

고지방식이와 Adriamycin으로 유도된 신증후군 흰쥐실험모델에 비타민 E 첨가식이가 신장의 지질과산화대사에 미치는 영향*

박영주[§] · 박양자 · 원향례**

서울대학교 생활과학대학 식품영양학과, 상지대학교 식품영양학과**

Effects of Vitamin E Supplementation on Renal Lipid Peroxidation in High Fat Diet and Adriamycin Induced Experimental Nephrotic Syndrome Model Rats*

Park, Young Joo[§] · Park, Yaung Ja · Won, Hyang Rye**

Department of Food and Nutrition, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
Department of Food and Nutrition,** Sangji University, Wonju 220-702, Korea

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effects of vitamin E supplementation renal lipid peroxidation in high fat diet and adriamycin (ADR) induced experimental nephrotic syndrome model rats. Treated rats were injected intraperitoneally with ADR (2mg/kgBW/wk) once a week for four weeks. Control rats were injected with saline solution instead of ADR. The rats in each group were fed experimental diets of three levels of vitamin E for 10 weeks : Normal (50IU/kg diet), high (5,000IU/kg diet), excess (7,500IU/kg diet). The high fat diet and ADR treatment was performed to induce the decrease of kidney functions. Serum total cholesterol was significantly decreased by the excess supplementation. But there was no effect of vitamin E supplementation on serum total lipid and triglyceride. Thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) was significantly decreased at high and excess supplementation. Glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GP_x) and catalase activities (CAT) were measured as antioxidative enzymes. The renal glutathione reductase (GR) and catalase activities (CAT) were inclined to elevate by vitamin E supplementation. Thus the vitamin E supplementation was found to have an antioxidant effect. These results suggested that vitamin E supplementation could alleviate the changes in renal lipid peroxidation. (*Korean J Nutrition* 33(2) : 141~146, 2000)

KEY WORDS: vitamin E supplementation, high fat diet, ADR induced experimental nephrotic syndrome model rats, lipid peroxidation.

서 론

신증후군이란 단백뇨, 저알부민혈증 및 고지혈증의 증상을 복합적으로 보이는 만성진행성신장질환으로 임상적으로 뚜렷한 신장질환이 시작되기 전에 혈장 콜레스테롤과 중성지방의 증가 뿐만 아니라 지단백이상을 보인다.^{1,3)} 최근 신장질환에서 사구체간질에 지질이 축적되어 있음이 많은 연구에서 보고됨으로써 지질대사이상이 진행성신장질환의 발달과 진행에 관여할 것이라는 가능성이 주목을 받게 되었다.^{4,5)} 또한 우리나라에서도 경제성장과 국민소득의 향상으로 식생활양식이 서구화되어감에 따라 식이지방섭취는 계속

채택일 : 2000년 2월 3일

*The author wishes to acknowledge the financial Korea Research Foundation made in the program year of 1997.

[§]To whom correspondence should be addressed.

속 증가 추세에 있다.⁶⁾ 이는 신장기능저하의 위험성을 높일 수 있음을 시사하는 것이다. 고지혈증이 신장손상의 병인에 미치는 기전은 고지혈증상태가 혈관내피세포의 손상을 초래하고 혈소판응집과 혈소판유래 성장인자의 방출을 증가시켜서 사구체간질세포의 증식을 유발하는 것이다.¹⁾ 또한 사구체간질세포증식은 low density lipoprotein(LDL)을 산화시키고 자유라디칼의 생성, 특히 superoxide anion(O⁻²)과 hydroxyl molecules(HO)의 생성을 증가시킬 수 있는 가능성도 제시되었다.⁷⁾ ADR은 항암제로서 탁월한 치료효과가 있지만 정상조직에서도 세포표면에 심한 세포독성작용을 나타내는 부작용을 갖고 있다. 이러한 독성부작용의 기전은 ADR이 DNA와 RNA 합성을 억제하거나 자유라디칼을 생성하여 세포막이나 mitochondria막의 불포화성 인지질을 과산화시켜 세포를 손상시키고 기능 또한 억제할 가능성이 있는 것으로 설명되고 있다.⁸⁻¹⁰⁾ 또한 급성신장독

후 -70℃에서 냉동보관하였다가 분석에 사용하였다. 시료 분획을 위해서 신장조직을 잘게 다진 후 차가운 균질용액 즉 homogenizing media(15mM KCl, 50mM Tris-HCl, 1mM EDTA buffer, pH 7.4)를 넣고 4℃에서 균질화한 다음 4℃, 1,000 × g에서 10분간 원심분리하였다. 윗 부분의 세포조각들(cell debris)을 제거하고 지방이 들어가지 않도록 조심하여 상층액을 취하여 4℃, 10,000 × g에서 20분간 원심분리하였다. mitochondria층(pellet)은 10mM potassium phosphate buffer(pH 7.4)로 재부유시켜 액체질소로 급속냉동한 다음 냉동보관하였다. 상층액을 취하여 초고속 원심분리기(Ultra Centrifuge, Beckman, USA)에서 4℃, 100,000 × g에서 60분간 다시 원심분리하여 cytosol층(상층액)과 microsome층(pellet)으로 분리하였다. microsome층은 10mM potassium phosphate buffer(pH 7.4)로 재부유시킨 다음 몇 개의 에펜도르프튜브에 나누어서 액체질소로 급속냉동한 다음 -70℃에서 냉동보관하였다.

3. 분석방법

1) 혈청과 신장 Mitochondria의 지질 함량 측정

혈청과 신장의 mitochondria에서 총지질 함량은 Fringe와 Dunn의 방법¹⁹⁾으로 sulphophosphovanillin 반응법을 기초로 한 colorimetric method를 이용하여 측정하였고, 혈청 중성지질 함량은 Biggs 등²⁰⁾의 비색 정량법으로 측정하였으며, 혈청 총콜레스테롤 함량은 Zlatkis와 Zak의 방법²¹⁾으로 측정하였다.

2) 지질과산화물 측정

신장조직의 microsome에서 thiobarbituric acid reacting substances(TBARS)함량은 Buege 등의 방법²²⁾으로 conjugated diene 함량은 Rechnagel 등의 방법²³⁾으로 각각 측정하였다.

3) 항산화효소활성도 검사

신장조직의 cytosol에서 glutathione reductase(GR) 활성도는 Carlberg와 Mannervick 등의 방법²⁴⁾으로 측정하였고, glutathione peroxidase(GPx) 활성도는 Tappel 등의 방법²⁵⁾을 이용하였다. mitochondria에서 cactalase(CAT) 활성도는 Aebi의 방법²⁶⁾을 이용하여 측정하였다. 신장조직의 microsome, cytosol, mito chondria의 단백질농도는 표준용액으로 bovine serum albumin(Sigma Chemicals Co., USA)을 이용하여 Lowry 등의 방법²⁷⁾을 변형하여 측정하였다.

4. 통계처리

본 연구의 모든 분석결과는 실험군 당 평균과 표준오차로

나타내었다. 5% 유의수준에서 Duncan's multiple range test로 각 실험군의 평균치간의 유의성을 검증하였으며, 각 변수간의 상관관계는 Pearson's correlation coefficient로 알아보았다.

결과 및 고찰

1. 혈청 지질함량의 변화

신장기능의 변화를 초래하는 기전에 대한 가설의 하나로서 지질대사의 변화를 들고 있다. 따라서 본 연구에서도 혈청 지질 함량을 분석하였고 그 결과는 Table 2와 같다.

혈청 총지방 함량은 통계적 유의성은 없지만 ADR 처리로 증가하였고, 비타민 E를 고수준으로 첨가함으로써 다소 감소하는 경향이었다. 그러나 대조군에 비해 높은 값을 나타내서 비타민 E 첨가의 영향을 받지 않았다. 혈청 중성지방 함량은 ADR 처리로 대조군의 265%로 유의적인 증가를 하였고(p < 0.05), 비타민 E 첨가수준이 높아짐에 따라 감소하는 경향이었다. 그러나 대조군수준보다 높은 값을 보여 비타민 E 첨가효과가 명백하게 나타나지 않았다. 혈청 총콜레스테롤 함량은 ADR 처리로 대조군의 135%로 유의적인 증가를 하였으며(p < 0.05), 또한 비타민 E 첨가로 다소 감소하는 경향이었다. 그러나 총지방이나 중성지방과 마찬가지로 대조군수준보다 높은 값을 나타냈다. 신장질환자에서 신장기능이 저하된 경우에 흔히 혈청 지질 함량이 증가하는 고지혈증을 동반한다고 보고한 연구와 같은 경향을 보였다.²⁸⁾ Okasora 등¹¹⁾도 흰쥐에게 7.5mg/kg BW의 ADR을 1회 미정맥에 주사하였을 때 혈청 총콜레스테롤과 중성지방 함량이 크게 증가함을 보고하였으며, Washio 등¹²⁾도 ADR 처리로 진행성 신장질환을 유도한 쥐에서 혈청 중성지방과 총콜레스테롤 함량이 증가하였고, 이때 tocopherol의 경구 투여로 유의적인 감소효과를 관찰하였다.

본 실험 결과 ADR 처리로 인해 상승된 혈청 총지방, 중성지방 및 총콜레스테롤 함량을 비타민 E 첨가로 다소 감소시킬 수는 있었지만 첨가수준에 비례한 감소효과는 아니

Table 2. Serum total lipid, triglyceride and total cholesterol concentrations in high fat diet and ADR treated rats (mg/dl)

Group	Total lipid	Triglyceride	Total cholesterol
C	380 ± 102 ^{ns}	21.9 ± 0.9 ^b	212 ± 6 ^b
N	460 ± 15	58.0 ± 14.6 ^a	286 ± 5 ^a
H	421 ± 24	50.1 ± 14.1 ^{ab}	260 ± 6 ^{ab}
E	446 ± 27	51.7 ± 9.2 ^{ab}	240 ± 10 ^{ab}

C: control, N: normal vitamin E, H: high vitamin E, E: excess vitamin E. Values were mean ± SE. Values with the different letters within the same column were significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test. ns: not significantly different

었다. Jack Yang 등²⁹⁾은 비타민 E를 각각 0, 25, 250, 2500, 10000, 25000IU/diet kg 수준으로 흰쥐에게 급여한 결과 2.500IU/diet kg 수준에서 혈청 총지방 및 총콜레스테롤 함량이 감소하기 시작했고 그 이상의 수준으로 비타민 E를 첨가하여도 감소되지 않았다고 보고하였다. 이는 비타민 E가 어느 수준 이상에서는 첨가수준에 비례해서 효과를 나타내지는 않음을 시사한 것이다. 이상의 결과들로부터 혈청 총지질 함량은 비타민 E 첨가로 감소되었지만 그 효과가 미약하여 대조군수준에는 미치지 못하는 값이었다. 이는 본 실험이 신장기능의 저하를 유도하기 위해 ADR 처리와 동시에 고지방식을 병행했기 때문에 대조군에서도 혈청 총지질 함량이 높은 값을 보였고, 비타민 E의 첨가가 높은 수준임에도 불구하고 뚜렷한 혈청 총지질 함량의 감소를 나타내지 못한 것으로 사료된다.

2. 지질과산화생물의 변화

1) 신장조직의 TBARS 함량

신장조직의 microsome에서 생체막의 지질과산화정도를 결정하는데 널리 이용되는 TBA(Thiobarbituric acid)방법으로 지질과산화물인 TBARS 함량을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 신장조직에서 TBARS 함량의 변화를 보면 ADR 처리로 인해 대조군의 122%로 크게 증가 하였으며, 고수준과 과잉수준의 비타민 E 첨가로 각각 정상수준의 67%와 52%로 유의적인 감소를 하였다. 또한 대조군수준보다도 낮은 값을 보여 비타민 E 첨가효과가 유의적으로 나타났다(p < 0.05). TBARS는 지질과산화과정의 중간산물로서 3개 이상의 이중결합을 갖는 다가불포화지방산이 유리라디칼에 의해 산화분해될 때 생기며 지질과산화의 지표로 널리 이용된다.³⁰⁾ 또한 생체 내에서 지질과산화반응은 주로 불포화지방산이 많은 생체막의 인지질에서 유리라디칼반응에 의해 일어나고 정상적인 노화과정에서도 증가되고 뇌, 간, 신장과 같이 세포분열의 속도가 느린 조직에서는 더욱 쉽게 일어난다. Nath 등³¹⁾은 한쪽 신장을 절제하여 신

실질 감소로 인해 신장기능이 저하된 쥐에서 나머지 남은 신장의 산소소비가 감소하였고 신장피질의 MDA 함량이 증가했다고 보고하였다. ADR을 처리한 쥐에서 혈청 MDA 수준이 증가하였고, α-tocopherol을 경구투여함으로써 유의적인 감소를 관찰하였다. 혈청 지질과산화물의 증가는 세포독성에도 영향을 주었고, 이때 비타민 E가 혈청 지질과산화물 수준을 저하시킴으로써 사구체손상을 억제할 수 있다고 설명하였다.¹²⁾ 본 실험결과 신장조직에서 ADR 처리로 인해 증가된 TBARS 함량이 비타민 E 첨가로 감소되어 이들과 같은 경향임을 알 수 있었다.

2) 신장조직의 Conjugated diene 함량

신장조직의 microsome에서 conjugated diene에 대한 비타민 E의 영향은 Table 3과 같다. ADR 처리로 대조군의 153%로 유의적인 증가를 하였고(p < 0.05), 과잉수준의 비타민 E 첨가군에서만 정상수준의 95%로 감소하는 경향이였지만 대조군수준에는 미치지 못한 높은 값이어서 비타민 E 첨가효과가 없었다. Conjugated diene은 불포화지방산의 과산화반응초기에 유리라디칼이 methylene기의 수소를 공격하여 이중결합이 이동됨으로써 생성된다. 또한 이 반응은 산소분자가 없는 조건에서도 가능하여 과산화지질형성과 직접적으로 연결된 것은 아니지만, 산소분자 존재시 지질과산화반응이 빠르게 일어나므로 conjugated diene은 지질과산화반응의 지표로 이용되며 식이유형 특히 지방의 양과 종류에 많은 영향을 받는 것으로 알려져 있다.³²⁾ 본 실험에서 비타민 E는 TBARS와 conjugated diene에 작용하는 정도가 서로 다르게 나타났다. 비타민 E 첨가는 TBARS 함량을 거의 대조군이하 수준으로 감소시킨 반면, conjugated diene 함량은 비타민 E 첨가로 감소효과가 있었지만 대조군수준에는 미치지 못하였다. 이로써 항산화제로서의 비타민 E는 conjugated diene보다는 TBARS에 더욱 효과적으로 작용함을 알 수 있었다. 따라서 지질과산화정도를 측정할 때에는 두 가지 이상의 지표를 알아보아야 한다고 사

Table 3. Renal TBARS and conjugated diene concentrations in high fat diet and ADR treated rats

Group	TBARS (nmole/mg protein)	Conjugated diene (Optical Density/mg lipid)
C	0.253 ± 0.005 ^b	0.088 ± 0.004 ^c
N	0.309 ± 0.009 ^a	0.135 ± 0.003 ^b
H	0.207 ± 0.006 ^c	0.170 ± 0.004 ^a
E	0.162 ± 0.004 ^c	0.128 ± 0.005 ^b

C: control, N: normal vitamin E, H: high vitamin E, E: excess vitamin E Values were mean ± SE. Values with the different letters within the same column were significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

Table 4. Renal GR, GPx and CAT activities in high fat diet and ADR treated rats

Group	GR	GPx	CAT
	(nmole NADPH oxidized/min/mg protein)	(nmole H ₂ O ₂ decomposed/min/mg protein)	(nmole H ₂ O ₂ decomposed/min/mg protein)
C	0.30 ± 0.03 ^b	1.66 ± 0.08 ^b	4.96 ± 0.29 ^{ns}
N	0.33 ± 0.02 ^b	3.43 ± 0.40 ^{ab}	6.88 ± 0.47
H	0.40 ± 0.01 ^b	6.23 ± 0.58 ^a	7.39 ± 0.45
E	0.68 ± 0.04 ^a	2.64 ± 0.08 ^b	7.56 ± 0.31

C: control, N: normal vitamin E, H: high vitamin E, E: excess vitamin E. Values were mean ± SE. Values with the different letters within the same column were significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test. ns: not significantly different

료된다.

3 항산화효소 활성도의 변화

1) 신장조직의 GR 활성도

신장조직의 cytosol에서 측정된 GR 활성도(Table 4)는 ADR 처리로 유의적이지는 않지만 증가하는 경향이었고, 비타민 E를 첨가해 줌으로써 더욱 증가하는 경향을 보였다. 특히 과잉수준으로 첨가해 준군에서는 정상수준의 206%로 유의적인 증가를 하였다($p < 0.05$). 지방조직, 근육, 고환에서는 비타민 E 첨가로 GR 활성도가 감소되었으나, 간과 신장 및 폐조직에서는 영향을 받지 않았다고 하여 비타민 E가 조직에 따라서 GR 활성도에 미치는 영향이 달라질 수 있다고 보고되었다.^{32,33} 그러나 본 실험 결과 신장조직에서 비타민 E 첨가로 GR 활성도가 크게 증가하였다. 이는 ADR 처리로 인한 지질과산화생성물이 크게 증가하였고 이에 대한 보상작용으로 지질과산화물을 분해하는 항산화효소로서의 GR 활성도가 증가된 것으로 생각된다.

2) 신장조직의 GPx 활성도

Cumene hydroperoxide를 기질로 하여 신장조직의 cytosol에서 GPx 활성도를 측정된 결과는 Table 4와 같다. 신장조직에서의 GPx 활성도는 ADR 처리로 유의적이지는 않지만 증가하였고, 비타민 E를 고수준으로 첨가해 주었을 때 정상수준의 182%로 유의적인 증가를 하였다($p < 0.05$). 그러나 과잉수준에서는 오히려 정상수준의 77%로 감소를 하여 비타민 E 첨가수준에 비례하여 GPx 활성도가 증가하지는 않았다. 신장조직은 간조직 등 다른 조직에 비해 상대적으로 GPx 활성도가 낮은 조직이다. 또한 GPx 활성도가 비교적 낮은 조직에서는 산화적 스트레스에 대항하기 위해서 보충적으로 GPx 활성도가 증가하는 것으로 알려져 있다.³⁴ 본 실험에서도 고지방식이와 ADR 처리로 신장기능저하를 유도하면서 첨가해 준 비타민 E가 GPx 활성도를 증가시켰다. 이는 ADR 처리에 의해 산화적 스트레스가 증가하게 되었고, 이들로부터 보호하기 위한 일종의 적응반응으로서 GPx 활성도가 증가한 것으로 생각된다.

3) 신장조직의 CAT 활성도

신장조직의 mitochondria에서 측정된 CAT 활성도(Table 4)는 ADR 처리로 약간 증가된 경향을 나타냈고, 비타민 E 첨가수준이 증가함에 따라 다소 증가됨을 알 수 있었다. 이는 ADR 처리로 인한 산화적 스트레스의 증가는 β -산화에 의해 peroxisome에서 생성되는 H_2O_2 와 활성산소종의 증가를 초래할 수 있고, 비타민 E 첨가는 H_2O_2 를 효과적으로 제거해 줌으로써 지질과산화물의 생성을 억제하

Table 5. Correlation coefficients between vitamin E level and renal lipid peroxidation parameters

Renal TBARS	Vitamin E level
CD	-0.8244***
GR	-0.0810
GPx	0.5642*
CAT	-0.0957
	0.1177

* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$

TBARS: thiobarbituric acid reacting substances concentration CD: conjugated diene concentration GR: glutathione reductase activity GPx: glutathione peroxidase activity CAT: catalase activity

였을 것으로 생각된다.

4. 비타민 E 수준과 신장조직의 지질과산화생성물 및 항산화효소들 간의 상관관계

비타민 E 수준과 신장조직의 지질과산화생성물 및 항산화효소들 간의 상관관계는 Table 5에 제시하였다. TBARS 함량은 비타민 E 수준과 높은 음의 상관관계($r = -0.8244$, $p < 0.001$)를 보여 비타민 E 수준이 증가함에 따라 감소하였다. 신장의 GR 활성도는 비타민 E 수준과 양의 상관관계($r = 0.5642$, $p < 0.05$)를 보여 비타민 E 수준이 증가함에 따라 증가하였다.

요 약

본 연구는 고지방식이와 ADR 처리로 신장기능의 저하를 유도하여 비타민 E 첨가식이 신장의 지질과산화대사에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다. 실험으로 얻어진 결과는 다음과 같다.

1) 신장기능의 저하를 유도하기 위해서 시행한 ADR 처리는 혈청 중성지방함량과 총 콜레스테롤함량을 각각 대조군의 265%와 135%로 TBARS와 conjugated diene 함량 역시 대조군의 122%와 153%로 유의적으로 증가시켰다($p < 0.05$). 지질과산화물생성에 대한 방어효소계로 측정된 GR, GPx 및 CAT 활성도는 유의적이지는 않지만 다소 증가하는 경향을 보였다.

2) 혈청 총콜레스테롤 함량은 과잉수준의 비타민 E 첨가로 감소하는 유의한 효과가 있었다. 총지질과 중성지방 함량은 비타민 E 첨가효과가 없었다.

3) 신장조직의 TBARS 함량은 고수준과 과잉수준의 비타민 E 첨가로 각각 정상수준의 67%와 52%로 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). conjugated diene 함량은 과잉수준의 비타민 E 첨가군에서만 정상수준의 95%로 다소 낮은 값을 보였다.

4) 신장조직에서 GR, GPx 및 CAT 활성도는 비타민 E 첨가로 증가하는 경향이였다. GR활성도는 TBARS 함량 ($r = -0.2591$, $p < 0.05$)과 음의 상관관계를 보였다.

이상의 결과에서 ADR 처리는 혈청지질함량과 지질과산화생성물을 증가시켰고 비타민 E 첨가로 감소하였다. 이는 신장기능이 저하된 상태에서 나타나는 여러 가지 변화에 비타민 E 첨가는 이러한 변화들을 완화시킬 수 있음을 제시해 주는 결과라고 생각된다.

Literature cited

- 1) Keane WF, Mulcahy WS, Kasiske BL, Kim Y, O'Donnell M. Hyperlipidemia and progressive renal disease. *Kidney Int Suppl* 31: 41-48, 1991
- 2) Kasiske BL, O'Donnell MP, Schmitz PG, Kim Y, Kean WF. Renal injury of diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Kidney Int* 37: 880-891, 1990
- 3) Kaysen GA, Al-Banden H, Martin VI, Jones H Jr, Butchison FN. Branched chain amino acids augment neither albuminemia nor albumin synthesis in nephrotic rats. *Am J Physiol* 260: R177-R184, 1991
- 4) Keane WF, Kasiske BL, O'Donnell MP. Hyperlipidemia and the progression of renal disease. *Am J Clin Nutr* 47: 157-160, 1989
- 5) Moorhead JF, Nakos EI, Chan MK, Varghese Z. Lipid nephrotoxicity in chronic progressive glomerular and tubulo-interstitia disease. *Lancet* 2: 1309-1310, 1982
- 6) National Nutrition Survey Report, Ministration of Health and Welfare(1994), 1996
- 7) Oberley TB, Sempt JM, Oberley LW. Immunohistochemical localization of antioxidant enzymes during hamster kidney developement. *Histochem J* 27: 575-586, 1995
- 8) Carter SK. Adriamycin, a review. *J Natl Cancer Inst* 55(6): 1265-1274, 1975
- 9) Mimnaugh EG, Siddik ZH, Drew. K, Sikic BI, Gram TE. The effects of alpha-tocopherol on the toxicity, disposition and metabolism of adriamycin in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 49: 119-126, 1979
- 10) Bagchi D, Bagchi M, Hassoun EA, Kelly HJ, Stohs SJ. Adriamycin induced hepatic and myocardial lipid peroxidation and DNA damage and enhanced excretion of urinary lipid metabolites in rats. *Toxicol* 95:1-9, 1995
- 11) Okasora T, Takikawa T, Utsunomiya Y, Senoh I, Hayashibara H, Shiraki K, Kasagi T, Shimizu F. Suppressive effect of superoxide dismutase on adriamycin nephropathy. *Nephron* 60: 199-203, 1992
- 12) Washio M, Nanishi F, Okuda S, Onoyama K, Fujishima M. Alpha tocopherol improves focal glomerulosclerosis in rats with adriamycin induced progressive renal failure. *Nephron* 68: 347-352, 1994
- 13) Packer L. Protective role of Vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr* 53: 1050s-1055s, 1991
- 14) Callans DJ, Wacker LS, Mitchell MC. Effect of ethanol feeding and withdrawal on plasma glutathione elimination in the rat. *J Hepatol* 7(3): 496-501, 1987
- 15) Drukker A, Eddy AA. Failure of antioxidant therapy to attenuate interstitial disease in rats with reversible nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 9:243-251, 1998
- 16) Lee HS, Jeong JY, Kim BC, Kim YS, Zhang YZ, Chung HK. Dietary antioxidant and renal injury in experimental focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 51: 1151-1159, 1997
- 17) Eddy AA. Interstitial fibrosis in hypercholesterolemic rats: Role of oxidation, matrix synthesis and proteolytic cascades. *Kidney Int* 53(5): 1182-1189, 1998
- 18) Rabl H, Khoschorar G, Colombo T. A multivitamin infusion prevents lipids peroxidation and improves transplant performance. *Kidney Int* 43:912-917, 1993
- 19) Fringe CS, Dunn RM. The Colorimetric method for determination of serum total lipids based on the sulfo-phosphovanillin reaction. *Am J Clin Pathol* 52: 89-92, 1980
- 20) Biggs HG, Erikson JM, Moorhead WR. A manual colorimetric assay of triglyceride in serum. *Clin Chem* 21: 437-441, 1975
- 21) Zlatkis A, Zak B. Study of a new cholesterol reagent. *Anal Biochem* 29: 143-148, 1969
- 22) Buege JA, Aust SD. In *Methods in enzymology* Vol. 52. Academic Press, New York, pp.302-312, 1978
- 23) Recknagel RO, Glende EA. Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. *Methods Enzymol* 105: 331-337, 1994
- 24) Carlberg I, Mannervik B. Glutathione Reductase In *Methods in enzymology*. Vol. 113. Academic Press, New York, pp.484-490, 1985
- 25) Tappel AL. Glutathione peroxidase and hydroperoxides. *Methods Enzymol* 52: 506-513, 1978
- 26) Aebi H. Catalase. In: *Methods of Enzymatic Analysis(end)*. Eds by Bergmeyer, H.U., Printed in New York, USA, 2. 673-684, 1974
- 27) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RT. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
- 28) Yoshimura N, Arima S, Nakayama M, Sato T, Takahashi K. Renal impairment and intraglomerular mononuclear phagocytes in cholesterol fed rabbits. *Nephron* 68: 473-480, 1994
- 29) Jack Yang NY, Desaei ID. Effect of high levels of dietary vitamin E on liver and plasma lipids and fat soluble vitamin in rats. *J Nutr* 107: 1418-1426, 1977
- 30) Ohkawa H, Ohish N, Yagi K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobabaturic acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-357, 1979
- 31) Nath KA, Croat J, Hosteler TH. Effect of dietary protein restriction on oxygen consumption and oxidant. *Kidney Int* 33: 381-392, 1988
- 32) Chow CK, Reddy K, Tappel AL. Effect of Dietary Vitamin E on the Activities of the Glutathione Peroxidase System in Rat Tissues. *J Nutr* 103: 618-624, 1973
- 33) Trostler N, Brady PS, Romsos DR. Influence of dietary vitamin E on MDA level in liver and adipose tissue and on glutathione peroxidase and reductase activities in liver erythrocytes of lean and obese mice. *J Nutr* 109: 345-352, 1979
- 34) Wohaieb SC, Godin DV. Alterations in free radical tissue defense mechanism in streptozotocin induced diabetes in rats. *Diabetes* 36 1014-1025, 1987