

## بررسی تغییرات حجم و بافت مزانژیال کلافه‌های گلومرولی در رتهای دیابتی شده توسط آلوکسان به روش کمی

محسن پورقاسم <sup>1\*</sup> Ph.D.، ناهید امینیان <sup>2\*</sup> M.D.، مرتضی بهنام‌رسولی <sup>3\*</sup> Ph.D.، محمدرضا نیکروش <sup>4\*</sup> Ph.D.

مهدی جلالی <sup>5\*</sup> Ph.D.

<sup>1\*</sup> دانشگاه علوم پزشکی بابل، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح

<sup>2\*</sup> دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده پزشکی، گروه پاتولوژی

<sup>3\*</sup> دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

<sup>4\*</sup> دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح

<sup>5</sup> آدرس مکاتبه: بابل، کدپستی ۴۷۱۷۶. دانشگاه علوم پزشکی بابل، گروه علوم تشریح

### چکیده

- ❖ **هدف:** تشخیص زودرس تغییرات کلافه‌های گلومرولی در بیماری دیابت
- ❖ **مواد و روشها:** از آنجایی که نروپاتی دیابتی در رتها بسیار مشابه انسان است، بنابراین در این تحقیق تغییرات کلافه‌های گلومرولی در دو دوره دیابتی ۸ و ۱۷ هفته‌ای در رتهای دیابتی شده توسط آلوکسان بررسی شدند. برای این بررسی از رنگ آمیزبهای PAS، H&E جهت تعیین حجم و بافت مزانژیال و روش اسمزیولوژی جهت تعیین حجم کلافه گلومرولی استفاده شده است.
- ❖ **یافته‌ها:** بررسیها نشان داده است که در دوره دیابتی ۱۷ هفته‌ای بافت مزانژیال و حجم کلافه‌ها  $P < 0.05$  افزایش معنی داری یافته است ولی برای دوره ۸ هفته‌ای معنی دار نبود.
- ❖ **نتیجه‌گیری:** این تحقیق نشان داده است که در دوره دیابتی کوتاه مدت نیز می‌توان درگیری کلافه‌ها را نشان داد که می‌تواند هشدار برای اتخاذ تدابیر درمانی مناسب در جلوگیری از پیشرفت آسیب کلیوی باشد.
- ❖ **کل واژگان:** کلیه، دیابت ملیتوس، آلوکسان، گلومرول

## مقدمه

یکی از اندامهایی که در بیماری دیابت دچار آسیب می شود کلیه است و علت دیالیزی شدن درصد بالایی از افراد دیابت می باشد. مهمترین عارضه دیابت بر روی کلیه آسیب کلافه های گلومرولی است که تشخیص زودتر این درگیری می تواند راندمان درمانی بهتری را در پی داشته باشد.

دیابت قندی ملتوس یک بیماری متابولیکی است که شامل اختلال در متابولیسم کربوهیدراتها و کاهش مصرف گلوکز است که منجر به افزایش قند خون می شود و این ناشی از فقدان یا کاهش ترشح انسولین و یا عمل غیر موثر آن است (۱)؛ و نه تنها در متابولیسم کربوهیدراتها ایجاد اختلال می کند بلکه متابولیسم چربیها و پروتئینها را نیز مختل می نماید (۲). در هر دو گروه دیابت ۱ (وابسته به انسولین) و تیپ ۲ (غیر وابسته به انسولین) می توان آسیب کلیوی را مشاهده کرد که در نهایت باعث نفروپاتی می شود که یکی از مهمترین علل بیماری نهایی کلیه است و نیاز به دیالیز را به دنبال دارد (۳، ۴). مهمترین عارضه نفروپاتی گلومرولواسکلروزیس است که به صورت منتشر یا ندولار خود را نشان می دهد که در نوع ندولار بخشهایی از مزانژیوم به صورت ندول ضخیم شده و در مطالعات بافت شناسی به صورت PAS مثبت در می آید ولی در نوع منتشر کل مزانژیوم کلافه گلومرولی ضخیم می شود (۵). گلومرولواسکلروزیس منتشر ناشی از دیابت معمولاً دیرتر خود را نشان می دهد و زمانی قابل تشخیص خواهد بود که بیمار دچار سندرم نفروتیک شده باشد، یعنی پروتئینوری، کاهش آلبومین خون و خیز وجود دارد و در یافته های آسیب شناسی افزایش ماتریکس مزانژیال و پرولیفراسیون همراه با افزایش ضخامت غشای پایه گلومرولی دیده می شود (۶). مطالعات مورفومتری نشان داده است که نفروپاتی بعد از افزایش ضخامت غشای پایه و ماتریکس مزانژیال پیش می آید (۷). علت اصلی آسیب گلیکوزیلاسیون غیر آنزیمی پروتئینهای پلازما و غشای پایه کلافه های گلومرولی است (۸، ۹). زیرا در یک محیط هیپرگلیسمیک گلوکز توسط پیوند کووالان با گروه آمین پروتئینها عکس العمل نشان می دهد که در ابتدا این گلیکوزیلاسیون قابل برگشت می باشد (۹). ولی در زمانی طولانی تر مولکولهایی مثل کلاژن پیوند غیر قابل برگشتی را با گلوکز تشکیل می دهد (۹). بنابراین تشخیص زودتر درگیری کلیه می تواند راندمان درمانی بهتری را در پی داشته باشد. از آنجا که پارامترهای تشخیصی در آسیب شناسی کلیه در دیابت معمولاً سالها بعد از شروع دیابت خود را نشان می دهد؛ بنابراین در این تحقیق سعی شده است که تغییرات اولیه زودرس تر کلافه ها توسط روشهای کمی بررسی شود. زیرا مطالعه تغییرات ساختمانی به صورت کمی باعث بالا رفتن دقت مطالعه شده و در آسیبهای کلیوی بسیار ضروری است (۱۰).

## مواد و روشها

تعداد ۸۳ سر رت نر نژاد Whistar با وزن حدود ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از موسسه تحقیقاتی و سرم سازی رازی مشهد تهیه شد. رتها به طور تصادفی در سه گروه قرار داده شدند: گروه تجربی اول (n=۲۳)، گروه

تجربی دوم (n=۳۰) و گروه شاهد (n=۳۰). گروه های تجربی با یک بار تزریق زیر جلدی با دوز ۱۲۰ mg/kg دیابتی شدند (۱۱). اثر استرس تزریق یا تزریق سرم فیزیولوژیک در گروه شاهد ایجاد شد. سه گروه در شرایط یکسان و استاندارد از نظر رطوبت، درجه حرارت (۲۳±۱ سانتیگراد) و نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی که روشنایی از ساعت ۴ تا ساعت ۱۶) و دسترسی به مواد غذایی در حیوانخانه بیمارستان قائم (عج) مشهد نگهداری شدند. یک هفته بعد از تزریق آلوکسان قند خون آنها با دستگاه گلوکومتر از نوع Reflux و Typell-72115 اندازه گیری شد. قند خون بالای ۲۰۰ mg/dl ملاک بود. رتهایی که قند خون پایین تر از ۲۰۰ mg/dl داشتند از گروه حذف شدند. ۸ هفته بعد از تزریق، قند خون گروه تجربی اول دوباره اندازه گیری شد و رتهایی که قند پائین تر از ۲۰۰ mg/dl داشتند از گروه حذف شدند. چند سر رت دیابتی از این گروه در این مدت مردند که در نهایت ۱۵ سر رت از این گروه باقی ماندند که با توجه به این مسئله ۱۵ سر رت از گروه شاهد نیز به صورت تصادفی انتخاب شدند. رتهای گروههای تجربی و شاهد اولی با کلوروفوم بیهوش شده و سپس با عمل پرفیوژن تثبیت کننده ۱۰ درصد داخل قلب، عروق بزرگ و عروق کلیه وارد شد. سپس در هر رت کلیه راست را در آورده و به مدت ۴۸ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد برای انجام تثبیت بهتر قرار گرفت. بعد از آن کلیه ها به روش معمول بافت شناسی پاساژ داده شده و از آنها بلوک تهیه گردید. بلوکها به روش سریال به ضخامت ۵ میکرون برش داده شد و لامها توسط رنگ آمیزیهای PAS، H&E، رنگ آمیزی گردید (۱۲). همین اعمال، ۱۷ هفته بعد از تزریق برای گروه تجربی دوم و شاهد باقی مانده انجام شد. تعداد رتهای باقی مانده در هر دو گروه تجربی دوم و شاهد ۱۵ سر بود. برای بررسی حجم کلافه های گلومرولی هر کلافه بر اساس نقاط رفرنس داخلی و خارجی از ابتدا تا انتها دنبال شد و سپس با روش شمارش نقطه ای کاوالیه حجم کلافه ها محاسبه شد (۱۰، ۱۲). به این صورت که تک تک تصاویر هر کلافه توسط میکروپروژکتور بر دیوار انداخته شد. حجم کلافه ها بر اساس میزان بزرگنمایی و فاصله نقاط استفاده شده با واحد میکرون مکعب محاسبه شد. برای هر رت ۶ کلافه در نظر گرفته شد. برای انداختن نقاط بر روی کلافه ها از کاغذ ترنسپرنس که نقاط روی آن با فاصله مساوی حک شده بود، استفاده شد. برای بررسی میزان بافت مزانژیال کلافه گلومرولی روش Steffes به کار رفت؛ بدین صورت که بر حسب شدت رنگ پذیری PAS که مشخصه بافت مزانژیال کلافه است نمره های ۱ تا ۴ داده شد (۱۳). برای درجه بندی شدت رنگ آمیزی و شمارش نقطه ای، لامها توسط دو نفر به صورت Blind مورد مطالعه قرار گرفت. پس از رتبه گذاری جداول مربوط برای هر پارامتر تهیه و پس از کدگذاری و وارد کردن اطلاعات به کامپیوتر، اطلاعات فوق توسط تست دو طرفه Mann-Whitney برای تعیین میزان تاثیر یا عدم تاثیر بیماری دیابت بر روی حجم کلافه ها و میزان بافت مزانژیال آنها استفاده شد.

## یافته ها

در گروه دیابت ۱۷ هفته ای بافت مزانژیال کلافه های گلومرولی

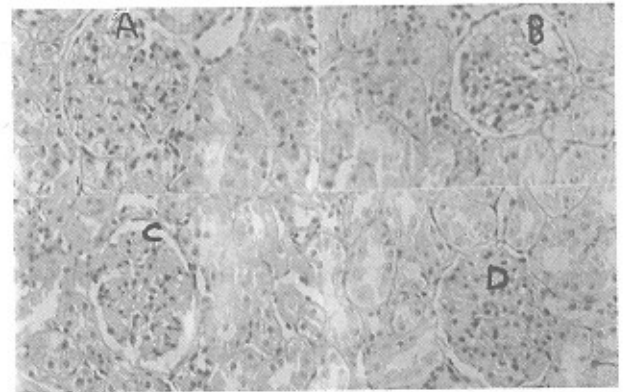


جدول ۱: میانگین و انحراف معیار حجم و بافت مزانژیال کلافه‌ها در گروه‌های شاهد و تجربی

مدت دیابت		هفته‌ای ۸				هفته‌ای ۱۷			
گروه آزمایشی	پارامتر مورد نظر	تجربی		شاهد		تجربی		شاهد	
		حجم کلافه	بافت مزانژیال	حجم کلافه	بافت مزانژیال	حجم کلافه	بافت مزانژیال	حجم کلافه	بافت مزانژیال
	X±SD	۰/۸۳×۱۰ <sup>۶</sup> ±	۱/۵۱±	۰/۸۲۶×۱۰ <sup>۶</sup> ±	۱/۳۷±	۰/۸۳×۱۰ <sup>۶</sup> ±	۲/۳۵±	۱/۰۷×۱۰ <sup>۶</sup> ±	۱/۳۲±
		۰/۰۶×۱۰ <sup>۶</sup>	۰/۲۷	۰/۰۶×۱۰ <sup>۶</sup>	۰/۲۲	۰/۰۶×۱۰ <sup>۶</sup>	۰/۶۶	۰/۰۸×۱۰ <sup>۶</sup>	۰/۲۲

بسته شدن بعضی از کاپیلرهای کلافه گlomerولی می‌شود و در نهایت تمام کاپیلرها را بسته و کلافه گlomerولی را از کار می‌اندازد. بنابراین حجم گlomerولهای باقیمانده افزایش می‌یابد تا بتوانند کار گlomerولهای آسیب دیده را جبران کنند (۱۰). افزایش نشت موادی مانند ایمونوگلوبولینهای نوع IgM، IgG، اجزای کمپلمان مثل C۳ و فیرین از عروق گlomerولی نه تنها می‌تواند باعث رسوب آنها شود بلکه سبب تحریک سنتز اجزای غشای پایه نیز می‌شود (۶). در این بررسی غشای پایه و بافت مزانژیوم در کلافه گlomerولی صورت نگرفت زیرا مرز بین آنها با میکروسکوپ نوری قابل تشخیص نبود، بنابراین افزایش ECM در این روش به دست آمده است. به صورت *in vitro* نشان شده‌اند که در محیط هیپرگلیسمیک سنتز اجزای غشای پایه کلاژن IV، فیرونکتین و لامینین افزایش می‌یابد (۶، ۱۵، ۱۶). بنابراین افزایش ECM می‌تواند ناشی از افزایش سنتز اجزای تشکیل دهنده آن باشد. Walkiskava در سال ۱۹۹۴ نشان داد که هر سه سلول کلافه گlomerولی یعنی سلول مزانژیال، سلول آندوتلیوم کاپیلرهای گlomerولی و سلول اپی تلیال (سلول پدوسیت در لایه احشایی کپسول بومن) می‌توانند باعث افزایش سنتز کلاژن IV در ECM شوند. وی همچنین اعتقاد دارد که افزایش ساخته شدن کلاژن در غشای پایه ماتریکس مزانژیال یک مشخصه مهم دیابت محسوب می‌شود (۱۶). نقش مزانژیوم در پیشرفت آسیب کلیوی در بیماری دیابت بسیار مهم و قابل توجه است (۱۶) افزایش ECM خود می‌تواند باعث افزایش حجم کلافه‌های گlomerولی شود. در این تحقیق این افزایش حجم با روش استریولوژی در رت‌های دیابتی ۱۷ هفته‌ای نشان داده شده است که ظاهراً می‌تواند ناشی از افزایش بافت مزانژیوم باشد؛ زیرا مدت بیماری آتقدر طولانی نبود که آسیب کلافه در حد بسته شدن آن باشد. Osterby با روش شمارش نقطه‌ای در متد استریولوژی هم با میکروسکوپ نوری و هم با میکروسکوپ الکترونی افزایش حجم بافت مزانژیال را در کلافه‌های گlomerولی نشان داده است و او نشان داد که افزایش حجم کلافه‌ها در رت مشابه انسان ایجاد می‌شود، اگر چه مدت دیابت رت‌ها طولانی‌تر از مدت دیابت این تحقیق بوده است (۱۰، ۱۷). تحقیقات فراوانی نشان داده است که علت اصلی مشکلات کلیه در دیابت گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها است (۱۸، ۱۹). گلیکوزیلاسیون غشای پایه در سد فیلتراسیون باعث بی‌کفایتی این سد شده و نشت مواد پلاسما از آن افزایش می‌یابد. گلیکوزیلاسیون بافت مزانژیال باعث تحریک سلولهای مزانژیال می‌شود؛ به طوری که قرار دادن سلولهای مزانژیال گlomerولی در یک محیط هیپرگلیسمیک به مدت دو هفته باعث تحریک رشد و سنتز سلول می‌شود (۵). Studer نشان داده است که فعالیت protein kinase C (PKC) کلافه گlomerولی در رت افزایش می‌یابد و PKC باعث تحریک سنتز ECM توسط سلولهای مزانژیال می‌شود (۲۰). Caglicro و همکارانش نیز نشان داده‌اند که اگر سلولهای

نسبت به گروه شد با جذب بیشتر رنگ مشخص شده است. به طوری که با اختلاف محسوس در میزان رنگ پذیری PAS طبق روش Steffes به صورت کمی قابل محاسبه بوده است ولی در گروه دیابتی ۸ هفته‌ای اختلاف محسوس دیده نشد (شکل و جدول ۱).



شکل ۱: میزان بافت مزانژیال بر اساس رتبه بندی Steffes از A تا D. A: رت شاهد و B، C، D: رت دیابتی ۱۷ هفته‌ای. رنگ آمیزی: PAS. بزرگنمایی: ×۱۰۰

افزایش حجم کلافه‌های گlomerولی در گروه تجربی ۱۷ هفته‌ای با  $P < 0.05$  معنی دار بوده ولی در گروه ۸ هفته‌ای معنی دار نبود؛ به عبارت دیگر افزایش حجم کلافه‌ها در گروه ۱۷ هفته‌ای وجود داشته در حالی که در گروه ۸ هفته‌ای وجود نداشته است (جدول ۱).

## بحث

همان طوری که در این تحقیق دیده شد، کلیه یکی از اندامهای هدف در بیماری IDDM است. از آنجایی که کلیه‌ها نقش فیزیولوژیک مهمی در بدن دارند، درگیری آنها باعث عوارض سیستمیک وسیعی در بدن می‌شود. بنابراین توجه به عوارض دیابت بر کلیه امری مهم و حیاتی است؛ زیرا در بعضی از جوامع علت دیالیزی شدن حدود نیمی از افراد بیماری دیابت است (۶). همان طوری که از نتایج این تحقیق استنباط می‌شود اثرات IDDM بر کلیه با طول بیماری نسبت مستقیمی دارد و هر چقدر زمان بیشتری از شروع بیماری سپری شود عوارض کلیوی شدیدتر و وسیع‌تر خواهد بود. بنابراین تشخیص زودتر درگیری کلیه اهمیت فراوانی در جلوگیری از عوارض وسیع‌تر آن دارد. افزایش بافت مزانژیال کلافه گlomerولی که در این تحقیق دیده شده می‌تواند اولین علامت آسیب کلیه در بیماری دیابت باشد (۱۴). بافت مزانژیال همراه غشا پایه کلافه گlomerولی ماتریکس خارج سلولی (ECM) کلافه‌ها را تشکیل می‌دهد که حاوی سلولهای مزانژیال و انواع کلاژن، فیرونکتین، لامینین و پروتئوگلیکانها است. افزایش مزانژیال نتیجه افزایش سلولهای مزانژیال و اجزای دیگر ECM است. افزایش ECM به تدریج باعث

IDDM به وجود می‌آید (۶). این مکانیسم به عنوان یک تئوری همودینامیک مطرح می‌شود که باعث افزایش جریان خون و فشار خون در عروق میکروواسکولار کلیه می‌شود (۷). برخی محققین علت افزایش جریان خون کلیه را ناشی از هیپوکسی کلیوی می‌دانند، چرا که در محیط هیپرگلوکز میزان اکسیژن کاهش پیدا می‌کند (۱۹). علاوه بر این؛ در دیابت ترشح گلوکاگون و هورمون رشد افزایش می‌یابد و می‌توانند جریان خون کلیه را افزایش دهند (۱۰). Nitric Oxid (NO) نیز نقش مهمی در افزایش جریان خون کلیه دارد به طوری که ماده مهارکننده NO باعث افزایش فشار هیدروستاتیک در گلوبومرول می‌شود (۲۳). در هر صورت با توجه به افزایش بافت مزانژیال و حجم کلافه‌های گلوبومرولی در مدت ۴ ماه دیابتی بودن می‌توان اثرهای دیابت بر کلیه را در زمان کوتاه‌تری نیز پیدا کرد و از آنجایی که گلیکوزیلاسیون اولیه پروتئینها در دیابت قابل برگشت است ولی با گذشت زمان به شکل غیرقابل برگشت در آمده و منجر به درگیری بیشتر کلیه، عوارض وسیع‌تر و در نهایت از کار افتادن کلیه می‌شود، بنابراین پارامترهای تشخیصی زودتر، می‌توانند اهمیت فراوانی داشته باشند.

آندوتلیوم را در یک کشت با غلظت بالای D-گلوکز قرار دهیم mRNA فیبرونکتین دو برابر می‌شود (۱۵). از طرف دیگر، هم در انسان و هم در رت دیابتی ترومبوسان که یک محصول متابولیسم اسید آراشیدونیک است افزایش می‌یابد و ماده باعث افزایش فعالیت PKC شده و در نتیجه فعالیت سلولهای مزانژیال افزایش می‌یابد (۱۸). این نتیجه با یافته‌های این تحقیق (افزایش بافت مزانژیال) که به صورت *in vivo* انجام گرفته است؛ مطابقت دارد. عامل دیگری که می‌تواند در ایجاد افزایش بافت مزانژیال مطرح شود آنژیوتانسین II است. این آنزیم علاوه بر نقش همودینامیک، در سلولهای مزانژیال نیز نقش تغذیه‌ای دارد (۲۱). افزایش فعالیت آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین (ACE)<sup>۱</sup> در بیماری دیابت دیده می‌شود. از آنجایی که این آنزیم آنژیوتانسین ارا تبدیل به نوع II می‌کند، با به کار بردن مهارکننده ACE می‌توان از آسیب کلافه گلوبومرولی به نحو محسوسی جلوگیری کرد (۲۱). Remuzzi نیز با به کار بردن آنتاگونیست آنژیوتانسین II توانست عوارض دیابت را بر کلیه در رتهای دیابتی کاهش دهد (۲۲). مکانیسم اولیه در ایجاد آسیب بافت کلیوی را افزایش جریان خون کلیه می‌دانند که مدت کوتاهی بعد از ایجاد

## References

- Sacks DB: Carbohydrates in teitz funda mental of chemistry. Burtis CA, Ashwood ER (eds), 4ed, 1996, pp 355-357
- Rodger W: Non Insulin dependent (type II) diabetes mellitus. Can med Assoc J 1991; 145: 1571-1581
- Elisa T, Vivians L: Incidence of renal failure in NIDDM: The oklohome indian diabetes study. Diabetes 1994; 43: 572-578
- Lampeter EF: Inflammatory islet damage in patient bearing HLA-DR3 and or DR4 helpotypes doesnot lead to islet autoimmunity. Diabetologia 1994; 37: 471-475
- Robert H, Heptin stall: Pahtology of the kidney 4ed. Volum II, little, Bronand company, 1992, pp 1715-1763
- Tean D, Wilson Daniel W, Foster Henry M, Kronberg P, Reed L: Williams text book of endocrinology WB Saunders Company, 9ed, 1998, pp 937-1061
- Angel ACS, Alen JJ, John T: Capillary perssure in patients with NIDDM. Diabetes 1994; 43: 1198-1201
- Susan TC: Effects of nonenzymatic glycosy lation of mesangial matrix proliferation of mesangial cells. Diabetes 1991; 40: 540-547
- William TC, Zhong QW: Liver and kidney tissue membranes as tissue markers for nonenzymatic glycosylation. Diabetes 1991; 40: 902-906
- Osterby R: Glyomerular structural changes in type I (Insulin-dependent) diabetes mellitus: Causes, consequence, and prevention. Diabetologia 1992; 35: 503-512
- Strivastava Y, Ven Kala KH: Effects of momrdiea I. Angiotensin Converting Enzyme charanita linn. P mouse Aqueous extract on cataractogenesis in murrian alloxan diabetes. Pharmaco Res Commur 1998; 20: 201-204
- Berdbury P, Kithe GR: Theory and practice of histological tehniques. JD Banerolt, Alan S, Turner DK (eds). 3ed, Churchill living stone, 1990, pp 119-142
- Michael WS, David MB, Michael Maur S: Diabetic glomerulopathy folloing unilaterel nefrectomy in the rat. Diabetes 1978; 1: 35-40
- Pinter GG, Atkins JL: Role of postglomerular microvessels in patho physiology of diabetic nephropathy. Diabetes 1991; 40: 791-795
- Enrico C: Characteristics and mechanisms of hight Glucose Indused human endothelial cells. Diabetes 1991; 40: 100-109
- Masenori W, Spiro MJ: Synthesis of type VI collagen by cultured glomerular and comparison of its regulation by Glucose and other factors with that of type IV collagen. Diabetes 1994; 43: 95-103
- Antionette M, David MB: Effects of IGF- $\alpha$  and glucose on protein and proteoglycan synthesis by human fetal mesengial cell in culture. Diabetes 1991; 40: 1346-1354
- Lee R, Goldstein M, Helprin M: Hyperchloremic metabolic acidosis in diabetes mellitus. Diabetes 1978; 1: 16-20
- Sushil KJ, Steren NL, Duet J: Reduced vitamin E and in creased lipofusion products in erythrocytes of diabetic rats. Diabeties 1991; 40: 1241-1248
- Rodecca KS, Patritia AC: Role for protein kinase C

in the mediation fibronectin accumulation by mesengial cells growth in high glucose medium. Diabetes 1993; 42: 118-126

21. Varnes<sup>†</sup> D, Diiley RJ, Cooper ME: Vascular changes in the diabetic kidney, effects of ACE inhibition. J Diabet Comp 1995; 9: 296-300

22. Remuzzi A, Fassi A, Sengali F: Pervation of renal injury in diabetic MWF rats by angiotensin II antagonism. Exp Nephrol 1998; 60: 28-38

23. Fransis BG, Rolad CB: Role of Nitric oxide in renal hemodynamics. J Nephrol 1999; 19: 242-250

