

L-Arjinin ve N^o-Nitro-L-Arjinin Metil Esteri Uygulamasının Beyin, Karaciğer, Böbrek Dokusu Nitrik Oksit ve Malondialdehit Düzeylerine Etkisi

Onur ATAKIŞI *  Emine ATAKIŞI* Tennur ATABAY** Metehan UZUN***

- * Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Kars - TÜRKİYE
** Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, İzmir - TÜRKİYE
*** Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Kars - TÜRKİYE

Yayın Kodu (Article Code): 2008/73-A

Özet

Bu çalışmada nitrik oksit (NO) vericilerinden L-arjinin ve NO sentezini inhibe eden N-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME)'inin uzun süreli uygulamasının beyin, karaciğer ve böbrek dokularındaki NO ve malondialdehit (MDA) düzeylerine etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Araştırmada 3 farklı grup oluşturuldu ve kontrol grubuna 0.5 ml izotonik NaCl, L-arjinin grubuna 200 mg/kg L-arjinin ve L-NAME grubuna 100 mg/kg L-NAME günde bir kez olmak üzere 11 gün boyunca intraperitoneal yolla enjekte edildi. Denemenin sonunda ötenazi edilen tavşanların beyin, karaciğer ve böbrek dokuları alındı. Alınan doku örneklerinde NO ve MDA düzeyleri kolorimetrik yöntemle belirlendi. Karaciğer ve böbrek dokularındaki NO ve MDA düzeyleri açısından gruplar arasında istatistik olarak anlamlı bir fark bulunmazken, L-arjinin enjekte edilen grupta beyin dokusu NO ve MDA düzeylerinin diğer gruplara göre istatistik olarak yüksek (P<0.05) olduğu belirlendi. Sonuç olarak L-arjinin uygulamasının beyin dokusu NO ve MDA düzeylerini arttırdığı ve beyinin böbrek ve karaciğere göre daha fazla duyarlı bir organ olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar sözcükler: Nitrik oksit, Malondialdehit, Tavşan, Karaciğer, Böbrek, Beyin


Effect of L-Arginine and N^o-Nitro-L-Arginine Metyl Ester Brain, Liver and Kidney Tissue Nitric Oxide and Malondialdehyde Levels

Summary

This study was aimed at evaluating brain, liver and kidney tissue NO and malondialdehyde (MDA) after long term administration of L-arginine a nitric oxide donor and N nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) a NO inhibitor. Three groups were established; control group received 0.5 ml isotonic NaCl, L-arginine group was given 200 mg/kg L-arginine and L-NAME group received 100 mg/kg L-NAME by intraperitoneal injection daily for 11 days. Rabbits were euthanized at the end of the experiment and brain, liver and kidney tissue samples were collected. Tissue NO and MDA levels were colorimetrically determined. There was no statistically significant difference in liver and kidney NO and MDA level between the groups while L-arginine administered group had higher brain NO and MDA levels when compared to other groups (P<0.05). As a result, long term administration of L-arginine increased brain tissue NO and MDA when compared to liver and kidney values.

Keywords: Nitric oxide, Malondialdehyde, Rabbit, Kidney, Liver, Brain

 İletişim (Correspondence)

 +90 474 242 68 01/1150

 onuratakisi@hotmail.com

GİRİŞ

Paramagnetik bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO), nitrik oksit sentetaz enziminin (NOS; EC: 1. 14. 13. 39) L-arjinini okside ederek sitrullin oluşturması esnasında sentez edilir ¹. Uyarılabilen NOS (iNOS), endotel NOS (eNOS) ve nöronal NOS (nNOS) olmak üzere üç izoformu bulunmaktadır ^{2,3}. Makrofajlarda bulunan uyarılabilen NOS, kalsiyumdan bağımsız sitokinler ve endotoksinler tarafından uyarılır ve büyük miktarlarda NO üretir ^{3,4}. Endotel eNOS sinir ve endotel hücreleri ile endokard, miyokard ve trombositlerde sürekli bulunur ve aralıklı olarak küçük miktarlarda NO üreterek, hücre içi ve hücreler arası iletişimde fizyolojik olarak görev alır ⁵.

Nitrik oksit ile ilgili bu ilk bulguların yanı sıra son yıllarda yapılan çalışmalar NO'in hemen bütün dokularda sentezlenip salgılanan bir molekül olduğunu göstermiştir. Nitekim serebellum ve ön beyindeki nöronlarda ve bazı otonom sinirlerin uçlarında da nNOS tarafından NO sentez edilip salınmaktadır ^{1,6}. nNOS tarafından sentezlenen NO merkezi sinir sisteminde hafıza oluşumu, denge, uyarı geçişi, koku alma gibi birçok fonksiyonda nörotransmitter olarak görev aldığı kaydedilmektedir ^{2,4}. Patolojik durumlarda makrofajlarda üretilen yüksek düzeydeki NO apoptozisi uyarak, sinir sisteminde hasara ve septik şoka neden olmaktadır ^{7,8}.

NO'nun süperoksit anyonu ile reaksiyonu sonucu oldukça aktif bir oksijen radikali olan peroksinitrit (OONO-) oluşturduğu bildirilmektedir ⁹. Toksik bir molekül olan peroksinitrit radikali'nin organizmada öncelikle hücre zarındaki lipitleri oksitleyerek, lipid peroksidasyonunda artışa ve hücre ölümüne neden olduğu kaydedilmektedir ¹⁰⁻¹³. Bu nedenle NOS'un çeşitli yollarla inhibe edilmesi suretiyle NO'in toksik etkisini azaltmak mümkün olabilmektedir. NOS inhibitörü olan N-nitro-L-arjinin (L-NA), bunun metil türevi olan N-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) ve N-iminometil-L-ornitin (L-NIO) yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu tür bileşiklerin in vivo ve in vitro etkilerinin aynı olmasına rağmen kantitatif olarak farklılık göstermektedir ^{7,8,14,15}.

Organizmada başta sinir ve kalp damar sistemi olmak üzere görme, sindirim, ereksiyon, iştihme ve öğrenme gibi memeli organizmasının bütün organ ve dokularında NO'in önemli görevlere sahip

olduğu bildirilmektedir ¹⁶. Bu etkilerinin tam olarak bilinmesi günümüzde cevap bulunamayan birçok metabolik olayın anlaşılmasına önemli bir katkı sağlayacağı gibi NO aktivatörleri ve inhibitörlerinin hastalıkların tedavisinde kullanılabilirliği konusundaki araştırmalar devam etmektedir.

Bu bilgiler ışığında yapılan çalışmada NO vericilerinden L-arjinin ve NO sentezini inhibe eden L-arjinin metil ester'in uzun süreli verilmesinin beyin, karaciğer ve böbrek dokularındaki NO ve MDA düzeylerine etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali ve Numunelerin Toplanması

Araştırmada materyal olarak canlı ağırlık ortalaması 2.60 kg olan, 5-7 aylık Yeni Zelanda ırkı 18 adet tavşan kullanıldı. Tavşanlar her grupta 6 adet olacak şekilde kontrol, L-arjinin ve L-NAME olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna izotonik NaCl çözeltisi, L-arjinin grubuna L-arjinin (Kat. No: 11010, Fluka) 200 mg/kg (17), L-NAME grubuna L-NAME (Kat. No: 72760, Fluka) 100 mg/kg (18), 11 gün boyunca gün aşırı periton içi (iP) enjekte edildi.

Denemenin sonunda hayvanlara eter anestezisi altında ötenazi uygulanarak beyin, karaciğer ve böbrek dokuları alındı. Doku numuneleri serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra fosfat tamponunda (A: 50 mM, KH₂PO₄ ve B: 50 mM Na₂HPO₄.2H₂O A:B (v/v) = 1:1.5) buzlu su altında homojenize edildi. Homojenatlar 1500 RPM de 15 dakika soğutmalı santrifüjde santrifüj edildikten sonra süpernatantlar NO ve MDA analizleri için ayrıldı.

b) Doku NO ve Toplam Protein Düzeyinin Belirlenmesi

Taze hazırlanmış doku süpernatantlarında NO düzeyleri Miranda ve ark.¹⁹ tarafından belirtilen yonteme göre ölçüldü. Öncelikle numuneler %10 çinko sülfat ile muamele edilerek proteinler uzaklaştırıldı. Toplam NO derişimi (nitrat ve nitrit) düzeyleri Griess Reaksiyonu ile kolorimetrik yontemle ölçüldü. Numunelerdeki MDA düzeyleri Yoshioko ve Kawada, tarafından belirlenen ve tiyobarbitirik asit (TBA) reaktivitesi temeline dayanan yonteme göre ²⁰, toplam protein düzeyleri ticari kit (Diasis Diagnostic Systems; Holzeim, Germany) kullanılarak kolorimetrik olarak belirlendi.

c) İstatistiksel Analizler

Elde edilen verilerin istatistik analizlerinin hesaplanmasında SPSS Windows 10.0 paket programından yararlanıldı. Gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve 3 grubun karşılaştırmasında Duncan Testi uygulandı. Sonuçlar; ortalama \pm standart hata ($\bar{x} \pm Sx$) olarak verildi.

BULGULAR

Çalışmada tüm gruplara ait beyin, karaciğer ve böbrek dokularından elde edilen NO ve MDA düzeyleri *Tablo 1* ve *2*'de gösterildi. Beyin dokusunda L-arjinin verilen grupta NO düzeyi kontrol ve L-NAME verilen gruba göre istatistik olarak yüksek bulundu ($P < 0.05$). L-arjinin ve L-NAME verilen gruplardaki karaciğer ve böbrek dokusuna ait NO düzeylerinde istatistik olarak önemli bir fark bulunmadı. Beyin dokusunda L-arjinin verilen grupta MDA düzeyi istatistik olarak yüksek bulunurken ($P < 0.05$), karaciğer ve böbrek dokusu L-arjinin ve L-NAME verilen gruptaki MDA düzeylerinde istatistik olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Tablo 1. Karaciğer, beyin ve böbrek dokusundaki NO düzeyleri ($\mu\text{mol/g}$ protein)

Table 1. The levels of NO in liver, brain and kidney tissue ($\mu\text{mol/g}$ protein)

Grup (n=6)	Beyin	Karaciğer	Böbrek
Kontrol	1.24 \pm 0.03 ^a	1.38 \pm 0.03	1.22 \pm 0.03
Arjinin	1.45 \pm 0.05 ^b	1.40 \pm 0.11	1.29 \pm 0.02
L-NAME	1.15 \pm 0.03 ^a	1.31 \pm 0.04	1.26 \pm 0.05

* Aynı sütunda farklı harfle ifade edilen değerler istatistik olarak ($P < 0.05$) önemlidir

Tablo 2. Karaciğer, beyin ve böbrek dokusundaki MDA düzeyleri ($\mu\text{mol/g}$ protein)

Table 2. The levels of MDA in liver, brain and kidney tissue ($\mu\text{mol/g}$ protein)

Grup (n=6)	Beyin	Karaciğer	Böbrek
Kontrol	0.86 \pm 0.02 ^a	0.96 \pm 0.026	0.85 \pm 0.02
Arjinin	1.02 \pm 0.04 ^b	0.98 \pm 0.083	0.86 \pm 0.041
L-NAME	0.81 \pm 0.02 ^a	0.92 \pm 0.034	0.93 \pm 0.044

* Aynı sütunda farklı harfle ifade edilen değerler istatistik olarak ($P < 0.05$) önemlidir

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada NOS inhibitörlerinden L-NAME enjeksiyonu sonrası karşılaştırılan beyin, karaciğer ve böbrek dokusu NO düzeylerinde anlamlı bir

farklılık olmadığı gözlemlendi. L-arjinin verilen grupta ise sadece beyin dokusu NO düzeyinin karaciğer ve böbreğe göre istatistik olarak daha yüksek olduğu tespit edildi ($P < 0.05$).

NOS inhibitörlerinden biri olan N (omega)-nitro-L-arjinin (L-NNA)'nın tek doz uygulamasının plazma NO_x düzeylerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ²¹ enjeksiyonu takiben 3 saat sonra NO_x düzeylerinde bir azalma belirlenmişken 24 saat sonra herhangi bir değişimin olmadığı bildirilmektedir. Nitrik oksit beyinde merkezi sinir sisteminde gliya hücreleri ve nöronlar tarafından sentezlenmektedir ⁶. Yapılan çalışmada L-arjinin verilen grupta beyin dokusu NO düzeyinde bir artışın olması ve L-NAME verilen grupta herhangi bir değişimin olmaması NO sentezini arttıran maddelerin beyinde etkinliğinin daha fazla olabileceğini düşündürmektedir.

L-arjinin verilen grupta beyin dokusu MDA seviyesinin böbrek ve karaciğer dokusu MDA düzeylerine göre istatistik olarak daha yüksek olduğu belirlendi ($P < 0.05$). Hücre zarındaki yağ asitleri ve doymamış bağlar içeren bazı moleküller peroksinitrit gibi serbest radikallerle reaksiyona girerek lipid peroksidasyon ürünlerini oluşturur ^{22,23}. Lipid peroksidasyonunun ürünü olan MDA membrandaki çoklu doymamış yağ asitlerinin kaybına ve plazma membranların özelliklerinde değişimlere neden olur. Membranlardaki bu değişimin nöronlarda dejenerasyona ve sonraki dönemlerde nöronal fonksiyon kaybına neden olabileceği kaydedilmiştir ²⁴. Yapılan çalışmada beyin dokusunda L-arjinin verilen grupta MDA düzeyinin yüksek bulunmasının nedeni şu şekilde açıklanabilmektedir. Beyin organizmada en fazla oksijeni kullanan organ olduğundan NO düzeyindeki artışa bağlı olarak artan peroksinitrit radikallerinin doymamış bağlar içeren bazı moleküllerle reaksiyonundan dolayı MDA düzeyinde artış olabileceği düşünülmektedir.

Böbrekler plazma hacmini ve vücut su dengesini ayarlamak suretiyle arteriyel basıncın uzun süreli kontrolünde önemli rollere sahiptirler. Ratlarda, NO donörlerinden L- arjinin ve sodyum-nitroprussit ile NOS inhibitörlerinden L-NAME'nin akut böbrek etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, NO'nun böbrek yetersizliğinin patofizyolojisinde önemli bir molekül olduğu, bunun yanında akut böbrek yetersizliği tedavisinde NO vericilerinin kullanılabilirliği kaydedilmiştir ²⁵. Yapılan çalış-

malarda NO' in damar tonusunu ve sodyum tutulumunu ayarlayarak böbrek fonksiyonlarını düzenlediği ifade edilmektedir ²⁶⁻²⁸. Köpekler üzerinde yapılan bir çalışmada, 3 gün süre ile NO sentezinin inhibe edilmesinin glomerular filtrasyon hızında ve sodyum atılımında önemli azalmalara neden olduğu saptanmıştır. Ayrıca NO'in böbrek fonksiyonunun uzun süreli düzenlenmesinde önemli bir role sahip olabileceği de ifade edilmiştir ²⁹. Tavşanlar üzerinde yürütülen bu çalışmada böbrek fonksiyonlarındaki değişimleri incelemeye yönelik herhangi bir test yapılmamıştır. Ancak NOS izoformlarının tamamının böbrek dokusunda bulunduğu bilinmektedir. Nitekim eNOS ve nNOS'un varlığı glomeruler endotel hücreleri, proksimal tubular hücreleri gibi böbreğe ait birçok bölgede belirlenmişken, iNOS glomerular mesangiyal hücrelerde ve medullar toplayıcı kanallarda immunohistokimyasal olarak belirlenmiştir ^{30,31}. Diğer taraftan NO böbrek fonksiyonlarını düzenleyen önemli bir molekül olarak tanımlanmıştır ²⁸. Ancak NO'in böbrek fonksiyonları üzerine olan etkilerinin önemli bir kısmı dolaylı yollardan gerçekleşmektedir ve kan basıncındaki değişimlerle yakından ilgilidir. Çalışmada uzun süreli NO aktivatörü ve inhibitörü verilmesinin böbrek dokusu NO düzeyinde önemli değişikliğe neden olmadığı görülmüştür. NO'in böbrek fonksiyonlarını düzenleyen bir etken olarak kabul edilmesinin yanında NOS izoformlarının tamamının böbrek dokusunda bulunuyor olmasına rağmen L-NAME ve L-arjinin uygulamaları sonrasında böbrek dokusu NO düzeylerinin birbiri ile yakın çıkmasının nedenini açıklamak oldukça zor görünmektedir. Yine de NO' in böbrek fonksiyonları üzerine olan dolaylı etkilerinin doğrudan olan etkilerine kıyasla daha güçlü olduğu düşünülürse böyle bir sonucun beklenebileceği öngörülebilir.

Nitrik oksit, karaciğerin bazı fonksiyonları için önemli bir düzenleyicidir. NO ve karaciğer arasındaki ilişki, yoğun olarak sirozla ilgili çalışmalarda ele alınmıştır. Sirozda porto-sistemik şantlar ve kupffer hücre fonksiyon bozukluğu nedeni ile bağırsak kökenli bakteriyel lipopolisakkarid-endotoksinlerinin ortadan kaldırılması, iNOS içeren hücrelerden yüksek derişimde NO salınımına neden olmaktadır. Bu şekilde salınımı artan NO sirozdaki hemodinamik bozuklukların temelinde önemli rol oynamaktadır ^{15,32}. Rat karaciğer mitokondrisinde yapılan bir çalışma da, mitokondrielerin yüksek miktarda NO' e maruz bırakılması sonucu mitokondriyal solunumun inhibe olarak

oksidatif strese neden olabileceği bildirilmiştir ³³.

Deneyisel kronik siroz oluşturulmuş bir çalışmada ³⁴, siroz nedeniyle meydana gelen reaktif oksijen türlerinin ve NO artışının özellikle böbrek medullasında nitrotirozin birikmesinin L-NAME verilmesiyle önemli derecede azaltıldığı ileri sürülmüştür. Yapılan çalışmada L-NAME verilen grupta istatistik olarak bir değişim görülmemesinin nedeni çalışmanın süresi ile ilgili olabileceği düşünülmektedir.

Karaciğer ve periferik kan NO düzeyine radyasyonun etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ³⁵ kandaki NO düzeyi 3 saatte artış gösterirken, karaciğer dokusundaki NO düzeyi 6 saatte artış göstermiştir. Çalışmanın sonunda araştırmacılar, radyasyonun NO düzeyini arttırdığını ve dokuların farklı tepkiler verdiğini kaydetmişlerdir. Yapılan çalışmada karaciğer ve böbrek NO düzeyinin NOS aktivatörü ve inhibitörü ile herhangi bir değişim göstermemesi, sadece beyin dokusunda L-arjinin verilen grupta NO düzeyinde bir artışın saptanması dokuların vermiş oldukları tepkinin farklı oluşundan kaynaklanabilir. Tavşanlar üzerinde L-NAME' nin doku ve plazma MDA düzeylerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada ³⁶, L-NAME'nin plazma ve doku NO düzeylerini artırdığını, ayrıca L-NAME verilen gruplarda plazma ve doku MDA düzeylerinde kontrole göre istatistik olarak azalma saptamışlardır. Yapılan çalışmada farklı olarak L-NAME verilen grupta dokulardaki NO ve MDA düzeylerinde istatistik olarak önemli bir fark bulunmadı.

Sonuç olarak tavşanlara L-arjinin ve L-NAME verilmesinin, sadece L-arjinin verilen gruptaki beyin dokusu NO ve MDA düzeyinde istatistik olarak anlamlı artışa neden olduğu saptandı. Bu durum artan NO' in peroksinitrit radikali oluşturmak suretiyle MDA düzeyini artırdığı şeklinde açıklanabilir. Bu çalışma ile uzun süreli L-arjinin uygulamasının beyin dokusu NO ve MDA düzeyini arttırdığı ve serbest radikal hasarına karşı beyinin, karaciğer ve böbrek dokularına göre daha duyarlı olabileceği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Groves JT, Wang C: Nitric oxide synthase: Models and mechanisms. *Curr Opin Struct Biol*, 4, 687-695, 2000.
2. Feldman PL, Stuehr DJ, Griffith OW, Fukuto JM: Mechanisms of mammalian nitric oxide biosynthesis. In, Weisman BA, Allon N, Shapira S (Eds): Biochemical,

- Pharmacological and Clinical Aspects of Nitric Oxide. Plenum Press, New York, pp 14-20, 1995.
3. **Stuer JD:** Mammalian nitric oxide synthases. *Biochim Biophys Acta*, 41, 217-230, 1999.
 4. **Griffith OW:** Nitric oxide synthase inhibitors: Mechanisms of action and In vivo studies. In, Weisman BA, Allon N, Shapira S (Eds): Biochemical, Pharmacological and Clinical Aspects of Nitric Oxide. Plenum Press, New York, pp 21-36, 1995.
 5. **Yılmaz N, Solmaz S, Kaya M:** Nitrik oksitin insan organizmasındaki önemi. *Arşiv*, 10, 178-188, 2001.
 6. **Garthwaile J:** Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends Neurosci*, 14 (2): 60-67, 1991.
 7. **Qing VI, James H, Fisher W, Ming-Hai W:** Activation of the RON receptor tyrosine nitric oxide synthase (iNOS) expression by murine peritoneal exudate macrophages: Phosphatidylinositol-3 kinases required for RON-mediated inhibition of iNOS expression. *J Immunol*, 161, 49-59, 1998.
 8. **Wendy KA, Chris E, Cooper GK, Richard GK:** Nitric oxide synthases: Structure, function and inhibition. *Biochem J*, 357, 593-615, 2001.
 9. **Virag L, Szabo E, Bakondi E, Bai P, Gergely P, Hunyadi J, Szabo C:** Nitric oxide-peroxynitrite-poly(ADP-ribose) polymerase pathway in the skin. *Exp Dermatol*, 11, 189-202, 2002.
 10. **Wang PG, Xian M, Tang X, Wu X, Wen Z, Cai T, Janczuk AJ:** Nitric oxide donors: Chemicals activities and biological applications. *Chem Rev*, 102, 1091-1134, 2002.
 11. **Pryor WA, Squadrito GL:** The chemistry of peroxynitrite: A product from the reaction of nitric oxide with superoxide. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 268, 699-722, 1995.
 12. **Al-sadoni H, Ferro A:** S-nitrosothiols: A class of nitric oxide-donor drugs. *Clin Sci*, 98, 507-520, 2000.
 13. **Dröge W:** Free radical in the physiological control of cell function. *Physiol Rew*, 82, 47-95, 2002.
 14. **Tuna R, Çağlayan B:** Nitrik oksit-I-. *Sendrom*, 8, 25-28, 1995.
 15. **Özakyol AH:** Nitrik oksit: Gastrointestinal sistem ve karaciğer. *Sendrom*, 11, 74-78, 1998.
 16. **Yılmaz N, Solmaz S, Kaya M:** Nitrik oksitin insan organizmasındaki önemi. *Arşiv*, 10, 178-188, 2001.
 17. **Khavandgar S, Homayoun H, Zarrindast MR:** The effect of L-NAME and L-arginine on impairment of memory formation and state-dependent learning induced by morphine in mice. *Psychopharmacology (Berl)*, 167 (3): 291-296, 2003.
 18. **Morgan CV, Babbedge RP, Gaffen P, Wallace, Z, Hart ZL, Moore, PK:** Synergistic anti-nociceptive effect of L-NG-nitro arginine methyl ester (L-NAME) and flurbiprofen in the mouse. *Br J Pharmacol*, 106 (2): 493-497, 1992.
 19. **Miranda KM, Espey MG, Wink DA:** A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*, 5 (1): 62-71, 2001.
 20. **Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M:** Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against active-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol*, 135, 372-376, 1979.
 21. **Yılmaz E, Sarı A, Oktar S, Aksulu HE:** Akut ve kronik N (omega)-nitro-L-arjinin uygulamalarının sıçanlarda plazma nitrit/nitrat ve malondialdehit düzeylerine etkileri. *Fırat Tıp Derg*, 13 (2): 88-91, 2008.
 22. **Gavino VC, Miller JS, Ikharebha SO, Milo GE, Cornwell DG:** Effect of polyunsaturated fatty acids and antioxidants on lipid peroxidation in tissue cultures. *J Lipid Res*, 22, 763-769, 1981.
 23. **Weller R:** Nitric oxide- A newly discovered chemical transmitter in human skin. *Br J Dermatol*, 137, 665-672, 1997.
 24. **Farooqui AA, Horrocks LA:** Lipid peroxides in the free radical pathophysiology of brain diseases. *Cell Mol Neurobiol*, 18, 599-608, 1998.
 25. **Gupta A, Chander V, Sharma S, Chopra K:** Sodium nitroprusside and L-arginine attenuates ferric nitrilotriacetate-induced oxidative renal injury in rats. *Toxicology*, 232, 183-191, 2007.
 26. **Granger JP, Alexander BT:** Abnormal pressure-natriuresis in hypertension: Role of nitric oxide. *Acta Physiol Scand*, 168 (1): 161-168, 2000.
 27. **Majid DS, Navar LG:** Nitric oxide in the control of renal hemodynamics and excretory function. *Am J Hypertens*, 14 (6): 74-82, 2001.
 28. **Sharma SP:** Nitric oxide and kidney. *Indian J Nephrol*, 14, 77-84, 2004
 29. **Salazar FJ, Pinilla JM, Lopez F, Romero JC, Quesada T:** Renal effects of prolonged synthesis inhibition of endothelium-derived nitric oxide. *Hypertension*, 20, 113-117, 1992.
 30. **Ujije K, Yuen J, Hogarth L, Danziger R, Star RA, Ujije K, Yuen J, Hogarth L:** Localization and regulation of endothelial NO synthase mRNA expression in rat kidney. *Am J Physiol*, 267: 296-302, 1994.
 31. **Wang X, Lu M, Gao Y, Papapetropoulos A, Sessa WC, Wang W:** Neuronal nitric oxide synthase is expressed in principal cell of collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiol*, 275, 395-399, 1998.
 32. **Petermann R, Vogl S, Schulze E, Dargel R:** Chronic liver injury alters basal and stimulated nitric oxide production and 3H-thymidine incorporation in cultured sinusoidal endothelial cells from rats. *J Hepatol*, 31, 284-292, 1999.
 33. **Schild L, Reinheckel T, Reiser M, Horn TFW, Wolf G, Augustin W:** Nitric oxide produced in rat liver mitochondria causes oxidative stress and impairment of respiration after transient hypoxia. *FASEB J*, 17, 2194-2201, 2003.
 34. **Alcaraz A, Hernández D, Iyú D, Mota R, Atucha NM, Ortiz AJ, García-Estañ J, Ortiz MC:** Effects of chronic L-NAME on nitrotyrosine expression and renal vascular reactivity in rats with chronic bile-duct ligation. *Clin Sci (Lond)*, 115 (2):57-68, 2008.
 35. **Ou CS, Jiang LH, Ye Q, Zhou MJ:** Effects of radiation injury on peripheral blood and liver NO concentration in mice. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 28 (8): 1405-1406, 2008.
 36. **Selvi M, Karataş F, Coşkun Ş, Erbaş D:** Effect of L-NAME administration on plasma, heart tissue NO and MDA levels in rabbit. *Turk J Biochem*, 32 (4): 160-164, 2007.