

## EFFECTS OF L-ARGININE AND L-NAME ON RENAL ISCHEMIA - REPERFUSION IN RATS

ERNANI L. RHODEN, CLÁUDIO TELÖKEN, CARLOS A.V. SOUTO, CLÁUDIA R. RHODEN, MÁRCIO L. LUCAS, A. BELLÓ-KLEIN

Divisions of Urology and Pharmacology, Federal Foundation School of Medicine of Porto Alegre (FFFCMPA), and Laboratory of Cardiovascular Physiology, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRS), RS, Brazil

### ABSTRACT

**Introduction:** Nitric oxide (NO) is a very important peripheral and renal vasodilator derived from L-arginine in a reaction modulated by nitric oxide synthase (NOS). We here analyze the role of L-arginine/NO in the renal function and oxidative stress in rats submitted to renal ischemia-reperfusion.

**Material and Methods:** For the renal function, we used four groups of animals: control group; ischemia-reperfusion group; a group pretreated with L-NAME (an inhibitor of NOS); and a group pretreated with L-arginine. Serum creatinine was measured in the 24, 96, and 192 hours of reperfusion. In another six groups, we analyzed the oxidative stress through chemiluminescence initiated by tert-butyl hidroperoxide (QL). We used ANOVA, followed by Bonferroni's t test ( $p < 0.05$ ) for statistical analysis.

**Results:** Renal ischemia-reperfusion significantly increased both renal dysfunction and oxidative stress, when compared with the control groups, in 24 and 96 hours of reperfusion ( $p < 0.05$ ). L-NAME increased the levels of serum creatinine in 24 and 96 hours ( $p < 0.05$ ), and also increased the oxygen species activity ( $p < 0.05$ ) during renal ischemia-reperfusion. Furthermore, L-arginine significantly protected the renal function and also inhibited the increase in chemiluminescence induced by L-NAME ( $p < 0.05$ ) during 24 and 96 hours of reperfusion.

**Conclusion:** Our results suggest that Nitric oxide (NO) has a protective effect against renal ischemia-reperfusion-induced injury in rats.

**Key words:** kidney; renal ischemia; nitric oxide; free radical; L-NAME; L-arginine

**Braz J Urol, 27: 78-83, 2001**

### INTRODUÇÃO

No rim, a injúria tecidual decorrente da síndrome isquêmica-reperfusional é uma causa importante de disfunção orgânica em transplante renal, cirurgias de revascularização da artéria renal, nefrectomias parciais, bem como no tratamento cirúrgico de aneurismas da aorta supra-renal (1,2). Os mecanismos propostos para explicar a lesão secundária à isquemia-reperusão tecidual são diversos: liberação de espécies ativas de oxigênio (EAO) durante a reoxigenação tecidual; acumulação leucocitária; e subsequente liberação de EAO adicionais e enzimas líticas (1,3). Fisiologicamente, o processo isquêmico,

no rim, é caracterizado por diminuição do fluxo sanguíneo renal, decréscimo da filtração glomerular e diminuição do coeficiente de ultrafiltração renal, além de disfunção tubular secundária à obstrução e dano do epitélio tubular (1,3,4).

O óxido nítrico (NO), conhecido como fator relaxante derivado do endotélio (FRDE), é um substrato do aminoácido L-arginina resultante da ação enzimática da óxido nítrico sintase (NOS). Revisões recentes têm demonstrado que o NO, além de ser um importante vasodilatador endógeno, parece exercer papéis relevantes dentro do contexto fisiopatológico do organismo humano (5-7). Além disso, supõe-se que o NO tenha papel ambíguo durante a isquemia-

reperfusão tecidual: na isquemia, ele parece proteger o tecido devido sua propriedade vasodilatadora e ação contra o acúmulo leucocitário; contudo, durante a reoxigenação do tecido isquêmico, o NO pode reagir com moléculas de superóxido ( $O_2^-$ ) e formar o radical peroxinitrito (ONOO $\cdot$ ), um importante agente causador da lipoperoxidação de membranas celulares (6).

O objetivo de nosso estudo é verificar o comportamento da função renal de ratos pré-tratados com L-arginina (precursor do NO) ou com L-NAME (N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina-metil-éster - um inibidor da NOS) e submetidos à isquemia-reperfusão renal. Além disso, deseja-se estudar a participação do NO sobre a atividade das EAO na mesma situação. Com isso, pretende-se avaliar, indiretamente, a importância da via L-arginina/NO durante o evento isquêmico-reperfusional no rim.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 97 ratos Wistar, adultos, pesando entre 250 e 330 g, criados no Biotério da Disciplina de Farmacologia de nossa Faculdade. Durante o experimento, os animais foram mantidos em condições controladas de luz (ciclo claro das 7 às 19 horas) e temperatura ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ), recebendo água potável e ração padronizada ad libitum. Todos os experimentos foram aprovados por um Comitê Institucional de Uso e Cuidado de Animais em Experimentação.

Para o estudo da participação do NO sobre a função renal, no evento isquêmico-reperfusional, 39 animais foram divididos, aleatoriamente, em quatro grupos. Grupo C (controle/n = 10): ratos em que se dissecou o pedículo renal esquerdo, expondo-o por um período de 50 minutos (operação simulada). Grupo I-R (n = 10): grupo submetido à dissecação e clampeamento (com pinças vasculares atraumáticas) do pedículo renal esquerdo (com exceção do ureter) por um período de 50 minutos, seguida de reperfusão tecidual. Grupo L-NAME + I-R (n = 10): animais pré-tratados com L-NAME (Sigma, Brasil) (20 mg/kg; via intraperitoneal) 20 minutos antes da cirurgia de clampeamento da artéria e veia renais esquerdas, por um tempo de 50 minutos, com reoxigenação, logo a seguir, do rim isquêmico. Grupo L-arg + I-R (n =

10): grupo pré-tratado com L-arginina (Sigma, Brasil), na dose de 200 mg/kg (via i.p.), 20 minutos antes da cirurgia conforme o grupo anterior.

Todos os animais foram anestesiados com tiopental sódico (Cristália, Brasil) (50 mg/kg; via i.p.). O fechamento da cavidade nos animais, foi feito por planos, utilizando-se fios absorvíveis para o músculo e fios inabsorvíveis para a pele. Logo após as cirurgias, os animais foram acondicionados em gaiolas de plástico (17 x 34 x 18 cm), em número de 3 ou 4 ratos por gaiola, nas condições do biotério conforme citadas anteriormente. Procedeu-se, então, à coleta de amostras de sangue periférico (plexo retro-ocular) para dosagem das creatininas séricas de todos os ratos nos tempos de 24, 96 e 192 horas após o término dos procedimentos correspondentes a cada grupo. Para a coleta de sangue, os ratos foram anestesiados com éter etílico inalatório.

Para o estudo da interação entre o NO e as EAO durante a isquemia-reperfusão renal, 58 ratos foram divididos, aleatoriamente, em seis grupos. Grupo C (controle/n = 9): ratos em que se dissecou o pedículo renal esquerdo, expondo-o por um período de 50 minutos. Grupo I (isquêmico/n = 9): animais submetidos apenas à isquemia renal esquerda por 50 minutos. Grupo I-R (n = 10): grupo submetido ao clampeamento pedículo renal esquerdo (com exceção do ureter) por um período de 50 minutos, seguida de reperfusão tecidual por 50 minutos. Grupo L-NAME + I-R (n = 10): animais pré-tratados com L-NAME, 20 mg/kg (via i.p.), 20 minutos antes da cirurgia renal. Grupo L-arg + I-R (n = 10): grupo pré-tratado com L-arginina, na dose de 200 mg/kg (via i.p.), 20 minutos antes da cirurgia conforme o grupo anterior. Grupo L-NAME + L-arg + I-R (n = 10): animais submetidos ao pré-tratamento com L-NAME e, em seguida, com L-arginina, 20 minutos antes da cirurgia.

A indução anestésica foi feita conforme descrição anterior. Após os procedimentos, realizou-se, em seguida, as nefrectomias totais de todos os rins esquerdos dos animais, com o objetivo de utilizarmos o tecido renal para análise da atividade das EAO através do método de quimioluminescência iniciada por hidróperóxido de tert-butil (QL), que mede, em contas por segundo por miligrama de proteína (cps/mg de proteína), a ener-

gia luminosa emitida pelo retorno ao estado fundamental de carbonilas excitadas e oxigênio singlet durante o estresse oxidativo nas células renais (8).

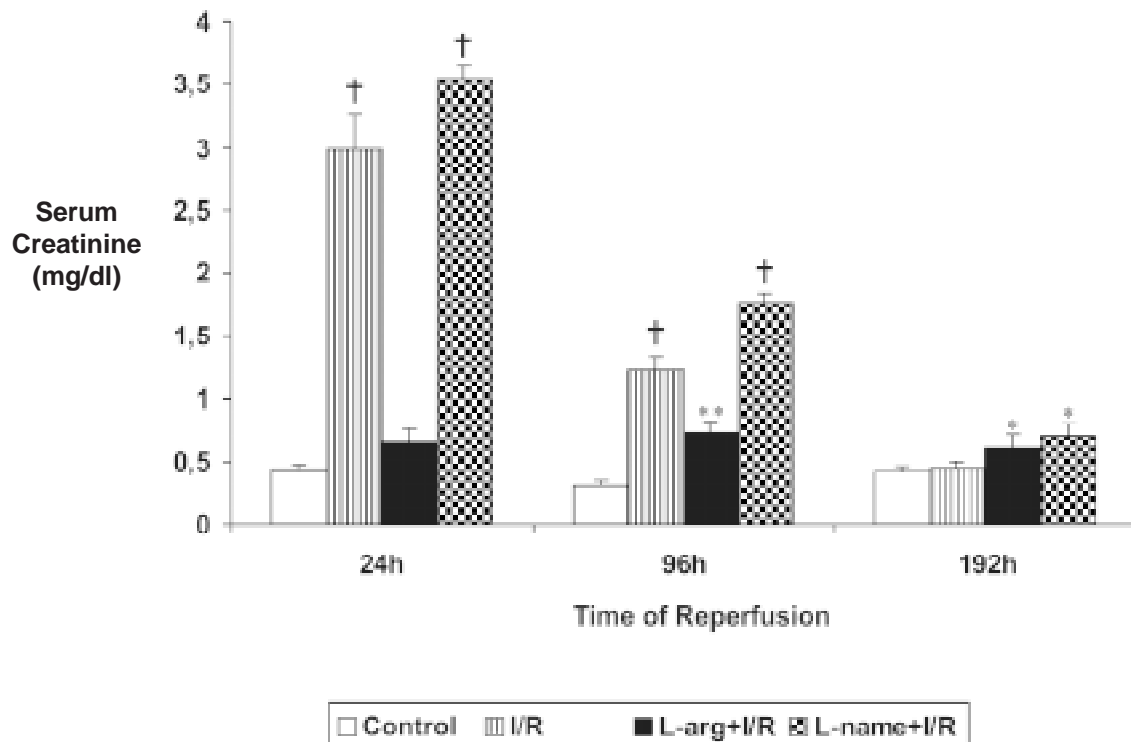
Os níveis de creatinina sérica (em mg/dl) e os valores obtidos pela QL (em cps/mg de proteína), todos representados pela média  $\pm$  desvio padrão, foram submetidos à análise de variância de uma via (ANOVA), seguida pelo teste t de Bonferroni, sempre considerando-se um intervalo de confiança de 95% ( $p < 0.05$ ).

## RESULTADOS

Os valores médios de creatinina sérica para cada grupo, nos diferentes tempos de reperfusão re-

nal, estão representados graficamente na Figura. Os resultados demonstraram que a isquemia-reperfusão renal foi responsável por um acréscimo significativo dos níveis de creatinina sérica nas 24 e 96 horas de reperfusão ( $p < 0.05$ ). Entretanto, os níveis de creatinina do grupo I-R demonstraram-se iguais aos do grupo controle nas 192 horas de reoxigenação tecidual ( $0.45 \pm 0.07$  vs.  $0.42 \pm 0.01$  mg/dl;  $p > 0.05$ ).

O pré-tratamento com L-NAME não trouxe um aumento significativo na disfunção renal, durante a síndrome isquêmica-reperfusional, nos períodos de 24 e 96 horas de recuperação pós-isquemia ( $p > 0.05$ ); contudo, os níveis séricos de creatinina, quando comparados as do grupo isquêmico não tratado,



**Figure 1** -Serum concentration of creatinine ( $Cr_s$ ) in different periods of renal reperfusion in ischemic kidneys of rats submitted to previous treatment with L-arginine or L-NAME. † =  $p < 0.05$ , compared to Control, and to L-arginine (L-arg) + Ischemia/Reperfusion (I/R) groups. \*\*  $p < 0.05$ , when compared to Control Group. \*  $p < 0.05$ , when compared to Control and Ischemia/Reperfusion (I/R) groups. Control Group: without renal Ischemia/Reperfusion (I/R); Ischemia/Reperfusion (I/R) Group: renal ischemia for 50 min; L-arginine + Ischemia/Reperfusion (I/R) Group: treated previously with L-arginine and submitted to renal ischemia; L-NAME + Ischemia/Reperfusion (I/R) Group: treated previously with L-NAME and submitted to renal ischemia.

Concentrações séricas de creatinina ( $Cr_s$ ) em diferentes períodos de reperfusão renal de rins isquêmicos em ratos submetidos ao pré-tratamento com L-arginina ou L-NAME. † =  $p < 0.05$  quando comparados aos grupos Controle e L-arginina + Isquemia/Reperfusão. \*\*  $p < 0.05$  quando comparado ao grupo Controle. \*  $p < 0.05$  quando comparados aos grupos Controle e Isquemia/Reperfusão. Grupo Controle: sem isquemia-reperfusão renal; Grupo Isquemia/Reperfusão (I/R): isquemia renal por 50 min; Grupo L-arginina + I/R: pré-tratado com L-arginina e submetido à isquemia renal; Grupo L-NAME + I/R: pré-tratado com L-NAME e submetido à isquemia renal.

mantiveram-se significativamente elevados ao término de 192 horas de reperfusão renal ( $0.70 \pm 0.27$  vs.  $0.45 \pm 0.07$  mg/dl;  $p < 0.05$ ).

A administração prévia de L-arginina diminuiu, significativamente, os níveis de creatinina sérica após 24 e 96 horas de reperfusão nos animais submetidos à isquemia renal ( $p < 0.05$ ). No entanto, tal efeito benéfico da L-arginina não foi evidenciado após as 192 horas de reperfusão, visto que, neste momento, os níveis de creatinina demonstraram-se significativamente superiores aos do grupo isquêmico não tratado ( $0.61 \pm 0.08$  vs.  $0.45 \pm 0.07$  mg/dl;  $p < 0.05$ ).

Quanto à QL, os resultados obtidos estão arrolados na tabela. A isquemia per se não foi capaz de aumentar, significativamente, a atividade das EAO quando em comparação com o grupo controle ( $6360 \pm 715$  vs.  $3763 \pm 633$  cps/mg de proteína;  $p > 0.05$ ). Durante a isquemia-reperfusão renal, a expressão das EAO tornou-se significativamente maior em relação aos grupos isquêmico e controle ( $p < 0.05$ ). No entanto, a L-arginina diminuiu, significativamente, o grau de lipoperoxidação das membranas renais durante após o procedimento de isquemia-reperfusão ( $5574 \pm 909$  vs.  $13660 \pm 1104$  cps/mg de proteína;  $p < 0.05$ ).

A administração prévia de L-NAME provocou um aumento significativo do estresse oxidativo das membranas renais, medido através da QL, durante o evento isquêmico-reperfusional ( $p < 0.05$ ). Contudo, nos animais em que administramos, simultaneamente, L-arginina e L-NAME, observamos um efeito protetor sobre os níveis de QL quando comparado ao grupo tratado apenas com L-NAME ( $5510 \pm 767$  vs.  $17482 \pm 4397$  cps/mg de proteína;  $p < 0.05$ ).

## DISCUSSÃO

Sintetizando nossos achados, podemos verificar que a síndrome de isquemia e reperfusão renal causou um decréscimo importante da função renal e aumentou significativamente a atividade das EAO quando em comparação aos grupos controles. Além disso, houve um acréscimo significativo nos níveis de QL através da inibição da síntese de NO após a cirurgia ( $p < 0.05$ ). Notou-se, ainda, que a adminis-

**Table - Oxidative stress measured by the quimioluminescence (QL) technique in rats submitted to renal ischemia/reperfusion (I/R) and treated previously with L-NAME or L-arginine (L-arg).**

*Estresse oxidativo mensurado através da técnica de quimioluminescência (QL) em ratos submetidos à isquemia-reperfusão renal e tratados com L-NAME ou L-arginina (L-arg).*

Groups	QL (cps/mg of protein)
Control (n = 9)	3763 ± 633
I (n = 9)	6360 ± 715
I/R (n = 10)	13660 ± 1104*
L-NAME + I/R (n = 10)	17482 ± 4397**
L-arg + I/R (n = 10)	5574 ± 909
L-NAME + L-arg + I/R (n = 10)	5510 ± 767

\*  $p < 0.05$  compared to Control; I; L-arg + I/R and L-NAME + L-arg + I/R groups; \*\*  $p < 0.05$  compared to Control; I; L-arg + I/R and L-NAME + L-arg + I/R groups. Control Group: submitted to sham operation; I Group: renal ischemia for 50 min; I/R Group: renal ischemia-reperfusion on left side; L-NAME + I/R Group: previously treated with L-NAME and submitted to renal ischemia/reperfusion; L-arg + I/R Group: previously treated with L-arginine and submitted to renal ischemia/reperfusion; L-NAME + L-arg + I/R Group: previously treated with L-NAME + L-arginine and submitted to renal ischemia/reperfusion. The values represent the mean ± standard deviation.

\* $p < 0.05$  quando comparado aos grupos Controle; I; L-arg + I/R e L-NAME + L-arg + I/R; \*\* $p < 0.05$  vs. grupos Controle; I; L-arg + I/R e L-NAME + L-arg + I/R. Grupo Controle: submetido à cirurgia simulada; Grupo I: isquemia renal esquerda por 50 minutos; Grupo I/R: isquemia-reperfusão renal à esquerda; Grupo L-NAME + I/R: pré-tratado com L-NAME e submetido à I/R renal; Grupo L-arg + I/R: pré-tratado com L-arginina e submetido à I/R renal; Grupo L-NAME + L-arg + I/R: pré-tratado com as duas drogas e submetido à I/R renal. Cada valor representa média ± desvio padrão.

tração prévia de L-arginina foi capaz de proteger a função renal e amenizar a atividade das EAO nos animais submetidos à isquemia-reperfusão renal. Evidenciamos, também, que os ratos pré-tratados ou com L-NAME ou com L-arginina demonstraram um retardo na recuperação da integridade renal após o evento isquêmico, visto que esses animais apresentaram níveis séricos de creatinina estatisticamente superiores aos do grupo isquêmico não tratado, após 192 horas de reperfusão.

Durante a isquemia-reperfusão tecidual, as EAO, como o radical superóxido

( $O_2^-$ ), o radical hidroxil ( $OH^\cdot$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) podem produzir injúria celular através das reações de lipoperoxidação das membranas mitocondriais, lisossômicas e plasmáticas, alterando, então, a estrutura e a função dessas membranas (8 + 9). No rim, tais alterações são responsáveis por um aumento da permeabilidade tubular com perda das funções de transporte, bem como redução da fosforilação oxidativa mitocondrial e liberação inapropriada de enzimas líticas lisossômicas que acelerariam o processo de degradação celular, com conseqüente diminuição da função renal (1,9,10).

A integridade da função renal depende do balanço entre fatores vasodilatadores e vasoconstritores. Na isquemia renal, o dano sofrido pelo endotélio pode desencadear um ciclo vicioso de lesão isquêmica pelo aumento da liberação de substâncias vasoconstritoras (p.ex. endotelinas) e diminuição de substâncias vasodilatadoras (p.ex. NO) (1). Além disso, alguns autores supõem que o rim seja mais sensível às diminuições das reservas de NO do que outros tecidos, visto que a infusão prévia de L-NAME é capaz de reduzir, significativamente, a natriurese, a diurese e a filtração glomerular sem, contudo, causar alteração substancial dos níveis pressóricos médios (11,12).

Durante a fase de reoxigenação tecidual, o radical superóxido ( $O_2^-$ ) pode reagir com o NO e formar o peroxinitrito ( $ONOO^\cdot$ ), um importante radical livre que medeia, ao menos em parte, as reações de lipoperoxidação das membranas celulares no evento isquêmico-reperfusional (11). Em nossos experimentos, vimos que a inibição da produção de NO pode exacerbar e o aminoácido L-arginina pode amenizar o dano causado pelas EAO durante a isquemia-reperfusão renal em ratos. Nossos resultados concordam com achados prévios, demonstrando que precursores do NO, especialmente L-arginina, podem exercer efeitos benéficos na isquemia-reperfusão tecidual (13,14). Isso talvez demonstra que a interação entre NO e as EAO seja um tanto benéfica, ressaltando o fato de que o NO, ao reagir com  $O_2^-$ , na formação de  $ONOO^\cdot$ , atuaria como scavenger de  $O_2^-$ , impedindo, assim, a ação dessa última molécula sobre as membranas celulares, bem como a origem de outros radi-

cais ( $H_2O_2$  e  $OH^\cdot$ ), causadores de injúria oxidativa (8,15). Com uma alteração do balanço na relação NO/ $O_2^-$ , haveria uma tendência maior na produção de PAF (fator agregante plaquetário) e  $LTB_4$  (leucotrieno  $B_4$ ), através de reações envolvendo os radicais  $O_2^-$  e  $H_2O_2$ , o que estimularia a adesão leucocitária, com conseqüente aumento da injúria oxidativa decorrente da isquemia-reperfusão tecidual (15).

A produção basal de NO é necessária para a manutenção da função glomerular normal, pois a inibição da síntese de NO é responsável por aumento da resistência arteriolar eferente, aumento da pressão dos capilares glomerulares e mudanças expressivas da histologia renal (4). Tem-se demonstrado, também, que a inibição do NO exacerba a disfunção renal, ao mesmo tempo que os precursores do NO são capazes de aumentar a função renal (16). De acordo com os achados de nosso estudo, tem-se verificado que o dano funcional do rim causado pela depleção das reservas de NO é transitório; isto é, após um período de disfunção renal, o órgão é capaz de retornar à sua função normal em poucos dias (11). Tal fato pode-se dever, em grande parte, à grande reatividade e à pequena duração do tempo de meia-vida do NO (6,7).

Bhardwaj et al. (1989) demonstraram que a L-arginina é capaz de diminuir, de modo significativo, a resistência vascular renal após evento isquêmico em rim isolado (17). Esse efeito protetor atribuído ao NO pode ser resultante de sua ação inibitória sobre o acúmulo leucocitário e da sua propriedade vasodilatadora durante a fase isquêmica (6).

Tendo-se em vista os nossos resultados, podemos concluir que o NO tem uma função relevante durante a isquemia-reperfusão renal, pois, com a inibição da produção de NO, há uma tendência em aumentar o grau de disfunção renal, bem como exacerbar os índices de estresse oxidativo ocasionado pelas EAO medido através da técnica de QL durante o evento isquêmico-reperfusional renal em ratos. Além disso, o aminoácido L-arginina é capaz de proteger a integridade funcional e diminuir a lesão provocada pelas EAO em rins pós-isquêmicos. Resta-nos saber, agora, a real eficácia dos precursores do NO em preservar a fisiologia renal, garantindo um efeito protetor total na síndrome de isquemia-reperfusão. Para isso, é preciso a utilização de novos parâmetros de análise da função renal, tais como

diurese, natriurese,  $\text{Na}^+$  excretado e depuração da creatinina endógena, bem como utilização de novas dosagens e vias de administração do L-NAME e da L-arginina e emprego de novas técnicas para mensuração da atividade das EAO e da expressão da via L-arginina/NO durante a isquemia-reperfusão renal. Todo esse esforço objetivará, em futuro próximo, o possível emprego benéfico de substâncias moduladoras da via L-arginina/NO em diferentes situações clínico-cirúrgicas, especialmente naquelas em que o rim é submetido ao processo de isquemia e reperfusão.

## REFERÊNCIAS

1. Bonventre JV: Mechanisms of ischemic acute renal failure. *Kidney Int*, 43: 1160-1178, 1993.
2. Defraigne JO, Detry O, Pincemail J, Franssen C, Meurisse M, Lamy M, Limet R: Direct evidence of free radical production after ischaemia and reperfusion and protective effect of desferrioxamine: ESR and vitamin E studies. *Eur J Vasc Surg*, 8: 537-543, 1994.
3. Weinberg JM: The cell biology of ischemic renal injury. *Kidney Int*, 39: 476-500, 1991.
4. Waz WR, Van Liew JB, Feld LG: Nitric oxide metabolism following unilateral renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Pediatr Nephrol*, 12: 26-29, 1998.
5. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs A: Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*, 43: 109-142, 1991.
6. Gross SS, Wolin MS: Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. *Annu Rev Physiol*, 57: 737-769, 1995.
7. Lucas ML, Rhoden CR: Potencial terapêutico dos inibidores da óxido-nítrico-sintase. *Rev Bras Clin Terap*, 25: 28-36, 1999.
8. Rhoden EL, Rhoden CR, Mauri M, Lucas ML, Belló-Klein A, Telöken C, Souto CAV: Modelo experimental de isquemia-reperfusão renal em ratos: estudo do estresse oxidativo provocado pelos radicais livres derivados do oxigênio. *J Bras Urol*, 25: 431-436, 1999.
9. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF: Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J Clin Invest*, 74: 1156-1164, 1984.
10. Baker GL, Corry RJ, Autor AP: Oxygen free radical induced damage in kidneys subjected to warm ischemia and reperfusion: protective effect of superoxide dismutase. *Ann Surg*, 202: 628-641, 1985.
11. Salazar FJ, Pinilla JM, López F, Romero JC, Quesada T: Renal effects of prolonged synthesis inhibition of endothelium-derived nitric oxide. *Hypertension*, 20: 113-117, 1992.
12. Lahera V, Salom MG, Miranda-Guardiola F, Moncada S, Romero C: Effects of  $\text{N}^G$ -nitro-L-arginine methyl ester on renal function and blood pressure. *Am J Physiol*, 261: F1033-F1037, 1991.
13. Nilsson B, Yoshida T, Delbro D, Andrius S, Friman S: Pretreatment with L-arginine reduces ischemia-reperfusion injury of the liver. *Transplant Proc*, 29: 3111-3112, 1997.
14. Burra P, Ferrareso M, Cadrobbi R, Calabrese F, Cardin R, Parnigotto A, Carraro P, Rigotti P: Effect of L-arginine and oligotide on liver ischemia-reperfusion injury. *Transplant Proc*, 29: 1992-1993, 1997.
15. Grisham MB: Interaction between nitric oxide and superoxide: role in modulating leukocyte adhesion in the posischemic microvasculature. *Transplant Proc*, 27: 2842-2843, 1995.
16. Chintala MS, Chiu PJS, Vemulapalli S, Watkins RW, Sybertz EJ: Inhibition of endothelium derived relaxing factor (EDRF) aggravates ischemic acute renal failure in anesthetized rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 348: 305-310, 1993.
17. Bhardwaj R, Moore PK: The effect of arginine and nitric oxide on resistance blood vessels of the perfused rat kidney. *Br J Pharmacol*, 97: 739-743, 1989.

---

*Received: April 5, 2000*

*Accepted after revision: January 11, 2001*

---

### Correspondence address:

Dr. Ernani Luís Rhoden  
Rua Jaraguá, 370/302  
Porto Alegre, RS, 90450-140, Brazil