*8*) 추후 이식환자군의 말초혈액 단핵구내 활성산소족 생산과 항산화 기전의 변화를 검색함이 필요하다.

결 론

본 연구의 결과는 말초혈액 단핵구의 세포내 활성산소족 증가가 신장이식 후 이식신 기능의 소실과 양의 상관관계가 있음을 제시하였으며, 이러한 활성산소족의 증가가 신장내 염증반응을 유도함으로써 신손상을 유발할 수 있는 가능성을 시사하였다.

REFERENCES

1) Häyry P, Isoniemi, Yilmaz S. Chronic allograft rejection. Immunol Rev 1933;134:33-81.
2) Serddar Y, Pekka H. The impact of acute episodes of rejection on the generation of chronic rejection in rat retinal allografts. Transplantation 1993;56:1153-7.
3) Rhee SG. Redox signaling: hydrogen peroxide as intracellular messenger. Exp Mol Med 1999;31:53-9.
4) Yasunari K, Maeda K, Nakamura M, Yoshikawa J. Oxidative stress in leukocytes is a possible link between blood pressure, blood glucose, and C-reacting protein. Hypertension 2002;39: 777-80
5) Sedeek MH, Llinas MT, Drummond H, Fortepiani L, Abram SR, Alexander BT, Reckelhoff JF, Granger JP. Role of reactive oxygen species in endothelin-induced hypertension. Hypertension 2003;42:806-10.
6) Lee HB, Yu MR, Yang Y, Jiang Z, Ha H. Reactive oxygen species-regulated signaling pathways in diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol 2003;14:S241-5.
7) Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, Yorek MA, Beebe D, Oates PJ, Hammes HP, Giardino I, Brownlee M. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. Nature 2000;404:787-90.
8) Cristol JP, Vela C, Maggi MF, Descomps B, Mourad G. Oxidative stress and lipid abnormalities in renal transplant recipients with or without chronic rejection. Transplantation 1998;65:1322-8.

9) Simic-Ogrizovic S, Simic T, Reljic Z, Markovic S, Blagojevic R, Radivojevic D, Lezaic V, Djukanovic L, Mimic-Oka J. Markers of oxidative stress after renal transplantation. Transpl Int 1998;11 Suppl 1:S125-9.
10) Albrecht EW, Stegeman CA, Tiebosch AT, Tegzess AM, van Goor H. Expression of inducible and endothelial nitric oxide synthases, formation of peroxynitrite and reactive oxygen species in human chronic renal transplant failure. Am J Transplant 2002;2:448-53.
11) Hofmann MA, Schiekofer S, Isermann B, Kanitz M, Henkels M, Joswig M, Treusch A, Morcos M, Weiss T, Borcea V, Abdel Khalek AK, Amiral J, Tritschler H, Ritz E, Wah P, Ziegler R, Bierhaus A, Nawroth PP. Peripheral blood mononuclear cells isolated from patients with diabetic nephropathy show increased activation of the oxidative-stress sensitive transcription factor NF-κB. Diabetologia 1999;42:222-32.
12) Hofmann B, Losche W, Hofmann J, Till U, Thielmann K. Anticoagulant-free prepared blood platelets and the effect of calcium on their aggregation behaviour. Artery 1980;8:437-41.
13) Dursan E, Ozben T, Suleymanlar G, Dursun B, Yakupoglu G. Effect of hemodialysis on the oxidative stress and antioxidants. Clin Chem Lab Med 2002;40:1009-13.
14) Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. Kidney Int 2002;62:1524-38.
15) Tarng DC, Wen Chen T, Huang TP, Chem CL, Liu TY, Wei YH. Increased oxidative damage to peripheral blood leukocyte DNA in chronic peritoneal dialysis patients. J Am Soc Nephrol 2002;13:1321-30.
16) Moriyama T, Kawada N, Nagatoya K, Horio M, Imai M, Hori M. Oxidative stress in tubulointerstitial injury: therapeutic potential of antioxidants towards interstitial fibrosis. Nephrol Dial Transplant 2000;15:S47-9.
17) Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L. Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. Lab Invest 2000;80:617-53.
18) Suematsu M, Suzuki H, Delano FA, Schmid-Schonbein GW. The inflammatory aspect of the microcirculation in hypertension: oxidative stress, leukocytes/endothelial interaction, apoptosis. Microcirculation 2002;9:259-76.
19) Loguercio C, Federico A. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis. Free Radic Biol Med 2003;34:1-10.
20) Mastruzzo C, Crimi N, Vancheri C. Role of oxidative stress in pulmonary fibrosis. Monaldi Arch Chest Dis 2002;57:173-6.
21) Salvemini D, Ischiropoulos H, Cuzzocrea S. Roles of nitric oxide and superoxide in inflammation. Methods Mol Biol 2003;225:291-303.
22) Calo LA, Davis PA, Giacon B, Pagnin E, Sartori M, Riegler P, Antonello A, Huber W, Semplicini A. Oxidative stress in kidney transplant patients with calcineurin inhibitor-induced hypertension: effect of ramipril. J Cardiovasc Pharmacol 2002; 40:625-31.
23) Vaziri ND, Dicus M, Ho ND, Boroujerdi-Rad L, Sindhu RK. Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH oxidase in renal insufficiency. Kidney Int 2003;63: 179-85.