

ARAŞTIRMA

Cyclamen graecum ekstraktlarının sıçan alt gastrointestinal sistem üzerindeki etkilerinin histokimyasal olarak araştırılması

Histochemical investigation of the effects of *Cyclamen graecum* extracts on the rat lower gastrointestinal system

Pınar İli¹, Nazan Keskin², Ramazan Mammadov³, Fikret Sarı³

¹Pamukkale Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Denizli, Türkiye.

²Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Denizli, Türkiye.

³Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Denizli, Türkiye.

Özet

Amaç: Steroidal veya triterpenoid glikozitler olan saponinlerin, gastrointestinal sistem (GİS) ve mukus üzerindeki etkilerinin olduğu bilinmektedir. Primulaceae familyasına ait yumruolu bir bitki olan *Cyclamen graecum*, başlıca saponin olarak siklamini içerir. Bu çalışmada, *C. graecum* yumrularının 0,1 ve 0,3 g/l konsantrasyonlarındaki etanolik ekstraktlarının, sıçan alt GİS histomorfolojisi ve mukus yoğunluğu üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal-Metot: Çalışmada, her biri 5 sıçan içeren 3 grup [Grup I: Fizyolojik su verilen kontrol grubu, Grup II: 0,1 g/l (suda) *C. graecum* ekstraktı verilen deney grubu, Grup III: 0,3 g/l (suda) *C. graecum* ekstraktı verilen deney grubu] oluşturulmuştur. *C. graecum* etanolik ekstraktları 10 hafta süresince hayvanlara oral yolla verilmiştir. Deney sonunda, ince ve kalın bağırsak doku örneklerine, histomorfolojik yapıyı göstermek için Hematoksilen-Eosin (H&E), nötral mukus maddesi için Periyodik Asit Schiff (PAS), sülfatlı mukus maddesi için Alsiyan Mavisi (AB) pH 1 ve asidik mukus maddesi için AB pH 2,5 histokimyasal boyama yöntemleri uygulanmıştır.

Bulgular: Her iki deney grubunda, ince ve kalın bağırsak histomorfolojisi ile nötral, asidik ve sülfatlı mukus maddesi AB ve PAS pozitif reaksiyon yoğunlukları kontrol grubu ile benzerlik göstermiştir.

Sonuç: *C. graecum* etanolik ekstraktının uygulanan konsantrasyonlarının, sıçan alt GİS histomorfolojisi ve mukus yoğunluğu üzerinde bir etkisi olmadığı söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: *Cyclamen graecum*, alt gastrointestinal sistem, mukus, histokimya.

Abstract

Aim: It is known that saponins, triterpenoid or steroidal glycosides, have effects on gastrointestinal system (GIS) and mucus. *Cyclamen graecum*, a tuberous plant belonging to the Primulaceae family, contains cyclamin as the main saponin. In the present study, it was aimed to investigate the effects of *C. graecum* tubers ethanolic extracts at the concentrations of 0.1 and 0.3 g/L on the rat lower GIS histomorphology and mucus intensity.

Material-Method: In this study, rats were allocated to 3 groups, each comprising 5 rats [Group I: Control group, physiologic saline was administered; Group II: Experimental group, 0.1 g/L(aq) *C. graecum* extract was administered; Group III: Experimental group, 0.3 g/L(aq) *C. graecum* extract was administered]. *C. graecum* tubers ethanolic extracts were given orally to the rats during 10 weeks. At the end of the experimental period, Hematoxylin and Eosin (H&E), Periodic Acid-Schiff (PAS), Alcian Blue (AB) pH 1 and AB pH 2.5 histochemical staining techniques were employed on the tissue samples of small and large intestines in order to demonstrate the histomorphological structures, the neutral, sulphated and acidic mucosubstances, respectively.

Results: In both experimental groups, small and large intestine histomorphology, and AB and PAS positive reaction intensities of neutral, acidic, and sulphated mucosubstances were similar to the control group.

Discussion: It can be suggested that the *C. graecum* ethanolic extract has no effect on the rat lower GIS histomorphology and mucus intensity at the administered doses in our study.

Keywords: *Cyclamen graecum*, lower gastrointestinal system, mucus, histochemistry.

Giriş

Gastrointestinal sistem (GİS), yemek borusu, mide, ince bağırsak, kalın bağırsak ve rektumu da içeren derin bir tüptür. Sistem, musin glikoproteinleri tarafından oluşturulan bir mukus tabakası ile kaplıdır. Mukozal yüzeye yapışık suda çözünmeyen bir jel kıvamında olan mukus, gastrointestinal içerik ile altındaki epitel arasında fiziksel ve kimyasal bir bariyer olarak iş gören, besin alınımına izin verirken, bakteriler gibi potansiyel tehlikeleri dışlayarak epiteli koruyan ve böylece enflamasyon ve enfeksiyonun inhibe edilmesinde etkili olan bir maddedir (1, 2, 3, 4).

Mukus bileşiminde ortaya çıkan değişiklikler ile alt GİS hastalıkları arasındaki ilişkiyi gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Duodenal ülserasyonda, goblet hücrelerinde Alsiyan Mavisi (AB) pozitif mukus maddesinin azaldığı, goblet hücrelerinin kaybolduğu, bununla birlikte yüzey epitelinde Periyodik Asit-Schiff (PAS) pozitif nötral mukus maddesinin ortaya çıktığı, iyileşme sürecinde ise bu değişimlerin tersine döndüğü gösterilmiştir (5). Ayrıca, normal kolonda nötral ve sülfomusinler daha yoğunken, kolon kansinomlarında siyalomusinlerin daha yoğun olduğu bildirilmiştir (6).

Çeşitli bitki ekstraktlarının GİS yapısı ve mukus maddesi üzerine etkilerini araştıran birçok çalışma bulunmaktadır (7, 8, 9). Pek çok bitki türünde bulunan steroid ya da triterpen glikozit bileşikler olan saponinlerin (10, 11), hipokolesterolemik, antikoagülan, antikarsinojenik, hepatoprotektif, hipoglisemik, immünomodülatör, nöroprotektif, antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinin olduğu rapor edilmiştir (12).

Bazı *Cyclamen* türlerinin terapötik amaçlı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Burun boşluğunun alt kısmında mukus membran tarafından adsorbe edilen *Cyclamen europaeum* saponinlerinin lokal bir sürfektan etkisi oluşturarak yüzey gerilimini azalttığı, alanın sulanmasını ve musin sekresyonunu kolaylaştırarak mukus drenajı ve tıkanıklığında bir azalma sağladığı bildirilmiştir (13). Ayrıca, *C. europaeum* içeren nazal spreynin 7. günde yüz ağrısında bir azalmaya ve endoskopik olarak değerlendirilen mukozal tıkanıklıkla anlamlı şekilde bir iyileşmeye neden olduğu da rapor edilmiştir (14).

Cyclamen graecum başlıca saponin siklamini içeren bir türdür (15). Bu çalışmada, farklı dozlardaki *C. graecum* yumru etanolik ekstraktlarının, sıçan ince ve kalın bağırsak histomorfolojisi ile nötral, sülfatlı ve asidik mukus maddesi yoğunlukları üzerine etkilerinin ışık mikroskobu düzeyinde araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal-Metot

Ekstraksiyon: Antalya yöresinden toplanan *C. graecum* bitki örneklerinin toprak altı kısımları, gölgede kurutulduktan sonra toz haline getirilmiştir. Daha sonra, 800-1200 g kuru bitki kalıntısı ve 20 ml etanol kullanılarak (16), 55°C'lik su banyosunda renk açılıncaya kadar (4-6 saat) ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen karışım filtre edildikten sonra, ekstraktın alkolü 50°C'de, rotary evaporator ile uzaklaştırılmıştır. Ekstraktın yapısındaki su, Freeze Dryer'da -48°C'de 2 gün boyunca kurutulmuştur. Kalan kısım saf suda

çözdürülerek 0,1 ve 0,3 g/l konsantrasyonlarında ekstraktlar hazırlanmıştır.

Hayvanlar: Çalışmada 150-200 g ağırlığında, Sparque Dawley cinsi sıçanlar kullanılmıştır. Ekstraktlar sıçanlara 10 hafta süresince oral olarak verilmiştir. Her biri 5 sıçan içeren 3 grup aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur:

Grup I: Fizyolojik su verilen kontrol grubu,

Grup II: 0,1 g/l (suda) *C. graecum* ekstraktı verilen deney grubu,

Grup III: 0,3 g/l (suda) *C. graecum* ekstraktı verilen deney grubu.

Çalışma, Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu (HADEK) onayı (PAÜ-HADEK 09.07.2010/018) kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Histokimyasal Uygulamalar: Deney sonunda anestezi altında servikal dislokasyon yapılan hayvanlara ait ince ve kalın bağırsak dokuları, Sainte-Marie fiksatifine alınmıştır (17). Fiksasyon işleminden sonra doku takibi yapılarak parafine gömülen dokulardan alınan 5 µm'lik kesitlere, genel histomorfolojik yapı için Hematoksilin-Eosin (H&E) (18), nötral mukus maddesi için PAS (19), sülfatlı mukus maddesi için AB pH 1 (20) ve asidik mukus maddesi için AB pH 2,5 (21) histokimyasal boyama yöntemleri uygulanmıştır. Preparatlar, Olympus BX53 mikroskobu ve Olympus SC30 mikroskop dijital kamera sistemi ile incelenerek fotoğraflanmıştır.

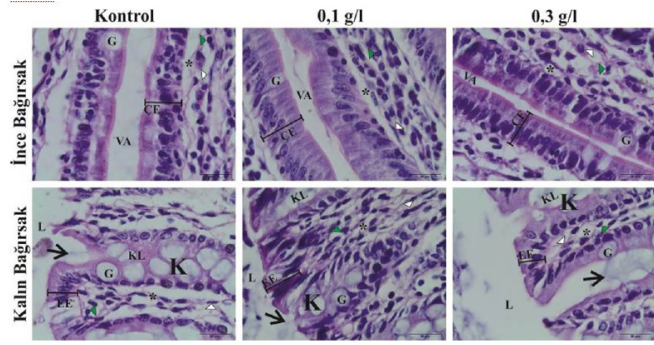
Bulgular

Histoloji

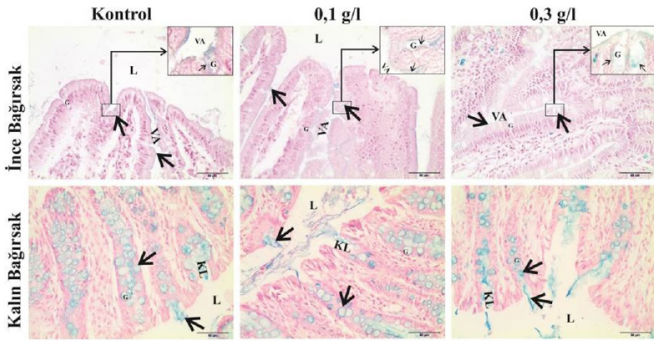
Kontrol grubunda ince bağırsakta lümen bakan yüzde, tek katlı prizmatik, çizgili kenarlı epitel tabakası bulunan villuslar ile villusların iç kısmında yer alan lamina propriya tabakasında ince, uzun çekirdekleri ile ayırt edilen düz kas hücreleri ve lenfoit hücreler gözlenmiştir. Epitel tabakada yer yer goblet hücreleri yer almaktadır. Kalın bağırsakta lümen bakan yüzde tek katlı emici prizmatik epitel hücreleri ve bu hücreler arasında dağılmış bol miktarda goblet hücreleri ayırt edilmiştir. Lamina propriya tabakasının, ince bağırsakta olduğu gibi çok sayıda lenfoit hücreleri ve Lieberkühn kriplerini (bağırsak bezleri) içerdiği gözlenmiştir. Ayrıca, lümen mukus maddesi ayırt edilmiştir. Deney gruplarının ince ve kalın bağırsak genel histomorfolojik yapısı kontrol grubu ile benzerlik göstermiştir (Resim 1).

Sülfatlı ve Asidik Mukus Maddesi

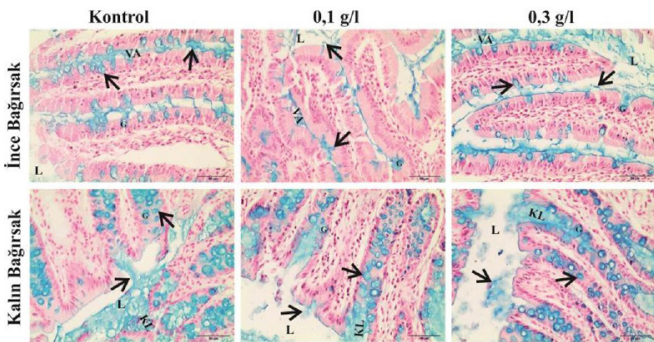
Tüm gruplarda ince bağırsakta sülfatlı mukus maddesi, bazı goblet hücrelerinde ve villuslar arası alanda AB pH 1 ile az yoğun, ancak kalın bağırsak goblet hücrelerinde ve lümen mukus maddesinde daha yoğun bir boyanma göstermiştir. Asidik mukus maddesi ise, tüm gruplarda ince bağırsakta villuslar arası alanda ve goblet hücrelerinde, kalın bağırsakta ise lümen mukus maddesinde AB pH 2,5 ile daha yoğun bir boyanma şeklinde izlenmiştir. Bu bulgulara göre, ince ve kalın bağırsak asidik ve sülfatlı mukus maddesinin, bitkinin uygulanan her iki konsantrasyonunda kontrol ile benzer boyanma yoğunluğu gösterdiği söylenebilir (Resim 2, 3).



Resim 1. Kontrol ve deney gruplarının ince ve kalın bağırsak histolojisi. ÇE: tek katlı prizmatik çizgili kenarlı epitel, EE: tek katlı emici prizmatik epitel, L: lümen, G: goblet hücresi, K: Lieberkühn kriptaları, KL: kripta lümeni, VA: villuslar arası alan, lamina propriya (yıldız), lenfosit (yeşil ok başı), düz kas hücreleri (beyaz ok başı), lümende mukus (ok), H&E



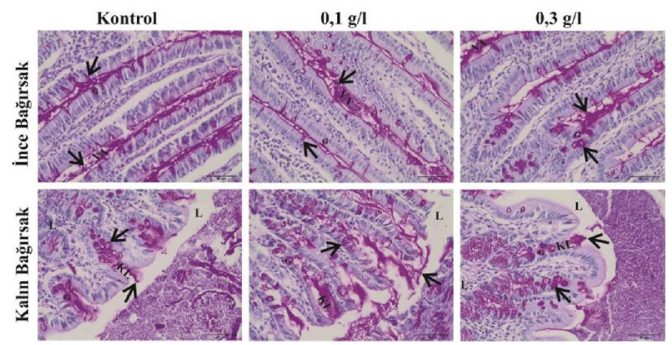
Resim 2. Kontrol ve deney gruplarının ince ve kalın bağırsağında AB pH 1 reaksiyonu (ok). İnce bağırsakta bazı goblet hücrelerinde zayıf AB pH 1 reaksiyonu izlenmiştir (Küçük resimler, ok). L: lümen, G: goblet hücresi, KL: kripta lümeni, VA: villuslar arası alan, AB pH 1



Resim 3. Kontrol ve deney gruplarının ince ve kalın bağırsağında AB pH 2,5 reaksiyonu (ok). L: lümen, G: goblet hücresi, KL: kripta lümeni, VA: villuslar arası alan, AB pH 2,5

Nötral Mukus Maddesi

Nötral mukus maddesi, kontrol ve deney gruplarının ince bağırsaklarında villuslar arası alan ve goblet hücrelerinde, kalın bağırsaklarında ise lümen ve goblet hücrelerinde yoğun PAS pozitif reaksiyon göstermiştir (Resim 4).



Resim 4. Kontrol ve deney gruplarının ince ve kalın bağırsağında PAS pozitif reaksiyon (ok). G: goblet hücresi, KL: kripta lümeni, VA: villuslar arası alan, PAS

Tartışma ve Sonuç

Saponinlerin ya da saponin içeren bitkisel maddelerin GİS'te neden olduğu değişiklikleri gösteren çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Besinlerine %1,5 (w/w) oranında *Gypsophylla* saponinleri eklenen sıçanlarda 7 gün içerisinde enflamasyona ve jejunal mukozalarında fonksiyonel bir hasara rastlanmamış, ancak mikrovillus yapılarında değişiklikler olduğu ve mukozal hücre proliferasyonunun arttığı izlenmiştir (22). Ayrıca, diyetlerine *Quillaja* kabuk saponinleri (%0,15 ve %0,30) eklenen *Oncorhynchus tshawytscha* (Chinooc somonu) ya da soya saponini eklenen *Oncorhynchus mykiss* (gökkuşluğu alabalığı) türlerinin ince bağırsaklarında hasarların ortaya çıktığı bildirilmiştir (23, 24). Benzer şekilde, *Erythrophleum suaveolens* kök kabuğundan elde edilen saponin karışımının 125 ve 250 mg/kg oranında uygulandığı sıçanların karaciğer, ince bağırsak ve böbreklerinde dejenerasyonların ortaya çıktığı histopatolojik incelemeler sonucunda gösterilmiştir (25). Beslenme diyetine eklenen ve içeriğinde saponin bulunan işlenmemiş Jack fasüyesi küspesi oranına (%10-100) bağlı olarak, genç *Heterobranchus longifilis* (yayın balığı) intestinal mukozasında hasarın şiddetlendiği bildirilmiştir (26). Bu çalışmada ise, *C. graecum* yumrularının 0,1 ve 0,3 g/l konsantrasyonlarındaki etanolik ekstraktlarının oral yolla verildiği deney gruplarında, ince ve kalın bağırsaklarının genel histolojik yapılarında herhangi bir değişikliğin olmadığı, kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

İçeriğinde saponin bulunan *Calotropis procera* yaprak hidro-etanolik ekstraktının 125-500 mg/kg konsantrasyonda etanolle indüklenen gastrik ülser oluşturulmuş sıçanlara oral olarak verildiği çalışmada, bu ekstraktın gastrik mukus üretiminde ve gastrik asiditede belirgin bir değişikliğe neden olmadığı rapor edilmiştir (27). Ayrıca, etanol/HCl ve Indomethacin ile indüklenen ülser oluşturulmuş sıçanlara 2,5, 3,5 ve 4,5 ml/kg dozda uygulanan saponin içeren olgunlaşmamış *Carica papaya* meyvesi sulu ekstraktının antiülser özelliğinin, büyük ölçüde pepsine bağlanarak (pepsin aktivitesini ve kullanılabilirliğini azaltarak) ve gastrik asit sekresyonunu inhibe ederek ortaya çıktığı, ancak gastrik mukus salınımını arttırmadığı bildirilmiştir (28). Benzer şekilde, Marhuenda ve ark. (1993, 1994), at kestanesinde bulunan bir saponin karışımı olan aescinin, absölu etanol ile indüklenen gastrik ülserin önlenmesinde etkili olduğunu, ancak mukus salgısını arttırmadığını rapor etmişlerdir (29, 30). Bu çalışmada ise,

bitkinin 0,1 ve 0,3 g/l konsantrasyonlardaki etanolik ekstraktlarının, deney gruplarının ince ve kalın bağırsak mukus maddesi nötral, sülfatlı ve asidik mukus maddesi AB (pH 1 ve 2,5) ve PAS boyanma yoğunluğunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir. Bununla birlikte, içeriğinde saponin bulunan *C. procerum* hidro-etanolik kök ekstraktının (125-500 mg/kg konsantrasyonda) etanolla indüklenen gastrik ülser oluşturulmuş sıçanlara oral olarak verildiğinde doza bağlı olarak gastrik mukus üretiminde belirgin bir artışa neden olduğu bildirilmiştir (27). Ayrıca, Ginseng meyvelerinden izole edilen bir saponin olan ginsenosid Re'nin, 20 mg/kg ya da 100 mg/kg dozlarda oral olarak verildiği sıçanlarda, C48/80 ile indüklenen akut gastrik mukozal lezyona karşı, nötrofil infiltrasyonunu ve gastrik mukozal dokuda artmış lipit peroksidasyonunu inhibe ve gastrik mukus sentezini ve sekresyonunu sitümlü ederek koruma sağladığı da gösterilmiştir (31). Farklı bitkilerden elde edilen saponinlerin farklı miktarları kullanılarak yapılan daha önceki çalışmalardan, saponinlerin gastrointestinal sistemde yapısal ve biyokimyasal değişikliklere yol açtığı, mukus salgısı üzerinde artırıcı etkisi olduğu, bazı çalışmalardan ise mukus salgısı üzerinde herhangi bir etkisinin bulunmadığı anlaşılmaktadır. Bu çalışmada, siklamın saponini içeren *C. graecum* etanolik bitki ekstraktının uygulanan konsantrasyonlarında, sıçanların ince ve kalın bağırsakları histomorfolojisinde ve mukus salgısı yoğunluğunda değişiklik gözlenmemesinin, bitkinin içerdiği saponinin tipi ve/veya uygulanan dozları ile ilişkili olabileceği söylenebilir. Bununla birlikte, hayvan modellerinde, içeriğindeki siklamın saponininin toksik özelliği dikkate alınarak, bitkinin farklı konsantrasyonları ile GİS histomorfolojisi ve mukus salgısı üzerindeki olası etkilerinin daha ileri moleküler analizlerle test edilmesine ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

- Allen A, Hutton DA, Pearson JP, Sellers LA. Mucus glycoprotein structure, gel formation and gastrointestinal mucus function. Ciba Found Symp. 1984; 109: 137-156.
- Juge N. Microbial adhesins to gastrointestinal mucus. Trends Microbiol 2012; 20(1):30-39.
- Mackie R, Round AN, Rigby NM, Macierzanka A. The role of the mucus barrier in digestion. Food Dig 2012; 3(1-3): 8-15.
- Hansson GC. Role of mucus layers in gut infection and inflammation. Curr Opin Microbiol 2012; 15(1): 57-62.
- Morrissey SM, Ward PM, Jayaraj AP, Tovey FI, Clark CG. Histochemical changes in mucus in duodenal ulceration. Gut 1983; 24: 909-913.
- Nikumbh RD, Nikumbh DB, Umarji BN. Mucin histochemical study of the colon in normal and malignant lesions. Int J Health Sci Res. 2012; 2(7): 20-32.
- Gomes J, Magalhães A, Carvalho AS, Hernandez GE, Papp SL, Head SR, Michel V, David L, Gärtner F, Touati E, Reis CA. Glycophenotypic alterations induced by *Pteridium aquilinum* in mice gastric mucosa: synergistic effect with *Helicobacter pylori* infection. 2012; PLoS ONE 7(6): e38353. doi:10.1371/journal.pone.0038353.
- Singh P, Guha D. *Aegle marmelos* enhances gastric mucosal protection: relevance for NSAIDs-induced gastric mucosal injury. Al Ame en J Med Sci 2012; 5(3): 243-255.
- Keskin N, İli P, Sahin B. Histochemical demonstration of mucosubstances in the mouse gastrointestinal tract treated with *Origanum hypericifolium* O. Schwartz and P.H. Davis extract. Afr J Biotechnol 2012; 11(10): 2436-2444.
- Wina E, Muetzel S, Becker K. The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production: a review. J Agric Food Chem 2005; 53(21): 8093-8105.
- Osborn A. Saponins and plant defence-a soap story. Trends Plant Sci 1996; 1(1): 1-9.
- Akbel E, Karabağ F. Saponinler ve reproduktif etkileri. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 2012; 5(1): 25-29.
- <http://nasodrensinusitis.blogspot.com/2012/03/cyclamen-europaeum-extract.html>.
- Pfaar O, Mullol J, Anders C, Hörmann K, Klimek L. *Cyclamen europaeum* nasal spray, a novel phytotherapeutic product for the management of acute rhinosinusitis: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. Rhinology 2012; 50(1): 37-44.
- Harvala C, Hylands PJ. Saponins from *Cyclamen hederifolium* and *C. graecum*. Planta Med 1978; 33(2): 180-184.
- Feresin GE, Tapia AA, Bustos DA. Antibacterial activity of some medicinal plants from San Juan, Argentina. Fitoterapia 2000; 71(4): 429-432.
- Sainte-Marie GA. Paraffin embedding technique for studies employing immunofluorescence. J Histochem Cytochem 1962; 250-256.
- Harris HF. A new method of ripening haematoxylin. Micr Bull (Philadelphia). 1898; 47.
- McManus JFA. Histological and histochemical uses of periodic acid. Stain Tech. 1948; 23: 99-108.
- Lev R, Spicer SS. Specific staining of sulphate groups with alcian blue at low pH. J Histochem Cytochem 1964; 12: 309.
- Mowry RW. Alcian blue techniques for the histochemical study of acidic carbohydrates. J Histochem Cytochem 1956; 4: 407-408.

22. Gee JM, Johnson IT. Interactions between hemolytic saponins, bile salts and small intestinal mucosa in the rat. *J Nutr* 1988; 118(11): 1391-1397.
23. Bureau DP, Harris AM, Cho CY. The effects of purified alcohol extracts from soy products on feed intake and growth of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 1998; 161(1-4): 27-43.
24. Iwashita Y, Yamamoto T, Furuita H, Sugita T, Suzuki N. Influence of certain soybean antinutritional factors supplemented to a casein-based semipurified diet on intestinal and liver morphology in fingerling rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Sci* 2008; 74(5): 1075-1082.
25. Akinpelu BA, Oyedapo OO, Iwalewa EO, Shode F. Biochemical and histopathological profile of toxicity induced by saponin fraction of *Erythrophleum suaveolens* (Guill. & Perri.) bark extract. *Phytopharmacology* 2012; 3(1): 38-53.
26. Osuigwe DI, Obiekezie AI, Onuoha GC. Effects of jackbean seed meal on the intestinal mucosa of juvenile *Heterobranchus longifilis*. *Afr J Biotechnol* 2006; 5(13): 1294-1298.
27. Badombena-Wanta DB, Metowogo K, Tettegah M, Lawson-Evi P, Eklu-Gadegbeku K, Aklikokou AK, Gbeassor M. Comparative anti-ulcers effect of hydroalcoholic extract of leaves and root of *Calotropis procera* Ait (Asclepiadaceae). *Res J Pharm Biol Chem Sci* 2013; 4(3): 1205-1212.
28. Owoyele BV, Gbago AF, Ashaolu OS. Gastroprotective effects of aqueous extract of unripe *Carica papaya* fruit in rats. *Pac J Med Sci* 2013; 11(2): 3-11.
29. Marhuenda E, Martin MJ, Alarcon Lastra CDL. Antiulcerogenic activity of aescine in different experimental models. *Phytother Res* 1993; 7: 13-16.
30. Marhuenda E, Alarcón de la Lastra C, Martín MJ. Antisecretory and gastroprotective effects of aescine in rats. *Gen Pharmacol-Vasc S* 1994; 25(6): 1213-1219.
31. Lee S, Kim MG, Ko SK, Kim HK, Leem KH, Kim YJ. Protective effect of ginsenoside Re on acute gastric mucosal lesion induced by compound 48/80. *J Ginseng Res* 2014; 38(2): 89-96.