



Effects of L-Arginine and L-Nitro-Arginine Methyl Ester (L-NAME) on the Diameter and Number of Pulmonary Alveoli in Female Sprague-Dawley Rats

Vahid Kazemi¹ , Seyed Mohammad Hossein Noori Mougahi (Ph.D)^{2,3} , Parmida Seraj¹

Fatemeh Mohammadi¹ , Atarodalsadat Mostafavinia (Ph.D)^{*4}

¹ Medical Student, TeMS.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran. ² Professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. ³ Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Ahv.C., Ahvaz, Iran. ⁴ Associate Professor, Department of Anatomical Sciences & Cognitive Neuroscience, TeMS.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Research Article

Abstract

Background and Objective: Impairment in nitric oxide (NO) production can culminate in pathological conditions, such as pulmonary hypertension, acute respiratory distress syndrome (ARDS), and chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The present study aimed to investigate the effects of L-arginine and L-nitro-arginine methyl ester (L-NAME) on the diameter and number of pulmonary alveoli in female rats.

Methods: In this experimental study, 32 female Sprague-Dawley rats, aged 8 weeks and weighing 200–250 g, were randomly divided into four groups of eight. Group 1 received normal saline (2 ml/kg body weight [BW]), Group 2 received L-arginine (200 mg/kg BW), Group 3 received L-NAME (20 mg/kg BW), and Group 4 received a combination of L-arginine (200 mg/kg BW) and L-NAME (20 mg/kg BW) via intraperitoneal injection for two weeks. The animals were then anesthetized, and their lungs were excised. After fixation and tissue processing, histological sections were stained with hematoxylin and eosin (H&E) to evaluate the resulting changes. To obtain quantitative data regarding the diameter and number of alveoli, ImageTool III software was utilized.

Results: Injection of L-NAME and L-Arginine led to a non-significant decrease in the mean diameter of pulmonary alveoli. L-Arginine exerted the greatest effect and L-NAME had the least effect on the number of pulmonary alveoli; however, these changes were not statistically significant.

Conclusion: Injection of L-Arginine and L-NAME had no significant effect on the diameter and number of pulmonary alveoli in female rats.

Keywords: Nitric Oxide; Arginine; NG-Nitroarginine Methyl Ester; Pulmonary Alveoli; Rats

*Corresponding Author: Atarodalsadat Mostafavinia (Ph.D), E-mail: a.mostafavinia@iautmu.ac.ir



Received 17 May 2025 Received in revised form 17 Jul 2025 Accepted 22 Sep 2025 Available Online 15 Jul 2026

Cite this article as: Kazemi V, Hossein Noori Mougahi SM, Seraj P, Mohammadi F, Mostafavinia A. [Effects of L-Arginine and L-Nitro-Arginine Methyl Ester (L-NAME) on the Diameter and Number of Pulmonary Alveoli in Female Sprague-Dawley Rats]. J Gorgan Univ Med Sci. 2026; 28(1): 1-8. [Article in Persian]





Introduction

Nitric oxide (NO) is a reactive gas with a short half-life, synthesized from amino acids, proteins, and nucleic acids. Following nitrogen fixation as nitrogen gas (N_2), NO can be converted into ammonium and various nitrogen oxides, among which nitrite ($-NO_2$) and NO are the most common and bioactive. Given the vital role of NO in maintaining pulmonary homeostasis, pulmonary alveoli are highly sensitive to alterations in NO availability. Alveolar epithelial cells depend on NO to maintain barrier function, regulate vascular tonus, and modulate inflammatory responses. Consequently, impairment in NO production can culminate in pathological conditions, such as pulmonary hypertension, acute respiratory distress syndrome (ARDS), and chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The reaction for its production is catalyzed by specific oxidoreductases, which are synthesized in the body by three distinct isoforms of the NO synthase (NOS) enzyme. The subtypes of this enzyme include inducible NOS (iNOS), endothelial NOS (eNOS), and neuronal NOS (nNOS).

L-arginine supplementation can enhance NO synthesis in various organs. According to established research, the correlation between oxygen and the synthesis of L-arginine amino acids, as well as the effects of hypoxia, has been proven. Consequently, the therapeutic effects of L-arginine amino acids and its precursors merit significant attention, and a wide range of physiological and pathological mechanisms in this regard have been the subject of research over the past half-century. L-arginine (2-amino-5-guanidinovaleric acid- arginine) is an endogenous and exogenous amino acid with high biocompatibility. It is primarily synthesized within the urea cycle, and its supplementation has been shown to improve the pathology of numerous clinical diseases. These findings highlight the significance of L-arginine in maintaining adequate NO levels and underscore its potential as a therapeutic agent in diverse clinical settings. By increasing NO production, L-arginine improves vital processes, such as vasodilation, neurological function, and immunity.

L-nitro-arginine methyl ester (L-NAME) is a non-selective NOS inhibitor commonly used in research to investigate the inhibitory effects of NO. Findings demonstrate that L-NAME itself slowly releases NO, potentially confounding its intended NOS inhibitory effects. The present study aimed to investigate the effects of L-arginine and L-NAME on the diameter and number of pulmonary alveoli in female rats.

Methods

This experimental study was conducted on 32 female Sprague-Dawley rats, aged 8 weeks and weighing 200-250 g.

The protocol for working with laboratory animals was strictly observed. To acclimatize the rats to the environment and prevent the effects of environmental stress on the experimental results, the animals were maintained under laboratory conditions (temperature of $22\pm 2^\circ\text{C}$ with a 12-hour light-dark cycle) for one week prior to the initiation of the experiment. Throughout the study, the housing conditions were identical for all animals. The animals were randomly divided into four groups of eight as follows:

Group 1: Received an intraperitoneal injection of normal saline (2 mL/kg BW).

Group 2: Received an intraperitoneal injection of L-arginine (200 mL/kg BW).

Group 3: Received an intraperitoneal injection of L-NAME (20 mL/kg BW).

Group 4: Received an intraperitoneal injection of a combination of L-arginine (200 mL/kg BW) and L-NAME (20

mL/kg BW).

L-arginine and L-NAME were purchased from Sigma-Aldrich, Germany.

To prepare the L-arginine and L-NAME solutions, as well as their combination, specified amounts of these substances were dissolved in 2 mL of normal saline solution. After two weeks, the rats were sacrificed under deep anesthesia, and their lungs were excised. The specimens were then fixed in 10% formalin. Following tissue processing and paraffin embedding, sections with a thickness of 5-6 microns were prepared from the lung tissue samples. After completing the aforementioned steps, routine hematoxylin and eosin (H&E) staining of the specimens was performed, and quantitative and qualitative studies were initiated. For the observation of lung tissue, necessary examinations, and obtaining qualitative results, an Olympus light microscope (CX31 Microscope, Japan) was utilized. Quantitative calculations were performed using ImageTool III software, obtained from the University of Texas Health Science Center at San Antonio.

To measure the diameter of the alveoli, two perpendicular diameters were first calculated using the aforementioned software. The mean diameter for each alveolus was then obtained, and the mean number of alveoli was calculated. Data were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) at a significance level of less than 0.05.

Results

By qualitatively comparing the number of pulmonary alveoli in the sections prepared from each sample across the four studied groups, a slight increase in the number was observed in the L-arginine group compared to the normal saline group. In the evaluation of pulmonary alveolar diameter, a slight decrease in alveolar diameter was observed in the group concurrently receiving both L-NAME and L-arginine compared to the group receiving L-NAME.

Quantitative comparison revealed that the normal saline group had the highest mean pulmonary alveolar diameter (530 μm), whereas the L-NAME (60 μm) and L-arginine (80 μm) groups exhibited a decrease in alveolar diameter. Considering that the administration of both L-NAME and L-arginine led to a reduction in the mean diameter of pulmonary alveoli, the most pronounced decrease in diameter belonged to the group that received the concurrent administration of both L-NAME and L-arginine. Overall, the mean pulmonary alveolar diameter of the various study groups indicated no statistically significant difference compared to the normal saline group.

In comparison to the normal saline group, the mean number of pulmonary alveoli showed a mean increase of 0.5 units in the L-arginine group and a decrease of 1 unit in the L-NAME group. A slight increase was observed in the group receiving the concurrent administration of both L-NAME and L-arginine. Ultimately, in the quantitative analysis of the mean number of pulmonary alveoli, no statistically significant difference was observed.

Conclusion

According to the results of the present study, the administration of L-arginine was associated with a relative increase in the number of alveoli, whereas the administration of L-NAME was accompanied by a relative decrease in their diameter. The mean diameter of the alveoli in the groups receiving the pharmacological compounds decreased compared to the normal saline group; however, these differences were not statistically significant. Although lacking statistical significance, these findings suggest a potential effect of the NO pathway on the alveolar process.



Small-molecule NOS inhibitors have been developed for the treatment of certain diseases. For instance, L-NAME, as a NOS inhibitor, has been shown to reduce lung tumor growth in vivo and exert a protective effect during lung injuries.

On the other hand, studies emphasize the importance of NO in the alveolarization process and the maintenance of alveolar structure.

According to the modeling study, the asymmetric branching distribution in the airways and variations in their diameter significantly impacts NO transport, airway resistance, and gas exchange. In particular, flow resistance in the distal regions of the lung can prevent the effective delivery of NO to the alveolar zones. This may be the primary reason for the lack of significant differences in alveolar structure observed in the present study. As shown in a study on patients with cystic fibrosis, a decrease in alveolar-capillary conductance for NO and impairment in its diffusing capacity during physical activity culminate in oxygen desaturation. This study also emphasizes the importance of microscopic and functional structures.

On the other hand, the effect of L-NAME as a NO synthesis inhibitor remains a subject of controversy. While some studies have characterized it as a destructive agent, demonstrating that NO inhibition can disrupt pulmonary functional equilibrium and exacerbate tissue damage, in the present study, the absence of significant changes may be attributed to the dosage, timing, or

half-life of the administered drug.

Ethical Statement

This study was approved by the Research Ethics Committees of Tehran Islamic Azad University of Medical Sciences (IR.IAU.TMU.REC.1403.092).

Authors' Contributions

Vahid Kazemi: Project execution and Data collection.

Seyed Mohammad Hossein Noori Mougahi (Ph.D): Project administration and design and Approval of the final manuscript.

Parmida Seraj: Data collection and Drafting of the initial manuscript.

Fatemeh Mohammadi: Data collection and Drafting of the initial manuscript.

Atarodalsadat Mostafavinia (Ph.D): Data analysis, Interpretation of the results and Approval of the final manuscript.

Conflicts of Interest

No conflicts of interest.

Acknowledgement

This article has been extracted from the doctoral dissertation of Mr. Vahid Kazemi (approval No. 162761568) in Doctor of Medicine (M.D.) at Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences Branch.

Injection of L-arginine and L-NAME has no effect on the diameter and number of pulmonary alveoli in female rats.



تحقیقی

اثر L-NAME و L-Arginine بر قطر و تعداد آلوئول‌های ریه

موش‌های صحرایی ماده نژاد Sprague Dawley

وحید کاظمی^۱ ID، سیدمحمدحسین نوری موگهی^{۲و۳} ID،
پارمیدا سراج^۱ ID، فاطمه محمدی^۱ ID، عطاردالسادات مصطفوی‌نیا^{۴*} ID

۱ دانشجوی رشته پزشکی، دانشکده پزشکی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. ۲ استاد، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ۳ گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران. ۴ دانشیار، گروه علوم تشریحی و علوم اعصاب شناختی، دانشکده پزشکی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: اختلال در تولید نیتریک اکساید می‌تواند به شرایط پاتولوژیک مانند پرفشاری خون ریوی، سندرم دیسترس تنفسی حاد (ARDS) و بیماری مزمن انسدادی ریه (COPD) منجر شود. این مطالعه به منظور تعیین اثر L-Arginine و L-NAME بر قطر و تعداد آلوئول‌های ریه موش‌های صحرایی ماده انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۳۲ سر موش صحرایی ماده نژاد Sprague Dawley با سن ۸ هفته و وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم در چهار گروه هشت تایی تقسیم شدند. گروه اول نرمال سالین ۲ml/kg/bw، گروه دوم ال-آرژنین ۲۰۰mg/kg/bw، گروه سوم ماده L-NAME ۲۰mg/kg/bw و گروه چهارم ترکیبی از ال-آرژنین ۲۰۰mg/kg/bw و ماده L-NAME ۲۰mg/kg/bw را به صورت داخل صفاقی به مدت دو هفته دریافت کردند. سپس حیوانات بیهوش شده و ریه‌ها از بدن خارج و پس از فیکساسیون و پاساژ بافتی، برش‌ها با هماتوکسیلین-ئوزین (H&E) رنگ‌آمیزی و تغییرات حاصله مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور دستیابی به اطلاعات کمی قطر و تعداد آلوئول‌ها از نرم‌افزار Image Tools III استفاده شد. یافته‌ها: تزریق L-NAME و L-Arginine منجر به کاهش غیرمعنی‌دار میانگین قطر آلوئول‌های ریه گردید. L-Arginine بیشترین اثر و L-NAME کمترین اثر را تعداد آلوئول‌های ریه داشتند و این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: تزریق L-Arginine و L-NAME اثری بر تعداد و قطر آلوئول‌های ریه موش‌های صحرایی ماده نداشت.

واژه‌های کلیدی: نیتریک اکساید، آرژنین، ان‌جی-نیتروآرژنین متیل استر، آلوئول‌های ریه، موش‌های صحرایی

* نویسنده مسئول: دکتر عطاردالسادات مصطفوی‌نیا، پست الکترونیکی: a.mostafavinia@gmail.com و a.mostafavinia@iautmu.ac.ir

نشانی: تهران، خیابان شریعتی، خیابان قاجاری، خیابان رودکی جنوبی، بن بست خلیلی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریحی و اعصاب شناختی، دانشکده پزشکی
تلفن ۰۲۱-۲۲۰۰۶۶۶۰۷-۷

وصول	۱۴۰۴/۲/۲۷	اصلاح نهایی	۱۴۰۴/۴/۲۶	پذیرش	۱۴۰۴/۶/۳۱	انتشار	۱۴۰۵/۴/۲۴
------	-----------	-------------	-----------	-------	-----------	--------	-----------

مقدمه

نیتریک اکساید یک گاز واکنش‌پذیر با نیمه عمر کوتاه است که از اسید آمینه، پروتئین و اسید نوکلئیک ساخته شده است.^۱ نیتریک اکساید پس از تثبیت نیتروژن به عنوان گاز نیتروژن (N₂) می‌تواند به آمونیم و انواع اکسیدهای نیتروژن تبدیل شود که در میان آنها نیتريت (NO₂-) و NO رایج‌تر و زیست‌فعال‌تر هستند.^۲ با توجه به نقش حیاتی NO در حفظ هموستاز ریوی، آلوئول‌های ریه به تغییرات در دسترسی NO بسیار حساسند. سلول‌های اپی‌تلیال آلوئول برای حفظ عملکرد سد، تنظیم تونوس عروقی و تعدیل پاسخ‌های التهابی به NO وابسته هستند. بنابراین، اختلال در تولید NO می‌تواند به شرایط پاتولوژیک مانند پرفشارخون ریوی، سندرم

دیسترس تنفسی حاد (ARDS) و بیماری مزمن انسدادی ریه (COPD) منجر شود.^۳ واکنش تولید آن توسط اکسیدوردوکتازهای خاص، کاتالیز می‌شود که این آنزیم‌ها توسط سه زیرگروه مجزا از آنزیم نیتریک اکساید سنتاز (NOS) در بدن ساخته می‌شوند. زیرگروه‌های این آنزیم شامل نیتریک اکساید سنتاز القایی (iNOS)، نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیالی (eNOS) و نیتریک اکساید سنتاز عصبی (nNOS) است.^۴

مکمل ال-آرژنین می‌تواند سنتز نیتریک اکساید را در اعضای مختلف افزایش دهد.^۵ طبق تحقیقات انجام شده، ارتباط اکسژن با سنتز اسیدهای آمینه ال-آرژنین و اثرات هاپوکسی ثابت شده و اثرات درمانی اسیدآمینه ال-آرژنین و پیش‌سازهای آن شایسته توجه

به منظور تهیه محلول L-Arginine و L-NAME و ترکیب این دو ماده، مقادیر مشخص شده‌ای از این مواد، در دو میلی‌لیتر محلول نرمال سالین حل شد. پس از دو هفته موش‌ها با بیهوشی عمیق، قربانی شده و ریه‌ها از بدن خارج شدند. سپس نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد. پس از انجام مراحل پاساژ بافتی و قالب‌گیری پارافینی، برش‌هایی با ضخامت ۵-۶ میکرون از نمونه‌های بافتی ریه تهیه گردید. پس از طی مراحل فوق، رنگ‌آمیزی معمولی نمونه‌ها به روش هماتوکسیلین-ئوزین (H&E) انجام و مطالعات کمی و کیفی آغاز شد. برای مشاهده بافت ریه و بررسی‌های لازم و کسب نتایج کیفی، از میکروسکوپ نوری Olympus (CX31 Microscop) ساخت ژاپن استفاده شد. برای انجام محاسبات کمی از نرم‌افزار Image Tools III تهیه شده از مرکز سلامت سان آنتونیو دانشگاه تگزاس استفاده شد.

برای اندازه‌گیری قطر آلئول‌ها ابتدا دو قطر عمود برهم توسط نرم‌افزار فوق‌الذکر محاسبه و سپس میانگین قطرهای در هر آلئول به‌دست آمد و میانگین تعداد آلئول‌ها محاسبه شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-21 و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

با مقایسه کیفی تعداد آلئول‌های ریه در برش‌های تهیه شده از هر نمونه در چهار گروه مورد مطالعه، افزایش اندک تعداد، در گروه ال-آرژنین نسبت به نرمال سالین مشاهده شد (شکل یک). در بررسی قطر آلئول‌های ریه، در گروه دریافت‌کننده همزمان هر دو ماده L-Arginine و L-NAME کاهش اندک قطر آلئول‌ها نسبت به گروه دریافت‌کننده L-NAME مشاهده شد (شکل ۲). با مقایسه کمی گروه نرمال سالین بیشترین میانگین قطر آلئول ریه (۵۳۰ میکرومتر) را داشتند و گروه L-NAME (۶۰ میکرومتر) و L-Arginine (۸۰ میکرومتر) کاهش در قطر آلئول‌ها را نشان دادند. با توجه به این که تزریق L-Arginine و L-NAME هر دو، منجر به کاهش میانگین قطر آلئول‌های ریه شدند؛ بیشترین کاهش قطر متعلق به گروه دریافت‌کننده همزمان هر دو ماده L-NAME و L-Arginine بود (جدول یک). به‌طور کلی میانگین قطر آلئول‌های ریه گروه‌های مختلف مورد مطالعه با گروه نرمال سالین، تفاوت آماری معنی‌داری نشان ندادند (نمودار یک).

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار قطر و تعداد آلئول‌های ریه موش‌های صحرایی ماده به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	قطر آلئول‌ها	تعداد آلئول‌ها
Normal Saline	۵۲۹/۸۱±۱۵۲/۲۵	۱۵/۰±۰/۸۰۷
L-NAME	۴۸۲/۶۲±۱۰۷/۲۱	۱۴/۰±۰/۸۰۷
L-Arginine	۴۴۹/۳۲±۷۱/۶۲	۱۵/۶±۱/۱۴۰
L-NAME& L-Arginine	۴۰۱/۰۷±۱۴۲/۲۴	۱۵/۲±۱/۶۴۳

است و طیف گسترده‌ای از مکانیسم‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک در این رابطه، موضوع تحقیقات در طول نیم قرن گذشته بوده است.^{۶،۷} ال-آرژنین (L-Arginine, 2-Amino-5-guanidinovaleric acid- Arginine) اسید آمینه درون‌زا و برون‌زا با زیست‌سازگاری بالا است که عمدتاً در چرخه اوره تشکیل می‌شود.^۸ و در پاتولوژی بسیاری از بیماری‌ها در عمل بالینی با مکمل ال-آرژنین بهبود می‌یابد.^۹ این یافته‌ها اهمیت ال-آرژنین را در حفظ سطح کافی نیتریک اکساید و پتانسیل آن به عنوان یک عامل درمانی در محیط‌های بالینی مختلف برجسته می‌کند. ال-آرژنین با افزایش تولید نیتریک اکساید، فرآیندهای حیاتی مانند اتساع عروق، عملکرد عصبی و ایمنی را بهبود می‌بخشد. L-NAME، یک مهارکننده غیرانتخابی نیتریک اکسید سنتاز (NOS) است که معمولاً در تحقیقات برای مطالعه اثرات مهار نیتریک اکساید استفاده می‌شود. یافته‌ها نشان می‌دهد که خود L-NAME به آرامی NO رت آزاد می‌کند که به‌طور بالقوه اثرات مهار NOS مورد نظر آن را مختل می‌کند.^{۱۰} این مطالعه به منظور تعیین اثر L-Arginine و L-NAME بر قطر و تعداد آلئول‌های ریه موش‌های صحرایی ماده انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۲ سر موش صحرایی ماده نژاد Sprague Dawley با سن ۸ هفته و وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم تهیه شده از خانه حیوانات دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران در گروه علوم تشریحی و علوم اعصاب شناختی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران طی سال ۱۴۰۲ انجام شد.

پروتکل کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. برای سازگاری موش‌ها با محیط و جلوگیری از اثر استرس‌های محیطی بر نتایج آزمایشات، قبل از شروع آزمایش، به مدت یک هفته تحت شرایط آزمایشگاهی (دمای ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد با شرایط ۱۲ ساعته روشنایی - تاریکی) نگهداری شدند تا با محیط جدید سازگار شوند. در طول تحقیق شرایط زیستی برای تمامی حیوانات یکسان بود. حیوانات به چهار گروه هشت‌تایی به شرح زیر تقسیم شدند.

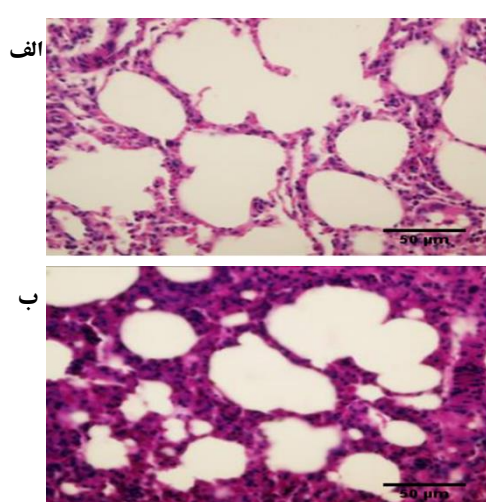
گروه اول: دریافت‌کننده درون صفاقی ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن نرمال سالین.

گروه دوم: دریافت‌کننده درون صفاقی ۲۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم L-Arginine.

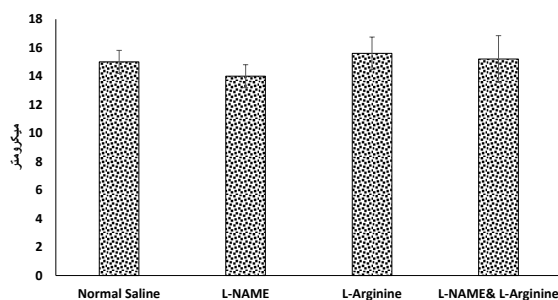
گروه سوم: دریافت‌کننده درون صفاقی ۲۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن L-NAME.

گروه چهارم: دریافت‌کننده درون صفاقی ترکیبی از ۲۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن L-Arginine و ۲۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن از ماده L-NAME.

L-Arginine و L-NAME ساخت شرکت سیگمای آلمان بودند.



شکل ۲: الف) بافت ریه پس از دریافت L-NAME، ب) بافت ریه پس از دریافت همزمان L-Arginine و L-NAME (بزرگ‌نمایی $\times 400$ ، رنگ‌آمیزی H&E)

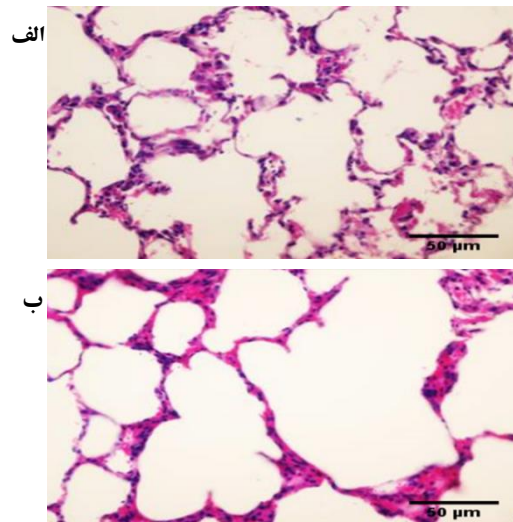


نمودار ۲: مقایسه میانگین و انحراف معیار تعداد آئینول‌های ریه موش‌های صحرایی ماده به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه

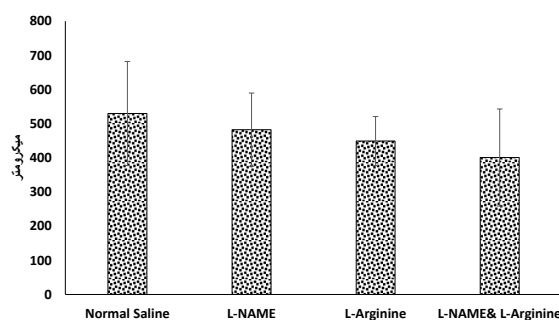
می‌دهد^{۱۱} و در جریان آسیب‌های ریوی اثر حفاظتی دارد.^{۱۲} از سوی دیگر مطالعاتی بر اهمیت NO در فرایند آئینولاریزاسیون و حفظ ساختار آئینول تاکید دارند. به طور مثال Jin و همکاران گزارش کردند که کاهش NO منجر به اختلال در رشد آئینول‌ها می‌شود.^{۱۳} همچنین Ding و همکاران نشان دادند که سیگنال‌های اندوتلیالی مشتق از NO در القا و حفظ نوسازی آئینولی نقش دارند.^{۱۴} این یافته‌ها نشان می‌دهد که NO نه تنها در بیماری‌ها بلکه در رشد و تکامل طبیعی ریه نیز مؤثر است.

با توجه به مطالعه Young و همکاران مهار سنتز NO توسط L-NAME می‌تواند منجر به کاهش فرآیندهای رشد و شاخه‌زنی ریه شود که مرحله‌ای حیاتی در توسعه آئینول‌هاست. این موضوع احتمال اثرات منفی L-NAME بر ساختارهای نهایی آئینولی را تقویت می‌کند.^{۱۵}

در مطالعه Antosova و همکاران L-Arginine منجر به افزایش تولید NO در بافت‌های ریوی شد که با فعال‌سازی آنزیم‌های مختلف و بهبود خون‌رسانی، نقش مهمی در حفظ سلامت و عملکرد



شکل ۱: الف) بافت ریه پس از دریافت نرمال سالین، ب) بافت ریه پس از دریافت L-Arginine (بزرگ‌نمایی $\times 400$ ، رنگ‌آمیزی H&E)



نمودار ۱: مقایسه میانگین و انحراف معیار قطر آئینول‌های ریه موش‌های صحرایی ماده به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه

در مقایسه تعداد آئینول‌های ریه نسبت به گروه نرمال سالین، به‌طور میانگین گروه L-Arginine، نیم واحد افزایش و گروه L-NAME یک واحد کاهش نشان دادند. در گروه دریافت‌کننده همزمان هر دو ماده L-Arginine و L-NAME افزایش اندکی مشاهده شد. در نهایت، در بررسی کمی میانگین تعداد آئینول‌های ریه، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۲).

بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، تجویز L-Arginine با افزایش نسبی تعداد آئینول‌ها و تجویز L-NAME با کاهش نسبی قطر آنها همراه بود. میانگین قطر آئینول‌ها در گروه‌های دریافت‌کننده ترکیبات دارویی نسبت به گروه نرمال سالین کاهش یافت؛ اما این تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبودند. این یافته‌ها گرچه فاقد معنی‌داری آماری بودند؛ اما بیانگر اثر احتمالی مسیر NO بر فرآیند آئینولی هستند.

مهار کننده‌های NOS با وزن مولکولی کوچک برای درمان برخی بیماری‌ها توسعه یافته‌اند. به عنوان مثال مشخص شده L-NAME به عنوان یک مهار کننده NOS رشد تومور ریه را در داخل بدن کاهش

ریه ایفا می کند^{۱۶} که با یافته های دیاز Diaz و همکاران هم راستا بود. Diaz و همکاران نشان دادند تجویز داخل رحمی L-NAME در موش های نوزاد باعث کاهش تعداد و افزایش قطر آلوئول ها می شود^{۱۷} که با نتایج گروه L-NAME مطالعه حاضر مطابقت داشت. در مقابل، مطالعه Scott و همکاران تأکید دارد که درمان با L-Arginine در شرایطی مثل آسیب ریوی، آسم و بیماری مزمن انسدادی ریه (COPD) می تواند با فعال سازی مسیر NO، ساختار و عملکرد ریه را بهبود بخشد.^{۱۸}

در مطالعه مدل سازی شده مشخص شد که توزیع ناهمسان شاخه ای در راه های هوایی و تغییرات قطر آنها اثر به سزایی بر انتقال NO، مقاومت هوا و تبادل گاز دارد. به ویژه مقاومت جریان در نواحی دیستال ریه می تواند مانع رسیدن مؤثر NO به مناطق آلوئولی شود.^{۱۹} این امر ممکن است علت اصلی عدم بروز تفاوت معنی دار در ساختار آلوئول ها در مطالعه حاضر باشد. مطالعه ای در بیماران فیروز کیستیک نشان داد که کاهش در هدایت آلوئولی - مویرگی برای NO و اختلال در ظرفیت انتشار آن در طول فعالیت بدنی، منجر به کاهش اشباع اکسیژن می شود.^{۲۰} این مطالعه نیز بر اهمیت ساختارهای میکروسکوپی و عملکردی تأکید دارد.

از سوی دیگر، اثر L-NAME به عنوان مهارکننده سنتز نیتریک اکساید همچنان موضوع مورد مناقشه است. در حالی که برخی مطالعات آن را عامل مخرب دانسته و نشان دادند که مهار NO می تواند تعادل عملکرد ریه را مختل کند و موجب افزایش آسیب بافتی شود.^{۲۱} در مطالعه حاضر، فقدان تغییرات معنی دار ممکن است ناشی از دوز، زمان، یا نیمه عمر داروی مورد استفاده باشد. یافته های Borland و همکاران نشان داد که مقاومت در برابر انتشار NO در سطح خونی نیز می تواند اثرگذاری NO را کاهش دهد؛ حتی اگر ساختار آلوئول ها سالم باشند. این موضوع به ویژه در مدل های حیوانی

و شرایط بیماری مزمن، اهمیت بیشتری دارد.^{۲۲} از آنجایی که عوامل متعددی مانند دوز، مدت مداخله و ویژگی های فارماکودینامیک مواد مصرفی می توانند بر نتایج اثرگذار باشند؛ انجام مطالعات آتی با دوزهای بالاتر، دوره های درمانی طولانی تر و روش های دقیق تر ارزیابی ساختار آلوئولی برای بررسی بیشتر این اثرات توصیه می شود.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق L-Arginine و L-NAME اثری بر تعداد و قطر آلوئول های ریه موش های صحرایی ماده ندارد.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران با شماره IR.IAU.TMU.REC.1403.092 قرار گرفت.

مشارکت نویسندگان

وحید کاظمی: انجام پروژه و جمع آوری داده ها.
دکتر سید محمدحسین نوری موگهی: مدیریت و طراحی پروژه و تایید نسخه نهایی مقاله.

پارمیدا سراج: جمع آوری داده ها و نوشتن نسخه اولیه مقاله.
فاطمه محمدی: جمع آوری داده ها و نوشتن نسخه اولیه مقاله.
دکتر عطارالدادات مصطفوی نیا: آنالیز داده ها، تفسیر نتایج و تایید نسخه نهایی مقاله.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض منافع وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه آقای وحید کاظمی (شماره مصوب ۱۶۲۷۶۱۵۶۸) برای اخذ درجه دکتری حرفه ای در رشته پزشکی از دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران بود.

References

1. Palczewski MB, Kuschman HP, Hoffman BM, Kathiresan V, Yang H, Glynn SA, et al. Nitric oxide inhibits ten-eleven translocation DNA demethylases to regulate 5mC and 5hmC across the genome. *Nat Commun*. 2025 Feb;16(1):1732. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-56928-1>.
2. Chen J, Xie P, Huang Y, Gao H. Complex Interplay of Heme-Copper Oxidases with Nitrite and Nitric Oxide. *Int J Mol Sci*. 2022 Jan;23(2):979. <https://doi.org/10.3390/ijms23020979>.
3. Boughaleb H, Lobysheva I, Dei Zotti F, Balligand JL, Montiel V. Biological Assessment of the NO-Dependent Endothelial Function. *Molecules*. 2022 Nov 16;27(22):7921. <https://doi.org/10.3390/molecules27227921>.
4. Kim ME, Lee JS. Advances in the Regulation of Inflammatory Mediators in Nitric Oxide Synthase: Implications for Disease Modulation and Therapeutic Approaches. *Int J Mol Sci*. 2025 Jan;26(3):1204. <https://doi.org/10.3390/ijms26031204>.
5. Gonzalez M, Clayton S, Wauson E, Christian D, Tran QK. Promotion of nitric oxide production: mechanisms, strategies, and possibilities. *Front Physiol*. 2025 Jan;16:1545044. <https://doi.org/10.3389/fphys.2025.1545044>.
6. Kurhaluk N. The Effectiveness of L-arginine in Clinical Conditions Associated with Hypoxia. *Int J Mol Sci*. 2023 May;24(9):8205. <https://doi.org/10.3390/ijms24098205>.
7. Kurhaluk N, Lukash O, Kamiński P, Tkaczenko H. L-Arginine and Intermittent Hypoxia Are Stress-Limiting Factors in Male Wistar Rat Models. *Int J Mol Sci*. 2024 Nov;25(22):12364. <https://doi.org/10.3390/ijms252212364>.
8. Li R, Li Y, Jiang K, Zhang L, Li T, Zhao A, et al. Lighting up arginine metabolism reveals its functional diversity in physiology and pathology. *Cell Metab*. 2025 Dec;37(12):2469. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2025.10.023>.
9. Rashid J, Kumar SS, Job KM, Liu X, Fike CD, Sherwin CMT. Therapeutic Potential of Citrulline as an Arginine Supplement: A Clinical Pharmacology Review. *Paediatr Drugs*. 2020 Jun;22(3):279-93. <https://doi.org/10.1007/s40272-020-00384-5>.
10. Liu T, Zhang M, Mukosera GT, Borchardt D, Li Q, Tipple TE, et al. L-NAME releases nitric oxide and potentiates subsequent nitroglycerin-mediated vasodilation. *Redox Biol*. 2019 Sep;26:101238. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101238>.
11. Pershing NL, Yang CFJ, Xu M, Counter CM. Treatment with

- the nitric oxide synthase inhibitor L-NAME provides a survival advantage in a mouse model of Kras mutation-positive, non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 2016 Jul;7(27):42385-92. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9874>.
12. Wilkens HL, Neudeck S, Kästner SBR. Nasal and tracheobronchial nitric oxide production and its influence on oxygenation in horses undergoing total intravenous anaesthesia. *BMC Vet Res*. 2022 Apr;18(1):134. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03234-3>.
 13. Jin Z, Jiang MM, Lee B. Nitric oxide is required for lung alveolarization revealed by deficiency of argininosuccinate lyase. *Hum Mol Genet*. 2023 Dec;33(1):33-37. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddad158>.
 14. Ding BS, Nolan DJ, Guo P, Babazadeh AO, Cao Z, Rosenwaks Z, et al. Endothelial-derived angiocrine signals induce and sustain regenerative lung alveolarization. *Cell*. 2011 Oct;147(3):539-53. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.10.003>.
 15. Young SL, Evans K, Eu JP. Nitric oxide modulates branching morphogenesis in fetal rat lung explants. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2002 Mar;282(3):L379-85. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00462.2000>.
 16. Antosova M, Mokra D, Pepucha L, Plevkova J, Buday T, Sterusky M, et al. Physiology of nitric oxide in the respiratory system. *Physiol Res*. 2017 Sep;66(Suppl 2):S159-S172. <https://doi.org/10.33549/physiolres.933673>.
 17. Diaz V, Lebras-Isabet MN, Denjean A. Effect of Nomega-nitro-L-arginine methyl ester-induced intrauterine growth restriction on postnatal lung growth in rats. *Pediatr Res*. 2005 Sep;58(3):557-61. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000179398.62365.43>.
 18. Scott JA, Maarsingh H, Holguin F, Grasemann H. Arginine Therapy for Lung Diseases. *Front Pharmacol*. 2021 Mar;12:627503. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.627503>.
 19. Buess A, Van Muylem A, Nonclercq A, Haut B. Modeling of the Transport and Exchange of a Gas Species in Lungs With an Asymmetric Branching Pattern. Application to Nitric Oxide. *Front Physiol*. 2020 Dec;11:570015. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.570015>.
 20. Borland CDR, Hughes JMB. Lung Diffusing Capacities (DL) for Nitric Oxide (NO) and Carbon Monoxide (CO): The Evolving Story. *Compr Physiol*. 2019 Dec;10(1):73-97. <https://doi.org/10.1002/cphy.c190001>.
 21. Wheatley CM, Foxx-Lupo WT, Cassuto NA, Wong EC, Daines CL, Morgan WJ, et al. Impaired lung diffusing capacity for nitric oxide and alveolar-capillary membrane conductance results in oxygen desaturation during exercise in patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2011 Jan;10(1):45-53. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2010.09.006>.
 22. Borland CD, Dunningham H, Bottrill F, Vuylsteke A, Yilmaz C, Dane DM, et al. Significant blood resistance to nitric oxide transfer in the lung. *J Appl Physiol* (1985). 2010 May;108(5):1052-60. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00904.2009>.