

Etanol ile Akut Gastrik Mukozal Hasar Oluşturulan Ratlarda İntragastrik L-arjinin'in Mukoza Koruyucu Etkisi

Gastroprotective Effects Of Intragastric L-arginine In Ethanol-induced Gastric Mucosal Injury In Rats

Avşaroğulları L, Sözüer E, Canöz Ö, Yıldırım C, İkizceli İ, Yavuz Y

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı, Kayseri
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Kayseri
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD, Kayseri
Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı, Gaziantep
Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı, afyon

Bu deneysel çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

Dr. Levent Avşaroğulları
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Acil Tıp Anabilim Dalı, Kayseri
lavsar@erciyes.edu.tr

ÖZET

Giriş: Bu deneysel çalışmanın amacı etanolle oluşturulan akut gastrik mukozal hasarda, intragastrik L-arjinin'in makroskobik ve mikroskobik düzeyde mukoza koruyucu etkilerini incelemektir. Deneysel modellerde, akut gastrik mukozal hasarın önlenmesi için şu ana kadar nitrik oksit ön maddesi olan L-arjinin genellikle parenteral kullanılmıştır. İntragastrik uygulama örnekleri sınırlıdır ve intragastrik uygulamanın akut histolojik sonuçları incelenmemiştir.

Yöntem: Otuz adet Wistar Albino rat onarlı üç gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol grubu olarak belirlendi ve ratlara orogastrik olarak 1.5 ml SF, ikinci gruba da orogastrik yoldan 1.5 ml %100'lük etanol verildi ve 60 dakika sonra ratlar sakrifiye edilip, mideleri çıkartıldı. Üçüncü grup ratlara, 100 mgr/kg dozunda 1 ml'ye sulandırılmış L-arjinin ve 30 dakika sonrasında 1.5 ml %100'lük etanol orogastrik olarak verilir, 60 dakika sonra ratlar sakrifiye edildi ve mideleri çıkartıldı.

Bulgular: Lezyonlu alanların tüm mide alanlarına göre yüzdeleri hesaplandığında, yalnız etanol verilen grupta belirgin olarak gastrik hemorajik lezyonlar oluştu. L-arjinin+alkol verilen grupta, sadece alkol verilen gruba göre lezyonların istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmış olduğu gözlemlendi.

Sonuç: Sonuçlarımız intragastrik olarak verilen L-arjinin'in, etanolle akut gastrik mukozal oluşturulan ratlarda mukozayı koruyucu etki yaptığını düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: L-arjinin, gastrik mukoza, gastroproteksiyon, nitrik oksit

SUMMARY

Study Objectives: The aim of this study is to investigate the gastro protective effects of intragastric L-arginine administration on gastric mucosal integrity in ethanol-induced gastric mucosal injury in rats.

Methods: A total of 30 Wistar albino rats were divided into three groups consisting of ten rats. The rats in the group 1 were given 1.5 mL saline orogastrically. The rats in the group 2 were administered 1.5 mL of 100% ethanol orogastrically. After 60 minutes, the animals were sacrificed and the stomachs were removed in both of two groups. L-arginine (100 mg/kg) was diluted with saline to a volume of 1 mL and then administered orogastrically to the rats in the group 3. The rats in this group received 1.5 mL of 100% ethanol orogastrically 30 minutes after the administration of L-arginine. After 60 minutes, the animals were sacrificed and the stomachs were removed.

Results: Macroscopic and microscopic examination showed that a statistically significant reduction of damage occurred in group 3 when compared with group 2 and rapid epithelization occurred in group 3.

Conclusion: The results suggest that orogastrically administered L-arginine may have gastroprotective effect in ethanol-induced gastric mucosal injury.

Key words: L-arginine, gastroprotection, mucosa, nitric oxide

GİRİŞ

Mide, mukozal korunma mekanizması sayesinde zararlı etkenlere karşı iyi korunan ve direnç gösteren bir dokudur. Bazı ilaçların alınması ve ağır hastalık gibi durumlarda bu ko-runma zayıflar ve farklı şiddetlerde mukozal hasarlar oluşur (1-5). Günümüzde mide mukozası üzerinde koruyucu etkileri bilinen pek çok ilaç olmasına rağmen, akut gastrik mukozal hasar halen ciddi bir klinik durum olmaya devam etmektedir. Biz çalışmamızda, ratlarda deneysel olarak etanol ile gastrik mukozal lezyonlar oluşturduk, ve gastrik mikrosirkülasyonun regülasyonunda önemli rolü olduğu bilinen nitrik oksit'in (NO) ön maddesi olan L-arjinin'in mide mukozasını koruyucu etkilerini makroskobik ve mikroskobik olarak araştırmayı planladık (6,7). Literatürde mide mukozasının korunmasında L-arjinin'in genellikle intravenöz (i.v.) ve intraperitoneal (i.p.) kullanımıyla ilgili çalışmalar mevcut iken, biz L-arjinin'in intragastrik (i.g.) kullanımının etkilerini inceledik. Ayrıca, literatürde tespit edemediğimiz L-arjinin'in i.g. kullanımının erken dönemde oluşturduğu mikroskobik değişikliklerin incelenmesine de çalışmamızda yer verdik.

YÖNTEM

Çalışmada ağırlıkları 145-250 gram arasında değişen 30 adet, Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Ratlar onarlı üç gruba ayrıldı. Çalışma öncesinde ratlar özel kafeslerde tutuldu ve standart laboratuvar yemi ile beslendi. Hayvanlara, deneyin 24 saat öncesinden itibaren sadece su verildi. Anestezi için ketamin hidroklorid 50 mg/kg dozunda intramüsküler olarak kullanıldı. Deney esnasında gastrik mukozal hasar oluşturmak için ratlara %100'lük etanol (Carlo Erba) oral olarak verildi. Bunun için bir metal orogastrik tüp kullanıldı. Ratlar deney sonrası servikal dislokasyonla sakrifiye edilip, mideleri çıkartılarak makroskobik ve mikroskobik olarak incelendi.

Grup 1 (n=10) Kontrol Grubu: Orogastrik tüpten 1.5 mililitre (ml) serum fizyolojik (SF) verildi. 60 dakika sonra ratlar sakrifiye edildi ve mideleri çıkartıldı.

Grup 2 (n=10) Etanol Grubu: Orogastrik yolla 1.5 ml % 100'lük etanol verildi. 60 dakika sonra ratlar sakrifiye edildi ve mideleri çıkarıldı.

Grup 3 (n=10) L-arjinin + Etanol Grubu: L-arjinin (SIGMA) 100 mg/kg dozunda, SF ile 1 ml'ye sulandırılarak, orogastrik tüple verildi. L-arjinin'in verilmesinden 30 dakika sonra 1.5 ml %100'lük etanol verildi. 60 dakika sonra ratlar sakrifiye edildi ve mideleri çıkarıldı.

Tüm ratlarda mide, proksimalde gastroösefajial bileşkeyi distalde de piloru içine alacak şekilde çıkartıldı ve sonra büyük kurvatur boyunca kesilerek açıldı. Daha sonra kenarlarından iğnelenerek düzgün bir zemin üzerine tespit edildi ve fotoğrafları çekildi. Tüm midelerin ve lezyonlu bölgelerin alanları milimetrik kağıt

kullanılarak hesaplandı. Lezyon alanlarının toplam mide alanına göre yüzde oranları tespit edildi. Mideler histolojik inceleme için % 10'luk formol solüsyonunda saklandı. Tüm preparatlar hematoxilen-eozin ile boyandı ve ışık mikroskobuyla incelendi.

Mikroskobik değerlendirme, tek bir patolog tarafından kör olarak Lacy ve Ito'nun tanımladığı kriterler gözönüne alınarak yapıldı (8,9). Gastrik mukozal lezyonların derecelerini belirleyen bu kriterler şöyledir:

Grade 0: Gastrik mukozal hücrelerde hasar yoktur. Hücreler normal şekil, lokalizasyon, görünüm ve dansitededir.

Grade 1: Yüzeysel mukoza hücre hasarı mevcuttur (vakuol, piknotik nükleus ve lizise uğramış sitoplazma).

Grade 2 : Yoğun hücre hasarı, hücrelerde kopma ve ayrılma mevcut.

Grade 3 :Tüm yüzey hücreleri ile gastrik glandlarda hasar, parietal hücrelerde piknotik nükleus ve yapısal bozulma gösteren sitoplazma ile yer yer nekroz mevcut.

Rat ağırlıklarının, mide alanlarının ve lezyon alanlarının ortalamalarının karşılaştırılmasında Kruskall-Wallis varyans analizi, farklılıkların hangi gruplardan kaynaklandığını saptamak ve histopatolojik sonuçların karşılaştırılmasını yapmak için ise, Mann-Whitney U testi kullanıldı.

SONUÇLAR

Ratların Ağırlıkları

Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'teki ratların ortalama ağırlıkları sırasıyla 197.5±20.17 gram, 196±25.36 gram ve 200±32.5 gram idi. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p>0.05).

Makroskobik İnceleme

Grup 1 : Bu gruptaki ratların midelerinde makroskobik bir lezyon görülmedi. Bu gruptaki ve diğer iki gruptaki ratların mide alanları ortalamaları Tablo 1'de verilmiştir.

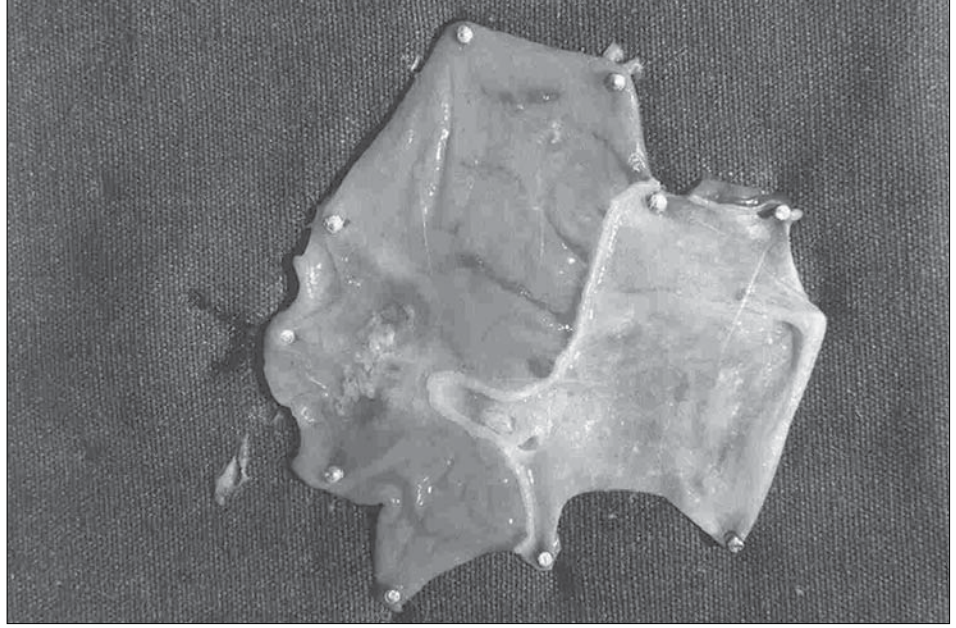
Grup 2 : Orogastrik yoldan %100'lük etanol verilen bu gruptaki ratların hepsinin midelerinde değişik boyutlarda hemorajik lezyonlar oluştu. Lezyonların genellikle korpusta ortaya çıktığı gözlemlendi. Resim 1' de bu gruptaki bir ratın mide örneği görülmektedir. Bu gruptaki lezyonlu bölgelerin alanlarının ortalamaları Tablo 1' de verilmiştir.

Grup 3 : Bu grupta alkol grubuna göre daha küçük boyutlu lezyonlar oluştu. Bu gruptaki lezyonlu bölgelerin alanlarının ve yüzdelilerinin ortalamaları Tablo 1'de verilmiştir.

Grup 1,2 ve 3'teki tüm mide alanlarının ortalamaları arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark yoktu (p>0.05) (Tablo 1). Gruplardaki lezyonlu alanlar karşılaştırıldığında; Grup 2'deki lezyonlu alanların ortalaması, Grup 3'teki lezyonlu alanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha büyük bulunmuştur (p<0.01) (Tablo 1).

Resim 1:

Grup 2'de etanole bağlı oluşan gastrik hemorajiler.

**Mikroskopik İnceleme**

Gruplardaki mikroskopik derecelendirme sonuçları Tablo 2' de gösterilmiştir. Grup 3'e ait bir histopatolojik görüntü Resim 2' de sunulmuştur.

Grupların histopatolojik derecelendirme değerleri karşılaştırıldığında, Grup 3'ün değerleri Grup 2'ye göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak düşüktü ($p < 0.01$) (Tablo2).

TARTIŞMA

Etanol, deneysel modellerde mide mukozası hasarı oluşturmada sık olarak kullanılan bir ajandır (8,10). Etanol midede mukozal ödem ve vasküler konjesyon oluşturur. Yüksek konsantrasyonlardaki etanolün deney hayvanlarına intragastrik verilmesinden hemen sonra, midede submukozal venöz konstriksiyon ve buna bağlı arterioller dilatasyon ortaya çıkar. Venüllerdeki küçülmeyi mukozal kan akımındaki staz takip eder, ve sonrasında doku nekrozu meydana gelir. Doku

nekrozunun gelişiminde vasküler yarananma, vasküler geçirgenlikteki artış ve mikrosirküler staz rol oynar (8,11,12). Etanolün midede mikrosirkülasyonu ve hemodinamiyi bozmasına bağlı gelişen iske mi ise, doku hasarına yol açar (6,12,13).

İnsan vücudu için büyüme ve gelişme dönemlerinde esansiyel bir aminoasit olan L-arjinin; gastrointestinal hücrelerin metabolizmasının düzenlenmesinde, yara iyileşmesinde, azot dengesinin düzenlenmesinde ve bozulmuş immünitenin düzeltilmesinde rol oynar (14,15,16). L-arjinin, aynı zamanda nitrik oksit'in (NO) ön maddesidir. NO; çeşitli kofaktörlerin de yardımıyla, nitrik oksit sentaz (NOS) olarak adlandırılan enzimlerce L-arjinin'den sentezlenir (6,17,18,19,20). L-arjinin, ayrıca, N^G-nitro-L-arjinin (L-NNA) ve N ω -nitro-L-arjinin (N ω NA) gibi NOS inhibitörü olan ajanların da kompetitif antagonistidir (8,21).

Literatürde, AGMH oluşturulan deneysel modellerde NO'in

Tablo 1:

Mide ve lezyon alanlarının ortalamaları

	Grup 1 (n=10)	Grup 2 (n=10)	Grup 3 (n=10)	Ki-Kare	p
Mide alanlarının ortalaması (XSD) (mm ²)	1211.47±151.32	1348.72±250.74	1336.86±261.75	1.78	>0.05
Lezyonlu alanların ortalaması (XSD) (mm ²)	0.00±0.00b, c	59.46±63.37a, c	13.36±15.63a, b	24.17	<0.01

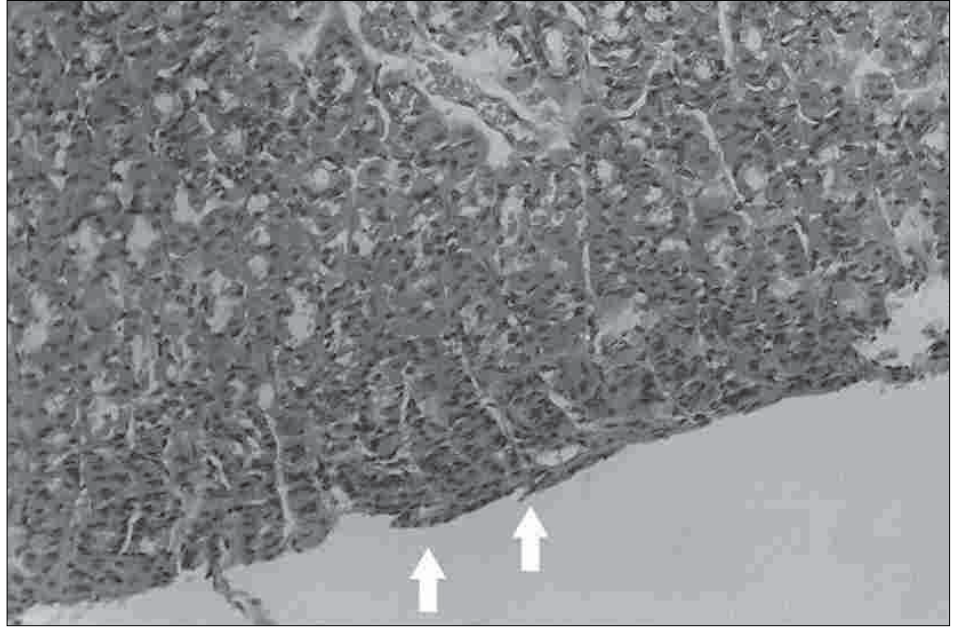
a: Grup 1'deki ortalamının, Grup 2 ve 3' teki ortalamalara göre anlamlı olarak farklı olduğunu göstermektedir.

b: Grup 2'deki ortalamasının, Grup 1 ve 3' teki ortalamalara göre anlamlı olarak farklı olduğunu göstermektedir.

c: Grup 3'deki ortalamasının, Grup 1 ve 2' deki ortalamalara göre anlamlı olarak farklı olduğunu göstermektedir.

Resim 2:

Grup 3' te L-arginine bağlı gelişen tamirat ve reepitelizasyon (rejenerasyon)



mukoza koruyucu etkilerini göstermek için L-arjinin'in sistemik (i.v. ve i.p.) veya topikal (i.g.) olarak kullanıldığı çalışmalar mevcuttur (6,8,22,23,24,25,26,27,28). Çalışmamız, i.g. yolla verilen L-arjinin'in alkole bağlı mukoza hasarını azaltmada kullanıldığı nadir çalışmalardan biri olarak görünmektedir. Literatürde yaptığımız araştırmada, sadece iki çalışmada i.g. uygulama örneği tespit ettik (22,29). Bunlardan biri kısa süreli gastrik iskemide i.g. L-arjinin'in mukoza üzerine koruyucu etkilerini; diğeri ise, çalışmamızda olduğu gibi etanole bağlı gastrik mukozal hasarda i.g. L-arjinin'in koruyucu etkilerini araştırıyordu.

Çeşitli çalışmalarda deney hayvanlarına oral olarak etanol verilmesiyle AGMH gözlenmiştir (8,10-12,22). Oral etanole beraber sistemik L-arjinin'in verildiği gruplarda, L-arjinin (NO reaksiyonunun uyarılması sonucu hasar azalmıştır. Oral etanolün yanında sistemik olarak NOS inhibitörleri verildiğinde, sadece oral etanol verilen gruplara göre çok daha büyük hasarlar oluşmuştur. Sistemik NOS inhibitörleri ve oral alkolün yanında sistemik L-arjinin verilen deney gruplarında ise, NOS inhibitörü ve alkolün birlikte verildiği gruplara göre, L-arjinin'in NOS inhibitörlerinin kompetitif antagonisti olmasından dolayı mukozal hasarlarda azalma gözlenmiştir (8,22). Tüm bu örnekler sistemik L-arjinin'in endojen NO sentezini artırarak ya da eksojen NOS inhibitörlerine antagonizma yaparak koruyucu etki yaptığını göstermektedir.

İ.g. uygulama, i.v. ve i.p. uygulamaya göre daha kolay olmaktadır. Ratlarda etanole AGMH oluşturduğumuz çalışmamızda, NO ön maddesi olan L-arjinin'i i.g. yolla verdiğimizde; istatistiksel olarak anlamlı derecede mukoza

koruyucu etki gözlemledik. Sadece alkol verilen gruba göre, i.g. L-arjinin ve alkolün verildiği grupta lezyon alanlarında anlamlı miktarda azalma oldu (Tablo 1). Literatürde, orogastrik uygulamaya bağlı olarak ortaya çıkan akut dönem mikroskobik değişikliklere ilişkin bir bilgi tespit edemedik. Makroskobik incelemenin yanında, mikroskobik inceleme de yaptık; L-arjinin ve alkol verilen grubun mikroskobik hasar derecelendirme sonuçları sadece alkol verilen grubunkine göre anlamlı derecede düşüktü (Tablo 2).

Tablo 2:

Histopatolojik inceleme sonuçları

	Grup 1 (n=10)	Grup 2 (n=10)	Grup 3 (n=10)	Ki - Kare	p
Results Median(min-max)	0 (0-1) ^{b,c}	2 (1-3) ^{a,b}	1 (0-3) ^{a,c}	20.38	< 0.01

a: Grup 1'deki sonucun Grup 2 ve 3' teki sonuçlara göre anlamlı olarak farklı olduğunu göstermektedir.

b: Grup 2'deki sonucun Grup 1 ve 3' teki sonuçlara göre anlamlı olarak farklı olduğunu göstermektedir.

c: Grup 3'teki sonucun Grup 1 ve 2' deki sonuçlara göre anlamlı olarak farklı olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda; i.g. yolla elde ettiğimiz sonuçlar, sistemik yolla elde edilen sonuçlara benzerlik göstermekteydi (8,22). İ.g. L-arjinin'in lezyon boyutlarını anlamlı oranda azalttığını gösteren sonuçlarımız, Brzozowski ve ark.'nın i.g. L-arjinin kullanımına yer verdikleri çalışmalarındaki sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Ancak, aynı çalışmada i.g. uygulamanın mukoza korumasını gerçekleştirilmesinde, endojen NO yapımını artırma

gibi sistemik bir etkiden ziyade, lokal bir etkinin söz konusu olabileceği ifade edilmektedir. İ.g. etanol ve L-arjinin verilen ratlara parenteral NOS inhibitörü de verildiğinde korunmada bir azalma olmadığı, ancak korunmaya eşlik eden gastrik hipereminin kaybolduğu; ama indometazin verildiğinde korunmanın tamamen kaybolduğu; dolayısıyla topikal L-arjinin'in oluşturduğu korumada L-arjinin NO yolundan ziyade, endojen prostaglandinlerce yönetilen sitoprotektif mekanizmanın etkili olabileceği bildirilmiştir (22). Bir başka çalışmada ise, gastrik mukozal savunma mekanizmasında prostaglandinlerin ve NO'in düzenleyici rolleri olduğu, ayrıca bu iki maddenin gastrik ülserlerin tamirat sürecinde de etkin rol aldığı belirtilmektedir (30). Bu bilgilere göre elde ettiğimiz sonuçlar, topikal L-arjinin'in midede sitoproteksiyon mekanizmasını uyararak koruma oluşturduğunu, NO'in ancak eşlik eden hiperemide etkili olabileceğini düşündürmektedir. Parenteral verilen L-arjinin ise L-arjinin NO yolu aracılığı ile gastrik hiperemi oluşturmakta, ayrıca gastrik kan akımını ve lokal O₂ saturasyonunu artırmaktadır (6, 22).

Çalışmamızda yaptığımız mikroskopik incelemede, i.g. L-arjinin + alkol verilen gruptaki ratların mikroskopik derecelendirme sonuçları, sadece alkol verilen grubun değerlerine göre anlamlı derecede düşüktü (Tablo 2). Bu incelemede, L-arjinin+alkol verilen gruptaki mide numunelerinde reepitelizasyon tespit ettik (Resim 2). Tek alkol verilen grupta böyle bir değişiklik yoktu. Ratların en son ajanların verilmesinden 60 dakika sonra sakrifiye edildiği gözönüne alınırsa, L-arjinin'in akut dönemde reepitelizasyon geliştirmesi dikkat çekici bir bulgudur ve çok kısa zaman içinde bir tamirat ya da iyileşme sürecinin başlamış olabileceğini düşündürmektedir (Resim 2). Bu bulgu, mukozal epitelizasyon sürecinin intakt bir bazal membran üzerinde epitelyal hücre migrasyonunu gerektirdiği, bu migrasyonun dakikalar ve saatler içinde gerçekleştiği bilgisiyle uyumlu görünmektedir (31). Topikal L-arjinin'in koruyucu etkisinin NO'e kısmen bağlı olabileceği, bu korumada esas itibariyle bir adaptif sitoproteksiyon mekanizmasının tayin edici bir rolünün olabileceği görüşünden hareketle; çalışmamızda gözlemediğimiz mukoza koruyucu etkinin ağırlıklı olarak sitoproteksiyon sonucu geliştiği düşünülebilir.

Akut dönemde mikroskopik düzeyde tespit ettiğimiz reepitelizasyonun topikal olarak verilen L-arjinin'e bağlı geliştiğini düşünüyoruz. Ancak, bunun hangi mekanizma ile olduğu, araştırmaya açık bir konudur.

Sonuç olarak; topikal verilen L-arjininin, sitoprotektif mekanizmanın ağırlıklı olduğu bir etki ile mukozal koruma yaptığı düşünülebilir. Bu sonuçlar klinik kullanım için umut verici olarak değerlendirilebilir. Intragastrik L-arjinin ile ilgili deneysel ve klinik araştırmaların sayısı arttıkça, ve olumlu

sonuçlar alındıkça; kostik madde alımlarına bağlı mukoza hasarları ve stres ülserleri gibi durumlarda, bu ajanın mide mukozasının korunmasında klinik kullanımı söz konusu olabilir.

KAYNAKLAR

- 1- Scarpignato C: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: how do they damage to gastroduodenal mucosa? Dig Dis 1995; 13 Suppl 1:9-39.
- 2- Kaunitz JD, Tanaka S: Regulation of intracellular pH: role in gastric mucosal defence. Keio J Med 1996; 45(3):155-160.
- 3- Werther JL: The gastric mucosal barrier. Mt Sinai J Med 2000; 67(1):41-53.
- 4- Panacek EA: Upper Gastrointestinal Bleeding. In: Harvard-Nuss AL, ed. The Clinical Practice of Emergency Medicine. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996: 679-683.
- 5- Guyton A: Physiology of Gastrointestinal Disorders. In: Dreibelis D, ed. Textbook of Medical Physiology. Philadelphia: WB Saunders Co, 1986: 795-805.
- 6- Masuda E, Kawano S, Nagana K, et al. Endogenous NO modulates ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. Gastroenterology 1995; 108:58-64.
- 7- Pique JM, Whittle BJR, Esplugues JV. The Vasodilator role of endogenous NO in the rat gastric microcirculation. Eur J Pharmacol 1989; 174:293-296.
- 8- Özden A, Sungurtekin U, Bilgihan A, et al. Etanolle oluşan mide mukoza hasarında nitrik oksit'in koruyucu etkisi. Ulusal Cerrahi Dergisi 1996; 12:31-36.
- 9- Lacy E R, Ito S. Microscopic analysis of ethanol damage to rat gastric mucosa after treatment with a prostaglandin. Gastroenterology 1982; 83:619-625.
- 10- Szelenyi I, Brune K. Possible role of oxygen free radicals in ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. Dig Dis Sci 1988; 7:865-871.
- 11- Szabo S, Trier JS, Brown A, et al. Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury in the rat. Gastroenterology 1985; 88:228-236.
- 12- Bou-Abboud CF, Wayland H, Paulsen G, et al. Microcirculatory stasis precedes tissue necrosis in ethanol-induced gastric mucosal injury. Dig Dis Sci 1988; 7:872-877.
- 13- Perry MA, Wadhwa S, Parks DA, et al. Role of oxygen radicals in ischemia-induced lesions in the cat stomach. Gastroenterology 1986; 90:362-367.
- 14- Cynober L. Can arginine and ornithine support gut functions. Gut 1994; 35:542-545.
- 15- Barbul A, Lazarou SA, Efron DT, et al. Arginine enhances wound healing and lymphocyte immune responses in humans. Surgery 1990; 108: 331-337.
- 16- Seifter E, Rettura G, Barbul A, et al. Arginine: an essential aminoacid for injured rats. Surgery 1978; 84:224-230.
- 17- Kone BC. Nitric oxide in renal health and disease. Am J Kidney Dis 1997; 30:311-333.
- 18- Billiar TR. Nitric oxide: novel biology with clinical relevance. Ann Surg 1995; 221:339-349.
- 19- Kone BC, Baylis C. Biosynthesis and homeostatic roles of nitric oxide in the normal kidney. Am J Physiol 1997; 272:561-578.
- 20- Narita I, Border WA, Ketteler M, Noble NA: Nitric oxide mediates immunologic injury to kidney mesangium in experimental glomerulonephritis. Lab Invest 1995; 72:17-24

-
- 21- Moncada S. The L-arginine: nitric oxide pathway. *Acta Physiol Scand* 1992;145:201-227.
- 22- Brzozowski T, Konturek S J, Sliwowski Z. Role of L-arginine, a substrate for nitric oxide-synthase, in gastroprotection and ulcer healing. *Gastroenterology* 1997; 32:442-452.
- 23- KiralyA, Suto G, Tache Y. Role of nitric oxide in the gastric cytoprotection induced by central vagal stimulation. *Eur J Pharmacol* 1993; 240:299-30.1
- 24- Brzozowski T, Drozdowicz D, Szlachnic A, et al. Role of nitric oxide and prostaglandins in gastroprotection induced by capsaicin and papaverine. *Digestion* 1993; 54:24-31.
- 25- Konturek SJ, Brzozowski T, Pytko-Polonczyk. Nitric oxide in gastroprotective and ulcer healing effects of sucralfate. *Scand J Gastroenterol* 1995;210:22-27.
- 26- Hisanaga Y, Goto H, Tachi K. Implication of nitric oxide synthase activity in the genesis of water immersion stress-induced gastric lesions in rats: the protective effects of FK506. *Aliment Pharmacol Ther* 1996; 10: 933-940.
- 27- Konturek SJ, Brzozowski T, Majka J, Czarnobilski K. Role of nitric oxide and prostaglandins in sucralfate-induced gastroprotection. *Eur J Pharmacol* 1992 ; 211:277-279.
- 28- Yasuhiro T, Konaka A, Ukawa H, Kato S, Takeuchi K. Role of nitric oxide in pathogenesis of gastric mucosal damage induced by compound 48/80 in rats. *J Physiol Paris* 1997; 91:131-138.
- 29- Konturek SJ, Brzozowski T, Pajdo R, et al. Gastric preconditioning induced by short ischemia: the role of prostaglandins, nitric oxide and adenosine. *Med Sci Monit* 2001; 7(4):610-621.
- 30- Wallace JL. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and gastrointestinal tract. Mechanisms of protection and healing: current knowledge and future research. *Am J Med* 2001; 110(1A):19-23.
- 31- Feroglio-Presier CM, Noffsinger AE, Stemmermann GN, et al. The Nonneoplastic Stomach. In *Gastrointestinal Pathology, An Atlas and Text*. 2nd ed. Philadelphia, PA, USA: Lippincott-Raven Publishers, 1999, pp:153-236