

## ANALISIS IMUNOHISTOKIMIA iNOS DALAM GINJAL (*Cranial*) IKAN MAS (*Cyprinus carpio* L.)

### *Analysis Immunohistochemical iNOS in Cranial Kidney of Common Carp (Cyprinus carpio L.)*

**Ruku R. Borut**

*Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Pattimura  
Jl.Mr.Chr.Soplanit, Poka-Ambon  
rukubdp76@gmail.com/ratufish@yahoo.co.id*

**ABSTRAK** : Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah kontaminasi LAS dapat memicu peningkatan ekspresi iNOS dalam jaringan ginjal *cranial* ikan mas. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan eksplorasi laboratorium berdasarkan kajian molekuler. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan perlakuan konsentrasi LAS yaitu 0,01 mg/L, 0.02 mg/L, 0.03 mg/L, 0.04 mg/L, 0.05 mg/L dan kontrol. Perubahan yang diamati adalah ekspresi *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) pada jaringan ginjal *cranial* ikan mas, dengan waktu pengamatan mengacu pada prosedur penelitian toksisitas yaitu 24 jam setelah kontaminasi LAS. Pendeteksian iNOS dalam jaringan ginjal *cranial* ikan mas dilakukan dengan metode imunohistokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kontaminasi LAS dapat memicu peningkatan ekspresi iNOS dalam ginjal *cranial* ikan mas. Peningkatan ekspresi iNOS terjadi pada semua perlakuan konsentrasi kontaminasi LAS yaitu 0.01 mg/L, 0.02 mg/L, 0.03 mg/L, 0.04 mg/L dan 0.05 mg/L dengan nilai peningkatan berkisar antara 12.50-16.75% sel.

**Kata Kunci** : *Cyprinus carpio* L, LAS, Ekspresi iNOS

**ABSTRACT** : This research was aimed to know whether LAS contamination induce the increase of iNOS expression in cranial kidney tissue of carp. Method used in this research was experiment by laboratory exploration based on molecular study. Experiment design used was Completely Randomize Design (CRD) with control and treatments of LAS concentration that is 0.01 mg/L, 0.02 mg/L, 0.03 mg/L, 0.04 mg/L and 0.05 mg/L. Variable perceived was iNOS expression in cranial kidney tissue of carp, with observed time based on the toxicity test procedure that is 24 hours after LAS contamination. Detection of iNOS in cranial kidney tissue of carp was conducted by immunohistochemistry method. Result of this research indicates that LAS contamination can induce increase of iNOS expression in cranial kidney of carp. The increase of iNOS expression became of all treatment of the LAS contamination concentration that is 0.01 mg/L, 0.02 mg/L, 0.03 mg/L, 0.04 mg/L and 0.05 mg/L with value of increase range from 12.50 to 16.75 % cell.

**Keywords** : *Cyprinus carpio* L, LAS, of iNOS expression

---

## PENDAHULUAN

Berkembangnya teknologi biologi molekuler maka untuk mengetahui dan mempelajari efek suatu polutan pada organisme perairan, sangat penting untuk mempelajari organisme yang tercemar. Organisme yang dipelajari harus memiliki karakteristik “tertentu” sehingga studi dapat dikendalikan. Ikan adalah vertebrata terbaik yang digunakan sebagai sampel, karena berhubungan langsung dengan badan air yang tercemar (Powers, 1980). Ikan sensitif terhadap perubahan lingkungan. Kesehatan ikan dapat memberikan gambaran status kesehatan dari ekosistem perairan.

Salah satu bahan pencemar yang saat ini banyak mencemari perairan umum adalah LAS (*linear alkylbenzene sulfonat*) yang merupakan bahan aktif dalam produk detergen. Pengaruh detergen memang tidak langsung membuat manusia terserang kanker. Namun, jika tertimbun secara terus menerus dalam tubuh, akan memberikan pengaruh makin nyata. Hasil penelitian Tim Pengabdian Masyarakat dari Institut Teknologi Bandung, yang bekerja sama dengan Yayasan Lembaga Konsumen Indonesia (YLKI), meneliti zat-zat yang terkandung dalam 20 merek detergen. Hasilnya menunjukkan bahwa senyawa dalam detergen bersifat karsinogen (memicu timbulnya kanker) (Badan POM, 2004).

Pengaruh yang sama juga terjadi jika busa detergen yang menumpuk di sungai dapat menutupi permukaan air. Sebelum dibuang dan bercampur dengan bahan baku air bersih, limbah cucian membutuhkan proses pengolahan yang rumit. Senyawa detergen yang terurai, limbah harus mendapat sinar ultraviolet yang cukup dan diendapkan sekitar tiga minggu. Sehingga, negara yang mengizinkan pemakaian LAS umumnya memiliki sistem pengolahan air yang cukup dan memadai. Kurangnya pengolahan air bersih di Indonesia belum ada yang memiliki peralatan memadai. Diperkirakan air minum di kota-kota besar masih mengandung zat aktif detergen. Jika air itu dikonsumsi, bahaya kanker masih mengancam. (Rulianto dan Hidayat, 2001).

*Nitric oxide* (NO) merupakan molekul *messenger* yang berperan dalam berbagai proses fisiologi. Sintesis NO dari arginin dikatalisis oleh NOS (*nitric oxide synthase*). Protein NOS dapat di klasifikasikan menjadi dua jenis yaitu *constitutive* NOS (cNOS) dan *inducible* NOS (iNOS) tergantung pada mekanisme induksi produksi NO tersebut. Yang termasuk cNOS yaitu eNOS (endothelial NOS) dan nNOS (neuronal NOS), keduanya aktif dalam kondisi normal dan iNOS yang tidak aktif dalam kondisi normal namun teraktivasi dalam kondisi tertentu misalnya sepsis. iNOS diekspresikan oleh sel seperti makrofag, neutrofil, hepatosit, neuronal, dan endotel setelah distimulasi oleh LPS (Lipopolysacharida) dan sitokin proinflamasi (Sharmat dan Steven, 2004). Karakteristik yang dimiliki oleh iNOS adalah protein ini baru akan diproduksi oleh makrofag ketika ia teraktivasi oleh sitokin dan toksin, seperti LPS pada sepsis (Rode *et al*, 2000; Vallance & Collier, 1994). iNOS tidak pernah ditemukan secara fisiologis pada sel yang normal. Namun gen protein ini dapat secara cepat terekspresi jika terstimuli oleh zat-zat tertentu, misalnya sitokin proinflamasi. Sekali terbentuk iNOS dapat tetap aktif selama 24-36 jam serta dapat mensintesis NO 100-1000 kali lebih banyak daripada nNOS dan eNOS (Burgner, 1999).

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah LAS (*linear alkylbenzene sulfonat*) dapat memicu peningkatan ekspresi iNOS (*inducible nitric oxide synthase*) dalam ginjal cranial ikan mas (*Cyprinus carpio. L*), ekspresi cNOS dalam ginjal *cranial* ikan mas (*Cyprinus carpio. L*), distribusi ekspresi iNOS di sitoplasma dan inti sel. Manfaat yang diperoleh dari hasil penelitian ini adalah menjadi dasar pengembangan iptek tentang iNOS yang terkontaminasi dengan keberadaan LAS di lingkungan perairan budidaya maupun alami dijadikan sebagai *biomarker* molekuler dan memberi kontribusi bagi praktisi budidaya ikan dan instansi/lembaga pengambil kebijakan berupa pemanfaatan biomarker molekuler dalam pelaksanaan biomonitoring di lingkungan perairan budidaya maupun alami.

## METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ilmu-Ilmu Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Syaiful Anwar Malang.

### Bahan dan Alat

#### Aklimatisasi dan Percobaan

Bahan yang digunakan dalam proses aklimatisasi dan percobaan adalah ikan mas 60 ekor dengan ukuran panjang (total length) 14.5–16.7 cm; *methylen blue merk raid all*; formalin 10%; *linear alkylbenzene sulfonat* (LAS).

Alat yang digunakan dalam proses aklimatisasi dan percobaan adalah akuarium ukuran 75 x 35 x 35 cm<sup>3</sup> (2 unit) dan ukuran 80 x 40 x 40 cm<sup>3</sup> (2 unit); *aerator type 8500 merk TurboJet*; selang dan batu aerasi; ember; serok; selang plastik ukuran 0,5 cm dan 1,5 cm; papan meter untuk pengukuran panjang total ikan; DO meter type oxi315i merk WTW; pH meter type ad140ph merk ama-digit; timbangan analitik tipe AA-250 merk *Denver Instrument Company*; timbangan analitik tipe XL-3100 merk *Denver Instrument*; botol sample; dan perlengkapan bedah

#### Fiksasi Jaringan dan Analisis Imunohistokimia (iNOS)

Bahan yang digunakan dalam proses fiksasi jaringan adalah jaringan ginjal ikan mas; slide; cover slide; 4% paraformaldehid dalam PBS (phosphate buffered saline); ethanol bertingkat (70%, 80%, 90%, dan absolute); xylol dan parafin. Sedangkan untuk analisis imunohistokimia iNOS bahan yang akan digunakan adalah PBS pH 7,4 (pembuatan PBS dengan mencampurkan 8 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 1,4 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 140 mM NaCl; 2,7 mM KCl; dan ditepatkan pada PH 7,4 dengan menggunakan NaOH); aquades; 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dalam PBS; 5% FBS (Fetal Bovine Serum); antibodi primer (NOS2 Rabit Polyclonal Anti iNOS Merk Santa Cruz Biotechnology no Katalog H-174); antibodi sekunder (Goat Anti-Rabit IgG-B *Santa Cruz Biotechnology* No Katalog sc 2040); DAB

(*diamono benzidine*); *mayer's hematoxilen* dan entellan.

Alat yang digunakan dalam proses fiksasi jaringan adalah inkubator 55-63°C; *hot plate*; pinset; pipet tetes, kotak preparat, waterbath suhu 95°C; pembuat blok; *freezing* mikrotom; pisau mikrotom dan Bunsen. Sedangkan untuk analisis imunohistokimia iNOS alat yang akan digunakan adalah mikropipet 1000L, 100L, 20L dan spuit; mikroskop *fluorescent Nikon Optiphot-2* dengan *filter block B-2A* perbesaran 200X, 400X dan 1000X.

#### Prosedur Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental dengan eksplorasi laboratorium berdasarkan kajian molekuler. Rancangan percobaan yang akan digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan perlakuan dosis kontaminasi *linear alkylbenzene sulfonat* (LAS): 0.01 mg/L, 0.02 mg/L, 0.03 mg/L, 0.04 mg/L, 0.05 mg/L dan kontrol). Peubah diamati adalah iNOS (*inducible nitric oxide shyntase*) yang terdapat dalam jaringan ginjal ikan mas (*Cyprinus carpio*), dengan waktu pengamatan berbeda sesuai dengan prosedur penelitian toksisitas yaitu 24 jam. Prosedur penelitian yang akan dilakukan meliputi: pengambilan ikan, aklimatisasi, perlakuan LAS dan isolasi jaringan ginjal ikan mas.

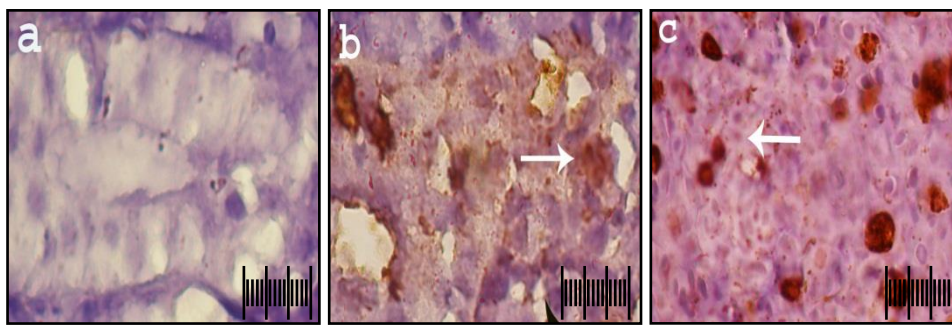
#### Analisis Data

Data *inducible nitric oxide shyntase* (iNOS) dalam jaringan ginjal cranial ikan mas akan dianalisis secara deskriptif dalam bentuk tabel dan gambar, untuk menjelaskan apakah sintesis iNOS pada ikan mas dapat dipicu oleh *linear alkylbenzene sulfonat* (LAS). Hasil ini akan menjadi dasar dalam penggunaan iNOS sebagai biomarker keberadaan LAS di lingkungan perairan budidaya maupun alami.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Inducible Nitric Oxide Shynthase

Analisis iNOS dalam ginjal cranial ikan mas (*Cyprinus carpio L*) yang terkontaminasi LAS, secara kualitatif dengan metode imunohistokimia (Gambar 1).



Gambar 1. Pengaruh LAS terhadap ekspresi iNOS. Sel ginjal *cranial* ikan mas ditandai dengan warna coklat pada sel. a) sel tanpa iNOS, b) sel dengan iNOS dalam sitoplasma, c) sel dengan iNOS dalam inti. Pembesaran 1000 x 1 bar = 0,01 mm.

Tabel 1. Data Ekspresi iNOS dalam Ginjal *Cranial* Ikan Mas Setelah 24 Jam pada Kontaminasi LAS

Perlakuan	iNOS (% sel) ± SD (n = 4)	Peningkatan Ekspresi iNOS (% sel)
Kontrol Tanpa LAS	5.50 ± 1.00	
A (0.01 mg/l)	15.75 ± 3.59	10.25
B (0.01 mg/l)	22.25 ± 3.40	16.75
C (0.01 mg/l)	21.00 ± 2,58	15.50
D (0.01 mg/l)	18.00 ± 2.45	12.50
E (0.01 mg/l)	18.00 ± 4.08	12.50

Keterangan: K = kontrol; A = kontaminasi LAS 0,01 mg/L; B = kontaminasi LAS 0,02 mg/L; C = kontaminasi LAS 0,03 mg/L; D = kontaminasi LAS 0,04 mg/L dan E = kontaminasi LAS 0,05 mg/L

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekspresi iNOS pada sel-sel ginjal *cranial* ikan mas/karper (*Cyprinus carpio* L.) dengan menggunakan teknik imunohistokimia, menunjukkan bahwa iNOS terdistribusi pada sitoplasma maupun inti sel (Gambar 1). Data sel ginjal *cranial* ikan mas yang mengekspresikan iNOS dapat dikelompokkan dalam kolompok kontrol dan kelompok perlakuan yang terkontaminasi LAS pada semua waktu pengamatan (Tabel 2).

Nilai peningkatan ekspresi iNOS diperoleh dengan menghitung selisih antara nilai rerata ekspresi iNOS pada perlakuan LAS dan kontrol pada masing-masing waktu pengamatan dengan peningkatan ekspresi iNOS berkisar antara 5.50–23.75 % sel (Tabel 1).

**Inducible Nitric Oxide Shynthase(iNOS)**

Pengamatan ekspresi iNOS dalam penelitian ini dengan menggunakan teknik pemulasan imunohistokimia menunjukkan bahwa iNOS dalam sel ginjal *cranial* ikan mas terdistribusi pada sitoplasma maupun nukleus/inti sel. Hal ini didukung dengan pernyataan Carafoli *et al*, (1990); Huang *et al*,

(1995); Dedman & Kaetzel (1998) Newton & Robert (2000); dan Qiu *et al* (2004); bahwa iNOS merupakan molekul intraseluler yang ditemukan di dalam sitosol, mitokondria, retikulum endoplasma, dan nukleus eukariot.

Hasil penelitian juga menunjukkan, iNOS dapat berperan dari berbagai protein yang bertindak sebagai transporter maupun sebagai kanal ion yang kesemuannya terdapat di membran sel. Rangsangan LAS ini melalui suatu sistem sinyal transduksi akan menstimulasi suatu bahan kimia sel yang didalam dikenal sebagai *second messenger*. Di dalam sitoplasma akan terjadi suatu reaksi berantai biokimia, yang menyebabkan terjadi fosforilasi berbagai protein, yang menginduksi berbagai proses biokimia dan fisiologis seperti motolitas, pembelahan sel, ekspresi gen dan metabolisme seluler. Hal ini di dukung pendapat Carafoli *et al*, (1990); Dedman & Kaetzel (1998) bahwa *second messenger* terdapat pada berbagai lokasi di sel mulai dari matriks sel, molekul adesi, di dalam membran sel, dalam organela sel, inti sel dan sitoplasma dalam bentuk yang terikat dengan reseptor protein

maupun dalam kondisi bebas berperan dalam homeostatis sel.

iNOS dalam jaringan ginjal *cranial* ikan mas tidak ditemukan dalam kelompok kontrol sedangkan iNOS dalam jaringan ginjal *cranial* ikan mas hanya ditemukan dalam pada kelompok perlakuan kontaminasi LAS pada waktu pengamatan 24 jam. Hasil penelitian ini didukung oleh pernyataan Pellegrino *et al.*, (2004) dan Tota *et al.*, (2005) NOS konsitutif ikan icefish yang diekspresikan iNOS tidak dapat ditemukan pada kondisi normal.

Konsentrasi LAS pada ikan mas yang dicobakan dalam penelitian ini berada dalam kondisi stress, dan pada semua kelompok perlakuan ekspresi iNOS pada keseluruhan sel di jaringan ginjal *cranial* bervariasi. Konsentrasi LAS yang dicobakan dalam penelitian ini adalah seperseratus dari nilai rata-rata LC50-96 jam LAS untuk ikan. Heinze (2007), OECD (2005) dan The Soap and Detergent Association (2005) menyatakan bahwa nilai LC50-96 jam LAS pada ikan adalah 1,67 mg/L. Dengan demikian bila ekspresi iNOS pada ginjal *cranial* ikan mas digunakan sebagai biomarker keberadaan LAS di lingkungan perairan, maka biomarker ini dapat berfungsi sebagai sistem pendeteksi dini yang dapat mendeteksi adanya pencemaran LAS pada taraf konsentrasi yang belum membahayakan organisme akuatik.

Perlakuan kontaminasi LAS dapat memicu peningkatan ekspresi iNOS dalam jaringan ginjal *cranial* ikan mas. Peningkatan ekspresi iNOS secara kuantitatif terjadi pada semua kelompok perlakuan kontaminasi LAS dan semua waktu pengamatan. Dengan demikian paparan LAS mulai dari konsentrasi 0,01 mg/L dapat memicu peningkatan ekspresi iNOS yang dapat terdeteksi selama 24 jam setelah paparan LAS. Berdasarkan hasil penelitian ini di dukung oleh pernyataan Wang *et al.* (2001) menunjukkan hasil yang sama, sebab pada ikan mas/karper transkripsi iNOS dapat dideteksi 4 jam setelah dirangsang dengan LPS dan transkripsi maksimum tampak/nyata dalam 12 sampai 48 jam terjadi peningkatan ekspresi iNOS pada jaringan insang, dan hati ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) yang dipapar dengan LPS. Penelitian (Burgner, 1999) yang menyatakan bahwa, iNOS secara cepat terekspresi jika

terstimuli oleh zat-zat tertentu, misalnya sitokin proinflamasi. Sekali terbentuk iNOS dapat tetap aktif selama 24 sampai 36 jam serta dapat mensintesis NO 100-1000 kali lebih banyak daripada nNOS dan eNOS.

Mengacu pada berbagai pernyataan yang diungkap oleh berbagai penelitian tersebut, bahwa sel mengekspresikan iNOS dapat dipicu oleh adanya perlakuan LAS. Liu *et al.*, (2004) menyatakan hal yang sama dengan penelitian sebelumnya Wang *et al.* (2001) menunjukkan hasil yang sama, dimana pada ikan mas/karper transkripsi iNOS dapat dideteksi 4 jam setelah dirangsang dengan LPS. Dengan demikian bahwa hasil penelitian ini sel yang mengekspresikan iNOS yang terpapar dengan LAS terdeteksi pada semua waktu pengamatan 24 jam terjadi peningkatan ekspresi iNOS.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat ditarik beberapa kesimpulan yaitu : kontaminasi LAS dapat dideteksi mulai dengan konsentrasi mulai dari 0.01-0.05 mg/L dapat memicu peningkatan ekspresi iNOS secara kuantitatif dalam jaringan ginjal *cranial* ikan mas (*Cyprinus carpio* L.); Sel-sel mengekspresikan iNOS pada ginjal *cranial* ikan mas terdistribusi pada sitoplasma maupun inti sel; Ekspresi iNOS pada ginjal *cranial* ikan mas terjadi di daerah interrenal, tubulus, dan di daerah lymphoid.

Adapun saran yang dapat diberikan yaitu perlu dilakukan riset yang sama pada berbagai aspek respon fisiologis stress lain pada ikan secara umum dan stressor lingkungan lain yang berpotensi mencemari lingkungan perairan Indonesia.

## DAFTAR PUSTAKA

- Badan POM, 2004. Detergen. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Deputi Bidang Pengawasan Produk Terapeutik dan NAPZA. [www.pom.go.id](http://www.pom.go.id).htm. Diakses 23 Juli 2007.
- Borut, R.R. 2008. Analisis iNOS dalam Ginjal (*Cranial*) Ikan Mas (*Cyprinus carpio*. L) pada Kontaminasi Ditergen (LAS).

- Carafoli, Ernesto, Chiesi M, Gazzotli P., 1994. The Membrane Carriers Related To Intracellular Calcium regulation, Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management. Chapter 66. Pp. 978.
- Heinze, J., 2007. LAS. General Ingredient Information. Cleangredients a Project of GreenBlue. <http://db.cleangredients.org/ingredients.php>. Diakses 23 Juli 2007.
- Ishizu, P. dan S. Cover, 2002. Koi Physiology. Southwest Koi and Pond Association (SKAPA). [www.skapa.org/koi/physiology.htm](http://www.skapa.org/koi/physiology.htm). Diakses 7 Agustus 2007.
- Iwama, G.K. 2008. Stress in Fish. Institute for Marine Biosciences, National Research Council of Canada, Nova Scotia. <http://www-heb.pac.dfo-mpo.gc.ca/pdf>. Diakses 28 Pebruari 2008.
- Iwama, G.K.; P.T. Thomas; R.B. Forsyth dan M.M. Vijayan, 2004b. Heat Shock Protein Expression in Fish. SpringerLink Journal 8: Abstrak. <http://www.springerlink.com/abstrak>. Diakses 8 Agustus 2007
- Kimura H, Miura S, Higuchi H, Kurose I, Tsuzuki Y, Shigematsu T, Ebinuma H, Kato S and Ishii H. 1996. Effect of chronic ethanol feeding on nitric oxide synthesis by rat Kupffer cells. *Alcohol Clin Exp Res* 20:69A-72A.
- OECD SIDS, 2005. Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS). UNEP Publications. <http://www.chem.unep.ch/las/pdf>. Diakses 23 Agustus 2007
- Pellegrino, D., Sprovieri, E., Mazza, R., Randall, D. J. and Tota, B. 2002. Nitric oxide-cGMP-mediated vasoconstriction and effects of acetylcholine in the branchial circulation of the eel. *Comp. Biochem. Physiol.* 132A, 447-457.
- Reimschuessel, R., 2001. A Fish Model of Renal Regeneration and Development. *ILAR Journal*. Volume 42, Number 4: 285-291.
- Rulianto, A. dan A. Hidayat, 2001. Sulitnya Mencuci Detergen. *Majalah Tempo* 30 September 2001. <http://www.tempo.com.htm>. Diakses 23 Juli 2007.
- Salzman AL, Eaves Pyles T, Linn SC, Denenberg AG, Szabo C. 1998. Bacterial induction of inducible nitric oxide synthase in cultured human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 114:93-102.
- Sharmat, Sat. & Steven Mink January 22, 2003. Septok shock (Emedicine Article topic 12011.htm). Taken from: [http // www.emedicine.com/MED/topic\\_12011.htm](http://www.emedicine.com/MED/topic_12011.htm). Diakses 15 Oktober 2004.
- Rode, B., 2000. Nitric Oxide as a Messenger Molecule and its Clinical Significance, Sestre milosrdnice University Hospital, Zagreb, Croatia, [http:// www.ctiaclinica.kbsr.hr/Volume\\_39\\_2000/7/7](http://www.ctiaclinica.kbsr.hr/Volume_39_2000/7/7). Diakses tanggal 28 Mei 2004.
- Tota, B. and Gattuso, A. 1996. Heart ventricle pumps in teleosts and elasmobranchs: a
- Tidball, J. G., Spencer, M. J., Wehling, M. and Lavergne, E. 1999. Nitric oxide synthase is a mechanical signal transducer that modulates talin and vinculin expression. *J. Biol. Chem.* 274, 33155-33160.
- Wang, T, Mike. D, Peter. G and Christopher J. S., 2001. *Molecular cloning, gene organization and expression of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene.*\*Department of Zoology, University of Aberdeen, Aberdeen AB24 2TZ, U.K., and Institute of Child Health, University of Sheffield, Sheffield S10 2TH, U.K.