

# 방광요관역류 토끼모델에서 감염에 의한 산화성 신손상에 대한 크랜베리의 방어효과

## Protective Effects of Cranberry on Infection-induced Oxidative Renal Damage in a Vesicoureteral Reflux Rabbit Model

Soo Hwan Kim, Chang Hee Han, Sung Hak Kang

From the Department of Urology, The Catholic University of Korea College of Medicine, Seoul, Korea

**Purpose:** We evaluated the protective effects of cranberry, which is known as a fruit with anti-oxidative effects, on infection-induced oxidative renal damage with using a rabbit vesico-ureteral reflux (VUR) model.

**Materials and Methods:** New Zealand male rabbits were divided into 5 groups (the control group, VUR group, *E. coli* group, cranberry group and melatonin group). VUR was created and confirmed at 2 weeks after the operation. Infection was induced by intravesical instillation of an *E. coli* suspension. Cranberry powder was supplied with the feed. Melatonin was injected into the peritoneal cavity. The rabbit kidneys were obtained 3 weeks after the operation. Histopathologic examination was performed to evaluate for inflammation, fibrosis and the tubular change. The oxidative renal damage was evaluated by measuring malondialdehyde (MDA) in the renal tissue.

**Results:** Grossly, the refluxing kidney was larger than the contralateral normal kidney and the refluxing ureter was dilated and tortuous. The microscopic observation of the kidneys from the *E. coli* group showed apparent periglomerular mononuclear cell infiltration, tubular dilatation and atrophy, and interstitial fibrosis. The kidneys from the reflux group, cranberry group and melatonin group showed mild mononuclear cell infiltration without interstitial fibrosis. The MDA level in the kidneys of the *E. coli* group was significantly higher than that in the control, cranberry and melatonin groups ( $p < 0.05$ ). The MDA level in the cranberry and melatonin groups didn't significantly differ from that in the sterile group.

**Conclusions:** This study demonstrates that cranberry has an anti-inflammatory effect due to an anti-oxidative function and it may prevent infection-induced oxidative renal damage. But application of cranberry in children with VUR needs more clinical studies. (Korean J Urol 2007;48: 536-541)

**Key Words:** Vesico-ureteral reflux, Reactive oxygen species, Cranberry, Kidney, Injury

대한비뇨기과학회지  
제 48 권 제 5 호 2007

가톨릭대학교 의과대학  
비뇨기과학교실

김수환 · 한창희 · 강성학

접수일자 : 2006년 12월 29일  
채택일자 : 2007년 4월 6일

교신저자: 강성학  
의정부 성모병원 비뇨기과  
경기도 의정부시 금오동 62-1  
☎ 480-717  
TEL: 031-820-3128  
FAX: 031-847-2548  
E-mail: urodr@catholic.ac.kr

### 서 론

소아에서의 방광요관역류는 임상에서 흔히 접하는 요로계의 선천성 질환으로 소아에서 만성 신부전을 일으키는

가장 흔한 원인 중의 하나이다. 지금까지 다양한 임상적 또는 실험적 연구를 통하여 방광요관역류와 신손상과의 관계가 많이 밝혀져 있으나,<sup>1-3</sup> 요로감염이 없는 상태에서 발생하는 신손상에 대한 여러 가지 의견이 대두되고 있다. 그러나 방광요관역류에 요로감염이 동반되는 경우 신손상의 위

험이 높아지는 경향은 확실하다. 방광요관역류가 있는 환자에서 신우신염이 동반되는 경우 최대 40%까지 신반흔이 생길 수 있으며 이로 인해 고혈압, 단백뇨 및 만성 신부전 등 심각한 부작용이 발생할 수 있다.<sup>4,5</sup>

감염에 의한 신손상 기전으로 병원균의 독성에 의한 직접적인 신손상 외에도 최근에는 oxygen free radical에 의한 신손상 기전이 제시되고 있다. 감염에 의해 발생한 oxygen free radical이 조직 내에 과다하게 축적되고 숙주 방어기전의 범위를 초과하는 과도한 oxygen free radical은 세포막의 지방질에 과산화 작용을 하여 세포의 죽음이나 기관부전을 유발시킨다. 이때 세포막의 지방질이 파괴되면서 malondialdehyde (MDA)가 발생하며, 발생량은 조직의 파괴 정도와 비례한다.<sup>6</sup> Roberts 등<sup>7</sup>은 실험적으로 유발시킨 신우신염 동물모델에서 antioxidant superoxide dismutase의 항염 작용을 보고하여 항산화제가 oxygen free radical에 의한 세포사멸을 억제할 수 있음을 제시하였다.

최근 효과적인 항산화제로 널리 알려진 멜라토닌은 인체에 큰 부작용이 없는 것으로 보고되어 여러 임상분야에 적용되고 있다.<sup>8-12</sup> 또한 우리가 생활에서 쉽게 접할 수 있는 크랜베리 역시 항산화작용에 의한 항염 및 감염예방에 효과가 있다고 알려져 있다.<sup>13-15</sup> 저자들은 이 실험을 통하여 방광요관역류를 유발시킨 동물모델에서 감염에 의한 산화성 신손상에 대한 크랜베리의 방어 효과를 평가하여 예방적 항생제 투여의 보조적 치료 방법으로서의 임상 적용 가능성을 알아보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 실험 동물

생후 2개월된 뉴질랜드산 수컷 토끼 (샘타고, 오산, 대한민국)를 1주일간의 적응기간을 거친 후 사용하였다. 동물들은 18~21°C의 온도와 50%의 습도를 유지시키며 12시간씩 밤과 낮의 밝기를 지켜주었고, 토끼 표준의 적절한 사료와 물을 공급하였다.

### 2. 방광요관역류 모델

실험동물을 25ml/kg의 케타민과 10ml/kg의 xylazine을 근육주사하여 마취시킨 후, 하복부 정중절개를 통해 방광을 노출시켰으며 방광을 정부에서부터 경부 직상부까지 절개하여 양측 요관구를 노출시켰다. 25 게이지의 angio needle sheath를 좌측 요관구를 통해 요관으로 넣은 뒤, 방광 내 요관을 전층에 걸쳐 12시 방향에서 절개하였으며 방광경부의 손상이 일어나지 않도록 주의하였다.<sup>16,17</sup> 방광은 4-0 polydioxanone (PDS)를 사용하여 봉합을 하였고, 복벽은 4-0 chro-

mic catgut을 사용하여 봉합하였다. 방광요관역류 발생 여부는 수술 2주 후에 방광조영술로 확인하였으며 방광요관역류가 2등급 이상으로 발생하지 않은 경우 실험에서 제외하고 그 수만큼 추가의 수술 및 처치를 시행하였다.

### 3. 실험군

실험을 시작하기 전에 방광조영술과 요배양검사를 시행하여 방광요관역류와 요로감염이 없는 것을 확인하였으며 방광요관역류시술 3주 뒤 토끼를 도살하여 방광요관역류가 발생한 쪽의 신장을 채취하여 분석하였다.

1) 대조군 (n=4): Sham 수술을 시행한 군으로 방광을 절개한 후 아무런 조작도 하지 않고 봉합하였다.

2) 방광요관역류군 (n=8): 방광요관역류 수술 후 세팔로스포린 (50mg/kg)을 매일 주사하여 무균뇨를 유지시켰다.

3) *E. coli* 투여군 (n=8): 방광요관역류 수술 후 방광 내에 *E. coli*를 주입하여 요로감염을 유발시켰다.

4) 크랜베리 투여군 (n=8): 방광요관역류 수술 후 *E. coli*를 주입하여 요로감염을 유발시키고 1g/kg의 크랜베리 분말 (Hankintatukku, Finland)을 우유와 혼합하여 사료와 함께 공급하였다.

5) 멜라토닌 투여군 (n=8): 방광요관역류 수술 후 *E. coli*를 주입하여 요로감염을 유발시키고 20mg/kg의 멜라토닌 (Sigma, St. Louis, USA)을 5% 에탄올에 녹여서 수술 직후와 매주 1회씩 복강 내에 주사하였다.

### 4. *E. coli* 투여

금성신우신염으로 확진 받은 소아의 요배양검사에서 동정된 *E. coli* (P67)의 표현형검사를 통해 P-fimbria와 hemolysin 생성 여부를 확인한 뒤 LB 배양액에서 배양하여 사용하였다. 실험동물에 감염을 유발시키기 위해 생리식염수 1ml에 대장균  $10^5$  마리가 포함되도록 희석시킨 후 요도를 통해 방광까지 삽입한 카테터를 통하여 방광 내에 주입하였다. 각 군의 감염 여부를 확인하기 위해 실험이 끝날 때까지 요배양검사를 주 1회 정기적으로 실시하였다.

### 5. 검체 조직 채취 및 병리조직학적 검사

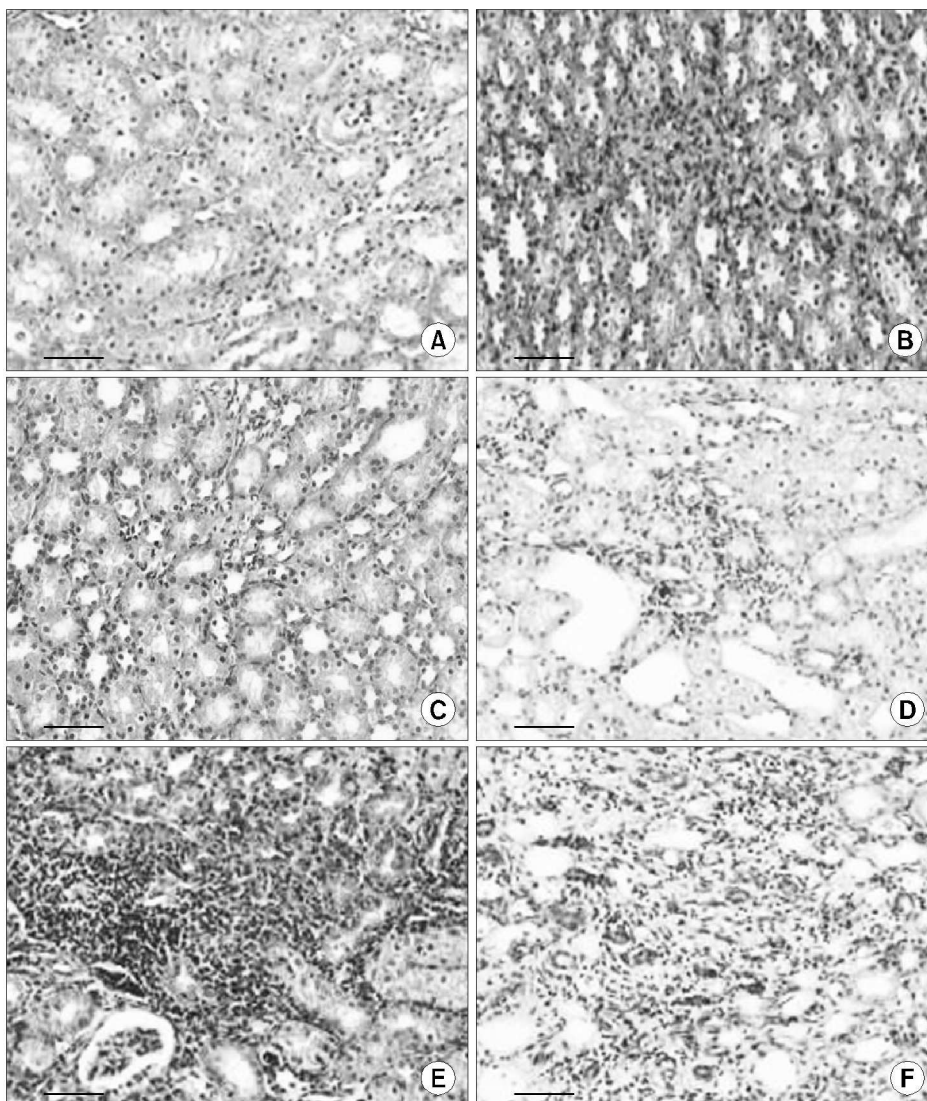
실험동물을 도살한 후 역류방광요관역류가 유발된 신장을 채취하여 상극과 하극을 피질과 실질을 포함하여 자른 뒤, 상극은 MDA 측정을 위해 영하 70°C의 질소탱크 냉동고에 보관하였고 하극은 병리조직학적 검사를 위하여 10% 포르말린 용액에 24시간 동안 고정시킨 후 파라핀에 포매한 후 파라핀 절편을 만들었다. 파라핀 포매한 신장 조직을 두께가 5 µm가 되도록 조직절편을 만들어 hematoxylin-eosin (H&E) 염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다. 신장

을 채취할 때 신장과 요관의 육안적 변화를 먼저 살펴보았고, 두 명의 병리의가 200배 현미경 시야에서 간질 내의 단핵염증세포 침윤, 간질의 섬유화, 세뇨관의 확장 및 위축 여부를 관찰하였다.

## 6. 산화성 손상 평가

산화성 손상의 정도는 oxygen free radical에 의해 세포막의 지질 과산화가 발생하여 신장 조직 내에 축적된 MDA를 측정해서 간접적으로 알아보았다.<sup>6</sup> 신장 조직의 MDA는 MDA와 thiobarbituric acid의 반응 시 방출되는 붉은색 파장을 586nm에서 측정하는 Bioxytech사의 MDA-586 assay kit (Bioxytech™ MDA-586™, OxisResearch™, Portland, USA)를 사용하여 측정하였다. 신장조직에서 혈액을 제거하기 위하여 0.9% ice-cold NaCl을 사용하였고, ice-cold phosphate-

buffered saline (PBS, 20mM, pH 7.4) 1ml를 첨가한 뒤, 0.5M butylated hydroxy toluene (BTH) 10  $\mu$ l를 혼합하고 조직분쇄기로 분쇄한 후 균질화시켜 20%의 균질액을 만들었다. 이 균질액을 4°C에서 4,000g으로 10분간 원심 분리한 후 상층액을 채취하였고 각각의 상층액에 probucol 10  $\mu$ l, 100% methanol 160  $\mu$ l, N-methyl-2-phenylindole 480  $\mu$ l를 혼합한 뒤 vortexing하였다. 여기에 hydrochloric acid 150  $\mu$ l를 가하고 vortexing한 후 증탕 가열한 뒤, 다시 4,000g으로 10분간 원심 분리하여 상층액을 채취하여 586nm에서 UV spectrometry로 흡광도를 측정하였다. MDA standard 용액도 동일한 방법으로 반응시킨 후 흡광도를 측정하여 standard curve를 구하였다. 검체에서 측정된 흡광도를 MDA standard 용액을 이용해 구한 공식 ( $y=0.065x+0.04$ )을 이용하여 농도를 계산하였다 (단위  $\mu$ M/gm.protein).<sup>18</sup>



**Fig. 1.** Kidneys obtained 3 weeks after operation. (A) Control (sham) group: there is no histologic changes and inflammation. (B) VUR group: mild mononuclear cell infiltration is seen. (C) Cranberry group: mild to moderate mononuclear cell infiltration is seen. (D) Melatonin group: there are similar histologic findings compared with the VUR group and the cranberry group (E), (F) *E. coli* group: periglomerular mononuclear cell infiltration and tubular dilatation with atrophy are seen. Marked mononuclear cell infiltration and interstitial fibrosis are seen (each group shows similar histologic findings) (H&E, scale bar=100  $\mu$ m, x200). VUR: vesico-ureteral reflux.

## 7. 통계 분석

모든 실험 자료는 SPSS 프로그램 (11.0 for Windows)을 사용하였으며 결과는 평균±표준편차로 표시하였다. 통계분석으로 MDA 측정치 비교는 Student's t-test를 사용하였으며, p값이 0.05 미만인 경우에 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

## 결 과

### 1. 조직학적 검사

육안으로 방광요관역류를 유발한 쪽의 신장이 반대쪽 신장보다 커져 있으며, 요관의 확장 및 비틀림이 있는 것을 관찰할 수 있었다. 광학현미경을 통해 각 군별 조직학적 차이를 비교했을 때 대조군에서는 염증 소견이나 간질의 섬유화 등의 조직학적 변화가 없었고, 방광요관역류군에서는 간질의 섬유화는 관찰되지 않았으나 정도의 단핵세포 침윤을 관찰할 수 있었다. 크랜베리 투여군과 멜라토닌 투여군에서는 조직학적 변화와 세포침윤이 방광요관역류군과 유의한 차이가 없었다. *E. coli* 투여군에서는 사구체 주위의 단핵세포 침윤과 세뇨관의 위축을 동반한 확장소견이 여러 곳에서 관찰되었고 간질 내 단핵세포의 침윤과 섬유화도 발견되었으며 일부 *E. coli* 투여군의 세뇨관에서는 확장 소견과 함께 미세한 크기의 고름집을 관찰할 수 있었다 (Fig. 1).

### 2. Oxygen free radical에 의한 신손상

역류성 신손상에 감염이 동반되는 경우를 알아보기 위하여 대조군, 방광요관역류군, *E. coli* 투여군의 oxygen free

radical에 의한 신손상 후 발생하는 신장 조직 내 MDA량을 측정하였다. *E. coli* 투여군의 MDA량은  $5.12 \pm 1.54 \mu\text{M/g}$ 으로 대조군의  $3.01 \pm 1.41 \mu\text{M/g}$ 보다 통계적으로 유의하게 높았고 ( $p < 0.05$ ), 방광요관역류군의  $3.97 \pm 1.52 \mu\text{M/g}$ 보다 높았으나 통계적으로 유의하지는 않았다 (Fig. 2A).

요로 감염에 대한 크랜베리의 신손상 방어효과를 알아보기 위하여 *E. coli* 투여군, 크랜베리 투여군, 멜라토닌 투여군의 신장 조직 내 MDA량을 비교하였다. *E. coli* 투여군의 MDA량은 크랜베리 투여군의  $3.47 \pm 1.34 \mu\text{M/g}$ , 멜라토닌 투여군의  $2.69 \pm 0.97 \mu\text{M/g}$ 보다 통계적으로 유의하게 높았고 ( $p < 0.05$ ), 크랜베리 투여군이 멜라토닌 투여군보다 높게 측정되었지만 통계적 유의성은 없었다. 이 결과로 미루어 보아 항산화 효과가 있는 것으로 알려진 멜라토닌과 비슷한 정도의 항산화 및 신장의 보호 효과가 크랜베리에도 있음을 알 수 있었다 (Fig. 2B).

## 고 찰

방광요관역류와 신손상과의 상관관계를 알기 위해 다양한 동물을 이용한 많은 실험과 연구 결과들이 발표되어 왔다. 그러나 아직까지 역류성 신손상의 병태생리는 명확하게 정립되지 않고 있다. 또한 역류성 신손상 발생에 있어 요로감염이 필수요소인지에 대해서도 아직 논란이 있다. Hodson 등<sup>19</sup>은 무균성 방광요관역류에서도 높은 압력이 동반되면 요폐색이 발생할 때와 유사한 상황이 발생하여 의미 있는 신반흔이 형성될 수 있다고 발표하였고, Paltiel 등<sup>20</sup>은 동물실험을 통하여 무균성 방광요관역류를 유발시킨 결과 정상 신장에 낮은 압력으로도 부분적인 신반흔 형성, 간

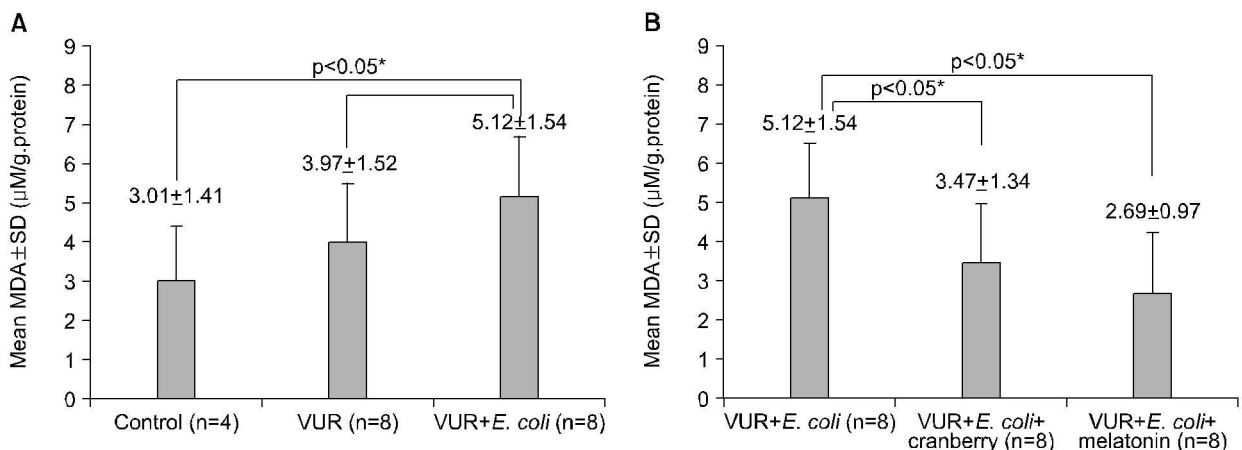


Fig. 2. Mean MDA values in each group. These graphs show the anti-oxidative effect of melatonin and cranberry. (A) The MDA level of the *E. coli* group is higher than that of the control and VUR groups. (B) The MDA level of the cranberry group and the melatonin group is lower than that of the *E. coli* group. MDA: malondialdehyde, VUR: vesico-ureteral reflux. \*:  $p < 0.05$  compared with the other group.

질의 만성적 염증과 섬유화가 발생할 수 있다고 발표하였다. 반면 Smellie와 Normand<sup>21</sup>는 합병증이 동반되지 않은 방광요관역류 환자들을 추적 관찰한 결과 지속적으로 예방적 항생제를 복용한 환자들에게는 새로운 신반흔이 형성되지 않았고, 돌발적인 발열성 요로감염이 재발한 경우에 새로운 신반흔이 발생하였다고 보고하였다. 저자들의 경우 선천적인 방광요관역류는 아니지만, 조작을 통한 무균성 방광요관역류 유발 시 정도의 염증반응과 함께 MDA의 축적 소견을 보여 신손상이 일어날 수 있음을 알 수 있었다. 그러나 *E. coli*를 투여하여 감염을 유발시킨 경우와 비교해서는 그 정도가 미약하여 감염이 신손상을 심화시킬 것으로 생각한다.

정상적인 신장에서도 oxygen free radical이 생성되지만 우리 몸에서 발생한 oxygen free radical은 superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase 등과 같은 물질의 효소작용과 glutathione, vitamin C, E 등과 같은 물질의 비효소작용을 통해 정상적으로 제거된다. 그러나 oxygen free radical의 생성이 인체의 항산화 대사용량을 넘게 되면 결국 조직의 손상이 발생한다. Oxygen free radical은 사구체의 혈관사이세포(mesangial cell)와 내피세포의 손상을 일으켜 결과적으로 사구체의 전제적인 구조와 기능의 변화를 초래한다. 사구체의 선택적 투과성이 손상됨으로써 체내의 고분자 물질들이 배설되면서 만성 신질환의 가능성이 높아진다. 또한 사구체 손상에 의해 신세뇨관이 유해한 화학물질에 노출되고, 이로 인해 oxygen free radical에 의한 세포손상이 악화되는 과정을 반복하게 된다. Oxygen free radical은 신혈관을 구성하는 평활근의 분화에 영향을 미쳐서 고혈압을 유발시킬 수 있고, 혈관내피세포의 기능부전을 초래하기도 한다.

최근 이러한 여러 문제를 일으킬 수 있는 oxygen free radical의 효과적 제거를 위해 여러 항산화 물질들이 논의되고 있다. 그 중 멜라토닌은 여러 연구를 통해 항산화 효과가 증명된 물질로, Imamoglu 등<sup>22</sup>은 신우신염을 유발한 동물 실험에서 신장의 보호에 효과가 있음을 보고하였으며 최근 신생아 폐질환, 관절염, 염증성 장질환 등 oxygen free radical 관련 질환 및 분야에서 치료와 예방에 적용되고 있다.<sup>8-12</sup> 한편 크랜베리는 멜라토닌에 비해 일상생활에서 좀 더 쉽게 접할 수 있고 저렴하게 구입할 수 있는 항산화 기능이 있는 식품이다. 크랜베리는 미국을 비롯한 서양에서 17세기경부터 소화불량, 간질환 등에 민간요법처럼 쓰여 왔으며 항생제가 널리 사용되기 전에는 요로감염의 치료에도 사용되었다.<sup>23</sup> 이전에는 크랜베리의 항요로감염 효과가 hippuric acid의 배설 증가에 의한 세균 활성 억제 및 소변의 산화에 의한 것으로 생각되었다. 그러나 크랜베리를 사용한 여러 실험에서 fructose나 proanthocyanidins과 같은 성분

이 요로감염을 유발하는 대장균의 요로상피로의 부착을 억제하여 요로감염을 예방한다는 것이 증명되었다.<sup>24</sup> 특히 최근에는 크랜베리의 주성분인 proanthocyanidins의 항산화작용이 대두되면서 실생활에 접목하려는 여러 노력이 이루어지고 있으나 크랜베리의 신우신염에 대한 예방 및 치료효과에 대한 연구는 아직 부족하다. Kontiokari 등<sup>25</sup>은 항생제 치료를 받는 요로감염 환아들을 위약과 크랜베리주스를 사용한 군으로 분류하여 비교 실험하였는데, 크랜베리주스를 사용한 군이 위약을 사용한 군보다 복용하는 순응도가 높다는 것을 발표하였다. Di Martino 등<sup>24</sup>은 크랜베리주스의 섭취량과 대장균의 요로상피부착억제 효과가 비례한다고 발표하였다. 본 실험을 통하여 살펴본 결과 멜라토닌 투여군과 크랜베리 투여군에서 *E. coli* 투여군보다 신장의 염증 소견 및 MDA 축적량이 유의하게 적어 신손상이 적게 일어났음을 보였으며 대조군, 방광요관역류군, 크랜베리 투여군, 멜라토닌 투여군 사이에는 유의한 차이가 없었다. 이는 크랜베리도 멜라토닌과 비슷한 정도의 항산화 효과가 있으며 항염 효과가 있음을 시사한다. 크랜베리의 부작용으로 몇 가지가 보고되고 있는데, 소변의 수산염 수치를 증가시켜 결석이 발생할 수 있고, proton pump 억제제를 복용하는 사람에서 비타민 B12 흡수가 증가하여 신장에서 알칼리성 약물의 대사가 약해질 수 있다는 점 등이다. 그러나 크랜베리를 사용한 사람들이 이로 인해 의학적으로 큰 문제가 발생한 것은 보고되지 않았다.<sup>26,27</sup>

## 결 론

저자들의 방광요관역류 토끼모델을 이용한 실험 결과 크랜베리의 섭취는 방광요관역류가 있는 토끼에서 요로감염의 발생을 줄이고 oxygen free radical에 의한 신손상의 예방에 도움이 되는 것으로 생각한다. 향후 크랜베리 섭취의 실제 임상적 적용을 위해서는 더 많은 기초적, 임상적 연구가 필요할 것으로 생각되며, 크랜베리가 요로감염 환자의 항생제 보조요법 연구에 기초적인 실험 자료로 사용될 수 있을 것이다.

## REFERENCES

1. King LR, Sellards HG. The effect of vesicoureteral reflux on renal growth and development in puppies. Invest Urol 1971; 9:95-7
2. Lenaghan D, Cass AS, Cussen LJ, Stephens FD. Long-term effect of vesicoureteral reflux on the upper urinary tract of dogs. 1. Without urinary infection. J Urol 1972;107:755-7
3. Ransley PG, Risdon RA, Godley ML. Effects of vesicoureteric

- reflux on renal growth and function as measured by GFR, plasma creatinine and urinary concentrating ability. An experimental study in the minipig. *Br J Urol* 1987;60:193-204
4. Bennett RT, Mazzaccaro RJ, Chopra N, Melman A, Franco I. Suppression of renal inflammation with vitamins A and E in ascending pyelonephritis in rats. *J Urol* 1999;161:1681-4
5. Jakobsson B, Berg U, Svensson L. Renal scarring after acute pyelonephritis. *Arch Dis Child* 1994;70:111-5
6. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-8
7. Roberts JA, Roth JK Jr, Domingue G, Lewis RW, Kaack B, Baskin G. Immunology of pyelonephritis in the primate model. V. Effect of superoxide dismutase. *J Urol* 1982;128:1394-400
8. Gitto E, Reiter RJ, Amodio A, Romeo C, Cuzzocrea E, Sabatino G, et al. Early indicators of chronic lung disease in preterm infants with respiratory distress syndrome and their inhibition by melatonin. *J Pineal Res* 2004;36:250-5
9. Fulia F, Gitto E, Cuzzocrea S, Reiter RJ, Dugo L, Gitto P, et al. Increased levels of malondialdehyde and nitrite/nitrate in the blood of asphyxiated newborns: reduction by melatonin. *J Pineal Res* 2001;31:343-9
10. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review. *J Biomed Sci* 2000;7:444-58
11. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological actions of melatonin in acute and chronic inflammation. *Curr Top Med Chem* 2002; 2:153-65
12. Drake MJ, Mills IW, Noble JG. Melatonin pharmacotherapy for nocturia in men with benign prostatic enlargement. *J Urol* 2004;171:1199-202
13. Avorn J, Monane M, Gurwitz JH, Glynn RJ, Choodnovskiy I, Lipsitz LA. Reduction of bacteriuria and pyuria after ingestion of cranberry juice. *JAMA* 1994;271:751-4
14. Kontiokari T, Sundqvist K, Nuutinen M, Pokka T, Koskela M, Uhari M. Randomised trial of cranberry-lingonberry juice and Lactobacillus GG drink for the prevention of urinary tract infections in women. *BMJ* 2001;322:1571
15. Stothers L. A randomized trial to evaluate effectiveness and cost effectiveness of naturopathic cranberry products as prophylaxis against urinary tract infection in women. *Can J Urol* 2002; 9:1558-62
16. Risdon RA, Godley ML, Parkhouse HF, Gordon I, Ransley PG. Renal pathology and the 99mTc-DMSA image during the evolution of the early pyelonephritic scar: an experimental study. *J Urol* 1994;151:767-73
17. Atala A, Peters CA, Retik AB, Mandell J. Endoscopic treatment of vesicoureteral reflux with a self-detachable balloon system. *J Urol* 1992;148:724-7
18. Gerard-Monnier D, Erdelmeier I, Regnard K, Moze-Henry N, Yadan JC, Chaudiere J. Reactions of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. *Chem Res Toxicol* 1998;11:1176-83
19. Hodson CJ, Maling TM, McManamon PJ, Lewis MG. The pathogenesis of reflux nephropathy (chronic atrophic pyelonephritis). *Br J Radiol* 1975;13(Suppl):1-26
20. Paltiel HJ, Mulkern RV, Perez-Atayde A, Connolly LP, Zurawski D, Treves ST, et al. Effect of chronic, low-pressure, sterile vesicoureteral reflux on renal growth and function in a porcine model: a radiologic and pathologic study. *Radiology* 2000;217:507-15
21. Smellie JM, Normand IC. Reflux nephropathy in childhood. In: Hudson J, Kincaid-Smith P, editors. *Reflux nephropathy*. New York: Masson Publishing; 1979;14-20
22. Imamoglu M, Cay A, Cobanoglu U, Bahat E, Karahan C, Tosun I, et al. Effects of melatonin on suppression of renal scarring in experimental model of pyelonephritis. *Urology* 2006;67: 1315-9
23. Lynch DM. Cranberry for prevention of urinary tract infections. *Am Fam Physician* 2004;70:2175-7
24. Di Martino P, Agniel R, David K, Templer C, Gaillard JL, Denys P, et al. Reduction of *Escherichia coli* adherence to uroepithelial bladder cells after consumption of cranberry juice: a double-blind randomized placebo-controlled cross-over trial. *World J Urol* 2006;24:21-7
25. Kontiokari T, Salo J, Eerola E, Uhari M. Cranberry juice and bacterial colonization in children- a placebo-controlled randomized trial. *Clin Nutr* 2005;24:1065-72
26. Saltzman JR, Kemp JA, Golner BB, Pedrosa MC, Dallal GE, Russell RM. Effect of hypochlorhydria due to omeprazole treatment or atrophic gastritis on protein-bound vitamin B12 absorption. *J Am Coll Nutr* 1994;13:584-91
27. Terris MK, Issa MM, Tacker JR. Dietary supplementation with cranberry concentrate tablets may increase the risk of nephrolithiasis. *Urology* 2001;57:26-9