

## Tingkat Kerusakan Mukosa Lambung pada Tikus Model yang Dinduksi Etanol

### *The Extend of Gastric Mucosal Damage in Etanol Induced Model Rats*

**Sherly Usman**

Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Email: sherlyusman@yahoo.com

#### **Abstrak**

Gastritis merupakan salah satu gangguan pencernaan yang sering ditemukan dalam masyarakat. Kerusakan mukosa lambung dapat diinduksi oleh berbagai faktor salah satunya konsumsi alkohol. Alkohol sebagian dikonsumsi oleh penduduk dunia termasuk Indonesia. Penelitian mengenai kerusakan mukosa lambung, banyak dilakukan dengan menggunakan tikus model yang diinduksi etanol. Mekanisme kerusakan mukosa lambung yang diinduksi etanol masih belum sepenuhnya jelas. Tujuan penelitian ini untuk mengkaji tingkat kerusakan mukosa lambung pada tikus model yang diinduksi etanol. Penelitian ini menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* sebanyak 24 ekor dibagi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol akuades (KA), kelompok perlakuan dengan etanol terminasi hari pertama (EH1), etanol terminasi hari ke-3 (EH3), etanol terminasi hari ke-5 (EH5). Semua kelompok dipuasakan dan diinduksi peroral dengan etanol dosis 100% 1ml/200 gr BB. Data tingkat kerusakan mukosa lambung didapatkan dari hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Ulkus dengan perdarahan tampak pada mukosa kelompok etanol terminasi hari pertama dengan tingkat kerusakan mukosa lambung paling berat. Disimpulkan bahwa tingkat kerusakan lambung diinduksi etanol paling berat pada awal setelah induksi, kemudian berangsur menurun mengalami perbaikan mukosa.

Kata kunci: Tingkat Kerusakan Mukosa Lambung; Etanol, *Rattus norvegicus*

#### **Abstract**

*Gastritis is frequently digestion problem found in society. Gastric damage induced with some factors for example alcoholic people. Alcoholic people found in Indonesian people. The research of gastric damage in the rat models is mostly conducted by ethanol induction. Gastric damage induced ethanol by understandable mechanism. This research aim to analyzes the gastric damage level on rat models induced ethanol. Rat (*Rattus norvegicus*) Sprague Dawley strain divided into 4 group: aquades control (KA), treatment groups: first day of terminated ethanol (EH1), third day of terminated ethanol (EH3), fifth day of terminated ethanol (EH5). All groups were being per oral induction, conducted in accordance with 100% ethanol of 1ml/200 gr body weight. The data level of the gastric damage can finding on macroscopic and microscopic observation. Ulcus seen in first day induces ethanol group. The gastric damage level of ethanol group was most highly in first day after induction. It was concluded that the gastric damage level of ethanol was most high in first day of mucosa damage and turn on after it for mucosa healing process.*

Keywords: Gastric Mucosa Damage; Etanol, *Rattus norvegicus*

## PENDAHULUAN

Gastritis merupakan gangguan pencernaan berupa kerusakan mukosa lambung yang memiliki angka kejadian berkisar antara 5%-10% dari populasi penduduk dunia.<sup>1</sup> Kerusakan mukosa lambung memiliki penyebab yang multifaktorial, selain itu melalui mekanisme yang tidak sepenuhnya dipahami. Ketidakseimbangan antara faktor invasif dan faktor defensif disebabkan oleh *ulcerogenic agents* sehingga memicu kerusakan lambung.<sup>2</sup> Faktor invasif di antaranya dipicu dari luar yaitu penggunaan obat atau konsumsi alkohol.<sup>2</sup> Faktor defensif meliputi sekresi mukus-bikarbonat dan prostaglandin.<sup>3</sup>

Penelitian dengan menggunakan tikus model kerusakan lambung sudah banyak dilakukan, terutama dengan bahan induksi berupa etanol.<sup>4</sup> Pada kenyataannya, alkohol sebagian dikonsumsi oleh penduduk dunia termasuk Indonesia. Pada penelitian terdahulu menunjukkan bahwa kerusakan lambung yang diinduksi etanol melalui jalur aktifnya mediator inflamasi TNF- $\alpha$ . Selain itu memicu penurunan produksi prostaglandin sebagai agen sitoproteksi mukosa lambung. Penelitian terdahulu lainnya menunjukkan bahwa kerusakan mukosa lambung yang diinduksi etanol melalui mekanisme yang berbeda.

Etanol menginduksi kerusakan mukosa lambung melalui produksi radikal bebas sebagai produk metabolisme. Salah satu produk radikal bebas salah satunya adalah *Reactive Oxygen Species* (ROS).<sup>5</sup> Produksi ROS yang terakumulasi menyebabkan kegagalan sistem antioksidan endogen.<sup>6</sup> Selain itu dalam penelitian terdahulu menunjukkan bahwa etanol mempunyai daya penetrasi yang kuat dan cepat ke lapisan mukosa lambung sehingga memicu kerusakan epitel.<sup>5</sup>

Dengan melihat mekanisme kerusakan mukosa yang diinduksi etanol masih belum sepenuhnya, maka penelitian ini mengkaji bagaimanakah tingkat kerusakan lambung pada tikus model ulkus lambung yang diinduksi etanol?

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji tingkat kerusakan mukosa lambung pada tikus model kerusakan mukosa lambung yang diinduksi etanol.

## BAHAN DAN CARA

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan penelitian *post test only control group*. Variabel bebas penelitian adalah etanol 100% sebanyak 1 ml/grBB. Variabel terikat penelitian adalah tingkat kerusakan mukosa lambung secara makroskopis dan mikroskopis. Bahan yang digunakan adalah *hematoxylin meyer's* (merck 105174.0500), PBS pH 7 dan etanol 100%.

Semua tikus diaklimatisasi selama 7 hari dengan diberi pakan dan minum *ad libitum*. Ruangan diatur dengan temperatur 25-30 °C, kelembaban 50-60% dan siklus gelap-terang masing-masing 12 jam. Tikus *Sprague Dawley* jantan sebanyak 24 ekor dikelompokkan menjadi 4 kelompok, masing-masing beranggotakan 6 ekor tikus. Pembagian kelompok dapat dilihat pada Tabel 1.

Semua hewan coba diinduksi sesuai pembagian kelompok dengan cara sonde lambung. Hewan coba diterminasi dengan menggunakan eter. Pengambilan

Tabel 1. Pembagian Kelompok Hewan Coba

Kelompok	Perlakuan	Waktu Terminasi
KA	Larutan Aquades	Hari pertama induksi
EH1	Etanol 100%	Hari pertama induksi
EH3	Etanol 100%	Hari ke-3 induksi
EH5	Etanol 100%	Hari ke-5 induksi

Keterangan: Dosis ethanol adalah 1 ml/200grBB

organ lambung dilakukan dengan cara tikus ditelentangkan dan diris dinding abdomennya hingga rongga abdomen terlihat. Organ lambung diambil dengan memotong batas corpus-esophagus dan pylorus-duodenum. Lambung dicuci dengan NaCl fisiologis kemudian dibuka pada batas *curvatura major*.

**Pengamatan kerusakan mukosa lambung secara makroskopis dan mikroskopis.** Organ lambung yang telah bersih kemudian difiksasi dengan cara dibentangkan di atas parafin padat dengan menggunakan jarum, dan dilakukan pengamatan kerusakan mukosa secara makroskopis. Penilaian Kerusakan mukosa lambung secara makroskopis dinilai berdasarkan gambaran perubahan warna mukosa, noda ulkus, perdarahan, ulkus yang lebih dalam dan perforasi dengan bantuan kaca pembesar. Penilaian menggunakan sistem skor dengan skala 0-5.<sup>7</sup> Pengamatan dilakukan oleh 2 orang pengamat secara *blinded observer*. Skor dengan kriteria penilaian dapat dilihat pada Tabel 2.

Setelah dilakukan pengamatan tingkat kerusakan mukosa secara makroskopis, kemudian area ulkus di lambung diiris secara horisontal dengan ketebalan  $\pm 1$  cm. Irisan mukosa kemudian diproses untuk pemeriksaan mikroskopik dengan prosedur *paraffin embedding* menggunakan pengecatan HE.

**Penilaian pengamatan mikroskopis.** Pengamatan secara mikroskopis dilakukan berdasarkan luas area lesi mukosa dan kedalaman ulkus di

**Tabel 2. Skor dan Kriteria Kerusakan Mukosa Lambung Secara Makroskopis**

Skor	Kriteria
0	normal
1	kemerahan
2	Noda ulkus
3	perdarahan
4	Ulkus yang disertai perdarahan
5	perforasi

**Tabel 3. Skor dan Kriteria Penilaian Area Lesi Mukosa**

Skor	Kriteria
0	Tidak ada lesi
1	Area lesi 1%-10%
2	Area lesi 11%-20%
3	Area lesi >20%

mukosa. Penilaian pengamatan menggunakan 2 langkah sistem skor yaitu skor persentasi area lesi mukosa dan skor kedalaman lesi mukosa. Total Skor kerusakan berdasarkan penjumlahan antara skor persentasi area lesi mukosa dengan skor kedalaman ulkus di mukosa berskala 0-6.<sup>8</sup> Pengamatan dilakukan oleh 2 orang pengamat secara *blinded observer*. Kriteria penilaian antara skor area lesi mukosa dan skor kedalaman ulkus mukosa dapat dilihat pada Tabel 3. dan Tabel 4.

Sampel diamati masing-masing 5 lapang pandang pada masing-masing kelompok menggunakan mikroskop perbesaran 100x dan 400x oleh 2 orang pengamat tanpa mengetahui kelompok sampel (*blinded observer*).

Data yang menunjukkan tingkat kerusakan mukosa lambung diperoleh dengan metode semi-kuantitatif berdasarkan rerata skor yang muncul. Hasil pengamatan dari 2 orang pengamat secara *blinded observers* disajikan dalam bentuk rerata. Data diuji normalitasnya menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Apabila sebaran data normal maka menggunakan analisis uji parametrik dengan *two way analysis of variance (two-way ANOVA)*. Apabila sebaran data

**Tabel 4. Skor dan Kriteria Penilaian kedalaman Ulkus**

Skor	Kriteria
0	tidak ada perubahan
0,5	erosi pada epitel permukaan mukosa
1	Ulkus mencapai lamina propia
2	Ulkus mencapai 2/3 atau lebih lapisan mukosa
3	Ulkus mencapai keseluruhan lapisan mukosa

tidak normal maka menggunakan uji non parametrik menggunakan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*.

## HASIL

Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus, yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu kontrol akuades (KA), etanol terminasi hari pertama (EH1), etanol terminasi hari ke-3 (EH3), etanol terminasi hari ke-5 (EH5). Penetapan dosis dan waktu terminasi pada kelompok yang diinduksi etanol sesuai dengan penelitian terdahulu.<sup>9</sup> Konsentrasi etanol yang digunakan adalah 100%. Dosis etanol yang digunakan pada penelitian ini yaitu 1ml/200 gr BB. Penilaian kerusakan mukosa lambung meliputi penilaian makroskopis dan mikroskopis. Data nilai makroskopis disajikan secara deskriptif. Data nilai mikroskopis, diuji normalitasnya dengan uji *Shapiro-Wilk Test*, yang menunjukkan bahwa sebaran data tidak normal. Oleh karena itu, untuk melihat perbedaan rerata antara kelompok dilakukan uji beda rerata antara semua kelompok perlakuan dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis test*.

**Penilaian kerusakan mukosa lambung secara makroskopis.** Penilaian makroskopis kerusakan lambung dilakukan dengan melihat tanda atau karakteristik sesuai Tabel 2. dengan rentang nilai 0 untuk penilaian mukosa lambung normal sampai dengan 5 untuk kerusakan paling berat. Gambaran makroskopis kerusakan mukosa lambung dapat dilihat pada Gambar 1. Nilai kerusakan mukosa lambung dapat dilihat pada Tabel 5. Mukosa lambung normal dengan nilai 0 dapat diamati pada kelompok kontrol (Gambar 1A; Tabel 5.). Kerusakan lambung berupa noda ulkus dengan nilai 2 dapat diamati pada mukosa lambung dari kelompok EH3 dan EH5 (Gambar 1C dan 1D, Tabel 5.). Kerusakan lambung

**Tabel 5. Nilai Kerusakan Mukosa Lambung Secara Makroskopis**

Kelompok	Modus nilai kerusakan mukosa
KA	0
EH1	4
EH3	2
EH5	2

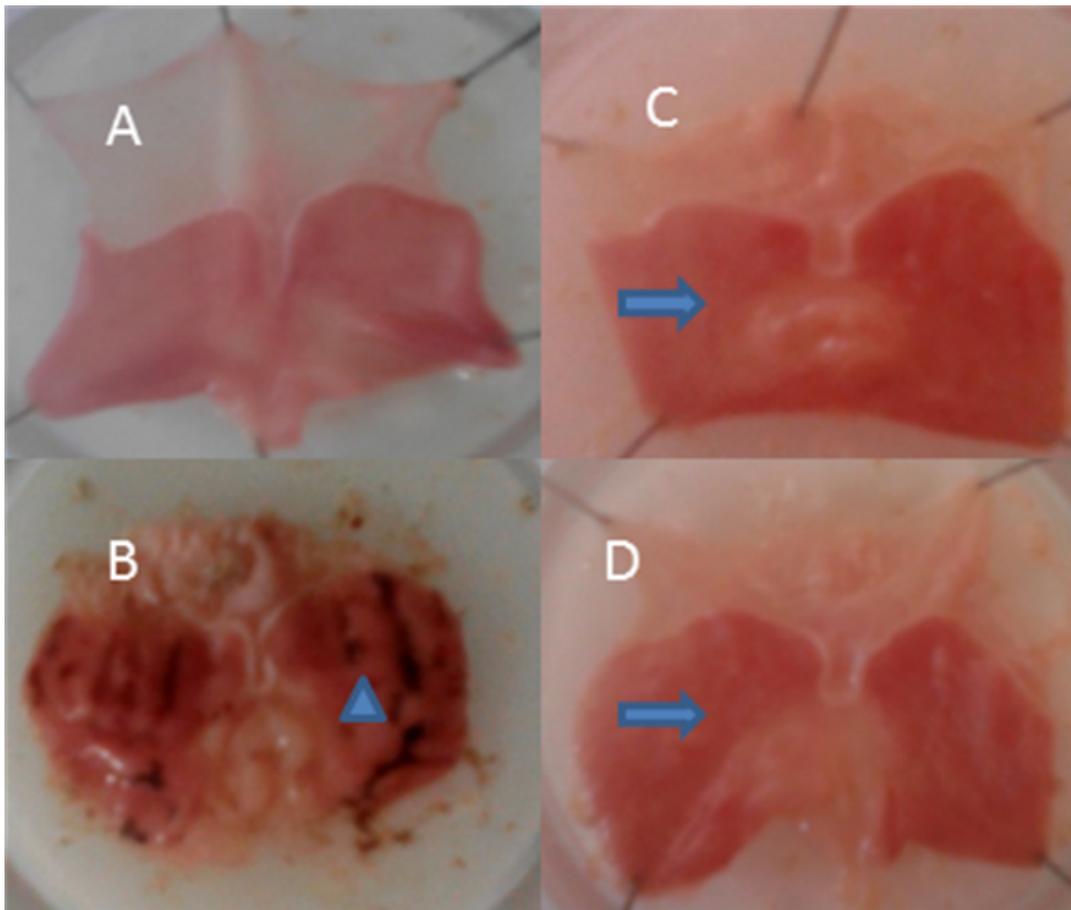
Keterangan: Nilai 0=normal, 1=kemerahan, 2=noda ulkus, 3=perdarahan, 4= ulkus disertai perdarahan, 5= perforasi

paling berat yang ditemukan pada penelitian ini berupa ulkus disertai perdarahan (nilai 4) ditemukan pada mukosa lambung dari kelompok EH1 (Gambar 1B, Tabel 5.).

**Penilaian kerusakan mukosa lambung secara mikroskopis.** Penilaian mikroskopis kerusakan mukosa lambung dilakukan berdasarkan penjumlahan nilai persentase area lesi dan nilai kedalaman ulkus. Penilaian ini dilakukan sesuai dengan penelitian terdahulu yang dapat dilihat pada Tabel 3. dan Tabel 4. Kerusakan mukosa lambung dapat berupa erosi maupun ulkus. Erosi adalah keadaan terputusnya lapisan epitel mukosa lambung dan ulkus merupakan keadaan terputusnya kontinuitas mukosa lambung (epitel, lamina propia dan muskularis mukosa) yang terkadang dapat mencapai lapisan muskularis.

Data kerusakan mikroskopis mukosa lambung disajikan dalam bentuk rerata. Uji beda rerata antar kelompok perlakuan dengan *Kruskal Wallis test* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada beberapa kelompok perlakuan dengan nilai  $p=0,000$  ( $p<0,05$ ). Uji *Mann Whitney* digunakan sebagai uji lanjutan untuk mengetahui kelompok yang berbeda bermakna dengan nilai  $p<0,05$ .

Gambaran mikroskopis kerusakan mukosa dapat dilihat pada Gambar 2. dan nilai rerata kerusakan mukosa dapat dilihat pada Tabel 6.



**Gambar 1. Gambaran Makroskopis Ulkus Lambung. A) kelompok kontrol akuades (KA), B) etanol, terminasi hari ke-1 (EH1), C) etanol, terminasi hari ke-3 (EH3), D) etanol, terminasi hari ke-5. Tampak ulkus dengan perdarahan (segitiga) dan noda atau bercak ulkus (tanda panah).**

Berdasarkan uji *Mann Whitney*, nilai kerusakan mikroskopis mukosa lambung antara semua kelompok berbeda bermakna dengan kelompok kontrol (KA) ( $p < 0,05$ ). Nilai rerata kerusakan paling rendah sebesar  $1,000 \pm 0,866$  tampak pada kelompok kontrol (KA) (Tabel 6.) dengan gambaran erosi (Gambar 2A).

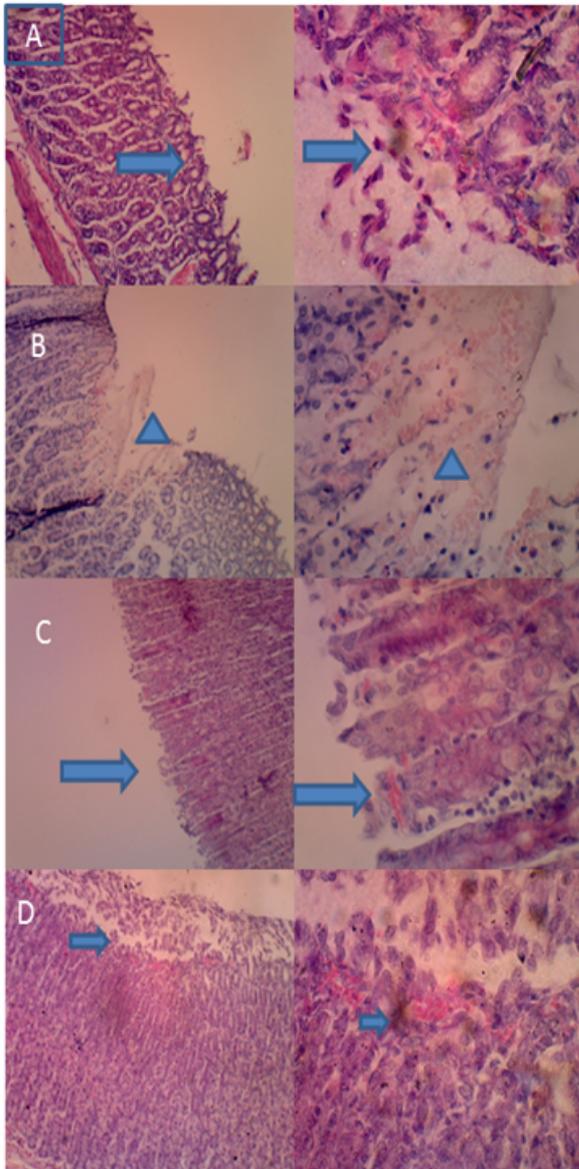
Kerusakan paling berat dapat dilihat pada mukosa lambung kelompok EH1 (Gambar 2B) dengan nilai rerata kerusakan paling tinggi yaitu  $e \bullet 4,000$  (Tabel 6.) dan bermakna dengan kelompok EH3, EH5

( $p < 0,05$ ). Pada kelompok EH3 dan EH5 tampak gambaran erosi yang lebih berat dari kelompok KA (Gambar 2C dan 2D) dengan nilai rerata kerusakan mukosa sebesar  $1,833 \pm 0,577$  (Tabel 6.).

**Tabel 6. Nilai Mikroskopis Kerusakan Mukosa Lambung**

Kelompok	Nilai Rerata
KA	$1,000 \pm 0,866$ b
EH1	$4,667 \pm 0,577$ a
EH3	$1,833 \pm 0,577$ c
EH5	$1,833 \pm 0,577$ c

Keterangan: kisaran nilai mikroskopis ulkus lambung paling ringan hingga paling berat yaitu 0,5-6.



**Gambar 2. Gambaran Mikroskopik Kerusakan Mukosa Lambung. A) kontrol aquades (KA), B) etanol, terminasi hari ke-1, C) etanol, terminasi hari ke-3 D), etanol, terminasi hari ke-5, Tampak erosi mukosa (tanda panah), ulkus pada mukosa (segitiga).HE. Perbesaran 100x.**

## DISKUSI

Kerusakan mukosa lambung disebabkan oleh ketidakseimbangan faktor defensif dan faktor invasif sehingga memicu produksi asam lambung berlebih.<sup>2</sup> Pada penelitian ini menggunakan model tikus yang diinduksi oleh bahan yang menginduksi kerusakan

mukosa lambung yaitu etanol 100%. Etanol mampu menginduksi kerusakan mukosa paling berat dibandingkan bahan induksi lainnya, di antaranya indometasin dan asam klorida (HCL). Penelitian sebelumnya, pada mukosa lambung yang diinduksi indometasin, tidak terdapat perbedaan bentuk sel-sel mukosa lambung, sedangkan pada etanol 80% terlihat adanya abnormalitas berupa sel yang mengalami hipertropi. Pada perlakuan dengan etanol 80% tampak infiltrasi neutrofil ke dalam sel-sel epitel yang menandakan terjadinya inflamasi.<sup>10</sup>

Penelitian ini menggunakan etanol konsentrasi 100% dengan dosis 1 ml/200gr BB dengan waktu terminasi pada hari pertama (EH1), ke-3 (EH3) dan ke-5 (EH5). Penetapan dosis dan waktu terminasi pada kelompok yang diinduksi etanol sesuai dengan penelitian terdahulu.<sup>9</sup>

Pada penelitian ini, gambaran makroskopis mukosa lambung kelompok kontrol (KA) tampak normal, berbeda dengan kelompok lainnya (EH1, EH3 dan EH5). Kerusakan mukosa paling berat berupa ulkus disertai perdarahan tampak pada kelompok EH1. Kerusakan berupa noda ulkus tampak pada kelompok EH3, EH5. Ulkus diduga disebabkan karena inflamasi lokal. Proses inflamasi diawali dengan ketidakseimbangan produksi mukus, bikarbonat dan asam lambung sehingga mengiritasi mukosa lambung. Selain itu, produksi mukus yang berkurang menyebabkan penetrasi pepsin ke epitel mukosa sehingga terjadi proses proteolitik epitel.<sup>11</sup> Kerusakan epitel dan akumulasi produksi asam lambung memicu produksi sitokin inflamasi untuk mengaktifkan makrofag. Makrofag yang aktif akan memproduksi MCP-1 yang menyebabkan akumulasi makrofag untuk memicu produksi IL-1<sup>2</sup> dan TNF- $\alpha$ . Hal ini

menyebabkan aktifnya *cytokine network* yang memicu proses migrasi neutrofil dari sirkulasi ke jaringan inflamasi.<sup>12</sup>

Secara mikroskopis, derajat kerusakan mukosa pada kelompok EH1 nampak lebih berat dan berbeda bermakna ( $p < 0,05$ ) dengan EH3 dan EH5 (Tabel 6). Hal ini diduga karena telah terjadi proses perbaikan mukosa pada kelompok EH3 dan EH5. Proses perbaikan mukosa pada kerusakan mukosa lambung yang diinduksi etanol terjadi mulai hari ke-3. Pada penelitian terdahulu dijelaskan bahwa proses perbaikan mukosa dari kerusakan mukosa lambung yang diinduksi asam asetat dan asam lambung terjadi pada hari ke-3 sejak timbulnya kerusakan hingga hari ke-18 dan fase remodeling terjadi pada hari ke-18 atau lebih.<sup>13,14</sup> Proses perbaikan melibatkan peran agen gastroprotektif mukosa yaitu COX-2. Dalam keadaan inflamasi, COX-2 akan memicu produksi PG yang berperan untuk proses perbaikan ulkus, angiogenesis dan peningkatan produksi mukus dan bikarbonat.<sup>15</sup> Angiogenesis merupakan proses regenerasi pembuluh darah yang berperan menyalurkan oksigen dan nutrien untuk perbaikan mikrosirkulasi.

Kerusakan mukosa lambung yang diinduksi oleh etanol dosis tinggi terjadi pada hari pertama setelah induksi. Kerusakan mukosa yang diinduksi etanol terjadi secara cepat, diawali dengan produksi radikal bebas hasil metabolisme dan inflamasi lokal di mukosa. Etanol mengalami metabolisme langsung di dalam tubuh sehingga memicu produksi radikal bebas. Selain itu, etanol mempunyai sifat penetrasi yang kuat dan mudah masuk ke lapisan mukosa lambung.<sup>5</sup> Berbagai kerusakan akibat inflamasi lokal di mukosa yang disebabkan karena terganggunya produksi PG dan akumulasi radikal bebas hasil

metabolisme menyebabkan ketidakseimbangan antara produksi ROS dan *antioxidant defence*.<sup>16</sup> Keadaan ini memicu terjadinya stres oksidasi disertai penurunan produksi PG yang menyebabkan aktifnya COX-2 untuk meningkatkan produksi PG.<sup>17</sup>

## SIMPULAN

Tingkat kerusakan mukosa lambung yang diinduksi etanol mencapai tingkat paling tinggi pada awal munculnya kerusakan, yaitu pada hari ke-1 setelah induksi etanol (EH1). Tingkat kerusakan mukosa lambung yang diinduksi etanol menurun pada waktu induksi hari ke-3 (EH3) dan ke-4 (EH4) disebabkan karena terjadi proses perbaikan mukosa.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Jain NK, Singh N, Kannojiya P, Garud N, Garud A, Tonpay SD. Pharmacological Screening of Antiulcer Agent: A review. *Int J Pharmaceutical Sci Res*, 2010; 1 (9): 29-37.
2. Farzaei MH, Khazaei M, Abbasabadei Z, Feyzmahdavi M, Mohseni GR. Protective Effect of *Tragopogon Graminifolius* DC Against Ethanol Induced Gastric Ulcer. *Iran Red Crescent Med J*, 2013; 15 (9): 813-816.
3. Srivastava V, Mohan G, Viswanathswamy AHM. Protection of Ethanol Induced Ulcers by Sodium Cromoglycate in Albino Rats. *Indian J Pharmaceutical Education Res*, 2010; 46 (1): 29-33.
4. Atta AH, Soad MN, Samar MM. Antiulcerogenic Effect of Some Plant Extracts. *Natural Product Radiance*, 2005; 4 (4): 258-263.
5. Hajrezaie M, Golbabapour S, Hassandarvish P, Gwaram NS, A Hadi AH, Ali HM, et al. Acute Toxicity and Gastroprotection Studies of a New Schiff Base Derived Copper (II) Complex against

- Ethanol-Induced Acute Gastric Lesions in Rats. *Plos One*, 2012; 7 (12): 1-11.
6. Qader SW, Abdulla MA, Chua LS, Sirat HM, Hamdan S. Pharmacological Mechanisms Underlying Gastroprotective Activities of the Fractions Obtained from *Polygonum minus* in Sprague Dawley Rats. *Int J Mol Sci*, 2012; 13 (2): 1481-1496.
  7. Prusty BK, Kiran B, Bhargavi V, Subudhi SK. Anti-Ulcer Investigation of the Different Extract of Bark of *Bauhinia Variegata* Linn (Caesalpinaceae) by Pyloric Ligation & Aspirin Plus Pyloric Ligation Model. *Int J Pharm Biol Sci*, 2012; 2 (1): 248-262.
  8. Sibilia V, Rindi G, Pagani F, Rapetti D, Locatelli V, Torsello A, et al. Ghrelin Protects against Ethanol-Induced Gastric Ulcers in Rats: Studies on the Mechanisms of Action. *Endocrinology*, 2002; 144 (1): 353-359.
  9. Al-Qaraghuli AMS, Abdel WEMN, Al-Ani IM, Faisal GG. Effects of Xiang Sha Yang Wei Wan on Ethanol-Induced Gastric Ulcer in Sprague Dawley Rats: a Histological Study. *Int Med J Malaysia*, 2013; 12 (2): 3-10.
  10. Saputri FC, Sari SP, Mun'im A. Pengembangan Metode Induksi Tukak Lambung. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2008; 5 (2): 84-90.
  11. Allen A, Flemström G. Gastroduodenal Mucus Bicarbonate Barrier: Protection against Acid and Pepsin. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2005; 288 (1): 1-19.
  12. Arakawa T, Watanabe T, Tanigawa T, Tominaga K, Fujiwara Y, Morimoto K. Quality of Ulcer Healing in Gastrointestinal Tract: Its Pathophysiology and Clinical Relevance. *World J Gastroenterol*, 2012; 18 (35): 4811-4822.
  13. Masayuki T, Tsutomu O, Nobuyuki S, Hiroshi N, Minoru S, Hiroyasu E. Roles of Inducible Nitric Oxide Synthase in the Development and Healing of Experimentally Induced Gastric Ulcers. *Int J Exp Pathol*, 2003; 84 (5): 213-220.
  14. Halter F, Tarnawski AS, Schmassmann A, Peskar BM. Cyclooxygenase-2 Implications on Maintenance of Gastric Mucosal Integrity and Ulcer Healing: Controversial Issues and Perspectives. *Gut*, 2001; 49 (3): 443–453.
  15. Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowska I, Pawlik T. Role of Prostaglandins in Gastroprotection and Gastric adaptation. *J Physiol Pharmacol*, 2005; 56 (5): 33–55.
  16. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of Oxidative Stress in Female Reproduction. *Reprod Biol Endocrinol*, 2005; 3 (1): 28.
  17. Unis A, Abdelzaher E. Sitagliptin Impairs Healing of Experimentally Induced Gastric Ulcers Via Inhibition of iNOS and COX-2 Expression. *Am J Pharmacol Toxicol*, 2013; 8 (3): 107-119.