بررسی اثرات L-NAME بر مورفومتری سلول‌های حاشیه‌ای معده در موش صحرایی باردار

سید محمد حسین نوری موگهی[۱]
تهمینه مختاری[۲]، آمنه امیدی[۲]
نسرین تکزارع[*۱]

۱- گروه بافت‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۲- گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

[*] نویسنده مسئول: تهران، خیابان پورسینا، ضلع شمالی دانشگاه تهران، دانشکده پزشکی، کدپستی ۱۴۱۷۱۳۱۵۱
تلفن: ۸۸۹۵۳۰۰۸-۰۲۱
E-mail: takzaree@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۲/۰۸/۲۰ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۲۶ آنلاین: ۱۳۹۳/۰۱/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به نقش مهم نیتریک اکساید (NO) در فرایندهای بیولوژیک سلول و بافت‌های بدن از جمله سیستم گوارش، نیتریک اکساید به‌عنوان یک مولکول پیام بر نقش مهمی در وقایع فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی در ناحیه معدی- روده‌ای دارد. مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تغییرات سلول‌های حاشیه‌ای معده در موش صحرایی باردار پس از تجویز L-NG-Nitroarginine Methyl Ester (L-NAME) به‌عنوان مهارکننده سنتز نیتریک اکساید انجام گرفته است.

روش بررسی: بیست و چهار سر موش صحرایی ماده با وزن متوسط ۲۵۰-۲۰۰ گرم و سن متوسط هشت هفته مورد استفاده قرار گرفتند، پس از جفت‌گیری و مشاهده پلاک واژینال، این مرحله به‌عنوان روز صفر حاملگی در نظر گرفته شد. سپس موش‌ها به سه گروه هشت‌تایی تقسیم شدند. به غیر از گروه کنترل، بقیه گروه‌ها به ترتیب ml/kg ۲ نرمال سالین و ml/kg L-NAME ۲۰ را به صورت تزریق داخل صفاقی، در روزهای سوم، چهارم و پنجم حاملگی دریافت کردند. در روز ۱۸ بارداری، موش‌ها کشته شده و معده موش‌ها خارج و در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. پس از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین (H&E)، تغییرات کمی با نرم افزار استریولوژی Image Tools III و تغییرات کیفی با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرارگرفت.

یافته‌ها: داده‌ها نشان داد که تعداد (با میانگین ۴/۳۲±۶۱/۳) و قطر سلول‌های حاشیه‌ای معده موش‌های گروه دریافت‌کننده L-NAME (با میانگین قطر µm ۱/۱۸±۱۶/۱۲) در مقایسه با گروه نرمال سالین و کنترل از لحاظ آماری تفاوت معنادار داشت ($P\leq ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که L-NAME با تأثیر بر سنتز NO در مرحله‌ی بارداری باعث کاهش تعداد و افزایش اندازه سلول‌های حاشیه‌ای معده می‌شود و اثرات مخربی بر ساختار سلول‌های حاشیه‌ای معده دارد.

کلمات کلیدی: نیتریک اکساید، L-NAME، سلول‌های حاشیه‌ای معده، بارداری، موش صحرایی.

مقدمه

نیتریک اکساید، مولکول کوچک چربی دوست با نیمه عمر کوتاه است که در بسیاری از فرایندهای بیولوژیک دخالت داشته و کوچک‌ترین پیام بر زیستی (به استثنای مونوکسید کربن) است. این ماده که منبسط‌کننده قوی عروق است توسط اندوتلیال عروق به‌طور مداوم تولید شده و با اثر بر عضلات صاف باعث ایجاد انبساط عروقی و حفظ جریان خون می‌شود. این ماده اولین بار فاکتور شل‌کننده مشتق از اندوتلیوم نامیده شد و در سال ۱۹۸۷، گزارش شد که این عامل همان نیتریک اکساید است و در سال ۱۹۹۲ به‌عنوان مولکول سال انتخاب شد.[۱و۲] این مولکول یک پیام بر داخل سلولی و بین سلولی در کنترل فرایندهای فیزیولوژیک بوده، از این روی در حفظ هوموستاز بدن نقش اساسی بازی می‌کند.[۳] هورمون‌ها در دوران بارداری طی روند متابولیک از کلسترول سنتز می‌شوند، یکی از

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-31]

راه‌های بروز اثر این هورمون‌ها در بافت‌های هدف، تنظیم فعالیت سیستم نیتریک اکساید است.

نیتریک اکساید (NO)، در بسیاری از واکنش‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک بدن نقش دارد. محدوده فعالیت آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز وسیع بوده و عوامل متعددی از جمله برخی هورمون‌ها می‌توانند در تنظیم فعالیت آن و در نتیجه بر میزان تولید نیتریک اکساید نقش داشته باشند. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که میزان پایه نیتریک اکساید در دوران حاملگی، با یکدیگر متفاوت بوده و این پدیده به نوع هورمون‌های استرویدی جنسی بستگی دارد. علاوه براین میزان تولید نیتریک اکساید در طول دوره جنسی موش‌ها تغییر یافته و در دوران بارداری میزان متابولیت‌های اکسید شده نیتریک اکساید افزایش می‌یابد.[۴]

آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز Nitric Oxide Synthase (NOS) با استفاده از اسیدآمینه L-Arginine، مولکول اکسیژن، نیکوتین- آدنین دی‌نوکلئوتید فسفات (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, NADPH) و اکسیژن (O2) واکنش انجام داده و در نهایت مولکول نیتریک اکساید و سیترولین (Citrulline) را طی چندمرحله سنتز می‌کند.[۳و۵] NOS انواع مختلفی دارد و از مغز، ماکروفاژها و اندوتلیوم عروق جدا شده است.[۶و۷]

انواع موجود در مغز و اندوتلیال عروق (ساختمانی) هر دو آنزیم‌های وابسته به کلسیم- کالمودولین هستند که در شرایط فیزیولوژیک بیان می‌شوند. در حالی که نوع القایی غیر وابسته به کلسیم- کالمودولین بوده و در عضله صاف عروق فقط در پاسخ به انواع سایتوکین‌ها و اندوتوکسین‌ها بیان می‌شود.[۸و۹] انواع ساختمانی، عمل تونیسیته عروق، واسطه‌های عصبی و تجمع پلاکتی را تنظیم می‌کنند در حالی که نوع القایی بر روی التهاب و دفاع سلولی مؤثر می‌باشد.[۱۰] تعدادی از مهارکننده‌های NOS که از نظر ساختمانی آنالوگ L-Arginine هستند مانند L-NAME، هر دو نوع NOS، ساختمانی و القایی را مهار می‌کنند.[۱۱]

نیتریک اکساید به‌عنوان یک مولکول پیام بر نقش مهمی در تنظیم اعمال فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی در ناحیه معدی- روده‌ای دارد که این مساله شامل تنظیم گردش خون منطقه‌ای، حرکت روده و فعالیت‌های ترشحی و ایمونولوژیکی است.[۱۲] این ماده به‌عنوان واسطه شیمیایی عصبی، پیامبر داخل سلولی یا عامل پاراکرین عمل کرده و در معده به‌عنوان شل‌کننده بوده، در تنظیم جریان خون موکوسی شرکت داشته و هم‌چنین ترشحات اسید معده را تنظیم می‌کند.[۱۳-۱۵] نیتریک اکساید می‌تواند در ناحیه معدی و روده‌ای، بر انقباض عضلانی و ترشحات اندوکرین و اگزوکرین مؤثر باشد. در موکوس جدا شده معده، این ماده از ترشح اسید معده جلوگیری و بلوک‌کننده‌های NOS ترشحات اسیدی را تحریک می‌کنند.[۱۶] نیتریک اکساید در حفره میانی معده به‌عنوان تنظیم‌کننده گردش خون مخاطی و هم‌چنین ترشحات موکوسی عمل می‌کند.[۱۷و۱۸]

از آن‌جایی که نتایج مطالعات و بررسی‌های اثرات نیتریک اکساید بر مورفومتری سلول‌های حاشیه‌ای معده به اندازه کافی گزارش نشده بود و از طرفی میزان این ماده در دوره بارداری افزایش می‌یابد، پژوهش حاضر به منظور بررسی اثرات مهارکننده (L-NAME) نیتریک اکساید بر سلول‌های حاشیه‌ای معده در دوران بارداری موش‌های صحرایی، مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع تجربی- مداخله‌ای بوده و به مدت یک‌سال در حیوان‌خانه گروه آناتومی و آزمایشگاه هیستوتکنیک بخش بافت‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است.

بیست و چهار سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار که دارای سن متوسط هشت هفته و وزن واحد ۲۵۰-۲۰۰ گرم بودند، از خانه حیوانات دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه و یک هفته قبل از شروع آزمایش در حیوان خانه تحت شرایط آزمایشگاهی و در درجه حرارت ۲±۲۰ با شرایط ۱۲ ساعت تاریکی ۱۲ ساعت روشنایی نگه‌داری شدند، تا با شرایط محیط جدید و آب و هوا عادت کنند. پس از انجام عمل جفت‌گیری روز مشاهده پلاک واژینال به‌عنوان روز صفر حاملگی در نظر گرفته شد.

در طول پژوهش کلیه شرایط زیستی برای تمامی حیوانات یکسان بود و دسترسی بدون محدودیت به آب و غذا داشتند. در روز صفر موش‌های حامله به‌طور تصادفی به سه گروه هشت‌تایی به ترتیب زیر تقسیم شدند: گروه اول به‌عنوان گروه کنترل هیچ‌گونه ماده‌ای دریافت نکرد. گروه دوم ml/kg ۲ نرمال سالین و گروه سوم ml/kg ۲۰،

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-31]

L-NAME (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany)، دریافت کردند. مواد مورد نظر به صورت داخل صفاقی در روزهای سوم، چهارم و پنجم حاملگی تزریق شدند. برای تهیه محلول L-NAME مقادیر مشخصی از این دو ماده در ۲ ml محلول نرمال سالین حل شد. در روز ۱۸ بارداری موش‌ها پس از بیهوشی با اتر، کشته شده و معده موش‌ها خارج و وارد روند تهیه نمونه‌های آزمایشگاهی شد.[۱۹و۲۰] در ابتدا نمونه‌ها را در فرمالین ۱۰٪ فیکس کرده و پس از انجام مراحل پاساژ بافتی و قالب‌گیری پارافینی، برش‌هایی با ضخامت ۶-۵ میکرون تهیه شد.

نمونه‌ها پس از رنگ‌آمیزی معمولی هماتوکسیلین- ائوزین برای مطالعات کمی آماده شدند. برای بررسی‌های کیفی و کمی از میکروسکوپ نوری (Olympus, Olympus CX31 Microscope) (Tokyo, Japan) و نرم‌افزار Image Tools III (The University of Texas Health Science Center in San Antonio 2012) استفاده شد. جهت اندازه‌گیری قطر سلول‌های حاشیه‌ای معده ابتدا دو قطر عمود بر هم توسط نرم‌افزار Image Tools III محاسبه و سپس میانگین قطرها در هر سلول محاسبه شد. برای آنالیز آماری از نرم‌افزار SPSS ویراست ۲۱ و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و Tukey استفاده شد.

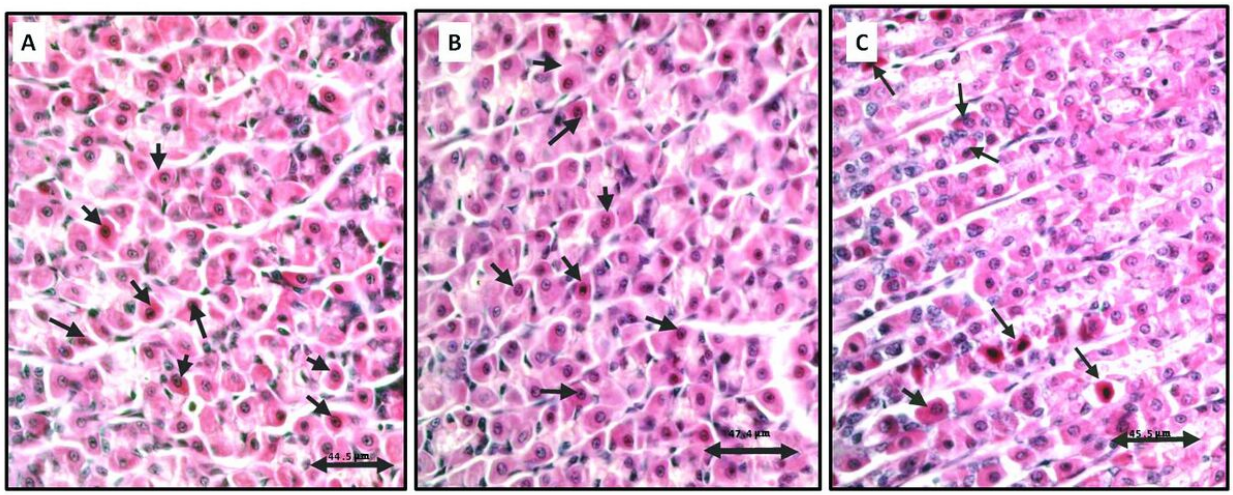
یافته‌ها

در این مطالعه تعداد سلول‌های حاشیه‌ای معده شمارش شد که نتایج حاصل از گروه‌های مورد بررسی تفاوت معناداری را در تعداد سلول‌ها نشان داد ($P\leq ۰/۰۵$، نمودار ۱). گروه مصرف‌کننده L-NAME (با میانگین تعداد ۴/۳۲±۶۱/۳) تفاوت معناداری را با گروه‌های کنترل (با میانگین تعداد ۵/۲۷±۶۴/۴) و سالین (با میانگین تعداد ۵/۸۸±۶۳/۲) نشان داد ($P\leq ۰/۰۵$، نمودار ۱).

در این بررسی تفاوت معناداری در قطر سلول‌ها مشاهده شد. گروه مصرف‌کننده L-NAME (با میانگین قطر ۱/۱۸ µm±۱۶/۱۲) تفاوت معناداری را با گروه‌های کنترل (با میانگین قطر ۱/۲۷ µm±۱۳/۴۱) و سالین (با میانگین قطر ۲/۰۱ µm±۱۲/۲۹) نشان داد ($P\leq ۰/۰۵$، نمودار ۲).

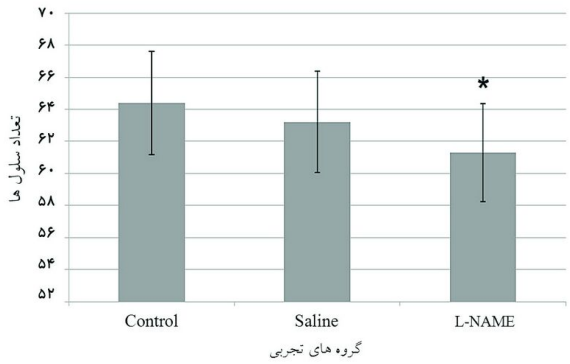
بحث

در مطالعه حاضر تعداد سلول‌های حاشیه‌ای در گروه تجربی مصرف‌کننده L-NAME نسبت به گروه‌های کنترل و نرمال سالین

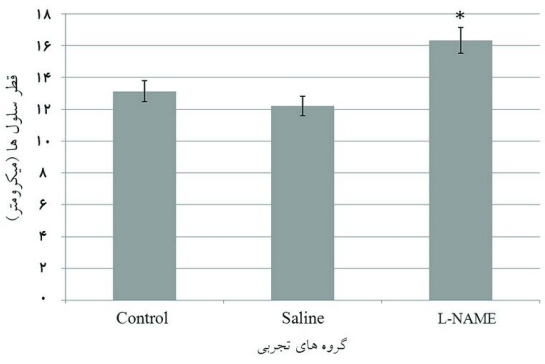


شکل ۱: A) سلول‌های حاشیه‌ای معده موش صحرایی باردار گروه کنترل، B) سلول‌های حاشیه‌ای معده موش صحرایی باردار گروه نرمال سالین و C) سلول‌های حاشیه‌ای معده موش صحرایی باردار گروه L-NAME را نشان می‌دهد (فلش‌ها نشان‌دهنده سلول‌های حاشیه‌ای در هر سه گروه هستند).

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-31]



نمودار ۱: مقایسه توزیع تعداد سلول‌های حاشیه‌ای در گروه‌های مورد مطالعه (n=۲٤). گروه مصرف‌کننده L-NAME تفاوت معناداری را با گروه‌های کنترل و سالین نشان داد. (P≤۰/۰۵).



نمودار ۲: مقایسه قطر سلول‌های حاشیه‌ای در گروه‌های مورد مطالعه (n=۲٤). * گروه مصرف‌کننده L-NAME تفاوت معناداری را با گروه‌های کنترل و سالین نشان داد (P≤۰/۰۵).

تفاوت معناداری نشان داد که این تفاوت نشان‌دهنده کاهش تعداد این سلول‌ها در مقایسه با گروه کنترل و سالین است (به مقایسه انجام شده در بخش‌های مختلف شکل ۱ توجه شود). پژوهش‌های صورت گرفته از سال ۱۹۷۴ تاکنون در مورد اثرات نتیریک اکساید بر روی بافت‌های مختلف، نتایج متناقضی را نشان می‌دهند که ممکن است به دلیل حساس بودن ماده به‌کار گرفته شده یا کوتاه بودن نیمه عمر آن و یا اختلاف در دوزهای به کار رفته، زمان یعنی مدت و روزهای مداخله، شرایط ساختمانی و نیز نوع مدل آزمایشگاهی انتخاب شده باشد.

نیتریک اکساید نقش مهمی در وقایع فیزیولوژیکی در ناحیه معدی- روده‌ای دارد. این ماده به‌عنوان واسطه شیمیایی- عصبی، در معده به عنوان شل‌کننده بوده، در تنظیم جریان خون ناحیه مخاط شرکت داشته و هم‌چنین ترشحات اسید معده را تنظیم می‌کند.[۲۱]

Premaratne گزارش کرد که بنا بر NOS بیان شده در سلول‌های حاشیه‌ای نیتریک اکساید به‌عنوان مولکولی سیگنال‌ده، ممکن است در تنظیم تولید اسید معده مؤثر باشد[۲۲] و از آن‌جایی که این ماده در دوران بارداری به میزان بالایی در بدن تولید شده و در مجموعه رحمی- جفتی از طریق هر دو مسیر ساختمانی و القایی ساخته می‌شود.[۲۳و۲۴]

پس می‌توان انتظار داشت که فعالیت سلول‌های حاشیه‌ای در زمان بارداری افزایش یابد که با این وجود در مطالعه حاضر کاهش تعداد این سلول‌ها مشاهده شد (به نمودار ۲ و مقایسه انجام شده در بخش‌های مختلف فتومیکروگراف ۱ توجه شود). هم‌چنین Lu نشان داد که NO اندوژن نقش مهمی در محافظت از موکوس معده در مقابل استرس ایجاد شده در سلول‌های حاشیه‌ای دارد به‌طوری که تیمار با L-NAME باعث تشدید زخم ایجاد شده می‌شود.[۲۵] Shinichi اثر نیتریک اکساید را بر تنظیم ترشح اسید معده در موش صحرایی مورد بررسی قرار داد و نتایج نشان داد که انواع اگزوژن و اندوژن آن اثر جلوگیری‌کننده بر ترشح اسید معده ندارد.[۲۶] در مطالعه حاضر تفاوت معناداری در قطر سلول‌های حاشیه‌ای در گروه آزمایش نسبت به گروه‌های کنترل و نرمال سالین مشاهده شد (P≤۰/۰۵، نمودار ۲) به این ترتیب که تزریق آن باعث افزایش قطر سلول‌های حاشیه‌ای معده شد که نشان‌دهنده افزایش عملکرد این سلول‌ها در این مطالعه است.

پس بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که در گروه‌های مورد بررسی، L-NAME به‌عنوان مهارکننده سنتز NO باعث تغییر در عملکرد سلول‌ها شده است (نمودار ۲). در مطالعه دیگر پژوهش‌گران اثر NO اندوژن را بر ترشح اسید معده در غدد معده جدا شده انسانی مورد بررسی قرار دادند و نتایج به‌دست آمده نشان داد ماده مذکور از ترشح اسید معده در این سلول‌ها جلوگیری می‌کند و هم‌چنین بیان کردند که نوع اندوژن در اپی‌تلیوم نزدیک به سلول‌های حاشیه‌ای معده وجود دارد.[۲۷] Contreras اثر NOS را بر غدد معدی جدا شده

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-31]

خرگوش دیابتی مورد بررسی قرار داد که نتایج حاصله نشان داد که دیابت عملکرد پایه NOS را افزایش می‌دهد. این پژوهشگر بیان کرد که L-Arginine شناسایی شده در غدد دیابتی و غیردیابتی ممکن است اثرات محافظتی بر آسیب‌های ایجاد شده توسط دیابت داشته باشد.[۲۸]

در مطالعه حاضر سعی شد که با استفاده از مهارکننده نتیریک اکساید، تأثیر آن در دوران بارداری بر سلول‌های حاشیه‌ای معده، بررسی شود. نمودارهای ۱ و ۲ نشان می‌دهند که در گروه دریافت‌کننده L-NAME، تعداد سلول‌های حاشیه‌ای در مقایسه با گروه کنترل و سالین کاهش داشته‌اند اما اندازه این سلول‌ها افزایش داشته‌اند.

بر این اساس که تاکنون اثر نیتریک اکساید بر بافت معده گزارش نشده بود و فقط نتایجی از اثر آن بر ترشحات غدد معدی ارایه شده بود، این پژوهش صورت گرفت. بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت مهار نتیریک اکساید اثری بر سلول‌های حاشیه‌ای معده در موش‌های باردار اثر داشته و در مجموع نتایج حذف نشان می‌دهند که این ماده در دوران بارداری اثرات مخربی بر ساختار سلول‌های حاشیه‌ای معده دارد.

البته تعمیم اثرات نام‌برده شده به انسان بررسی‌های بسیار گسترده‌تر و وسیع‌تری را می‌طلبد، زیرا تاکنون اثرات نیتریک اکساید بر سلول‌های حاشیه‌ای معده در وضعیت بارداری و غیربارداری گزارش نشده است. بنابراین پیشنهاد می‌شود به علت اهمیت بسیار زیاد عملکرد نتیریک اکساید، اثرات و عوارض دوزهای مختلف این مولکول بر سایر دستگاه‌های بدن نیز بررسی شود.

References

1. Koshland DE Jr. The molecule of the year. *Science* 1992;258(5090):1861.
2. Okutomi T, Nomoto K, Nakamura K, Goto F. Nitric oxide metabolite in pregnant women before and after delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997;76(3):222-6.
3. Ignarro LJ. Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1990;30:535-60.
4. Chwalisz K, Winterhager E, Thienel T, Garfield RE. Synergistic role of nitric oxide and progesterone during the establishment of pregnancy in the rat. *Hum Reprod* 1999;14(2):542-52.
5. Ignarro LJ. Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: a historical overview. *J Physiol Pharmacol* 2002;53(4 Pt 1):503-14.
6. Bartberger MD, Olson LP, Houk KN. Mechanisms of peroxynitrite oxidations and rearrangements: the theoretical perspective. *Chem Res Toxicol* 1998;11(7):710-1.
7. Ogden JE, Moore PK. Inhibition of nitric oxide synthase: Potential for a novel class of therapeutic agent? *Trends Biotechnol* 1995;13(2):70-8.
8. Berg A, Redeen S, Ericson AC, Sjöstrand SE. Nitric oxide-an endogenous inhibitor of gastric acid secretion in isolated human gastric glands. *BMC Gastroenterol* 2004;4:16.
9. Body SC, Hartigan PM, Shernan SK, Formanek V, Hurford WE. Nitric oxide: delivery, measurement, and clinical application. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1995;9(6):748-63.
10. Wang MX, Murrell DF, Szabo C, Warren RF, Sarris M, Murrell GA. Nitric oxide in skeletal muscle: inhibition of nitric oxide synthase inhibits walking speed in rats. *Nitric Oxide* 2001;5(3):219-32.
11. Voelker CA, Miller MJ, Zhang XJ, Eloby-Childress S, Clark DA, Pierce MR. Perinatal nitric oxide synthase inhibition retards neonatal growth by inducing hypertrophic pyloric stenosis in rats. *Pediatr Res* 1995;38(5):768-74.
12. Porsti I, Poakkari I. "Nitric oxide-based possibilities for pharmacotherapy, Annals of Med. 1995; 27: 407-20.
13. Sobko T1, Reinders CI, Jansson E, Norin E, Midtvedt T, Lundberg JO. Gastrointestinal bacteria generate nitric oxide from nitrate and nitrite. *Nitric Oxide* 2005;13(4):272-8.
14. Bilski J, Konturek PC, Konturek SJ, Cieszkowski M, Czarnobilski K. Role of endogenous nitric oxide in the control of gastric acid secretion, blood flow and gastrin release in conscious dogs. *Regul Pept* 1994;53(3):175-84.
15. Kato S, Kitamura M, Korolkiewicz RP, Takeuchi K. Role of nitric oxide in regulation of gastric acid secretion in rats: effects of NO donors and NO synthase inhibitor. *Br J Pharmacol* 1998;123(5):839-46.
16. Currò D, Volpe AR, Preziosi P. Nitric oxide synthase activity and non-adrenergic non-cholinergic relaxation in the rat gastric fundus. *Br J Pharmacol* 1996;117(4):717-23.
17. Koduru S, Vuyyuru L, Schubert ML. Nitric oxide mediates the stimulation of acid secretion induced by distension of the gastric fundus. *Gastroenterol* 1995;108(Suppl 4):A132.
18. Lundberg JO, Weitzberg E, Lundberg JM, Alving K. Intragastric nitric oxide production in humans: measurements in expelled air. *Gut* 1994;35(11):1543-6.
19. Hogg N, Struck A, Goss SP, Santanam N, Joseph J, Parthasarathy S, et al. Inhibition of macrophage-dependent low density lipoprotein oxidation by nitric-oxide donors. *J Lipid Res* 1995;36(8):1756-62.
20. Nouri Mogahi M, Azarnia M, Ghobeh Mohajer N. Effects of nitric oxide on qualitative and quantitative differentiation of mouse uterus. *J Iranian Anat Sci* 2004;2(1):61-7.
21. Björne H H, Petersson J, Phillipson M, Weitzberg E, Holm L, Lundberg JO. Nitrite in saliva increases gastric mucosal blood flow and mucus thickness. *J Clin Invest* 2004;113(1):106-14.
22. Premaratne S, Xue C, McCarty JM, Zaki M, McCuen RW, Johns RA, et al. Neuronal nitric oxide synthase: expression in rat parietal cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;280(2):G308-13.
23. Norman JE, Cameron IT. Nitric oxide in the human uterus. *Rev Reprod* 1996;1(1):61-8.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-31]

24. Magness RR, Shaw CE, Phernetton TM, Zheng J, Bird IM. Endothelial vasodilator production by uterine and systemic arteries. II. Pregnancy effects on NO synthase expression. *Am J Physiol* 1997;272(4 Pt 2):H1730-40.
25. Lu GM, Li YM, Guo LJ, Zhang M. Protective effect of nitric oxide on gastric mucosa and its relationship to the acid secretion of gastric parietal cells under stress in rats. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi* 2005;21(3):301-4.
26. Kato S, Kitamura M, Korolkiewicz RP, Takeuchi K. Role of nitric oxide in regulation of gastric acid secretion in rats: effects of NO donors and NO synthase inhibitor. *Br J Pharmacol* 1998;123(5):839-46.
27. Amaral JH, Montenegro MF, Pinheiro LC, Ferreira GC, Barroso RP, Costa-Filho AJ, et al. TEMPOL enhances the antihypertensive effects of sodium nitrite by mechanisms facilitating nitrite-derived gastric nitric oxide formation. *Free Radic Biol Med* 2013;65:446-55.
28. Contreras R1, Fuentes O, Mann GE, Sobrevia L. Diabetes and insulin-induced stimulation of L-arginine transport and nitric oxide synthesis in rabbit isolated gastric glands. *J Physiol* 1997;498(Pt 3):787-96.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-31]

TUMJ Tehran University Medical Journal, May 2014; Vol. 72, No. 2: 65-71 Original Article

Effects of L-NAME on morphometric parameters of stomach parietal cells in pregnant rats

Seyed Mohammad Hossein Noori Mugahi Ph.D.[1]
Tahmineh Mokhtari Ph.D. Student[2]
Ameneh Omidi M.Sc.[2]
Nasrin Takzaree Ph.D. Student[1*]

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

[*] Corresponding author: Poursina Ave., School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, P.O. Box: 13145-784, Tehran, Iran.
Tel: +98- 21- 88953008
E-mail: takzaree@gmail.com

Abstract

Received: 11 Nov. 2013 Accepted: 15 Feb. 2014 Available online: 01 Apr. 2014

***Background*:** Considering nitric oxide (NO) has an important role in many biologic processes of cells and tissues such as in the digestive system. In this system nitric oxide acts as a second messenger in pathological and physiological events in gastrointestinal region. We investigated the effects of L-NG-Nitro arginine Methyl Ester (L-NAME) as the NO formation inhibitor on parietal cells of stomach in pregnant rats.

***Methods*:** Twenty four female rats with eight weeks old and 200-250 g weight were prepared and used in this study. After matting of the female rats with the male rats, time of observing vaginal plaque considered as the zero day of pregnancy. Then the animals were divided into three groups of studying. Each group was containing eight rats. In this study, except the control group, the saline group received 2 ml/kg normal saline and experimental group received 20 ml/kg L-NAME interaperitoneally (IP), respectively on third, fourth, and fifth days of pregnancy for evaluation of its effects. On the 18th day of pregnancy, after anesthesia with ether, the animals were killed and dissected and the laparotomy was performed to separate the mother's stomach. Then, the stomach was fixed in 10% formalin and after tissue passage, the sections were stained with Hematoxylin-Eosin (H&E). Then the changes of count and diameter in parietal cells were observed via light microscopy and Image Tools III.

***Results*:** This study after analysis showed the significant changes in parietal cells count (mean 61.3±4.32) and its diameters (mean 16.12±1.18 μm) in L-NAME group in comparison to control and the sham groups in pregnant rats ($P \leq 0.05$).

Conclusion: Results of this study showed L-NAME with effects on NO synthesis can reduce parietal cells count and increase its diameter in pregnant rats and has destructive effects on structure of stomach parietal cells in pregnancy rats.

Keywords: L-NAME, nitric oxide, parietal cells, pregnancy, rat.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-31]