مقاله تحقیقی

بررسی هیستولوژیک و مورفومتریک اثرات L-Arginine و L-NAME بر ارتفاع و تعداد سلول های اپی تلیال دوازدهه موش صحرایی

زهرا نادیا شریفی[1]، شبنم موثقی[1]، عطارد السادات مصطفوی[2]، سید محمد حسین نوری موگهی[3]*

[1] دانشیار گروه علوم تشریحی و علوم اعصاب شناختی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران.

[2] استادیار گروه علوم تشریحی و علوم اعصاب شناختی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران.

[3] استاد گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران و گروه علوم تشریحی و علوم اعصاب شناختی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران.

* نشانی نویسنده مسئول:

گروه علوم تشریحی و علوم اعصاب شناختی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران.

نشانی الکترونیک:

noorimoo@sina.tums.ac.ir

چکیده

زمینه: امروزه نیتریک اکساید (NO) به عنوان تنظیم کننده بسیاری از فرآیندهای بیولوژیک سلول های بدن، از جمله سلول‌های اپی تلیالی روده شناخته شده است. لذا این مطالعه به منظور بررسی تغییرات ارتفاع و تعداد سلول های اپی تلیال دوازدهه موش صحرایی به دنبال تجویز L-Arginine (به عنوان پیش ساز) و (L-NG-Nitroarginine Methyl Ester ,L-NAME) به عنوان مهارکننده سنتز نیتریک اکساید انجام گرفت.

روش کار: ۴۰ سر موش صحرایی ماده با وزن ۲۵۰–۲۰۰ گرم و سن ۸ هفته، به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. به غیر از گروه کنترل، بقیه گروهها به ترتیب ۲ml/kg نرمال سالین، ۲۰۰mg/kg L-Arginine، ۲۰mg/kg L-NAME و L-Arginine + L-NAME را با همان دوزهای مشابه، به صورت داخل صفاقی به مدت ۳ روز دریافت کردند. پس از دو هفته، موش ها با اتر بیهوش و دوازدهه از شکم خارج و در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد. نمونه‌ها پس از پاساژ بافتی و رنگ آمیزی معمولی (H&E) با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. با استفاده از اندازه گیری‌های مورفومتریک تعداد سلول ها شمرده و ارتفاع آن‌ها اندازه گیری شد. نتایج با استفاده از نرم افزارSPSS-21 و آزمون One-Way ANOVA آنالیز و $p<0.05$ به عنوان سطح اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها: ارتفاع و تعداد سلول های اپی تلیال در گروه دریافت کننده L-NAME افزایش یافته، ولی اختلاف معنی داری با سایر گروه ها نشان نداد ($p>0.05$). در گروه دریافت کننده L-Arginine نیز ارتفاع سلول های اپی تلیال کاهش یافته، ولی اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها نشان نداد ($p>0.05$).

نتیجه گیری: با وجود اهمیت NO در عملکرد بسیاری از سلول ها، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که L-Arginine و L-NAME دارای اثرات مختلفی بر ساختار، ارتفاع و تعداد سلول های اپی تلیال دوازدهه است، لکن این تغییرات از نظر آماری معنی دار نبود($p>0.05$).

واژگان کلیدی: نیتریک اکساید، L-Arginine، L-NAME، سلول های اپی تلیال دوازدهه

مقدمه

نیتریک اکسید (Nitric oxide ,NO) گازی با نیمه عمر کوتاه است که اثرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی متنوعی برای آن گزارش شده است.در بسیاری از سیستم‌های بیولوژیکی بدن، NOبه عنوان یک مولکول پیام رسان عمل می‌کند و اثرات خود را از طریق تولید گوانوزین مونو فسفات حلقوی (Cyclic Guanosine Monophosphate ,cGMP) به جا می‌گذارد (۱).

تاکنون چند ایزوآنزیم سازنده NO به نام‌های نیتریک اکساید سنتاز (Nitric Oxide Synthase, NOS)، از قبیل نتیریک اکساید سنتاز القائی(Inducible NOS =iNOS)، نتیریک اکساید سنتاز اندوتلیالی (Endothelial NOS =eNOS) و نتیریک اکساید سنتاز عصبی (Neuoral NOS =nNOS) شناسایی شده‌اند (۲). دو فرم دیگر تشکیل‌دهنده آن نیز nNOS و eNOS هستند که در شرایط طبیعی به مقدار کم در انواع گوناگون سلول‌ها و بافت‌ها تولید می‌شوند ولی iNOS فرم القائی است و در شرایط التهاب و ایسکمی بیان می‌شود. تمامی این آنزیم‌ها به‌طور طبیعی از L-Arginine که یک اسید آمینه ضروری است به عنوان ماده پیش-ساز NO استفاده می‌کنند(۳). NOS قادر است L-Arginine را به نتیریک اکساید و L-Citrulline تبدیل کند. از طرفی NO قادر است با مولکول اکسیژن واکنش ایجاد کرده N_2O_3 تولید کند که این ماده باعث دآمینه شدن DNA می‌شود(۴). علاوه بر این N_2O_3 می‌تواند با مولکول‌های اکسیژن دیگری مانند سوپراکسید (O_2) واکنش ایجاد کرده پراکسی نیتریت ($ONOO^-$) تولید کند که این ماده برای سلول‌ها بسیار مضر هستند(۵). در حالی‌که NO در غلظت بالا سیتوتوکسیک شناخته شده است(۶)، اخیراً مشخص شده است که می‌تواند سلول‌های بدن را در برابر اکسیدانت‌ها حفاظت کند(۷).

نیتریک اکساید در سیستم‌های بیولوژیک بدن اثرات متفاوتی دارد به‌طوری که در سیستم قلبی عروقی به عنوان فاکتور شل کننده عروقی مشتق شده از آندوتلیوم (Endothelium Derived Relaxing Factor ,EDRF) عمل کرده (۸) و در سیستم عصبی مرکزی به عنوان یک نوروترانسمیتر عمل می‌کند. از طرف دیگر، NO در سمیّت سلولی با واسطه نوتروفیل، تجمع پلاکتی، جریان خون، انتقال سیناپسی و تقویت حافظهٔ طولانی مدت نقش دارد (۹و۱۰) و در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک سیستم تناسلی از جمله تخمک گذاری و قاعدگی (۱۱) و ظرفیت یابی و تحرک اسپرم(۱۲) ایفای نقش می‌کند. مولکول NO در سیستم گوارش نیز نقش حفاظتی داشته و در ترشح، جذب و حرکات دستگاه گوارش مؤثر است (۱۳).

اپی‌تلیوم دستگاه گوارش از جمله روده کوچک اولین خط دفاعی در برابر ورود میکروارگانیسم‌ها، آنتی ژن‌های بیگانه و توکسین‌ها به داخل بدن است. اپی‌تلیوم روده‌ای هر ۵-۳ روز تجدید می‌شود و هموستازی آن وابسته به تعادل بین تکثیر و مرگ سلولی است؛ گاهی این عملکرد فیزیولوژیکی تحت شرایط پاتولوژیک از قبیل التهاب و ایسکمی آسیب می‌بیند که با تغییرات بافتی روده از جمله آپوپتوز همراه است(۱۴). شواهد موجود نشان می‌دهند که NO در بسیاری از سلول‌ها از جمله سلول‌های اپی‌تلیال تشکیل می‌شود و به عنوان مولکول پیام‌رسان داخل و خارج‌سلولی عضلات صاف دستگاه گوارش و عروق و میانجی مهمی در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژی و التهابی است (۱۵). همچنین NO به عنوان تعدیل-کننده عملکرد سلول‌های مختلف از قبیل سلول‌های اپی‌تلیال و اندوتلیال، ماست سل‌ها و لکوسیت‌ها عمل می کند که به طور طبیعی در مخاط دستگاه گوارش وجود دارند (۱۶).

با توجه به نقش گسترده نیتریک اکسید در عملکردهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک اعضا و بافت‌های مختلف بدن و از جمله دخالت آن در فیزیولوژی مناطق آناتومیکی متفاوت دستگاه گوارش، مطالعه حاضر به بررسی اثرات تجویز جداگانه و همزمان دو ترکیب L-Arginine و L-NAME بر ارتفاع و تعداد سلول‌های اپی‌تلیال دوازدهه می پردازد.

روش کار

این مطالعه از نوع تجربی مداخله‌ای (Experimental) بوده و در حیوان‌خانه گروه آناتومی و آزمایشگاه هیستوتکنیک بخش بافت‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. ۴۰ سر موش صحرایی ماده نژاد Sprague Dawley با سن متوسط ۸ هفته و وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از خانه حیوانات دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه شدند. ضمن رعایت قوانین بین المللی حمایت از حیوانات و در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی ، آب و غذای کافی در اختیار حیوانات قرار داده شد. موش‌ها پس از سازگاری با شرایط حیوان خانه، به طور تصادفی به پنج گروه هشت تایی به ترتیب زیر تقسیم شدند:

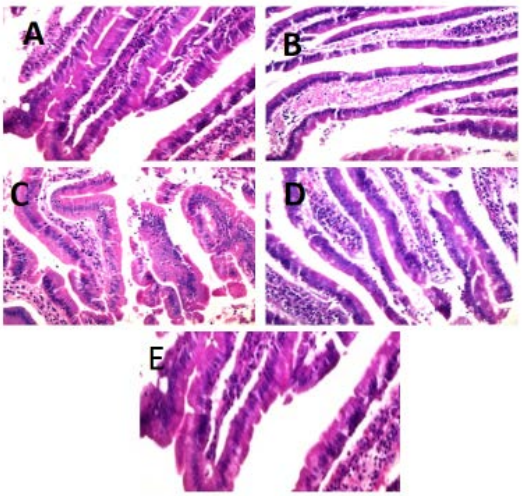
گروه اول به عنوان گروه کنترل هیچ ماده‌ای دریافت نکرد، گروه دوم، ۲ میلی لیتر بر کیلوگرم نرمال سالین، گروه سوم ۲۰۰ میلی لیتر بر کیلوگرم L-Arginine (Sigma-Aldrich Co.)، گروه چهارم ۲۰ میلی لیتر بر کیلوگرم L- (Sigma-Aldrich Co.) NAME و گروه پنجم ترکیبی از۲۰۰ میلی لیتر بر کیلوگرم L-Arginine و ۲۰ میلی لیتر بر کیلوگرم L- NAME به صورت داخل صفاقی به مدت ۳ روز دریافت کردند(۱۷). برای تهیه محلول L-Arginine و L-NAME و ترکیب این دو ماده، مقادیر

مشخص شده‌ای از این مواد در دو میلی لیتر محلول نرمال سالین حل شد(۱۸). پس از دو هفته، موش‌ها با اتر بیهوش و قطع نخاع شدند؛ دوازدهه از شکم خارج و در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد. پس از انجام مراحل پاساژ بافتی و قالب‌گیری پارافینی، برش‌هایی با ضخامت ۶-۵ میکرون تهیه شد. نمونه‌ها پس از رنگ‌آمیزی معمولی (H&E) برای مطالعات کمی آماده شدند(۱۹).

برای بررسی‌ها از میکروسکوپ نوری (الیمپوس مدل CX31 ساخت ژاپن) و اندازه‌گیری‌های مورفومتریک استفاده شد. بررسی-های آماری توسط بکارگیری نرم افزار SPSS (Version 23.0) و آزمونTukey HSD و آنالیز واریانس یک طرفه انجام شد. داده‌ها به صورت Mean±SD بیان و p value کمتر از ۰/۰۵ به لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

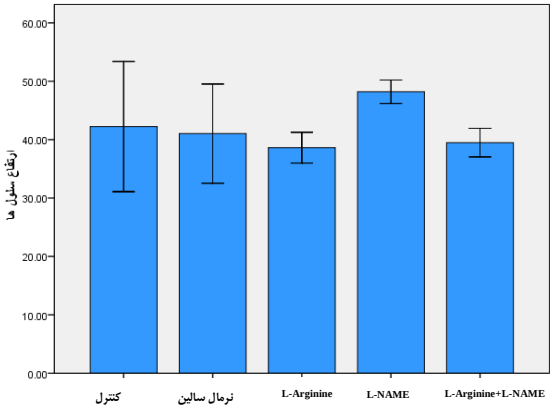
یافته‌ها

از تمامی گروه‌ها فتومیکروگراف تهیه و بر روی آن‌ها بررسی‌های هیستولوژیک و مورفومتریک انجام شد (شکل۱). جدول شماره ۱ میانگین ارتفاع و تعداد سلول‌های اپی‌تلیال درگروه‌های کنترل، نرمال سالین، L-Arginine، L-NAME و L-Arginine و L-NAME را نشان می‌دهد.

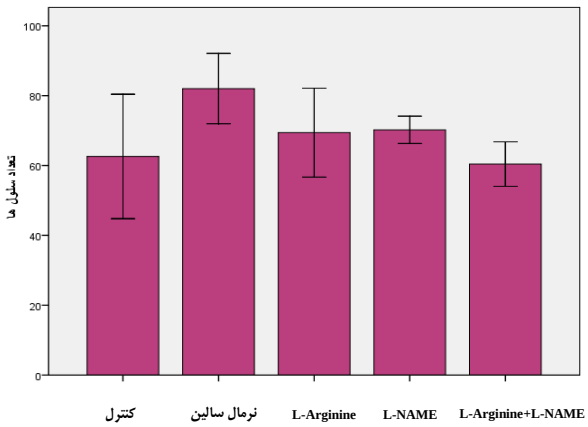


شکل ۱ .برش‌های بافتی دوازدهه گروه‌های مختلف که در آن حرف A گروه کنترل، حرف B گروه L-Arginine، حرف C گروه L-Arginine +L-NAME حرف D گروه L-NAME و حرف E گروه نرمال سالین را نشان می‌دهد (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی x۴۰۰).

نتایج این مطالعه افزایشی را در ارتفاع و تعداد سلول‌های اپی‌تلیال در گروه L-NAME در مقایسه با گروه کنترل و سایر گروه‌ها نشان داد؛ همچنین کاهشی در ارتفاع سلول‌های اپی‌تلیال در گروه L-Arginine در مقایسه با گروه کنترل کاهش دیده شد، ولی همان‌گونه که در شکل های ۲ و ۳ نیز مشاهده می‌شود، این تفاوت ها معنی‌دار نبود(P>0.05) .



شکل۲. مقایسه ارتفاع سلول‌های اپی‌تلیال دوازدهه در گروه‌های مورد مطالعه (N=۴۰) که علیرغم تغییرات مشاهده شده، این تغییرات تفاوت آماری معنی داری در بین هیچکدام از گروه‌ها را نشان نمی‌دهد.



شکل ۳.مقایسه تعداد سلول‌های اپی‌تلیال دوازدهه در گروه‌های مورد مطالعه که علیرغم تغییرات مشاهده شده، این تغییرات تفاوت آماری معنی‌داری در بین هیچکدام از گروه‌ها را نشان نمی‌دهد.

جدول ۱: ارتفاع و تعداد سلول‌های اپی‌تلیال به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

	میانگین ± انحراف معیار					
متغیر گروه	کنترل	نرمال سالین	L-Arginine	L-NAME	L-Arginine + L-NAME	P-Value
ارتفاع سلول‌های اپی‌تلیال (میکرومتر)	۱۲/۴۵±۴۲/۲۳	۹/۴۹±۴۱/۰۴	۲/۹۴±۳۸/۶۳	۲/۲۶±۴۸/۱۹	۲/۷۳±۳۹/۴۹	N.S *
تعداد سلول‌های اپی‌تلیال (میکرومتر)	۱۹/۹۱±۶۲/۶۰	۱۱/۲۴±۸۲	۱۴/۲۴±۶۹/۴۰	۴/۳۸±۷۰/۲۰	۷/۱۲±۶۰/۴۰	N.S *

* (N.S): اختلاف معنی دار نیست.

بحث

تحقیقات صورت گرفته در مورد اثر NO بر اپی‌تلیوم روده کوچک نتایج متناقضی را نشان می‌دهند؛ این اختلاف نظر ممکن است به دلیل حساس بودن ماده به کار گرفته شده یا کوتاه بودن نیمه عمر آن و یا اختلاف در دوزهای به کار رفته، مدت و روزهای مداخله، شرایط ساختمانی روده کوچک و نیز نوع مدل آزمایشگاهی انتخاب شده باشد.

نتایج مطالعه حاضر در رابطه با اثر L-Arginine بر ارتفاع و تعداد سلول‌های اپی‌تلیال دوازدهه، تغییر معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد؛ بررسی‌ها نشان داده است که تزریق روده‌ای آرژینین، رشد مخاط روده را تنها کمی افزایش می‌دهد و در سنتز پروتئین و تکثیر سلولی، تغییر معنی‌داری ایجاد نمی‌کند (۲۰). البته نتایج مطالعات دیگر نیز نشان داده که سطوح بالای NO ناشی از iNOS می‌تواند موجب آسیب سلول‌های اپی‌تلیال دوازدهه شود(۲۱). این نتایج همچنین با بررسی محققان دیگر که نشان داده‌اند NO با آپوپتوز روده در شرایط سلامت و بیماری در ارتباط است، مطابقت دارد. ایـن ماده با توجه به نوع سلول و میزان غلظتش عملکرد تنظیمی دوگانه‌ای بر آپوپتوز دارد؛ به‌طوری که در سطوح پایین با اثر ضد آپوپتوزی و در التهاب و بیماری‌های دژنراتیو عصبی با اثر آپوپتوزی همراه است(۲۲). در حالی‌که بررسی‌های دیگر محققان نشان می‌دهند که آرژینین اثرات مفیدی بر عملکرد روده دارد؛ چرا که اسیدآمینه اصلی پیش‌ساز پلی آمین‌های ضروری برای ترمیم روده، افزایش دهنده مهاجرت سلولی، فعال‌کننده سنتز پروتئین و تنها پیش‌ساز فیزیولوژیکی برای NO است. سنتز نیتریک اکساید از طریق در دسترس بودن آرژینین تنظیم می‌شود و مقادیر پایین آرژینین منجر به کاهش سنتز NO و کاهش جریان خون در روده کوچک موش صحرایی می‌شود؛ به کار بردن آرژینین موجب افزایش تولید سرمی NO، افزایش جریان خون روده‌ای و کاهش آسیب مخاطی در موش صحرایی می‌شود(۲۰). همچنین با توجه مطالعات به نظر می‌رسد که NO می‌تواند به عنوان یکی از فاکتورهای میتوژن دخیل در تکثیر اپی‌تلیوم روده باشد(۲۳).

در این تجربه نشان داده شد که استفاده از L-NAME باعث افزایش در ارتفاع و تعداد سلول‌های اپی‌تلیال دوازدهه در مقایسه با گروه کنترل می‌شود که البته این تغییر معنی‌دار نبود. در مطالعه‌ای نیز نشان داده شد که L-NAME موجب افزایش معنی‌دار ارتفاع و تکثیر سلول‌های اپی‌تلیال روده کوچک می‌شود و به نظر می رسد مقدار آن برای توقف تولید NO کافی نیست؛ در حالی‌که گزارشات دیگران نشان می‌دهد که L-NAME موجب کاهش تکثیر سلولی می‌شود و می‌تواند به عنوان عامل جلوگیری‌کننده شیمیایی مؤثر در سرطان کولون باشد (۱۷).

در مطالعه حاضر در گروه‌هایی که در معرض ترکیب L-Arginine و L-NAME بودند، ارتفاع و تعداد سلول‌های اپی‌تلیال دوازدهه در مقایسه با گروه کنترل تغییر معنی‌داری را نشان نداد. در مطالعات دیگر نیز گزارش شده که L-NAME می‌تواند باعث توقف جذب روده‌ای L–Arginine و یا افزایش تجزیه آن شود(۲۰). بررسی های دیگر نیز نشان داده اند که L– Arginine برون زاد، از اثر مهارکننده‌های سنتز NO بر بازسازی اپی‌تلیوم پایه جلوگیری می کند (۲۴).

در مجموع نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که L-Arginine و L-NAME علیرغم توان ایجاد تغییر در گروه‌های مختلف کنترل و تجربی، فاقد تأثیر توان ایجاد تغییر تعیین کننده‌ای بر ارتفاع و تعداد سلول‌های اپی‌تلیال دوازدهه است. به این معنی که ارتفاع و تعداد سلول‌های اپی‌تلیال در گروه دریافت‌کننده L-NAME افزایش نشان داد، ولی این اختلاف معنی‌داری نبود ($p>0.05$). همچنین در گروه دریافت‌کننده L-Arginine نیز ارتفاع سلول‌های اپی‌تلیال کاهش نشان داد، ولی اختلاف معنی‌داری را با سایر گروه‌ها نشان نداد ($p>0.05$). با توجه به ویژگی‌های خاص ملکول نیتریک اکساید که دارای نیمه عمر کوتاهی است، شاید لازم باشد که در تحقیقات بعدی میزان دوز تزریقی و زمان مؤثر برای تأثیر گذاری این ملکول بر عملکرد و در نتیجه ارتفاع و میزان تکثیر سلولی سلول‌های پوششی دوازدهه، یعنی افزایش تعداد آن‌ها بیشتر شود تا تغییراتی که در تجربه حاضر مشاهده شده، ولی معنی دار نبوده است خود را به صورت معنی دار نشان دهد.

منابع

1. Becerril S, Rodríguez A, Catalán V, Ramírez B, Unamuno X, Portincasa P, Gómez-Ambrosi J, Frühbeck G. Functional Relationship between Leptin and NitricOxide in Metabolism. Nutrients 2019; 11(9): 2129.
2. Weckman AM, McDonald CR, Baxter JAB, Fawzi WW, Conroy AL, Kain KC Perspective: L-arginine and L-citrulline Supplementation in Pregnancy: A Potential Strategy to Improve Birth Outcomes in Low-Resource Settings. Adv Nutr 2019; 10(5): 765–777.
3. Bignon E, Rizza S, Filomeni G, Elena Papaleo E. Use of Computational Biochemistry for Elucidating Molecular Mechanisms of Nitric Oxide Synthase. Comput Struct Biotechnol J 2019; 17: 415–429.
4. Ramachandran J, Peluffo RD Threshold levels of extracellular L-arginine that trigger NOS-mediated ROS/RNS production in cardiac ventricular myocytes. Am J Physiol Cell Physiol 2017; 312(2): C144–C154.

5. Strohm E, Herzner G, Ruther J, Kaltenpoth M, Engl. Nitric oxide radicals are emitted by wasp eggs to kill mold fungi. ELife 2019; 8: e43718.
6. Godínez-Rubí M, Rojas-Mayorquín AE , Ortuño-Sahagún D, Nitric Oxide Donors as Neuroprotective Agents after an Ischemic Stroke-Related Inflammatory Reaction. Oxid Med Cell Longev 2013; 2013: 297357.
7. Zhao Y, Vanhoutte PM, Leung SW. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. J Pharmacol Sci 2015; 129(2):83-94.
8. Joseph Loscalzo. The Identification of Nitric Oxide as Endothelium-derived Relaxing Factor. Circ Res 2013; 113(2): 100–103.
9. Džoljić E, Grabatinić I, Kostić V. Why is nitric oxide important for our brain? Funct Neurol 2015; 30(3): 159–163.
10. Beckhauser TF, Francis-Oliveira J, De Pasquale RD. Reactive Oxygen Species: Physiological and Physiopathological Effects on Synaptic Plasticity. J Exp Neurosci 2016; 10(Suppl 1): 23–48.
11. Antczak A, Ciebiada M, Kharitonov SA, Gorski P, Barnes PJ. Inflammatory Markers: Exhaled Nitric Oxide and Carbon Monoxide During the Ovarian Cycle. Inflammation 2012; 35(2): 554–559.
12. Lanas A. Role of nitric oxide in the gastrointestinal tract. Arthritis Res Ther 2008; 10(supp2):S4.
13. Ito J, Uchida H, Yokote T, Ohtake K, Kobayashi J. Fasting-induced intestinal apoptosis is mediated by inducible nitric oxide synthase and interferon-γ in rat. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2010; 298: G916–G926.
14. Kenton M Sanders KM, Ward SM. Nitric oxide and its role as a non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory neurotransmitter in the gastrointestinal tract. Br J Pharmacol 2019; 176(2): 212–227.
15. Grasa L, Rebollar E, Arruebo MP, Plaza MA, Murillo MD. The role of NO in the contractility of rabbit small intestine in vitro: effect of K+ channels. Journal of Physiology and Pharmacology 2005; 56, 3, 407-419.
16. Sanchez LC. Disorders of the Gastrointestinal System. Equine Internal Medicine. 2018 : 709–842
17. Noori Mugahi SMH, Azar Nia M, Ghobeh Mohager N. Effects of nitric oxide on qualitative and quantitative differentation of mouse uterus. Iranian Anat Scenic J 2004; 2(1): 61-67. (Persian)
18. Motta AB, Estevez A. Regulation at lipid per oxidation by nitric oxide and PGF2 α during Luteal regression in rats. Reproduction 2001; 121:631-637.
19. Noori SMH, Mahmmoudzadeh Sagheb HR, Heidari Z. Applied methods and terminology of histotechnique, stereology & morophology. 3rd ed.Tehran; Tehan University of Medical Sciences Publications 2009;71, 95-98. (Persian).
20. Puiman PJ, Stoll B, van Goudoever JB, Burrin DG. Enteral Arginine Does Not Increase Superior Mesenteric Arterial Blood Flow but Induces Mucosal Growth in Neonatal Pigs. J Nutr 2011; 141(1):63-70.
21. Rumbo M, Courjault-Gautier F, Sierro F, Sirard JC, Felley-Bosco E. Polarized distribution of inducible nitric oxide synthase regulates activity in intestinal epithelial cells. FEBS J 2005; 272(2): 444–453.
22. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease. Physiol Rev 2007; 87(1): 315–424.
23. Akgun-Dar K, Balci H, Yagci A, Kapucu A, Uyaner I. Effects of leptin on the epithelial cell proliferation from the small intestine and nitric oxide (NO) production in rats. Revue Méd. Vé 2007; 158: 161-168.
24. Goodkin JL, Rhoads JM, Argenzio RA. Inducible nitric oxide synthase mediates early epithelial repair of porcine ileum. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2002; 283: G157-G168.