

NASKAH PUBLIKASI

**EFEK KEKURANGAN ENERGI PROTEIN TERHADAP
GAMBARAN HISTOLOGI DUODENUM TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*) GALUR *Sprague-Dawley***

**JOVI PARDOMUAN SIAGIAN
NIM I11112008**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
PONTIANAK
2015**

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

**EFEK KEKURANGAN ENERGI PROTEIN (KEP) TERHADAP
GAMBARAN HISTOLOGI DUODENUM TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague-Dawley***

Tanggung Jawab Yuridis Material Pada

JOVI PARDOMUAN SIAGIAN

NIM 111112008

Disetujui Oleh

Pembimbing Utama

Agustina Arundina T.T., S.Gz, MPH
NIP. 198208032009122003

Pembimbing Kedua

dr. Delima Fajar Liana
NIP. 198612052012122001

Penguji Pertama

dr. Nawangsari, M. Biomed
NIP. 198105102008012017

Penguji Kedua

dr. M. In'am Ilmiawan, M. Biomed
NIP. 197910182006041002

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran

Universitas Tanjungpura



dr. Arif Wicaksono, M. Biomed
NIP. 198310302008121002

**EFEK KEKURANGAN-ENERGI PROTEIN TERHADAP GAMBARAN
HISTOLOGIS DUODENUM TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR
SPRAGUE-DAWLEY**

Jovi Pardomuan Siagian¹; Agustina Arundina T.T.²; Delima Fajar Liana³

Abstrak

Latar Belakang Malnutrisi pada anak-anak merupakan masalah yang sering dihadapi oleh tenaga kesehatan di negara berkembang seperti Indonesia. Perubahan patologis pada organ saluran pencernaan seperti duodenum berperan penting dalam perjalanan penyakit kondisi malnutrisi sehingga penelitian menggunakan hewan coba dapat membantu pemahaman terhadap patofisiologi kekurangan energi-protein. **Metodologi** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan desain *post-test only with control group*. 30 ekor tikus berusia tiga minggu dibagi dalam 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol (n=15) dan kelompok malnutrisi (n=15). Tikus-tikus kelompok kontrol diberikan pakan sebanyak 8 g/100 gBB/hari selama 21 hari, sementara tikus-tikus kelompok malnutrisi diberikan pakan sebanyak 4 g/100 gBB/hari selama 21 hari. Setiap 7 hari, 5 ekor tikus dari masing-masing kelompok dieutanasia dan duodenum tiap tikus diambil untuk dibuat preparat histologi potongan melintang menggunakan pewarnaan *haematoxylin-eosin*. Ketinggian vilus, kedalaman kriptus dan ketebalan tunika mukosa diukur dari masing-masing preparat. **Hasil** Tikus-tikus malnutrisi memberikan hasil yang lebih rendah pada semua parameter dibandingkan dengan tikus-tikus kontrol. Parameter pada tikus-tikus malnutrisi yang dieutanasia setelah 14 hari lebih rendah dibandingkan dengan tikus-tikus malnutrisi yang dieutanasia setelah 7 hari. Namun, tikus-tikus malnutrisi yang dieutanasia setelah 21 hari memberikan nilai yang lebih tinggi pada semua parameter dibandingkan dengan tikus-tikus malnutrisi yang dieutanasia setelah 14 hari. **Kesimpulan** Morfologi duodenum mengalami kerusakan pada kondisi malnutrisi tetapi akan beradaptasi untuk mengompensasi asupan protein dan kalori yang rendah. Penelitian ini penting dalam memberikan pemahaman terhadap patofisiologi malnutrisi.

Kata kunci: Kekurangan energi-protein (KEP), duodenum, ketinggian vilus, kedalaman kriptus, ketebalan tunika mukosa

-
- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat
 - 2) Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat
 - 3) Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat`

**PROTEIN-ENERGY MALNUTRITION AFFECTS HISTOLOGICAL
FEATURES OF DUODENUM IN MALNOURISHED RATS**

Jovi Pardomuan Siagian¹; Agustina Arundina T.T.²; Delima Fajar Liana³

Abstract

Background Childhood malnutrition is a problem in developing countries, and pathological changes in digestive organ such as duodenum might play a part in the progression of the disease. An animal model to study the microscopic features of duodenum could prove important in evaluating the pathophysiology of the condition.

Methods This research is an experimental using a post-test only with control groups design. 30 three week-old rats were given access to either an 8 g/100 gBW/day diet (CONTROL, n=15) or a 4 g/100 gBW/day diet (MALNOURISHED, n=15) for 21 days. Every 7 days, five rats from each group were euthanized and their duodenums were collected for histological samples. Histological samples were made from cross-sections of duodenums and stained with haematoxylin-eosin. Villous height, crypts depth and mucosal thickness were recorded from these histological samples. **Result** Malnourished rats give lower numbers across all histological parameters compared to their corresponding counterparts in the control group. Furthermore, the parameters in malnourished rats that were euthanized after 14 days are lower than those that were euthanized after 7 days. However, malnourished rats that were euthanized after 21 days give higher numbers in all parameters than those that were euthanized after 14 days. **Conclusion** Duodenal morphologies are compromised during malnutrition but undergo adaptation mechanism to compensate for the low intake of protein and calorie. This rat model is relevant for a better understanding of the pathophysiology of malnutrition.

Keywords: Protein-energy malnutrition, duodenum, villous height, crypts depth, mucosal thickness

-
- 1) *Medical Science, Faculty of Medicine, Tanjungpura University, Pontianak, West Kalimantan*
 - 2) *Department of Public Health, Faculty of Medicine, Tanjungpura University, Pontianak, West Kalimantan*
 - 3) *Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Tanjungpura University, Pontianak, West Kalimantan*

LATAR BELAKANG

Kekurangan energi protein (KEP), yang biasa disebut sebagai gizi buruk atau malnutrisi, masih merupakan masalah yang membutuhkan perhatian khusus di negara-negara berkembang,¹ terutama Indonesia. Data dari Departemen Kesehatan pada tahun 2010 menyatakan bahwa 18% balita Indonesia memiliki status gizi *underweight*.² Angka ini masih tiga kali lipat lebih banyak dari Malaysia yang hanya 6% dari balitanya memiliki status gizi *underweight*, ataupun dibandingkan dengan Thailand yang berada pada tingkat 7%.³ Pada tahun 2013, prevalensi angka gizi buruk-kurang balita justru meningkat menjadi 19,6%.⁶ Prevalensi balita dengan gizi buruk-kurang di Kalimantan Barat sendiri masih berada pada urutan 28 dari 33 provinsi di Indonesia dan, bersama 18 provinsi lainnya, memiliki prevalensi balita gizi buruk-kurang yang berada di atas prevalensi nasional.³

Keadaan KEP ini akan memberikan efek pada patologi tubuh. Salah satunya adalah atrofi mukosa pada saluran gastrointestinal. Atrofi terjadi sebagai respon tubuh terhadap berkurangnya nutrisi untuk diabsorpsi; sel-sel memperkecil ukurannya untuk memberikan fungsi yang lebih efisien untuk keberlangsungan hidup. Bentuk adaptasi lainnya yang terjadi saat kondisi KEP adalah penurunan jumlah vilus di usus halus.⁴ Vilus-vilus yang berjumlah besar ini meningkatkan luas permukaan epitel usus untuk absorpsi dan pencernaan nutrisi.⁵ Penurunan jumlah vilus pada kasus gizi buruk berakibat pada berkurangnya luas permukaan epitel untuk absorpsi dan pencernaan nutrisi, yang dapat memperparah keadaan KEP ini. Oleh karena itu, bisa dikatakan malnutrisi merupakan salah satu faktor risiko malnutrisi itu sendiri. Penelitian ini diharapkan bisa memberikan pengetahuan lebih lanjut terhadap perubahan-perubahan yang terjadi terhadap usus halus pada tingkat mikroskopis dan dapat membantu menjelaskan perubahan fisiologis pada tubuh penderita KEP.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan pendekatan *post-test only with control group*. Sampel adalah 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* yang dibagi dalam 2 kelompok besar, kontrol

(n=15) dan malnutrisi (n=15) yang dipelihara di Laboratorium Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Tikus-tikus kelompok kontrol diberi pakan sebanyak 8 g/100 gBB/hari selama 21 hari, sementara tikus-tikus kelompok malnutrisi diberi pakan sebanyak 4 g/100 gBB/hari selama 21 hari.

Setelah 7, 14 dan 21 hari perlakuan, dari setiap kelompok diambil masing-masing 5 ekor tikus untuk dibedah di Laboratorium Non-Mikroskopis Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dan diambil sampel duodenum. Sampel duodenum kemudian dibawa ke Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Sudarso untuk dibuat preparat histologi. Observasi dilakukan di Laboratorium Mikroskopis Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 4 x 10. Pada setiap lapang pandang, 10 vilus utuh dan 10 kriptus akan diukur secara acak sedangkan ketebalan tunika mukosa diukur pada 6 bagian dengan interval yang konstan.⁶

HASIL

Hasil ketiga parameter histologis duodenum dapat dilihat pada Tabel 1, Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 1. Parameter histologi* pada tikus yang diberi perlakuan selama 7 hari.

Parameter	Durasi perlakuan 7 hari	
	Kontrol (n=5)	Malnutrisi (n=5)
Ketinggian vilus (μm)	411,97 \pm 72,58	363,20 \pm 49,98
Kedalaman kriptus (μm)	138,31 \pm 23,34	131,50 \pm 16,02
Ketebalan tunika mukosa (μm)	613,24 \pm 132,73	542,41 \pm 99,14

*Direpresentasikan dalam bentuk rerata \pm standar deviasi

Tabel 2. Parameter histologi* pada tikus yang diberi perlakuan selama 14 hari.

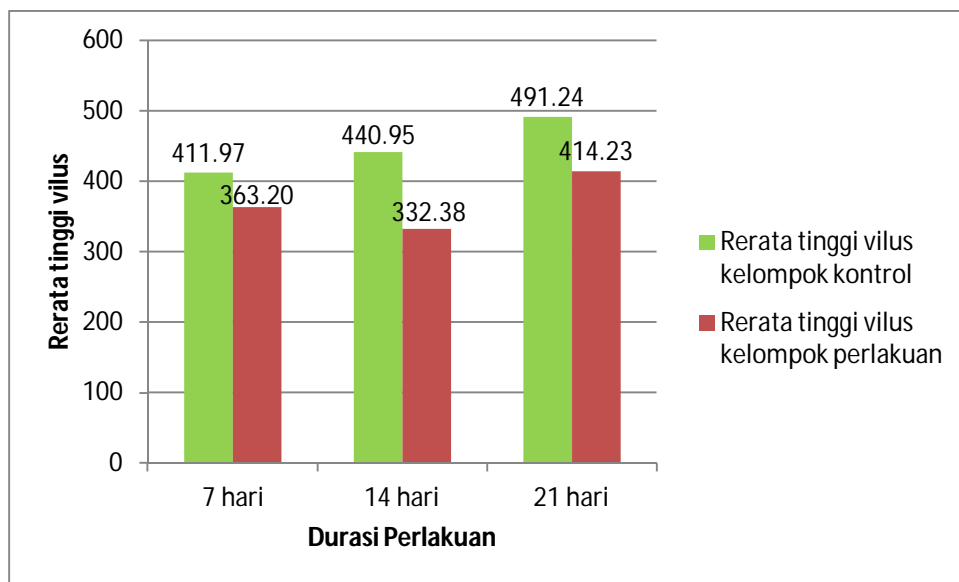
Parameter	Durasi perlakuan 14 hari	
	Kontrol (n=5)	Malnutrisi (n=5)
Ketinggian vilus (μm)	440,95 \pm 109,69	332,38 \pm 36,67
Kedalaman kriptus (μm)	145,32 \pm 28,42	102,01 \pm 14,27
Ketebalan tunika mukosa (μm)	633,53 \pm 182,14	508,89 \pm 127,58

*Direpresentasikan dalam bentuk rerata \pm standar deviasi

Tabel 3. Ketinggian tunika mukosa* pada tikus yang diberi perlakuan selama 21 hari.

Parameter	Durasi perlakuan 21 hari	
	Kontrol (n=5)	Malnutrisi (n=5)
Ketinggian vilus (μm)	491,24 \pm 66,28	414,22 \pm 42,00
Kedalaman kriptus (μm)	165,57 \pm 14,48	131,52 \pm 33,83
Ketebalan tunika mukosa (μm)	699,14 \pm 136,28	594,37 \pm 167,68

*Direpresentasikan dalam bentuk rerata \pm standar deviasi

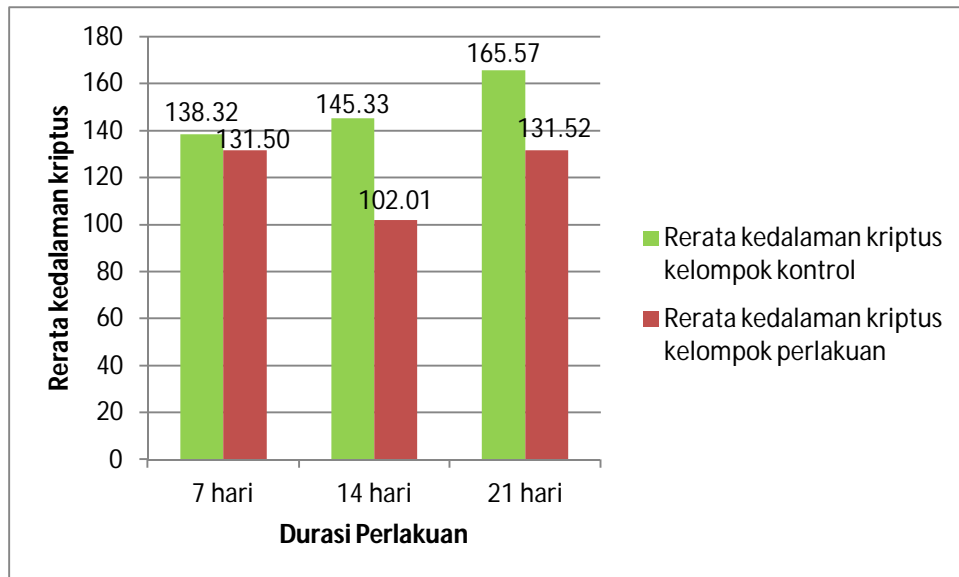


Gambar 1. Rerata ketinggian vilus pada kelompok kontrol dan malnutrisi

Pada seluruh kelompok malnutrisi didapatkan penurunan tinggi vilus dibandingkan dengan kelompok kontrol. Vilus pada kelompok malnutrisi juga

mengalami kerusakan. Pada kelompok kontrol, tinggi vilus cenderung mengalami peningkatan yang berbanding lurus dengan durasi perlakuan. Pada kelompok malnutrisi, vilus mengalami kerusakan yang paling parah setelah 14 hari perlakuan. Namun setelah 21 hari perlakuan malnutrisi, kerusakan vilus tidak seburuk pada kelompok malnutrisi 14 hari.

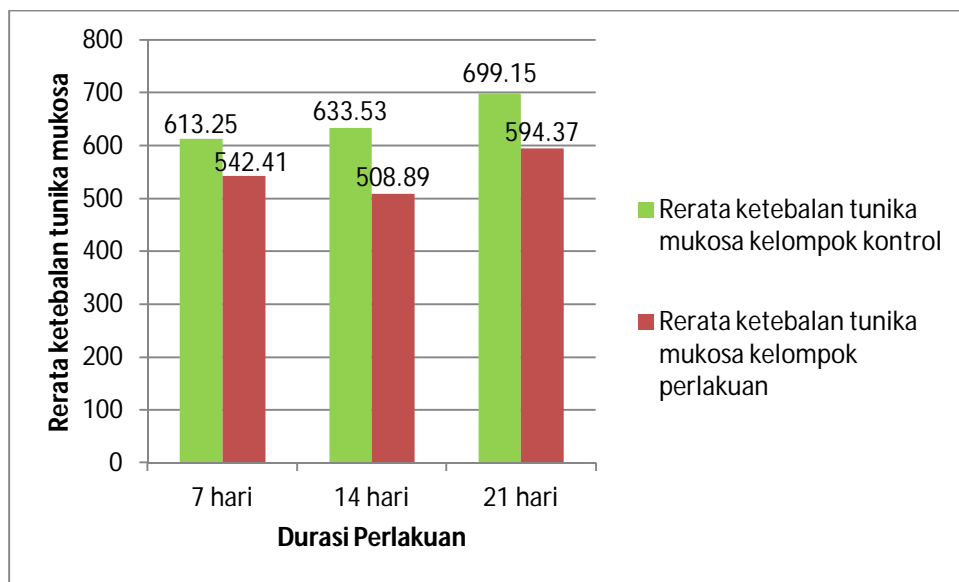
Analisis data dengan uji ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada seluruh kelompok penelitian ($p=0,05$; $p \geq 0,05$). Tinggi vilus kelompok malnutrisi 7 hari lebih rendah 11,8% dibandingkan dengan kelompok kontrol 7 hari. Tinggi vilus kelompok malnutrisi 14 hari lebih rendah 24,6% dibandingkan dengan kelompok kontrol 14 hari. Tinggi vilus kelompok malnutrisi 21 hari lebih rendah 15,7% dibandingkan dengan kelompok kontrol 21 hari.



Gambar 2. Rerata kedalaman kriptus pada kelompok kontrol dan malnutrisi

Pada seluruh kelompok malnutrisi didapatkan penurunan kedalaman kriptus dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada kelompok kontrol, kedalaman kriptus cenderung mengalami peningkatan yang berbanding lurus dengan durasi perlakuan. Pada kelompok malnutrisi, kedalaman kriptus yang paling dangkal adalah pada tikus yang diperlakukan selama 14 hari. Namun setelah 21 hari perlakuan malnutrisi, kedalaman vilus kembali meningkat.

Analisis data dengan uji ANOVA menunjukkan ada perbedaan bermakna pada 2 atau lebih kelompok penelitian ($p=0,028$; $p<0,05$). Kedalaman kriptus kelompok malnutrisi 7 hari lebih rendah 4,93% dibandingkan dengan kelompok kontrol 7 hari. Kedalaman kriptus kelompok malnutrisi 14 hari lebih rendah 29,8% dibandingkan dengan kelompok kontrol 14 hari. Kedalaman kriptus kelompok malnutrisi 21 hari lebih rendah 20,6% dibandingkan dengan kelompok kontrol 21 hari.



Gambar 3. Rerata kedalaman kriptus pada kelompok kontrol dan malnutrisi. Pada seluruh kelompok malnutrisi didapatkan penurunan ketebalan tunika mukosa dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada kelompok kontrol, ketebalan tunika mukosa cenderung mengalami peningkatan yang berbanding lurus dengan durasi perlakuan. Pada kelompok malnutrisi, ketebalan tunika mukosa yang paling tipis adalah pada tikus yang diperlakukan selama 14 hari. Namun setelah 21 hari perlakuan malnutrisi, ketebalan tunika mukosa kembali meningkat.

Analisis data dengan uji ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada seluruh kelompok penelitian ($p=0,512$; $p>0,05$). Ketebalan tunika mukosa kelompok malnutrisi 7 hari lebih rendah 11,6% dibandingkan dengan kelompok kontrol 7 hari. Ketebalan tunika mukosa kelompok malnutrisi 14 hari lebih

rendah 19,7% dibandingkan dengan kelompok kontrol 14 hari. Ketebalan tunika mukosa kelompok malnutrisi 21 hari lebih rendah 15,0% dibandingkan dengan kelompok kontrol 21 hari.

PEMBAHASAN

Hasil pada penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian-penelitian Baker dan Burin yang menunjukkan bahwa kondisi malnutrisi pada hewan coba dapat memperburuk morfologi usus halus.^{7,8} Atrofi yang ditimbulkan oleh kondisi KEP terhadap mukosa organ duodenum kemungkinan diakibatkan oleh rendahnya kadar DNA dan protein yang menyebabkan hipoplasia kriptus Lieberkuhn.⁹ Sel-sel punca yang berada pada dasar kriptus Lieberkuhn berfungsi untuk menggantikan sel-sel epitel yang mati.¹⁰ Kriptus yang memendek ini merupakan manifestasi dari berkurangnya aktivitas mitosis yang berhubungan dengan atrofi vilus.¹¹

Penelitian lain menemukan bahwa terdapat penurunan jumlah sel *granulated convoluted tubules* (GCT) di glandula submandibula tikus-tikus yang mengalami KEP.¹² Sel-sel ini mengandung peptida-peptida biologis aktif seperti EGF, *nerve growth factor* (NGF) dan lain lain.¹² EGF sendiri berperan dalam meningkatkan proliferasi dan aktivitas mitosis sel-sel epitel.¹³ Berkurangnya jumlah EGF merupakan salah satu faktor pencetus retardasi pertumbuhan jaringan-jaringan tubuh dalam kasus defisiensi protein.¹²

Song *et al.* menyimpulkan bahwa atrofi usus halus pada tikus yang direstriksi makanan lebih dipengaruhi oleh peningkatan apoptosis epitel usus halus dibandingkan dengan penurunan proliferasi.¹⁴ Peningkatan apoptosis pada epitel usus halus akan meningkatkan permeabilitas usus halus yang bersifat bidireksional.^{15,16} Permeabilitas bidireksional dalam hal ini akan menyebabkan penurunan asupan nutrisi intraluminal serta peningkatan translokasi bakteri sehingga penderita malnutrisi lebih rentan terkena infeksi.¹⁷

Pada penelitian ini ditemukan bahwa parameter-parameter morfologi usus halus mengalami penurunan seiring bertambah lamanya durasi KEP pada 14 hari pertama perlakuan, sebelum meningkat kembali setelah 21 hari perlakuan KEP walaupun belum menyamai nilai parameter kontrol. Hal ini menandakan bahwa setelah 21 hari perlakuan KEP terjadi mekanisme adaptasi pada tikus. Pada penelitian Ferraris *et al.* ditemukan bahwa terjadi perubahan transpor nutrisi tikus yang mengalami restriksi kalori kronik, namun adaptasi serupa tidak ditemukan pada tikus yang dikondisikan restriksi kalori akut.¹⁸ Transpor-transpor nutrisi yang mengalami adaptasi adalah transpor glukosa, fruktosa dan proline.¹⁸

Penelitian O'Brien *et al.* juga menemukan peningkatan transporter glukosa pada tikus yang mengalami inhibisi EGF.¹⁹ Peningkatan transporter ini diinduksi oleh karbohidrat yang masuk ke usus halus.²⁰ Penelitian lain juga menemukan peningkatan angiogenesis pada tikus yang direseksi usus.²¹ Angiogenesis ini akan membantu memfasilitasi angiogenesis, mempertahankan keutuhan mukosa serta meningkatkan asupan oksigen dan nutrisi pada mukosa yang sedang berproliferasi.²⁰

Pada tikus-tikus yang mengalami malnutrisi juga ditemukan peningkatan *intestinal cell kinase* (ICK).²² ICK merupakan protein yang terletak di daerah kriptus Lieberkuhn dan berperan penting dalam regulasi replikasi sel-sel epitel dan aktivitas sel punca.²³ Bolick berpendapat bahwa ICK merupakan target transkripsi sinyal Wnt/ β -catenin dan terdapat *feedback* positif di antara keduanya.²²

KESIMPULAN

Kondisi KEP selama 7, 14 dan 21 hari akan mengakibatkan kerusakan struktur histologis duodenum berupa berkurangnya ketinggian vilus, kedalaman kriptus Lieberkuhn dan ketebalan tunika mukosa. Setelah 14 hari mengalami KEP, sampel mulai beradaptasi dengan kondisi KEP yang ditandai dengan meningkatnya ketiga parameter histologis tersebut pada tikus yang diperlakukan selama 21 hari.

DAFTAR PUSTAKA

1. Krisnansari D. "Nutrisi dan Gizi Buruk". Mandala of Health vol. 4 no. 1 Januari 2010 p. 60-8.
2. Association of Southeast Asian Nations (ASEAN). 2011 ASEAN Statistical Report on Millennium Development Goals. Association of Southeast Asian Nations (ASEAN). 2012.
3. Badan Penelitian dan Pengembangan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Riset Kesehatan Dasar 2013. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013.
4. Porth CM & Matfin G. Pathophysiology: Concepts of Altered Health States. 8th edition. Lippincott Wilkins and Williams; 2009.
5. Tortora GJ & Derrickson B. Principles of Anatomy and Physiology. 12th edition. John Wiley & Sons, Inc.; 2009. p. 953-6, 980-5, 1001.
6. Kim JW, Choi CS, Kim KC, Park JH, Seung H, Joo SH *et al.* "Gastrointestinal Tract Abnormalities Induced by Prenatal Valproic Acid Exposure in Rat Offspring". Toxicol Res. Sep 2013; 29(3): 173-9.
7. Baker SS & Campbell C. "Short-Term Malnutrition in Neonatal Rabbits: Effect on Gastrointestinal Epithelial Proliferation". J. Nutr. 119; 1989: p. 785-9.
8. Burrin DG, Davis TA, Fiorotto ML & Reeds PJ. "Stage of Development and Fasting Affect Protein Synthetic Activity in the Gastrointestinal Tissues of Suckling Rats". J. Nutr. 121; 1991: p. 1099-1108.
9. Nunez MC, Bueno JD, Ayudarte MV, Almendros A, Rios A, Suarez MD *et al.* "Dietary Restriction Induces Biochemical and Morphometric Changes in the Small Intestine of Nursing Piglets". J. Nutr. 126; 1996: p. 933-44.
10. Ross MH & Pawlina W. Histology: A Text and Atlas. 6th edition. Lippincott Williams & Wilkins; 2011.
11. Serra S & Jani PA. "An approach to duodenal biopsies". J Clin Pathol 59; 2006: p. 1133-50.
12. Jacob S & Lawrence G. "Effects of protein malnutrition on the mouse submandibular gland". J. Anat. 165; 1989: p. 169-75.

13. Hiatt JL & Gartner LP. Color Textbook of Histology. 3rd edition. Saunders; 2006.
14. Song J, Wolf SE, Wu XW, Finnerty CC, Herndon DN & Jeschke MG. "Proximal gut epithelial homeostasis in aged IL-1 type 1 receptor knockout mice after starvation". J. Surg. Res 169(2); 2011: p. 209-13.
15. Sun Z, Wang X, Wallen R, Deng X, Du X, Hallberg E, *et al.* "The influence of apoptosis on intestinal barrier integrity in rats". Scand J Gastroenterol. 33; 1998: p. 415-22.
16. Sun Z, Wang X, Deng X, Lasson A, Wallen R, Hallberg E, *et al.* "The influence of intestinal ischemia and reperfusion on bidirectional intestinal barrier permeability, cellular membrane integrity, proteinase inhibitors, and cell death in rats". Shock. 10; 1998: p. 203-12.
17. Zapata-Sirvent RL, Hansbrough JF, Greenleaf GE, Grayson LS, Wolf P. "Reduction of bacterial translocation and intestinal structural alterations by heparin in a murine burn injury model". J Trauma. 36; 1994: p. 1-6.
18. Ferraris RP, Cao QX & Prabhakaram S. "Chronic but Not Acute Energy Restriction Increases Intestinal Nutrient Transport in Mice". J. Nutr. 131; 2001: p. 779-86.
19. O'Brien DP, Nelson LA, Williams JL, Kemp CJ, Erwin CR, Warner BW. "Selective inhibition of the epidermal growth factor receptor impairs intestinal adaptation after small bowel resection". J Surg Res 105; 2002: p. 25-30.
20. Shaw D, Gohlil K & Basson MD. "Intestinal mucosal atrophy and adaptation". World J Gastroenterol. 18(44); 2012: p.6357-75.
21. Martin CA, Perrone EE, Longshore SW, Toste P, Nair R *et al.* "Intestinal resection induces angiogenesis within adapting intestinal villi". J Pediatr Surg 44(6); 2009: p. 1077-82.
22. Bolick DT, Chen T, Alves LAO, Tong Y, Wu D, Joyner LT *et al.* "Intestinal cell kinase is a novel participant in intestinal cell signaling responses to protein malnutrition". PLoS One. 9(9); 2014.

23. Togawa K, Yan YX, Inomoto T, Slaugenhaupt S, Rustgi AK. “Intestinal cell kinase (ICK) localizes to the crypt region and requires a dual phosphorylation site found in map kinases”. *J Cell Physiol* 183; 2000: p. 129–39.