بررسی اثرات تحریکی و مهاری نیتریک اکساید بر تغییرات وزن، حجم و هیستولوژی مخچه موش سفید صحرایی

علیرضا کرم بخش[1]
سید محمد حسین نوری موگهی[2*]
غلامرضا حسن زاده[3]، نسرین تکزارع[2]

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: ۸۸۹۵۳۰۰۸ -۰۲۱
E-mail: noorimoo@sina.tums.ac.ir

چکیده

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

زمینه و هدف: نیتریک اکساید، 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 نیتریک اکساید 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 نیتریک اکساید 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 ائوزین و تری‌کروم 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 نیتریک اکساید مفید می‌باشند.

کلمات کلیدی: نیتریک اکساید، L-NAME، L-Arginine، مخچه، رت.

مقدمه

نیتریک اکساید (Nitric Oxide, NO) آندوژن در بسیاری از اندام‌های بدن تولید شده و نقش‌های عملکردی بسیار مهمی را در هر بافت ایفا می‌کند،[1] گونه‌های واکنشی نیتروژن با آسم، شوک سپتیک و تصلب شرایین مرتبط هستند.[2و3] نیتریک اکساید سنتتاز Nitric Oxide (Synthase, NOS) آنزیم تولید کننده نیتریک اکساید از L-Arginine است و برای این کار از مولکول اکسیژن، نیکوتین- آدنین دی‌نوکلئتید فسفات (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, NADPH) و کوفاکتورهای دیگر استفاده می‌کند. نیتریک اکساید سنتتاز دارای سه ایزوفرم اندوتلیال (Endothelial NOS =eNOS)، نورال (Neuoral NOS =nNOS) و ایندیوسیبل (Inducible NOS =iNOS) است.[4و5] 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 نوروژنیک شود. در دستگاه عصبی مرکزی نیز ایزوفرم nNOS ممکن است تنظیم‌کننده‌ی موضعی مهمی برای جریان خون مغز باشد، علاوه

بـر آن بـسیاری از اعمـال فیزیولوژیـک مخچـه و مغـز نظیـر میانجی‌گری‌های حاد رفتار عصبی را به عهده دارد.[۶و۷] ایزوفـرم eNOS نیتریک اکساید سـنتتاز انـدوتلیالی بـوده و در سـلول‌هـای انـدوتلیال به‌صورت متصل به غشای پلاسمایی دیده می‌شود. عمل این آنزیم بـه گشادی عروق (Vasodilation) منجـر مـی‌شـود.[۸و۹] nNOS موجـود در سلول‌های عصبی و گلیال از طریق اثـرات طـولانی‌مـدت بـر سیـستم اعصاب مرکـزی، در تنظـیم جریـان خـون عـروق مغـزی، حافظـه و یادگیری دخالت دارد.[۱۰و۱۱]

از طرفی نیتریک اکساید به عنوان میـانجی احتمـالی نـورون‌هـای غیرکولینرژیک غیرآدرنرژیک نیز مطرح است و بنـابراین احتمـال دارد در تنظیم قدرت انقباضی قلب و تعـداد ضـربان آن، حرکـت دسـتگاه گوارش، تونوس برونش‌ها و نعوظ آلت تناسـلی مـردان نقـش داشـته باشد.[۱۲و۱۳]

اثرات نوروتوکسیک ناشی از نیتریک اکساید علاوه بر سیستم‌های دیگر در سیستم عصبی مرکزی هم مهم به نظر می‌رسد. ایـن مولکـول از طریـق فعـال کـردن گیرنـده‌هـای N-Methyl-D-aspartic Acid (NMDA) باعث سمیت عصبی می‌شود.[۱۴]

فعال شدن این گیرنده‌ها میزان فعالیت ایزوفـرم nNOS را افـزایش داده و نیتریک اکساید آزاد شده بر روی سلول‌های مجـاور اثـر سـمی دارند، در حالی‌که خود این سلول‌ها محتوی ایزوفرم nNOS به اثـرات سمی تحریک گیرنده مقاومند. از سوی دیگـر ممکـن اسـت نیتریـک اکساید برای سلول‌های دستگاه عصبی مرکزی دارای اثـرات حفـاظتی باشد که این اثر به‌وسیله حالت اکسید- احیا شده‌ی مولکـول صـورت می‌گیرد.[۱۵]

نیتریـک اکـساید بـا گیرنـده‌ی NMDA، واکـنش داده و از ورود کلسیم بیش از حد به سیتوزول سلولی جلوگیری مـی‌کنـد.[۱۶] بـا ایـن حال خود مولکول NO سبب افـزایش ورود کلـسیم بـیش از حـد بـه سیتوزول سلولی شده منجر به اثرات سمی بر روی سلول مـی‌شـود.[۱۷] بنابراین در دستگاه عصبی مرکزی هم اثرات محـافظتی و هـم اثـرات مخرب برای نیتریک اکساید ذکر شده است. هدف از تجربه‌ی حاضـر بررسی اثرات نیتریک اکساید بر تغییرات وزن، حجـم و هیـستولوژی مخچه است. یافته‌های حاصله از این تجربه می‌تواند دانش ما در درک اثرات تجویز مهار کننده‌ها یا القا کننده‌های تولیـد نیتریـک اکـساید را افزایش داده و جامعه علمی را در دستیابی به نتایج بالینی یاری نماید.

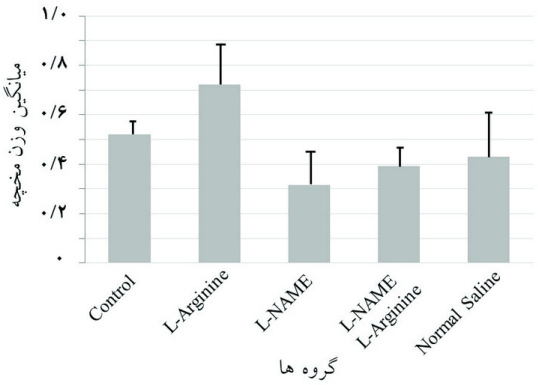
روش بررسی

این بررسی از نـوع مطالعـه علـوم پایـه (Experimental) بـوده و بـه‌مـدت یـک‌سـال در حیـوان‌خانـه گـروه آنـاتومی و آزمایـشگاه هیستوتکنیک بخش بافت‌شناسـی دانـشکده پزشـکی دانـشگاه علـوم پزشکی تهران انجام شده است. به‌این منظور از ۴۰ سـر مـوش سـفید آزمایشگاهی (Rat) ماده نژاد ویستار با وزنی در حدود ۲۵۰-۲۰۰ گرم و سن متوسط هشت هفته از انـستیتو پاسـتور ایـران خریـداری شـد. سپس هر پنج سر موش (یک نر + چهار ماده) در یک قفس اسـتیل و در شرایط کنترل شده از نظر نور، دما و رطوبت نگه‌داری شدند. پـس از اطمینان از آمیزش کـه بـا مـشاهده اسـپرم در پـلاک‌هـای واژینـال صورت می‌گرفت، این روز به عنوان روز صفر در جفت‌گیری در نظر گرفته شد.

موش‌های حامله در پنج گروه کنترل، نرمال سـالین، L-Arginine، L-NAME، L-NAME+L-Arginine خریداری شده از شرکت سـیگمای آلمان (Sigma, Germany)، دسته‌بندی شدند. به جز گروه کنترل، بقیـه گروه‌ها بـه ترتیـب ۲ml/kg نرمـال سـالین، ۲۰۰mg/kg L-Arginine، ۲۰mg/kg L-NAME و مخلوط دو ماده L-Arginine و L-NAME را بـا همان دوزهای مـشابه، در روزهـای سـوم، چهـارم و پـنجم حـاملگی دریافت کردند. سپس در روز هجدهم حاملگی موش‌ها با اتر بیهـوش شده و پس از کرانیوتومی، مخچـه حیوانـات خـارج شـده و پـس از اندازه‌گیـری وزن و حجـم، در فرمـالین ۱۰٪ فـیکس شـدند. مراحـل آماده‌سازی بافتی برای تهیه لام انجام و برش‌هـایی بـا ضـخامت ۶-۵ میکرون از نمونه‌ها تهیه و با روش‌های عمومی هماتوکسیلین- ائوزین (H&E) و اختصاصی کروم ماسـون رنـگ‌آمیـزی و بـا میکروسـکوپ نوری (Olympus, Japan) المپیـوس (Olympus) مـدل CX31 سـاخت ژاپن بررسی شدند.

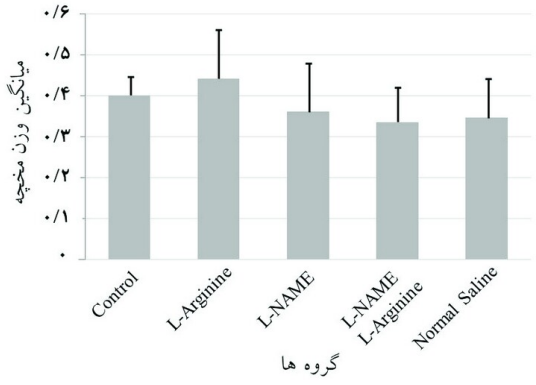
یافته‌ها

الف- یافته‌های کیفی: ساختار مخچه گروه نرمال سـالین، تفـاوت قابل ملاحظه‌ای بـا گـروه کنتـرل نداشـت، ضـمن ایـن کـه گـروه L-NAME+L-Arginine تنها دچار تغییرات مختصری در سـاختار مخچـه شدند. در گروهی که تحت تزریق L-Arginine قرار گرفتـه بـود لایـه



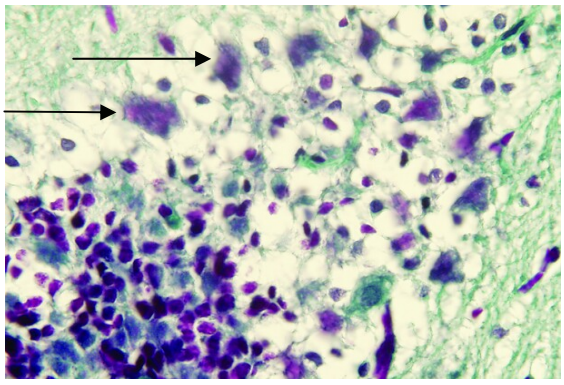
نمودار ۱: میانگین حجم مخچه در گروه‌های مختلف.

همان‌گونه که ملاحظه می‌شود تغییرات در مقایسه گروه L-Arginine با گروه‌های نرمال سالین و L-NAME و L-NAME+L- Arginine معنی‌دار (P<۰/۰۱) است.



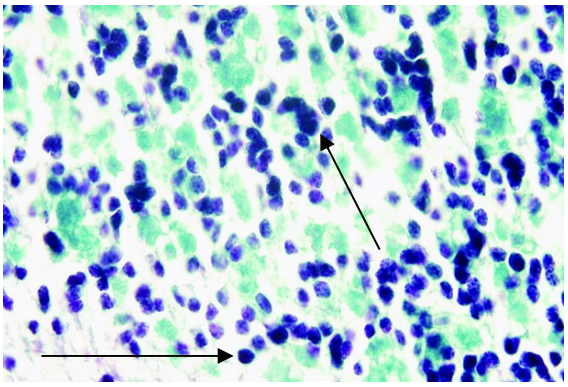
نمودار ۲: میانگین وزن مخچه در گروه‌های مختلف.

همان‌گونه که ملاحظه می‌شود تغییرات در گروه L-Arginine با گروه‌های نرمال سالین و L-NAME و L-NAME + L- Arginine معنی‌دار (P<۰/۰۱) است.



شکل ۱: اثرات تزریق L-Arginine بر مخچه موش سفید.

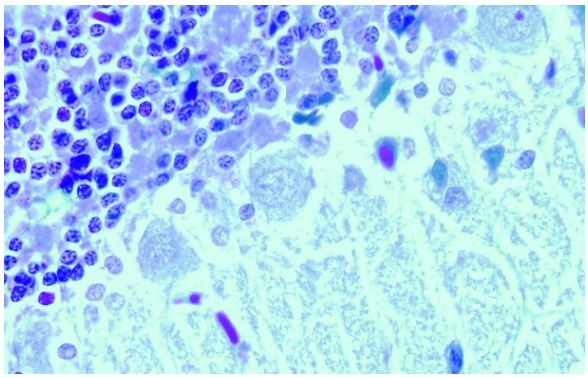
به درهم ریختگی ساختاری و هیپرکروماتاسیون هسته سلول‌های پورکنژ (فلش) و برهم خوردن نظم ساختار بافتی قشر مخچه توجه فرمایید (رنگ‌آمیزی تری‌کروم ماسون و بزرگ‌نمایی ۴۰).



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

گرانولار و مولکول کمی ضخیم‌تر از حالت طبیعی دیده می‌شدند و سلول‌های پورکنژ هیپوکروماتـه شـده، بعـضی از هـسته‌هـا در لایـه گرانولار و مولکول به شدت هیپرکروماتوسیون پیدا کردند، در ضـمن تجمع سلول‌های پورکنژ همراه با تهاجم لنفوسیتیک نیز در این گـروه مشاهده شد. در گروه L-NAME تعداد سلول‌های پورکنژ افزایش یافته و تهاجم لنفوسیتک مختصری قابل رؤیت است (شکل میکروسـکوپی ۱ و ۲ تغییرات فوق‌الذکر را نشان می‌دهند).

ب- یافته‌های کمّی: در بررسـی دو بـه دوی گـروه‌هـا بـا معیـار Mann-Whitney U-test در سطح ۰/۰۵ (P<۰/۰۱)، اختلاف معنی‌داری بیـن گـروه L-Arginine بـا گـروه‌هـای نـرمـال سالین و L-NAME و



شکل ۳: اثرات نیتریک اکساید بر سلول‌های مخچه موش سفید در گروه L-Arginine و L-NAME. (رنگ‌آمیزی تری‌کروم 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 نرمال سالین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۱). در بررسی دو به دوی گروه‌ها با معیار Mann-Whitney U-test در سطح ۰/۰۵ (P<۰/۰۱) اختلاف معنی‌داری بین گروه L-Arginine با گروه‌های نرمال سالین 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 میکروسکوپیک 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 پورکنژ 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 وازودیلاتوری نیتریک اکساید و افزایش جریان خون در بستر مویرگی (Microvasculature) مخچه توجیه کرد. هم‌چنان که Morikawa این نقش وازودیلاتوری را در هنگام تزریق L-Arginine نشان داد.[18] ضمن این که در مطالعه Rodrigoez به سال ۲۰۰۴ نقش نیتریک اکساید به عنوان یک گشاد کننده عروقی در مراحل اولیه ایسکمی و هایپوکسی مخچه تأیید شد.[19] در ضمن در نمای میکروسکوپی این گروه، تهاجم‌های لنفوسیتیک در میان سلول‌های پورکنژ 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 توجیه نماید. کما این که Rodrigoez 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.[19]

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 نوروتوکسیک نیتریک اکساید حاصل از iNOS را تأیید می‌کند.[20]

در تجویز هم‌زمان L-NAME و L-Arginine چنین اثرات التهابی مشاهده نشد و این پدیده ممکن است به دلیل اثر مهاری L-Name در 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.[21]

در تزریق L-NAME افزایش سلول‌های پورکنژ 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[22] 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 مهاری 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 پورکنژ مخچه رت باردار با استفاده از روش‌های میکروسکوپیک 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.

References

1. Johnson DW, Fleming SJ. The use of vaccines in renal failure. *Clin Pharmacokinet* 1992;22(6):434-46.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Patton HD, Fuchs AF, Hille B, Scher AM, Steiner R, editors. Textbook of Physiology. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1989.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. Moncada S, Higgs A, Furchgott R. International union of pharmacology nomenclature in nitric oxide research. *Pharmacol Rev* 1997;49(2):137-42.
13. Schrier RW, Wang W. Acute renal failure and sepsis. N Engl J Med 2004;351(2):159-69.
14. Bian K, Doursout MF, Murad F. Vascular system: role of nitric oxide in cardiovascular diseases. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2008;10(4):304-10.
15. Stanek A, Gadowska-Cicha A, Gawron K, Wielkoszyński T, Adamek B, Cieślar G, et al. Role of nitric oxide in physiology and pathology of the gastrointestinal tract. *Mini Rev Med Chem* 2008;8(14):1549-60.
16. 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.
17. 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
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. Nagafuji T, Matsui T, Koide T, Asano T. Blockade of No formation by L- Name mitigates ischemic brain edema and sub sequent cerebral information in Rats. *Neurosci let* 1992;147(2):159-62.
23. 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.

TUMJ Tehran University Medical Journal, January 2013; Vol. 70, No. 10: 595-600 Original Article

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.