

بررسی اثرات تحریکی و مهارى نیتريك اكساید بر تغییرات وزن، حجم و هیستولوژی مخچه موش سفید صحرايي

چکیده

علیرضا کرم بخش^۱

سید محمد حسین نوری موگهی^{*۲}

غلامرضا حسن زاده^۳، نسرين تک‌زارع^۲

۱- دانشجوی پزشکی

۲- گروه بافت‌شناسی

۳- گروه آناتومی

۱، ۲ و ۳- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم

پزشکی تهران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، بین ۱۶ آذر و قدس، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه بافت‌شناسی. تلفن: ۰۲۱-۸۸۹۵۳۰۰۸ E-mail: noorimoo@sina.tums.ac.ir

مقدمه

نیتريك اكساید (Nitric Oxide, NO) آندوژن در بسیاری از اندام‌های بدن تولید شده و نقش‌های عملکردی بسیار مهمی را در هر بافت ایفا می‌کند،^۱ گونه‌های واکنشی نیتروژن با آسم، شوک سپتیک و تصلب شرایین مرتبط هستند.^{۲،۳} نیتريك اكساید سنتتاز Nitric Oxide Synthase, NOS) آنزیم تولید کننده نیتريك اكساید از L-Arginine است و برای این کار از مولکول اکسیژن، نیکوتین-آدنین دی‌نوکلئید فسفات (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, NADPH)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۷/۳۰

زمینه و هدف: نیتريك اكساید، در بسیاری از اندام‌های بدن پستانداران تولید شده و اثرات فیزیولوژیک و پاتولوژیک فراوانی دارد. پیش‌ساز تولید آن در بدن L-Arginine و سنتز آن توسط آنزیم نیتريك اكساید سنتتاز (Nitric Oxide Synthase, NOS) بوده و مهارکننده آن L-NG-Nitroarginine Methyl Ester (L-NAME) می‌باشد. در این تجربه هدف مشاهده اثرات افزایش و کاهش تولید نیتريك اكساید بر وزن، حجم و هیستولوژی مخچه می‌باشد.

روش بررسی: ۴۰ سر موش سفید آزمایشگاهی (Rat) نژاد ویستار، با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم و سن متوسط هشت هفته انتخاب و پس از اطمینان از بارداری به پنج گروه تقسیم‌بندی شدند. به جز گروه کنترل، بقیه گروه‌های باردار به ترتیب ۲ml/kg نرمال سالین، ۲۰۰mg/kg L-Arginine، ۲۰mg/kg L-NAME و مخلوط دو ماده L-Arginine و L-NAME را با همان دوزهای مشابه، در روزهای سوم، چهارم و پنجم حاملگی دریافت کردند. سپس در روز ۱۸ حاملگی بیهوش، و مخچه حیوانات خارج و پس از اندازه‌گیری وزن و حجم به روش معمول آماده‌سازی و به روش هماتوکسیلین اتوزین و تری کروم ماسون رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری بررسی شدند.

یافته‌ها: بررسی دو به دو گروه‌ها با معیار Mann-Whitney U-test در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری بین گروه L-Arginine با گروه‌های نرمال سالین و L-NAME و L-NAME+L-Arginine دیده شد (P<۰/۰۱). ضمناً اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل با سایر گروه‌ها و نیز بین گروه‌های L-NAME و L-NAME+L-Arginine و نرمال سالین مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: L-NAME و ترکیبات مشابه آن جهت کاهش آسیب‌های بافتی حاصل از نیتريك اكساید مفید می‌باشند.

کلمات کلیدی: نیتريك اكساید، L-NAME، L-Arginine، مخچه، رت.

و کوفاکتورهای دیگر استفاده می‌کند. نیتريك اكساید سنتتاز دارای سه ایزوفرم اندوتلیال (Endothelial NOS =eNOS)، نورال (Neuronal NOS =nNOS) و ایندوسیپیل (Inducible NOS =iNOS) است.^۴ ایزوفرم iNOS در سلول‌های ماکروفاژ، مونوسیت، فیبروبلاست، عضلات صاف و آندوتلیال عروق کوچک، قلب، کبد و مگاکاریوسیت‌ها وجود دارد. نقش ایزوفرم nNOS در سلول‌های عصبی به‌خوبی مشخص نیست، ولی احتمال دارد سبب اتساع عروق نورونیک شود. در دستگاه عصبی مرکزی نیز ایزوفرم nNOS ممکن است تنظیم‌کننده‌ی موضعی مهمی برای جریان خون مغز باشد، علاوه

روش بررسی

این بررسی از نوع مطالعه علوم پایه (Experimental) بوده و به مدت یک سال در حیوان‌خانه گروه آناتومی و آزمایشگاه هیستوتکنیک بخش بافت‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است. به این منظور از ۴۰ سر موش سفید آزمایشگاهی (Rat) ماده نژاد ویستار با وزنی در حدود ۲۵۰-۲۰۰ گرم و سن متوسط هشت هفته از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. سپس هر پنج سر موش (یک نر + چهار ماده) در یک قفس استیل و در شرایط کنترل شده از نظر نور، دما و رطوبت نگهداری شدند. پس از اطمینان از آمیزش که با مشاهده اسپرم در پلاک‌های واژینال صورت می‌گرفت، این روز به عنوان روز صفر در جفت‌گیری در نظر گرفته شد.

موش‌های حامله در پنج گروه کنترل، نرمال سالین، L-Arginine، L-NAME، L-NAME+L-Arginine خریداری شده از شرکت سیگما آلمان (Sigma, Germany)، دسته‌بندی شدند. به جز گروه کنترل، بقیه گروه‌ها به ترتیب ۲ ml/kg نرمال سالین، L-Arginine ۲۰۰ mg/kg، L-NAME ۲۰ mg/kg و مخلوط دو ماده L-Arginine و L-NAME را با همان دوزهای مشابه، در روزهای سوم، چهارم و پنجم حاملگی دریافت کردند. سپس در روز هجدهم حاملگی موش‌ها با اتر بیهوش شده و پس از کرانیوتومی، مخچه حیوانات خارج شده و پس از اندازه‌گیری وزن و حجم، در فرمالین ۱۰٪ فیکس شدند. مراحل آماده‌سازی بافتی برای تهیه لام انجام و برش‌هایی با ضخامت ۵-۶ میکرون از نمونه‌ها تهیه و با روش‌های عمومی هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) و اختصاصی کروم ماسون رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری (Olympus, Japan) المپیوس (Olympus) مدل CX31 ساخت ژاپن بررسی شدند.

یافته‌ها

الف- یافته‌های کیفی: ساختار مخچه گروه نرمال سالین، تفاوت قابل ملاحظه‌ای با گروه کنترل نداشت، ضمن این که گروه L-NAME+L-Arginine تنها دچار تغییرات مختصری در ساختار مخچه شدند. در گروهی که تحت تزریق L-Arginine قرار گرفته بود لایه

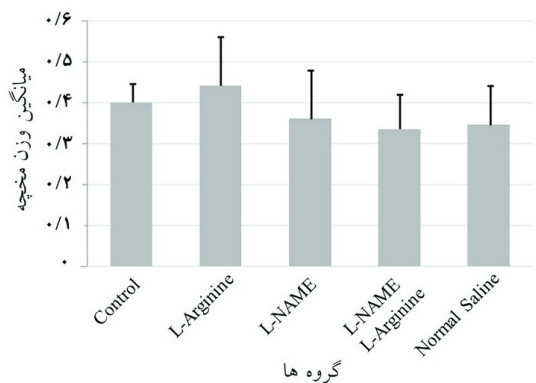
بر آن بسیاری از اعمال فیزیولوژیک مخچه و مغز نظیر میانجی‌گری‌های حاد رفتار عصبی را به عهده دارد.^{۶،۷} ایزوفرم eNOS نیتریک اکساید سنتتاز اندوتلیالی بوده و در سلول‌های اندوتلیال به صورت متصل به غشای پلاسمایی دیده می‌شود. عمل این آنزیم به گشادی عروق (Vasodilation) منجر می‌شود.^{۸،۹} nNOS موجود در سلول‌های عصبی و گلیال از طریق اثرات طولانی مدت بر سیستم اعصاب مرکزی، در تنظیم جریان خون عروق مغزی، حافظه و یادگیری دخالت دارد.^{۱۰،۱۱}

از طرفی نیتریک اکساید به عنوان میانجی احتمالی نورون‌های غیرکولینرژیک غیرآدرنرژیک نیز مطرح است و بنابراین احتمال دارد در تنظیم قدرت انقباضی قلب و تعداد ضربان آن، حرکت دستگاه گوارش، تونوس برونش‌ها و نعوظ آلت تناسلی مردان نقش داشته باشد.^{۱۲،۱۳}

اثرات نوروتوکسیک ناشی از نیتریک اکساید علاوه بر سیستم‌های دیگر در سیستم عصبی مرکزی هم مهم به نظر می‌رسد. این مولکول از طریق فعال کردن گیرنده‌های N-Methyl-D-aspartic Acid (NMDA) باعث سمیت عصبی می‌شود.^{۱۴}

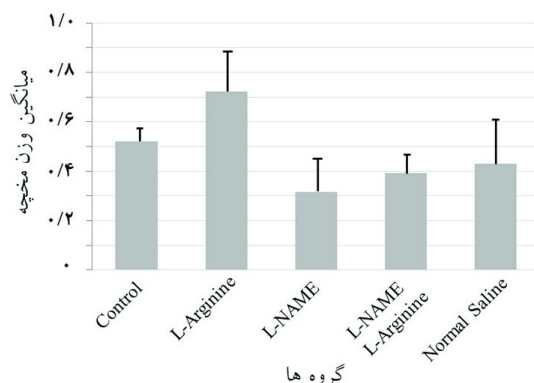
فعال شدن این گیرنده‌ها میزان فعالیت ایزوفرم nNOS را افزایش داده و نیتریک اکساید آزاد شده بر روی سلول‌های مجاور اثر سمی دارند، در حالی که خود این سلول‌ها محتوی ایزوفرم nNOS به اثرات سمی تحریک‌گیرنده مقاومت می‌کنند. از سوی دیگر ممکن است نیتریک اکساید برای سلول‌های دستگاه عصبی مرکزی دارای اثرات حفاظتی باشد که این اثر به وسیله حالت اکسید-احیا شده‌ی مولکول صورت می‌گیرد.^{۱۵}

نیتریک اکساید با گیرنده‌ی NMDA، واکنش داده و از ورود کلسیم بیش از حد به سیتوزول سلولی جلوگیری می‌کند.^{۱۶} با این حال خود مولکول NO سبب افزایش ورود کلسیم بیش از حد به سیتوزول سلولی شده منجر به اثرات سمی بر روی سلول می‌شود.^{۱۷} بنابراین در دستگاه عصبی مرکزی هم اثرات محافظتی و هم اثرات مخرب برای نیتریک اکساید ذکر شده است. هدف از تجربه‌ی حاضر بررسی اثرات نیتریک اکساید بر تغییرات وزن، حجم و هیستولوژی مخچه است. یافته‌های حاصله از این تجربه می‌تواند دانش ما در درک اثرات تجویز مهارکننده‌ها یا القاکننده‌های تولید نیتریک اکساید را افزایش داده و جامعه علمی را در دستیابی به نتایج بالینی یاری نماید.



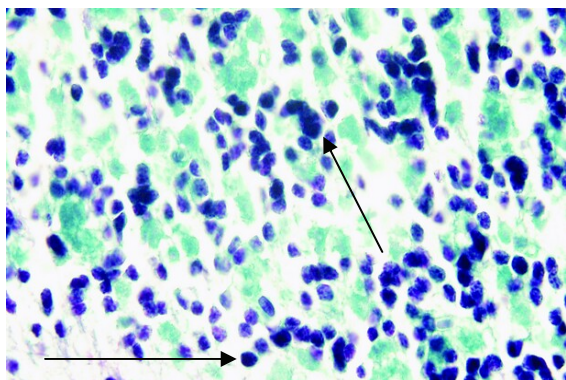
نمودار ۲: میانگین وزن مخچه در گروه‌های مختلف.

همان‌گونه که ملاحظه می‌شود تغییرات در گروه L-Arginine با گروه‌های نرمال سالین و L-NAME و L-NAME + L-Arginine معنی‌دار ($P < 0.01$) است.

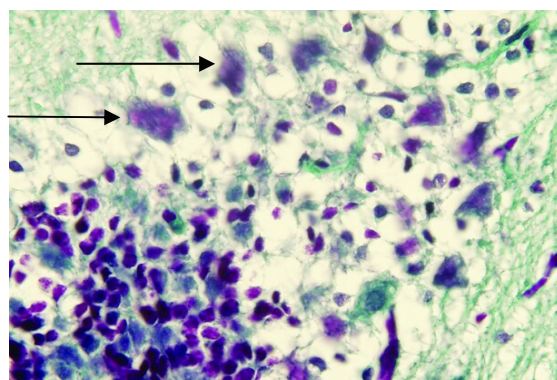


نمودار ۱: میانگین حجم مخچه در گروه‌های مختلف.

همان‌گونه که ملاحظه می‌شود تغییرات در مقایسه گروه L-Arginine با گروه‌های نرمال سالین و L-NAME و L-NAME + L-Arginine معنی‌دار ($P < 0.01$) است.



شکل ۲: اثرات تخریبی نیتريك اكساید بر سلول‌های مخچه موش سفید در گروه L-Arginine. به هیپروکروماتاسیون شدید ایجاد شده در هسته بعضی از سلول‌ها (فلش) توجه کنید (رنگ‌آمیزی تری‌کروم ماسون و بزرگ‌نمایی ۴۰).



شکل ۱: اثرات تزریق L-Arginine بر مخچه موش سفید. به درهم ریختگی ساختاری و هیپروکروماتاسیون هسته سلول‌های پورکنژ (فلش) و برهم خوردن نظم ساختار بافتی قشر مخچه توجه فرمایید (رنگ‌آمیزی تری‌کروم ماسون و بزرگ‌نمایی ۴۰).

و تهاجم لنفوسیتیک مختصری قابل رؤیت است (شکل میکروسکوپی ۱ و ۲ تغییرات فوق‌الذکر را نشان می‌دهند).
 ب- یافته‌های کمی: در بررسی دو به دو گروه‌ها با معیار Mann-Whitney U-test در سطح $P < 0.05$ اختلاف معنی‌داری بین گروه L-Arginine با گروه‌های نرمال سالین و L-NAME مشاهده شد. در گروه L-NAME تعداد سلول‌های پورکنژ افزایش یافته

گرانولار و مولکولر کمی ضمیم‌تر از حالت طبیعی دیده می‌شدند و سلول‌های پورکنژ هیپوکروماتاه شده، بعضی از هسته‌ها در لایه گرانولار و مولکولر به شدت هیپروکروماتوسیون پیدا کردند، در ضمن تجمع سلول‌های پورکنژ همراه با تهاجم لنفوسیتیک نیز در این گروه مشاهده شد. در گروه L-NAME تعداد سلول‌های پورکنژ افزایش یافته

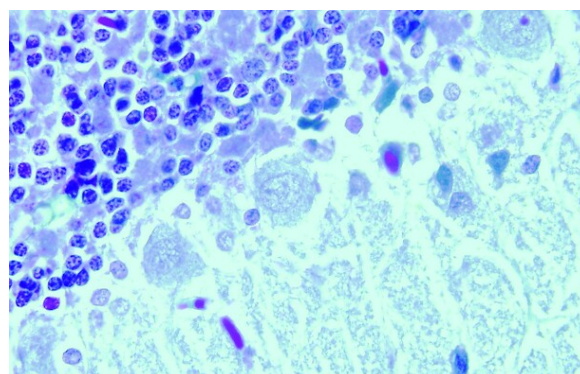
کننده عروقی در مراحل اولیه ایسکمی و هایپوکسی مخچه تأیید شد.^{۱۹} در ضمن در نمای میکروسکوپی این گروه، تهاجم‌های لنفوسیتیک در میان سلول‌های پورکنز مشاهده شد که می‌تواند بیان‌گر اثرات تحریکی التهابی نیتریک اکساید حاصل از NOS باشد. این یافته می‌تواند نقش نیتریک اکساید در بسیاری از پاتولوژی‌های مخچه توجه نماید. کما این که Rodriguez نیز نشان داد، در صورت ادامه القای سنتز نیتریک اکساید به دنبال ادامه ایسکمی و هایپوکسی مخچه، iNOS فعال می‌شود که این بار نیتریک اکساید به عنوان یک رادیکال آزاد باعث بروز واکنش‌های التهابی می‌شود.^{۱۹}

در واقع تجربه‌ی حاضر نیز این واکنش التهابی را به صورت تهاجم‌های لنفوسیتی نشان داده است. مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۴ انجام گرفت این نقش نورو توکسیک نیتریک اکساید حاصل از iNOS را تأیید می‌کند.^{۲۰}

در تجویز هم‌زمان L-NAME و L-Arginine چنین اثرات التهابی مشاهده نشد و این پدیده ممکن است به دلیل اثر مهارى L-Name تولید نیتریک اکساید حاصل از L-Arginine باشد. از این یافته چنین برداشت می‌شود که می‌توان از L-NAME و ترکیبات مشابه آن جهت کاهش آسیب‌های بافتی حاصل از نیتریک اکساید استفاده کرد. در پژوهش‌های مختلف از این خاصیت جهت کاهش عوارض پاتولوژیک نیتریک اکساید استفاده شده است.^{۲۱}

در تزریق L-NAME افزایش سلول‌های پورکنز و تجمع‌های لنفوسیتی مشاهده شد که این را می‌توان با اثرات L-NAME در استاز عروقی و احتقان مویرگی که در پژوهش‌های پیشین نشان داده شده^{۲۲} و اثرات حضور عوامل رشد و فاکتورهای التهابی در عروقی که دچار احتقان شده‌اند، توجیه کرد. با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان از L-NAME و ترکیبات مشابه آن که اثر مهارى بر عملکرد L-Arginine دارند برای کاهش آسیب‌های بافتی حاصل از نیتریک اکساید استفاده به عمل آورد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "اثرات مهار کننده (L-Name) و تشدید کننده (L-Arginine) سنتز نیتریک اکسید (NO) بر سلول‌های پورکنز مخچه رت باردار با استفاده از روش‌های میکروسکوپی و استریولوژیک" مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران در سال ۱۳۸۸ به کد ۲۱۳۷۴ در مقطع دکترای پزشکی می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی تهران اجرا شده است.



شکل ۳: اثرات نیتریک اکساید بر سلول‌های مخچه موش سفید در گروه L-Arginine و L-NAME. (رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون و بزرگ‌نمایی ۱۰۰).

L-NAME+L-Arginine دیده شد، ولی بین گروه کنترل با سایر گروه‌ها و نیز بین گروه‌های L-NAME و L-NAME+L-Arginine و L-NAME و نرمال سالیان اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۱). در بررسی دو به دو گروه‌ها با معیار Mann-Whitney U-test در سطح ۰/۰۵ ($P < 0/01$) اختلاف معنی‌داری بین گروه L-Arginine با گروه‌های نرمال سالیان و L-NAME و L-NAME+L-Arginine دیده شد، ولی اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل با سایر گروه‌ها مشاهده نشد.

بحث

با توجه به یافته‌های این مطالعه پیش‌سازهای نیتریک اکساید می‌تواند باعث افزایش جریان خون میکروسکوپی در مخچه شود. در گروهی از موش‌ها که تحت تزریق L-Arginine قرار گرفتند لایه گرانولار و مولکولر در نمای میکروسکوپی قدری ضخیم شده بودند و تجمعات سلول‌های پورکنز مشاهده شد که این تغییرات به صورت افزایش حجم معنی‌دار به عنوان یک یافته ماکروسکوپی خود را نشان داد. این یافته را می‌توان با نقش ازودیلاتوری نیتریک اکساید و افزایش جریان خون در بستر مویرگی (Microvasculature) مخچه توجیه کرد. هم‌چنان که Morikawa این نقش ازودیلاتوری را در هنگام تزریق L-Arginine نشان داد.^{۱۸} ضمن این که در مطالعه Rodriguez به سال ۲۰۰۴ نقش نیتریک اکساید به عنوان یک گشاد

References

- Johnson DW, Fleming SJ. The use of vaccines in renal failure. *Clin Pharmacokinet* 1992;22(6):434-46.
- Rosselli M, Keller PJ, Dubey RK. Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Hum Reprod Update* 1998;4(1):3-24.
- Osborn BH, Haney AF, Misukonis MA, Weinberg JB. Inducible nitric oxide synthase expression by peritoneal macrophages in endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril* 2002;77(1):46-51.
- Reynaert NL, Ckless K, Wouters EF, van der Vliet A, Janssen-Heininger YM. Nitric oxide and redox signaling in allergic airway inflammation. *Antioxid Redox Signal* 2005;7(1-2):129-43.
- Mondillo C, Pagotto RM, Piotrkowski B, Reche CG, Patrignani ZJ, Cymeryng CB, et al. Involvement of nitric oxide synthase in the mechanism of histamine-induced inhibition of Leydig cell steroidogenesis via histamine receptor subtypes in Sprague-Dawley rats. *Biol Reprod* 2009;80(1):144-52.
- Crane BR, Arvai AS, Gachhui R, Wu C, Ghosh DK, Getzoff ED, et al. The structure of nitric oxide synthase oxygenase domain and inhibitor complexes. *Science* 1997;278(5337):425-31.
- Patton HD, Fuchs AF, Hille B, Scher AM, Steiner R, editors. *Textbook of Physiology*. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1989.
- Cox BM. Opioid receptor-G protein interactions: acute and chronic effects of opioids. In: Herz A, editor. *Handbook of Experimental Pharmacology*. Opioids I. Berlin: Springer-Verlag; 1993. p. 145-88.
- Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem Pharmacol* 1989;38(11):1709-15.
- Chou TC, Yen MH, Li CY, Ding YA. Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats. *Hypertension* 1998;31(2):643-8.
- Harlan RE, Webber DS, Garcia MM. Involvement of nitric oxide in morphine-induced c-Fos expression in the rat striatum. *Brain Res Bull* 2001;54(2):207-12.
- Moncada S, Higgs A, Furchgott R. International union of pharmacology nomenclature in nitric oxide research. *Pharmacol Rev* 1997;49(2):137-42.
- Schrier RW, Wang W. Acute renal failure and sepsis. *N Engl J Med* 2004;351(2):159-69.
- Bian K, Doursout MF, Murad F. Vascular system: role of nitric oxide in cardiovascular diseases. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2008;10(4):304-10.
- Stanek A, Gadowska-Cicha A, Gawron K, Wielkoszyński T, Adamek B, Cieślak G, et al. Role of nitric oxide in physiology and pathology of the gastrointestinal tract. *Mini Rev Med Chem* 2008;8(14):1549-60.
- Girouard H, Wang G, Gallo EF, Anrather J, Zhou P, Pickel VM, et al. NMDA receptor activation increases free radical production through nitric oxide and NOX2. *J Neurosci* 2009;29(8):2545-52.
- Calabrese V, Mancuso C, Calvani M, Rizzarelli E, Butterfield DA, Stella AM. Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. *Nat Rev Neurosci* 2007; 8(10):766-75.
- Thomas DD, Ridnour LA, Isenberg JS, Flores-Santana W, Switzer CH, Donzelli S, et al. The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling. *Free Radic Biol Med* 2008; 45(1): 18-31.
- Morikawa E, Rosenblatt S, Moskowitz MA. L-arginine dilates rat pial arterioles by nitric oxide-dependent mechanisms and increases blood flow during focal cerebral ischaemia. *Br J Pharmacol* 1992; 107(4):905-7.
- Rodrigo J, Fernández AP, Alonso D, Serrano J, Fernández-Vizarra P, Martínez-Murillo R, et al. Nitric oxide in the rat cerebellum after hypoxia/ischemia. *Cerebellum* 2004;3(4):194-203.
- Mezghani-Abdelmoula S, Khémiri A, Lesouhaitier O, Chevalier S, Orange N, Cazin L, et al. Sequential activation of constitutive and inducible nitric oxide synthase (NOS) in rat cerebellar granule neurons by pseudomonas fluorescens and invasive behaviour of the bacteria. *Microbiol Res* 2004;159(4):355-63.
- Nagafuji T, Matsui T, Koide T, Asano T. Blockade of NO formation by L- Name mitigates ischemic brain edema and subsequent cerebral information in Rats. *Neurosci Lett* 1992;147(2):159-62.
- Prado R, Watson BD, Kuluz J, Dietrich WD. Endothelium-derived nitric oxide synthase inhibition. Effects on cerebral blood flow, pial artery diameter, and vascular morphology in rats. *Stroke* 1992; 23(8):1118-23; discussion 1124.

Excitatory and inhibitory effects of nitric oxide on weight, size, and histological changes of rat cerebellum

Alireza Karambaksh M.D.¹
Seyed Mohammad Hossein
Noori Mougahi Ph.D.^{2*}
Gholam Reza Hassan Zadeh
Ph.D.²
Nasrin Tak Zaree M.Sc.³

1- Medical Student, Faculty of
Medicine, Tehran University of
Medical Sciences, Tehran, Iran.
2- Department of Histology, Faculty
of Medicine, Tehran University of
Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Department of Anatomy, Faculty
of Medicine, Tehran University of
Medical Sciences, Tehran, Iran.

* Corresponding author: Department of
Histology, Faculty of Medicine, Tehran
University of Medical Sciences, Poursina
Ave., Tehran, Iran.
P.o. Box: 14155-6447
Tel: +98- 21- 88953008
E-mail: noorimoo@sina.tums.ac.ir

Abstract

Received: February 01, 2012 Accepted: October 20, 2012

Background: Nitric oxide (NO) is produced in different body organs in mammals and numerous physiological and pathological properties are attributed to this small molecule. The precursor of this substance in the body, L-arginine, is synthesized by the enzyme nitric oxide synthase (NOS), and it is catalyzed, and is inhibited by a substance called L-NG-nitroarginine methyl ester (L-NAME). In this study we investigated the qualitative and quantitative effects of nitric oxide on cerebellar histopathology *in vivo* environment via increasing and decreasing its production.

Methods: Forty Wister rats, weighing 200- 250 gr with a mean age of 8 weeks, were divided into 5 groups after making sure the rats were pregnant. Except the control group, the other pregnant groups, respectively received: 2 ml/kg normal saline, 200 mg/kg L-arginine, 20 mg/kg L-NAME and a mixture of the same doses of L-arginine and L-NAME on the third, fourth and fifth days of pregnancy. On day 18 of pregnancy, we anesthetized the rats, excised the cerebellum after craniotomy and fixed the organs in 10% formalin. We later prepared 5 to 6-micron in thickness tissue sections and dyed them by the routine Hematoxylin and eosin (HE) and Masson's Trichrom staining methods before studying them by light microscopy.

Results: There was a significant difference between the rats receiving L-arginine and the rats in other groups ($P < 0.01$).

Conclusion: This study showed that L-NAME is capable of significantly decreasing the injury caused by nitric oxides in rat cerebellum.

Keywords: nitric oxide, L-NAME, L-Arginine, cerebellum, rat.