

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK BİYOKİMYASI ANA BİLİM DALI



STEVİOSİDİN BÖBREK HÜCRE ENFLAMASYONUNDA
KEMOKİN SALINIMINA ETKİSİNİN *İN VİTRO*
DEĞERLENDİRİLMESİ

Doktora Tezi

Seçil MÜDERRİSOĞLU

Danışman

Prof. Dr. Gül Fatma YARIM

Bu tez çalışması, PYO.VET.1904.21.014 numaralı proje ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

SAMSUN
2022

TEZ KABUL VE ONAYI

Seçil MÜDERRİSOĞLU tarafından, Prof. Dr. Gül Fatma YARIM danışmanlığında hazırlanan “STEVİOSİDİN BÖBREK HÜCRE ENFLAMASYONUNDA KEMOKİN SALINIMINA ETKİSİNİN *İN VİTRO* DEĞERLENDİRİLMESİ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından2022 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	İmza	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Ali ERTEKİN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Biyokimyası Ana Bilim Dalı		<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye	Prof. Dr. Gül Fatma YARIM Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Biyokimyası Ana Bilim Dalı		<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye	Prof. Dr. Özgür KAYNAR Kastamonu Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı		<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input checked="" type="checkbox"/> Ret
Üye	Prof. Dr. Semra GÜMÜŞOVA Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Virolojisi Ana Bilim Dalı		<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye	Prof. Dr. Betül APAYDIN YILDIRIM Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı		<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY

... / ... / ...

Prof. Dr. Ali BOLAT
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet

Hayır

İmza

... / ... / 2022

Seçil MÜDERRİSOĞLU

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: STEVİOSİDİN BÖBREK HÜCRE ENFLAMASYONUNDA KEMOKİN SALINIMINA ETKİSİNİN İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 20.06.2022 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 13

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

İmza

20/06/2022

Prof. Dr. Gül Fatma YARIM

ÖZET

STEVİOSİDİN BÖBREK HÜCRE ENFLAMASYONUNDA KEMOKİN SALINIMINA ETKİSİNİN *İN VİTRO* DEĞERLENDİRİLMESİ

Seçil MÜDERRİSOĞLU
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Veterinerlik Biyokimyası Ana Bilim Dalı
Doktora, Ağustos/2022
Danışman: Prof. Dr. Gül Fatma YARIM

Amaç: Böbrek dokusunda gelişen enflamasyonda monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) ve aktivasyon üzerine düzenlenen, normal T hücrelerince ekspres edilen ve salınan (RANTES) kemokinleri rol oynamaktadır. Enflamasyonla seyreden hastalıkların tedavisinde anti-enflamatuar glikozitlerin kullanımı başarı sağlamaktadır. Önerilen tez çalışmasının amacı, steviosidin lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen böbrek hücre enflamasyonunda kemokin yanıtına etkisinin *in vitro* araştırılmasıdır.

Materyal ve metot: Çalışma, Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) hücre hattında gerçekleştirildi. Hücre çalışmalarında; negatif kontrol, 5 µg/mL LPS, 200 µM steviosid ve 5 µg/mL LPS + 200 µM steviosid olmak üzere dört farklı grup oluşturuldu. Steviosidin sitoprotektif ve LPS'nin sitotoksik dozları kolorimetrik hücre sayım kiti ile değerlendirildi. MDBK hücre mediumlarındaki MCP-1 ve RANTES konsantrasyonları enzim bağılı immünosorbent analiz kiti belirlendi.

Bulgular: Negatif kontrol, 5 µg/mL LPS, 200 µM steviosid ve 5 µg/ml LPS + 200 µM steviosid gruplarının kültür supernatantlarındaki MCP-1 konsantrasyonları sırasıyla 5,8 ± 1,0 ng/ml, 127,8 ± 5,9 ng/mL, 7,5 ± 1,3 ng/mL ve 73,8 ± 3,3 ng/mL ölçüldü. LPS'ye maruz bırakılan MDBK hücrelerdeki MCP-1 konsantrasyonunun negatif kontrol hücrelerindeki göre 22,03 kat yüksek olduğu belirlendi (p < 0,05). Sekiz saat boyunca 5 µg/mL LPS + 200 µM steviosid uygulanan MDBK hücrelerindeki MCP-1 konsantrasyonunun negatif kontrol hücrelerinkine oranla 12,72 kat fazla olduğu saptandı (p < 0,05). MDBK hücrelerinde LPS maruziyeti ile artmış olan MCP-1 konsantrasyonunun steviosid uygulaması ile 1,73 kat azaldığı belirlendi (p < 0,05). Negatif kontrol, 5 µg/ml LPS, 200 µM steviosid ve 5 µg/mL LPS + 200 µM steviosid gruplarının kültür supernatantlarındaki RANTES konsantrasyonlarının sırasıyla 14,3 ± 1,7 ng/ml, 275,3 ± 4,1 ng/mL, 17,3 ± 2,2 ng/mL. 84,0 ± 3,7 ng/ml olduğu belirlendi. LPS'ye maruz bırakılan MDBK hücrelerindeki RANTES konsantrasyonunun negatif kontrol hücrelerindeki düzeye göre 19,25 kat yüksek olduğu belirlendi (p < 0,05). Sekiz saat boyunca 5 µg/mL LPS + 200 µM steviosid uygulanan MDBK hücre supernatantında RANTES konsantrasyonunun negatif kontrol hücrelerinkine oranla 5,87 kat daha fazla olduğu saptandı (p < 0,05). MDBK hücre kültüründe LPS maruziyeti ile artmış olan RANTES konsantrasyonunun steviosid uygulaması ile 3,28 kat azaldığı belirlendi (p < 0,05).

Sonuç: Sunulan tez çalışmasının bulguları, steviosidin, MDBK hücrelerinde LPS maruziyetinin neden olduğu artmış MCP-1 ve RANTES konsantrasyonlarını baskılamak suretiyle anti-enflamatuar etki gösterdiği belirlendi. Steviosidin *in vitro* bu etkisinin *in vivo* çalışmalarla teyit edilmesine gereksinim bulunmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Steviosid, Böbrek hücre hasarı, *in vitro*, Lipopolisakkarit

ABSTRACT

IN VITRO EVALUATION OF THE EFFECT OF STEVIOSIDE ON CHEMOKINE RELEASE IN RENAL CELL INFLAMMATION

Seçil MÜDERRİSOĞLU
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Veterinary Biochemistry
Master, August/2022
Supervisor: Prof. Dr. Gül Fatma YARIM

Objective: Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and chemokines regulated upon activation, expressed and released by normal T cells (RANTES) play a role in inflammation developing in kidney tissue. The use of anti-inflammatory glycosides in the treatment of inflammatory diseases provides success. The aim of the proposed thesis study is to investigate the effect of stevioside on chemokine response in lipopolysaccharide (LPS)-induced renal cell inflammation *in vitro*.

Material and method: The study was carried out in the Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) cell line. In cell studies; Four different groups were formed as negative control, 5 µg/mL LPS, 200 µM stevioside and 5 µg/mL LPS + 200 µM stevioside. Cytoprotective doses of stevioside and cytotoxic doses of LPS were evaluated with a colorimetric cell counting kit. MCP-1 and RANTES concentrations in MDBK cell mediums were determined by enzyme-linked immunosorbent analysis kit.

Results: The concentrations of MCP-1 in the culture supernatants of the negative control, 5 µg/mL LPS, 200 µM stevioside and 5 µg/mL LPS + 200 µM stevioside groups were 5.8 ± 1.0 ng/mL, 127.8 ± 5.9 ng/mL, 7.5 ± 1.3 ng/mL and 73.8 ± 3.3 ng/mL were measured respectively. It was determined that MCP-1 concentration in MDBK cells exposed to LPS was 22.03 times higher than that in negative control cells ($p < 0.05$). MCP-1 concentration in MDBK cells treated with 5 µg/mL LPS + 200 µM stevioside for eight hours was 12.72 times higher than that of negative control cells ($p < 0.05$). It was determined that MCP-1 concentration increased with LPS exposure in MDBK cells and decreased 1.73 times with stevioside administration ($p < 0.05$). The RANTES concentrations in the culture supernatants of the negative control, 5 µg/ml LPS, 200 µM stevioside and 5 µg/mL LPS + 200 µM stevioside groups were determined to be 14.3 ± 1.7 ng/mL, 275.3 ± 4.1 ng/mL, 17.3 ± 2.2 ng/mL and 84.0 ± 3.7 ng/mL respectively. The concentration of RANTES in MDBK cells exposed to LPS was 19.25 times higher than the level in negative control cells ($p < 0.05$). The concentration of RANTES in the MDBK cell supernatant treated with 5 µg/mL LPS + 200 µM stevioside for eight hours was 5.87 times higher than that of the negative control cells ($p < 0.05$). It was determined that RANTES concentration, which increased with LPS exposure in MDBK cell culture, decreased 3.28 times with stevioside administration ($p < 0.05$).

Conclusion: The findings of the presented thesis study revealed that stevioside exerted an anti-inflammatory effect by suppressing the increased MCP-1 and RANTES concentrations caused by LPS exposure in MDBK cells. This effect of stevioside *in vitro* needs to be confirmed by *in vivo* studies.

Keywords: Stevioside, Kidney cell damage, *in vitro*, Lipopolysaccharide

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca gerekli bütün yardım, tavsiye ve yönlendirmeleri yapan, ilgi ve anlayışını hiç eksik etmeyen, birlikte çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Gül Fatma YARIM'a,

Tez çalışmamın hücre kültürü uygulamalarında değerli katkı ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Semra GÜMÜŞOVA'ya

Eğitimim boyunca değerli bilgilerinden yararlandığım Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri, değerli hocalarım Prof. Dr. Ali ERTEKİN'e, Prof. Dr. Sena ÇENESİZ'e, Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ'ye ve Prof. Dr. Cevat NİSBET'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Dok. Öğr. Furkan ÜMİT'e ve Araş. Gör. Bahadır MÜFTÜOĞLU'na yürekten teşekkür ederim.

Seçil MÜDERRİSOĞLU

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisi	4
2.2. Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinin orijini ve tarihçesi	5
2.3. Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinin üretimi	5
2.4. Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinde bulunan glikozidlerin kimyasal yapıları	9
2.5. Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinin besin değeri	11
2.6. Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinin sağlık açısından önemi	13
2.7. Böbrek hasarı ve enflamasyon	13
2.8. Lipopolisakkarit	16
2.9. Kemokinler	18
2.10. Monosit kemoatraktan protein 1	20
2.11. Aktivasyon üzerine düzenlenen, normal T hücrelerince eksprese edilen ve salınan (RANTES)	22
3. MATERYAL VE METOT	24
3.1. MDBK hücre kültüründe enflamasyon oluşturulması	24
3.2. Sitotoksisite analizleri	25
3.3. ELISA analizleri	25
3.4. İstatistiksel analizler	26
4. BULGULAR	27
4.1. MDBK hücrelerinin invert mikroskoptaki görünümü	27
4.2. MDBK hücrelerinin sağkalım oranları	27
4.3. IL-1 β konsantrasyonu	28
4.4. TNF- α konsantrasyonu	29
4.5. MCP-1 konsantrasyonu	29
4.6. RANTES konsantrasyonu	30
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	36
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

C-C	: Sistein-sistein
CCR2	: C-C kemokin reseptörü tip 2
CCR5	: C-C kemokin reseptörü tip 5
DMEM	: Dulbecco's minimum essential medium
IL-1 β	: İnterlökin-1 beta
IL-6	: İnterlökin-6
CCK-8	: Hücre sayım kiti-8
CCL5	: C-C kemokin ligand 5
LPS	: LipoPoliSakkarit
MCP-1	: Monosit Kemoatraktan Protein-1
MDBK	: Madin Darby Bovine Kidney
ppm	: Milyonda bir
RANTES	: Normal T Hücrelerince Eksprese Edilen ve Salınan
TNF- α	: Tümör nekroz faktör alfa

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Tatlandırıcıların sınıflandırılması	4
Şekil 2.2. Stevia Rebundiana Bertoni bitkisinin sıvı ve toz formların üretim şeması.....	8
Şekil 2.3. Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinde bulunan glikozidlerin kimyasal yapıları	9
Şekil 2.4. Sakkaroz miktarlarının stevya miktarlarına karşılığı	13
Şekil 2.5. LPS'nin yapısı	18
Şekil 2.6. Kemokinlerin üç boyutlu yapısının şematik gösterimi	19
Şekil 2.7. MCP-1' in CCR2 ile etkileşimi sonucunda fosfotidilinositol sinyal yolağının aktivasyonu.....	21
Şekil 4.1. A: MDBK hücre kontrol (40x) (48. saat); B: 200µM steviosid uygulanan MDBK hücre kültürü (40x) (48. Saat).....	27
Şekil 4.2. Farklı konsantrasyonlarda steviosid uygulamalarından sonra hücrelerde ölçülen sağkalım oranları	28
Şekil 4.3. MDBK hücre hattında IL-1β konsantrasyonları	28
Şekil 4.4. MDBK hücre hattında TNF-α konsantrasyonları	29
Şekil 4.5. MDBK hücre hattında MCP-1 konsantrasyonları	30
Şekil 4.6. MDBK hücre hattında RANTES konsantrasyonları	31

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinin steviol glikozitlerinin kimyasal yapıları....	10
Tablo 2.2. Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinin besin içeriği.....	12

1. GİRİŞ

Ülkemizde şeker bitkisi, şeker otu olarak bilinen Stevya'nın kullanılan tatlandırıcılar arasında son zamanlarda popülerliği oldukça artmıştır. Daha çok ülkemizin sıcak bölgesinde, Akdeniz Bölgesinde yetişmesinin uygun olacağı çalışmalar doğrultusunda rapor edilmiştir. Toksikolojik alanda araştırmaların yapılması ile birlikte güvenilirlik sınırlarının artışına olanak sağlayacağı kanaatine varılmıştır. Böylece yapay tatlandırıcılar içerisinde daha çok tercih edileceği düşünülmektedir. Stevya'nın diyabetes mellitus (DM) hastalığına sahip olan bireylerde kan şekeri regülasyonu ve dengesini sağlayabileceği çalışmalar doğrultusunda bildirilmiştir. Ayrıca, hastalığın prognozunda daha kaliteli bir yaşam sürüleceği vurgulanmıştır. Obezitede ve zayıflamak isteyen kişilerde tatlı isteğinin stevya ile karşılanması, düşük kalorili olması nedeniyle güvenli bir kullanıma sunulmaktadır. Böylece yapay tatlandırıcı kullanımında yeni ve önemli bir dönemin başlayacağı düşünülmektedir.

Pek çok akut ve kronik enflamatuar hastalıkta kemokinlerin salgılandıkları tespit edilmiştir. Böylece hastalıklarda kemokinler dokuda lökositlerin aktivasyonunu ve aynı zamanda lökositlerin toplanmasını sağlamaktadırlar. Monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1), iltihaplanma sürecinde hücre göçünde rol alan bir kemokindir. Monositlerin iltihaplanma bölgesine göçü için sitokinler ile aktive olan endotelial hücrelerden ve vasküler düz kas hücrelerinden salgılanır. MCP-1 pek çok patolojik süreçte etki göstermektedir. MCP-1, artrit, ateroskleroz, bakteriyel infeksiyon, gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonları, multiple skleroz, travmatik beyin yaralanmaları, felç, diyabet, kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve böbrek hastalıkları gibi monositlerin görev aldığı pek çok enflamatuar hastalıkta anahtar rol oynamaktadır. *In vivo* ve *in vitro* çalışmalar, pek çok hastalıkta MCP-1 gen ekspresyonunun ve protein düzeyinin değiştiğini ve bu hastalıkların patogenezinde etkili olduğunu göstermektedir.

Normal T hücrelerince eksprese edilen ve salınan (RANTES)'in, böbrek tubuler hücreleri tarafından da üretildiği ve akut böbrek hasarına aracılık eden anahtar bir kemokin olduğu rapor edilmiştir (Yu et al., 2016). Böbreğin tubuler epitel hücrelerinden salgılanan RANTES, interstisyum ve glomerulus içine bağışıklık hücrelerinin çekilmesini sağlayarak böbrek enflamasyonunun patogenezinde önemli rol oynamaktadır (Holdsworth et al., 2000). Böbrek dokusunda gelişen enflamasyonda

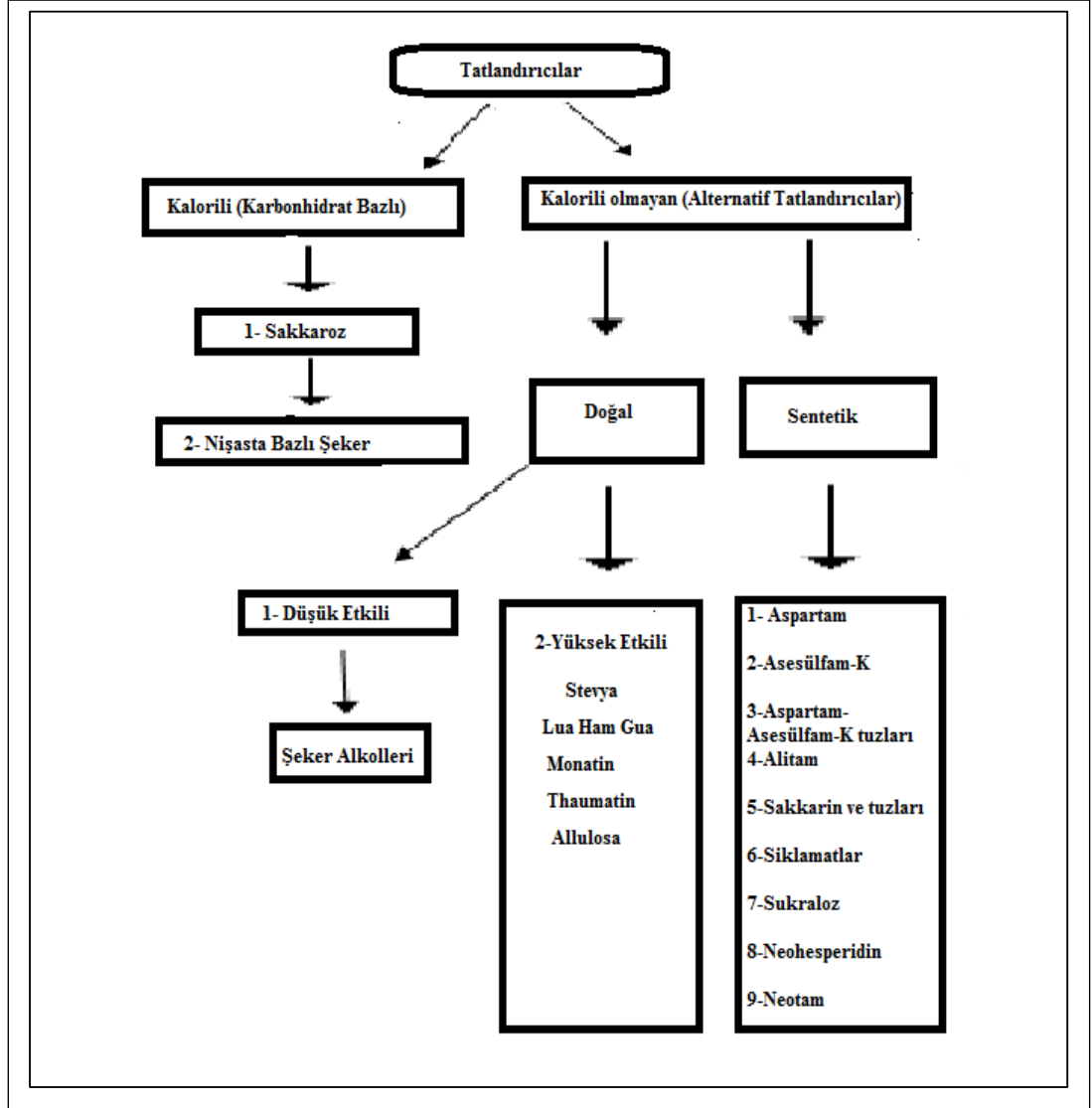
MCP-1 ve RANTES kemokinlerinin rol oynadığı bilinmektedir. Böbrek tubuler epitel hücrelerinden salgılanan MCP-1 ve RANTES gibi C-C kemokinler interstisyum ve glomerulus içine bağışıklık hücrelerinin çekilmesini indükleyerek böbrek enflamasyonunun patogeneğinde önemli rol almaktadır (Rovin et al., 1999; Holdsworth et al., 2000; Segerer et al., 2000). Böbreğin enflamatuar hasarına katkıda bulunmaları nedeniyle MCP-1 ve RANTES düzeylerinin baskılanmasının enflamatuar böbrek hasarının hafifletilmesinde ve tedavisinde terapötik potansiyele sahip olabileceği düşünülmektedir. (Potočnjak et al 2017; Yuajit et al., 2017; Noitem et al., 2018). Son yıllarda, enflamasyonla seyreden hastalıkların tedavisinde pek çok klinik ve deneysel çalışma yapılmakta ve anti-enflamatuar glikozitlerin kullanımı başarı sağlamaktadır. Çalışmamızın amacı, steviosidin LPS ile indüklenen böbrek hücre enflamasyonunda kemokin yanıtına etkisinin *in vitro* araştırılmasıdır. Tez çalışmamızdan elde edilmesi beklenen sonuçların, enflamatuar böbrek hastalıklarının tedavisinde steviosid ya da benzeri antienflamatuar glikozitlerin kullanılabilme potansiyelini ortaya koyacağı öngörülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

Stevia Rebaudiana Bertoni yapraklarında bulunan steviol glikozitleri steviosid, rebaudiosit A, rebaudiosit C, dulkosit A ve steviolbiosit olup başlıca tatlandırıcı bileşenleri steviosid ve rebaudiosit A'dır (Carakostas et al., 2008; Chatsudthipong ve Muanprasati 2009; Yadav et al., 2011; Zahn et al., 2013; Yang et al., 2014). Oldukça düşük kalorili olan steviol glikozitler, sakkaroz oranla 200-300 kat tatlı olduğundan doğal tatlandırıcı olarak kullanılmaktadırlar (Barba et al., 2016; Parpinello et al., 2001). Stevyanın tatlandırıcı olarak kullanılmasının karsinojenik etkisinin olmadığı, teratojenik bakımdan gebelikte kullanımının güvenli olduğu ve doğurganlığı etkilemediği bildirilmiştir (Geuns, 2003). Tatlandırıcı özelliğine ek olarak, stevia bitkisi, anti-enflamatuar (Potočnjak et al., 2017; Wang et al., 2014), anti-diyabetik (Gregersen et al., 2004; Jeppesen et al., 2000), anti-karsinojenik etki (Takasaki et al., 2009), anti-mikrobiyal (Jayaraman et al., 2008), anti-hipertansif (Hsieh et al., 2003; Lee et al., 2001) ve antioksidan etkilere sahiptir (Ghanta et al., 2007; Gupta et al., 2013; Shivanna et al., 2013; Barba et al., 2016). *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin aktif glikozitleri, enflamasyon, obezite, diyabet, hipertensiyon, kanser, kistik fibroz gibi hastalıklara karşı terapötik potansiyele sahiptir (Momtazi-Borojeni et al., 2017). Steviosid glikozidi enflamasyonun baskılanmasında başarıyla kullanılmaktadır (Noosud et al., 2017; Potočnjak et al., 2017). Stevya bitkisinin günde kilogram başına alınan miktarının toksik olma ihtimalinin araştırmalar doğrultusunda tespit edilmesi ve hasarın sonuçlarının belirlenmesi önem teşkil etmektedir (Geuns, 2003). Bununla birlikte enflamasyon, böbrekte glomerulonefrite sebep olarak akut böbrek yetmezliğinden kronik böbrek yetmezliğine kadar ilerleyen böbrek hasarına önemli katkıda bulunmaktadır (Kumar et al., 2013). Böbrek yetmezliği ile birlikte IL-1, IL-6, TNF- α , IL-8, MCP-1, RANTES gibi mediyatörler hasarı gösteren enflamasyon belirteçleri olarak kullanılmaktadır (Lloyd et al., 1997; Wada et al., 2001; Silverstein, 2009; Kumar et al., 2013; Fleit, 2014; Franceschi ve Campisi, 2014). LPS-indüklü böbrek hücre enflamasyonunda steviosidin kemokin düzeylerini module ederek olası terapötik etkisinin değerlendirilmesine dair bilimsel bir rapor bulunmamaktadır. Bu nedenle, steviosidin böbrek hücre enflamasyonunda terapötik olasılığının kemokin yanıtına olan etkisiyle değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2.1. Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisi

Şeker yerine kullanılabilen pek çok tatlandırıcı vardır (Nabor, 2002). Tatlandırıcılar kendi aralarında sınıflandırılmaktadır.



Şekil 2.1. Tatlandırıcıların sınıflandırılması (ISO 2012; Şeker kurumu 2015'den).

Yapay tatlandırıcıların pek çoğunun ağızda acımsı ve metalimsi bir tat bırakması sebebiyle tercih edilmeleri zamanla azalmıştır (Pol et al., 2007). Tatlandırıcıların sınıflandırılmasından görüldüğü üzere; Stevya (*Stevia Rebaudiana*) şeker otu olarak bilinen yüksek etkili ve lifli bir bitkidir. Diğer tatlandırıcılar ile karşılaştırıldığında ağızda metalimsi ve acımsı bir tat bırakmamaktadır (İnanç ve Çınar, 2009; Gantait et al., 2015). Bununla birlikte stevyanın tatlandırıcı özelliğinin nedeni glikozitlerin yüksek tatlılık göstermesidir.

Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisi yaş iken yapraklarında bulunan bileşiklerden kaynaklı olarak sakkarozdan yaklaşık 15 kat, kurutulmuş halde ise sakkarozdan 300-350 kat daha fazla tatlandırıcı olmasından dolayı gıda sanayinde bisküvi, çikolata, içki, meşrubat, tatlı gibi gıdalarda kullanımı tercih edilmektedir. (Ghanta et al., 2007; Jarma, 2008; İnanç ve Çınar, 2009; Serio, 2010; Misra et al., 2011; Boileau et al., 2012; Yang et al., 2014; Tansı et al., 2017). Stevya'nın tercih edilmesinin en önemli nedenleri arasında düşük kalorili olması ve doğal bir tatlandırıcı olması gelmektedir (Duran et al., 2012; Serfaty et al., 2013; Mejia-Espejel et al., 2019;).

2.2. Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinin orijini ve tarihçesi

Botanik anlamda *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisi 1899 yılında Moises Santiago Bertoni tarafından sınıflandırılmıştır. Bununla birlikte ilk kez 1909 yılında *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin özü izole edilmiştir. Bridel ve Lavieille adında iki Fransız kimyacı 1931 yılında steviosid üretmek amacıyla saflaştırma yapmışlardır (Barriocanal et al., 2008; Souksu et al., 2016).

Anavatanı Güney Amerika olan *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin Kuzey Amerika'da 80'den fazla türü vardır. Güney Amerik 'da 200'den fazla türü olduğu düşünülmektedir (Nunes et al., 2007). *Stevia Rebaudiana Bertoni*, Asteraceae ailesinden, yabani, küçük bir çalı türü olup, Paraguay ve Brezilya'da yetişmektedir (Sojerto, 2002; Goyal et al., 2010; Uçar et al., 2011; Cho et al., 2013; Ramos-Tovar et al., 2019). Aynı zamanda *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin özellikle bazı türleri 2300-2900 m yüksekliklerde yetişebilen, 60-90 cm arasında uzunluğa sahip, sıcaklık olarak ortalama 25 °C' de yetişmesi elverişli olan ve nemli ortamları seven bitki olarak bilinmektedir (Cortes et al., 2007).

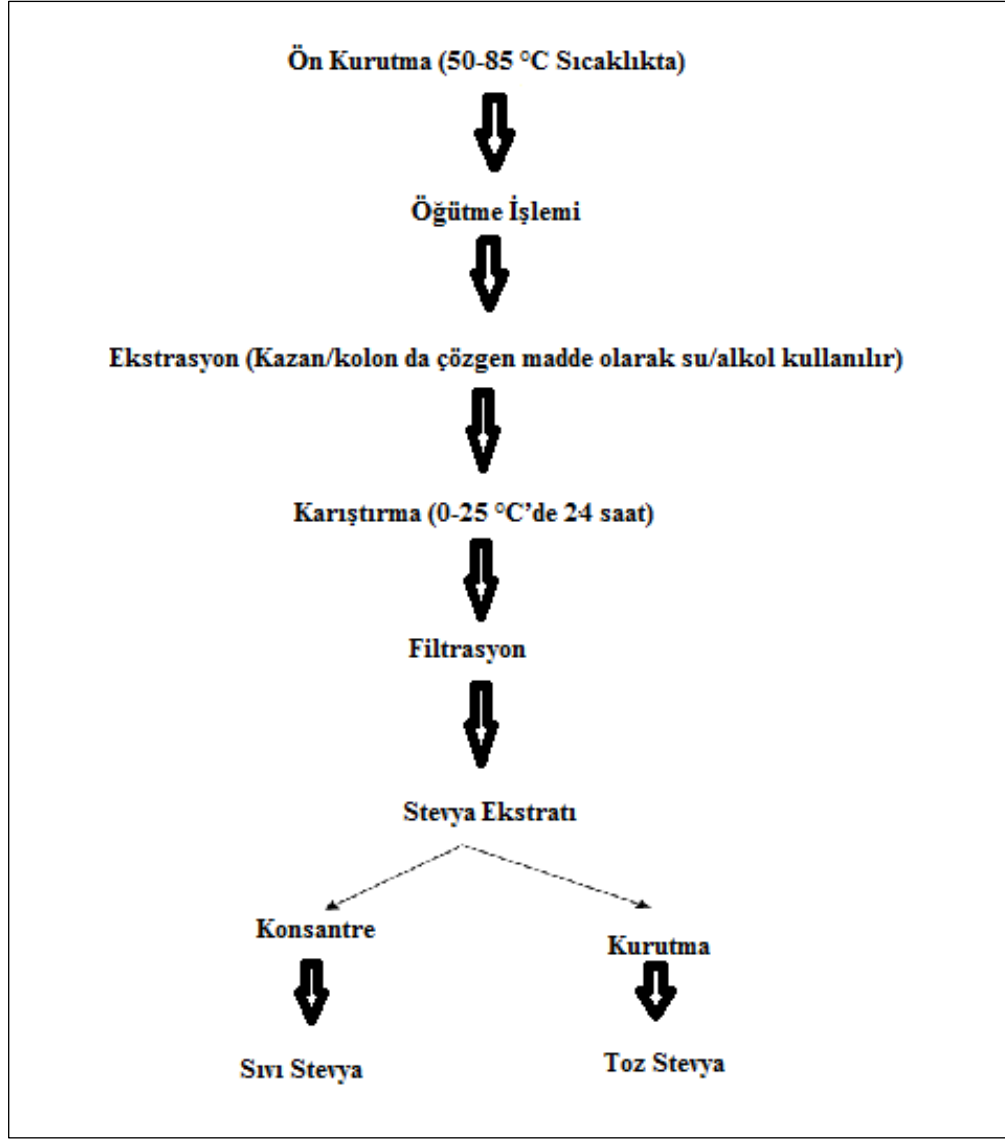
2.3. Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinin üretimi

Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinin çiçeklenmesi, bitkinin steviol glikozitlerinin miktarını etkileyen en önemli etkendir. Steviol glikozitlerinin en yüksek noktaya ulaştığı zaman çiçeklenme başlangıcıdır. Yani en yüksek steviol glikozitleri çiçek tomurcuk oluşumundan itibaren % 10' dan daha az çiçeklenmenin olduğu döneme kadar elde edilmektedir. Çiçekler açtıkça yapraklardaki steviol oranları da düşmektedir (Ceunen et al., 2013). *Stevia Rebaudiana Bertoni* genellikle yüksek ve sıcak iklimleri seven bir bitkidir. Akdeniz ikliminin bu bitkinin üretimi için çok uygun olduğundan tarımının bu bölgelerde yapılması önerilmektedir (Angelini and Tavarini,

2014; Turgut et al., 2015). Kırmızı toprak özelliğine sahip Akdeniz bölgesinde üretim denemeleri yapılmış, yaklaşık üç yıl süren denemeler sonucunda, ortalama bitki boyu 114 cm, bitki başına ana dal sayısı 17 ve yapraklardaki toplam steviol glikozit oranı ise % 16.52 olduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin Akdeniz ikliminde yetiştirilmesinin oldukça uygun olduğu düşünülmektedir (Turgut et al., 2015). Ayrıca *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin Tokat ili ekolojik koşullarında yetiştirilebileceği belirlenmiş olup, bitki boyunun 62,7-76,3 cm, bitki başına dal sayısının 15,4-19,3 adet olduğu ve biyolojik verimin uygun olduğu bildirilmiştir (Yıldırım, 2017). Güney Amerika'da denize kıyısı olan Paraguay'a özgü çok yıllık bir bitki olan *Stevia Rebaudiana Bertoni* kalori değeri olmayan yüksek etkili bir tatlandırıcı kaynağı olarak dünya çapında yetiştirilmeye başlanmıştır (Victoria et al., 2021). Türkiye'de üretiminin artırılması ve gerekli adaptasyon testlerinin yapılması için çalışmalar başlatılmıştır (Turgut et al., 2015; Yücesan et al., 2016a; Yücesan et al., 2016b; Yıldırım, 2017). Ayrıca ülkemiz için *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin üretiminin ekonomik değeri yüksek bir faaliyet olduğu bildirilmiştir (Temel et al., 2014).

Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinden sıvı ve toz formların üretimi üç şekilde gerçekleşmektedir. İlk olarak üretimi toz halinde elde edilen stevyadır. Öncelikle direkt stevya yaprakları kurutulur, öğütülür ve paketlenerek elde edilir. Bununla birlikte ikinci üretim formu konsantre stevya ekstraktı, üçüncü üretim formu ise toz stevya ekstraktıdır. Stevya ekstraktı üretmek için piyasada birçok patentli metotlar bulunmaktadır. Üretim için temel olarak akış diyagramları birbirlerine oldukça yakındır. Stevyanın üretimi, ekstraksiyon aşamaları; yapraklarının ön-kurutma işlemi, öğütme, ekstraksiyon, filtrasyon veya saflaştırma işlemleri ile birlikte renk maddelerinin elimine edilmesi, toz ya da sıvı halde konsantre etme veya kurutma işlemlerinden geçmektedir. 50-85 °C'ler arasında ön kurutma işlemi yapılmaktadır. Kurutulmuş, yaklaşık 2 mm çapında stevya yapraklarını küçültebilmek için öğütme işlemi gerçekleştirilmektedir. Kazan ve kolon tipi aletler ekstraksiyon işlemi için kullanılmakta olup, her iki metot için alkol veya su çözücü madde kullanılmaktadır. Kazan içerisinde *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisi ile birlikte çözücü madde aralıksız karıştırılır ve işlem 24 saat içerisinde tamamlanmaktadır. Yapılan ekstraksiyonda ortam sıcaklığı 0-25 °C arasında tutulur ve kolon tipi aletler kullanılmaktadır. Ayrıca stevya yaprak ve çözücü madde oranı 0,02-0,1 (g/g) olmasına dikkat edilir, sistemin

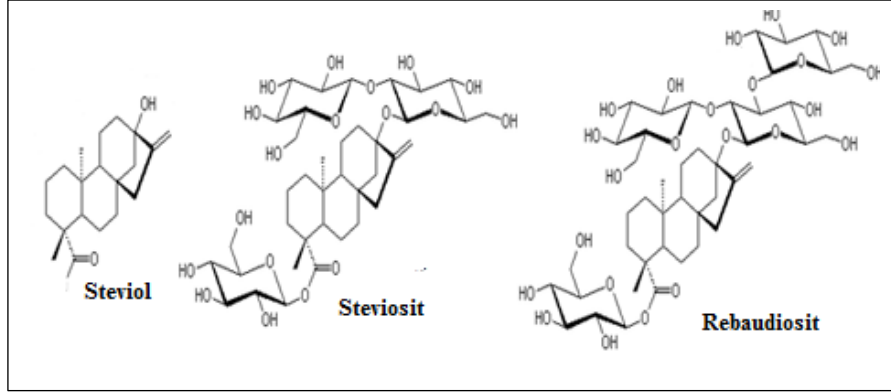
akış hızının ise 20-35 mL/min aralığında olmasına özen gösterilir. Ayrıca su çözücü madde olarak kullanılıyor ise fosforik asit (H_3PO_4) ile pH 2-4 arasında ayarlanması gerekmektedir. Filtrasyon sırasında, basınç değerinin 200-1300 kpa aralığında, sıcaklığın ise 30-85 °C arasında olması önem taşır. Böylece yüksek molekül ağırlığına sahip olan protein gibi makromoleküller ham stevya ekstratından uzaklaştırılmış olur. Saflaştırma veya filtrasyon aşamalarında renk maddeleri belirli düzeyde uzaklaştırılabilmektedir. Yapılan aşamaların sonucunda tercihe göre ve ürünün şekline göre konsantre edilerek ya konsantre stevya üretimine geçilmekte ya da kurutularak toz stevya elde edilmektedir. Kurutma işlemi yapılırken püskürtme esasına dayalı kurutucular kullanılır (Geuns, 2003; Megeji et al., 2005; Ghanta et al., 2007; Macchia et al., 2007; Yadav et al., 2011; Ceunen ve Geuns, 2013; Serfaty et al., 2013; Gedik ve Tansı, 2017). Stevya *Rebundiana*'dan sıvı ve toz formların üretim şeması Şekil 2.2' de sunuldu.



Şekil 2.2. *Stevia Rebundiana Bertoni* bitkisinin sıvı ve toz formların üretim şeması (Sezgin ve Koç, 2016'dan)

2.4. *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinde bulunan glikozidlerin kimyasal yapıları

Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinde bulunan glikozidlerin kimyasal yapıları Şekil 2.3'te sunuldu.



Şekil 2.3. *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinde bulunan glikozidlerin kimyasal yapıları (Brandle and Telmer, 2007'den)

Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinin 150 alt türü bulunmaktadır (Nunes et al., 2007). Steviannın yapraklarında birden fazla steviol glikozit bileşiği (% 10-5) bulunmaktadır. Rebaudiosit A (% 4-2), Rebaudiosit B (< % 1), Rebaudiosit C (% 1-2), Rebaudiosit D (< % 1), Rebaudiosit E (<% 1), Rebaudiosit F (<% 1), Dulkosit A (% 0.5–1) oranlarında olduğu bilinmektedir. Steviol glikozitler arasında en değerli olan Rebaudiosit A (Reb A), normal şeker ile karşılaştırıldığında 400-500 kat daha tatlı olan bir bileşiktir. Stevya'nın yaprakları, % 3.8 rebaudiosit A, % 0.3, dulkosit A, % 0.6 rebaudiosit C ve % 9,1 steviosid içerir (Lemus-Mondaca et al., 2012). Bununla birlikte *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin yaprakları yüksek fenolik bileşikler içermektedir. Ayrıca karotenoid, C vitamini, klorofil ihtiva eder. Antimikrobiyal ve antioksidan özelliklere sahiptir (Cushnie ve Lamb; 2005; Abou-Arab et al., 2010; Lemus-Mondaca et al., 2012; Belda-Galbis et al., 2014).

Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinde mevcut olan tatlı bileşikler diterpen glikozitlerdir (Smith ve Vanstadin, 1992). *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin yapraklarından elde edilen steviol glikozitler, insülin dengeleyici ve yüksek tatlılığa sahip doğal bileşiklerdir. Bununla birlikte steviol glikozitler, rebaudiosit A, B, C, D, E, dulkosit A ve steviosid adında doğal bileşikleri içermektedir (Morales ve Machado, 2001; Meireles et al., 2006; Ramesh et al., 2006; Carakostas et al., 2008; Zahn et al.,

2013; Martins et al., 2016; Salazar et al., 2018). Bu steviol glikozitler arasında, en değerlisi normal şekere göre 400-500 kat daha tatlı olan Rebaudiosit A (Reb A) bileşimidir (Lemus-Mondaca et al., 2012). *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin steviol glikozitlerinin kimyasal yapıları Tablo 2.1’de sunuldu.

Tablo 2.1. *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin steviol glikozitlerinin kimyasal yapıları (Geuns, 2003’den)

Bileşik adı	R1	R2
Steviol	H	H
Steviolbiosit	H	β -Glo- β - Glo (2→1)
Steviosid	β -Glo	β -Glo- β - Glo (2→1)
Rebaudiosit A	β -Glo	β -Glo- β - (Glo 2→1) 1 β - Glo (3→1)
Rebaudiosit B	H	β -Glo- β - Glo (2→1) 1 β -Glo (3→1)
Rebaudiosit C (Dulkosit B)	β -Glo	β -Glo- α-Rash(2→1) 1 β -Glo- (3→1)
Rebaudiosit D	β -Glo β -Glo(2→1)c	β -Glo- β - Glo (2→1) 1 β - Glo (3→1)
Rebaudiosit E	β -Glo β -Glo(2→1)	β -Glo- β -Glo- β-(2→1)
Rebaudiosit F	β -Glo	β -Glo- β -Xy1(2→1) 1 β -Glo
Dulkosit	β -Glo	β -Glo- α-Rash(2→1)

2.5. *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin besin değeri

Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisi, ABD’de 1987 yılında bir gıda katkısı olarak yasaklanmış fakat 1995’ de bir diyabet ürünü olarak kullanılmasına izin verilmiştir. Daha sonra 2008 yılından itibaren tatlandırıcı olarak tüketimine izin verilmiştir. Bununla birlikte Avrupa Birliği (AB) tarafından, 2011 yılının Aralık ayından itibaren *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin steviol glikozitlerinin (E 960) gıda katkı maddesi ve tatlandırıcı olarak tüketimine izin verilmiştir. (Lemus-Mondaca et al., 2012; Yücesan; 2015). Türkiye’de yayınlanan (28693 sayılı), Resmi Gazete’ de, 30.06.2013 tarihinde, Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği doğrultusunda *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin steviol glikozitlerinin, (E 960) kodu ile tatlandırıcı olarak tüketimine izin verilmiştir (Yücesan, 2015).

Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinin yaprakları akolidleri, klorojenik asitleri, suda çözünür formdaki klorofilleri, ksantofilleri, nötr suda çözünebilir formdaki oligosakkaritleri, bazı serbest şekerleri, amino asitleri, uçucu yağ asitlerini içermektedir. Bununla birlikte hidoksinnamik asitler olarak bilinen kafeik, riboflavin, tiamin, askorbik asit, β -karoten, oksalik asit içerir. Ayrıca β -sitosterol, stigmasterol, kampesterol ve pek çok flavonoidleri içeriğinde bulundurmaktadır (Komissarenko et al., 1994; Savita, 2004; Gürleyik, 2010; Chaturvedula, 2011). *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin yaprakları mineral, elzem amino asitlerce ve lifçe zengindir (Karaca, 2010). Stevia yapraklarında alanin, aspartik asit, glutamik asit, lizin, serin, prolin, tirozin, izolösin metiyonin gibi 9 esansiyel amino asit tespit edilmiştir (Mohammad et al., 2007). Daha sonra 8 amino asit tespit edilmiştir (Abou-Arap 2010; Marcinek ve Krejpcio, 2015). Bununla birlikte stevia lipit olarak linoleik asit, linolenik asit, oleik asit, palmitik asit ve stearik asitleri içermektedir (Marcinek ve Krejpcio, 2015). Ayrıca yapısında çinko, demir, fosfor, krom, kobalt, magnezium ve potasyum gibi mineraller de bulunmaktadır (Gürleyik, 2010; Chaturvedula, 2011; Gupta et al., 2013; Yavaş, 2015). *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin (kuru madde esasına göre) besin içeriği Tablo 2.2’ de sunuldu.

Tablo 2.2. *Stevia Rebaudiana Bertoni* bitkisinin (kuru madde esasına göre) besin içeriği (Karaca, 2010'dan)

Enerji (kcal)	270
Karbonhidrat (g)	52
Protein (g)	9,8
Yağ (g)	2,5
Ham lif (g)	18,5
Nem (g)	7
Kül (g)	10,5
Mineraller	
Kalsiyum (mg)	464,4
Fosfor (mg)	11,4
Demir (mg)	55,3
Sodyum (mg)	190
Potasyum (mg)	1800
Anti Besinsel Faktörler	
Okzalik asit (mg)	2295
Taninler (mg)	0,01

Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinin stevya glikozitleri için günlük alım miktarının vücut ağırlığının kilogram başına 4 mg kadar olması önerilmektedir. Bununla birlikte çeşitli gıda sektörlerinde kullanımına izin verilmiş ve uygun bulunmuştur. Özellikle kilo kontrolü için, özel ve tıbbi amaçlı gıda takviyesi olarak kullanımına izin verilmiştir. Bununla birlikte diyet gıdalarda, aromalı fermente süt ürünlerinde, dondurmada, çikolata ürünlerde, ince fırıncılık ürünlerinde (kek, pasta, kurabiye), marmelatlarda, meyve nektarı gibi içeceklerde, aromalı içeceklerde, deniz ürünlerinde, suşide, soya sosunda ve tatlı yoğurt yapımında kullanılmaktadır

(Kinghorn et al., 2001; Morlock et al., 2014; Kovacevic et al., 2018). Stevyanın diğeri bir özelliği de yapısındaki şekerin yüksek ısıda dahi karemelizasyona uğramaması ve kahverengileşmemesidir (JECFA, 2007). Sakkaroz miktarlarının stevya miktarlarına karşılığı Şekil 2.4' te sunuldu.

1 çay kaşığı sakkaroz = 1/2 paket veya 1/8 çay kaşığı toz stevia = 5 damla sıvı stevia
1 çorba kaşığı sakkaroz = 1.5 paket veya 1/3 çay kaşığı toz stevia = 15 damla sıvı stevia
1 su bardağı sakkaroz = 24 paket veya 2 çorba kaşığı toz stevia = 2 çay kaşığı sıvı stevia

Şekil 2.4. Sakkaroz miktarlarının stevya miktarlarına karşılığı

2.6. Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinin sağlık açısından önemi

Stevia Rebaudiana Bertoni bitkisinin ekstraktlarının insan sağlığı üzerine olumlu etkileri olduğu savunulmaktadır (Tadhani et al., 2007). Stevyanın, antihiperglisemik, antihipertansif, antihuman rotavirüs, antimikrobiyal ve antifungal özelliği olduğu bilinmektedir (Lee et al., 2001; Okawa et al., 2001; Ghosh et al., 2008; Karagöz ve Demirdöven, 2018). Diyabetes mellitus, obezite ve kalp hastalıklarında da kullanımının pozitif etki edeceği düşünülmektedir. Ayrıca steviol glikozitlerinin zayıflamak ve için de tatlandırıcı olarak kullanılmasının olumlu etkiler gösterdiği savunulmaktadır. Bununla birlikte diş çürümesi gibi rahatsızlıklarda da kullanılması önerilmektedir (Ghanta et al., 2007; Manisha et al., 2012). Stevya, diyabet hastalığında insülin metabolizmasını etkilemeden kan şekeri düzeyini düşüren özelliğe sahip olması nedeniyle hastalara tavsiye edilmektedir. Özellikle vücut tarafından tamamen metabolize edilmesi hasta bireyler ve zayıflamak isteyenler için oldukça uygun olduğu bilinmektedir (Lisak et al., 2011). Özellikle diyabetli kişilerde, tat algılama duyusunun azalması ile birlikte genel itibariyle tatlı yiyeceklerin daha çok sevildiği ve buna bağlı olarak tatlı yeme isteğinin arttığı bilinmektedir. Bu durumdan dolayı sağlık açısından herhangi bir zararı olmayan, şeker yerine kullanılabilen, şeker ile aynı tadı verebilen, kalori içermeyen veya düşük kalorili bir takım yapay tatlandırıcıların üretimi son yıllarda gündeme taşınmıştır (Alphan, 2005).

2.7. Böbrek hasarı ve enflamasyon

İmmün sistemde humoral-sıvısal ve hücreli olmak üzere iki ana yol mevcuttur. İnflamatuvar mekanizmalar, özellikle immün sistemin humoral-sıvısal bileşik maddelerin katıldığı kompleks bir süreçtir. Vücutta; antijenler, patojenik mikroorganizmalar, yabancı maddeler veya böbrekte doku hasarı olduğunda koruyucu

bir cevap olarak enflamatuar (yangı) yanıt oluşturulmaktadır (Silverstein, 2009; Sreedhar et al., 2017). Akut enflamatuar yanıt böbrekte hücre ve dokuları hasardan korumak ve iyileşmeyi başlatmak için gereklidir. Bununla birlikte oluşan pro-enflamatuar yanıt anti-enflamatuar yanıt ile düzenlenir. Bu nedenle, vücudun enflamatuar yanıtının dış ve iç uyaranlara karşı dengede olması oldukça büyük ölçüde önem taşır (Neff ve Le Roux, 2014; Sreedhar et al., 2017). Akut İnflamasyonu başlatan ve sürdüren kimyasal araçlar; eikosanoidler, histamin, kinin, kompleman sistem, sitokinlerdir. İnflamasyonda ise akut enflamatuar yanıt, sürecin baskılanması gerçekleşmediği veya geciktiği için dokuda pro-enflamatuar medyatörlerin birikimine ve doku hasarına neden olmaktadır. Ayrıca doku hasarı meydana gelse bile enflamatuar süreç devam etmektedir (Silverstein, 2009; Fleit, 2014; Franceschi ve Campisi, 2014).

İskemi; bir organa gelen kan akımının bazı etkenlerle, organ transplantasyonu ve vasküler cerrahi gibi işlemler esnasında yetersiz hale gelmesine veya durmasına denir (Ertorun, 2015). Reperfüzyon; iskemiye maruz kalan doku veya organların yeniden kanlanmasına bağlı olarak oksijenlenmesi durumudur. Reperfüzyon hasarı ise, iskemiden sonraki yeniden kanlanma döneminde meydana gelen doku veya organlardaki hasar olarak tanımlanır (Akkoç, 2008; Ertorun, 2015). Bununla birlikte hasarın primer yerinden bağımsız olarak glomerüller, tübüler, interstisyel, damar sklerozu ve son evre böbrek yetmezliği ile sonuçlanır (Kumar et al., 2013).

Böbrek hastalıkları hem insanlarda hem de hayvanlarda yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Böbrek hastalıklarının erken tanısı ve tedavisi ilerleyici böbrek fonksiyon kaybının engellenmesinde ve morbiditenin azaltılmasında büyük önem taşımaktadır (Locatelli et al., 2002). İnflamasyonun ve bağışıklık sistemindeki değişikliklerin hem akut böbrek yetmezliği hem de kronik böbrek yetmezliğinde rol oynadığı bilinmektedir (Akçay et al., 2009; Awad et al., 2009; Bolisetty ve Agarwal, 2009; Silverstein, 2009; Sato and Yanagita, 2018). Böbrek hastalıklarını tetikleyen nedenler farklı olmakla birlikte, akut böbrek yetmezliği kronik böbrek yetmezliğine dönüşebilmekte ve kontrol altına alınmadığında son dönem böbrek hastalığına kadar varan ağır bir tablo şekillenebilmektedir (Imig ve Ryan, 2013). İnflamasyon, böbrekte glomerulonefritise neden olarak akut böbrek yetmezliğinden kronik böbrek yetmezliğine kadar ilerleyen böbrek hasarına önemli katkıda bulunmaktadır. İnflamatuar yolları uyaran etmenler

İnflamatuar mediyatörlerin üretimini aktive eden hücre içi sinyal yollarını aktive etmektedir. Sitokinler dahil enflamasyon uyarıcıları, toll benzeri reseptörler (TLR) ve sitokin reseptörleri ile etkileşime girerek enflamasyona aracılık etmektedir. Reseptör aktivasyonu, transkripsiyon (STAT) yollarının aktivatörü, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK), nükleer faktör kappa-B (NF-κB) ve Janus kinaz (JAK)-sinyal dönüştürücü de dahil olmak üzere önemli hücre içi sinyal yollarını tetiklemektedir (Hendrayani et al., 2016). Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda interlökin-1 beta (IL-1β), IL-6 ve tümör nekroz faktör alfa (TNF-α) gibi proenflamatuar sitokinlerin aterosklerotik komplikasyonlar için risk faktörü olduğu, kardiyovasküler bozukluklara yol açtığı ve bu hastalarda morbiditede ve mortalitede rol oynadığı bildirilmiştir (Zoccali et al., 2000; Stenvinkel et al., 2002a; Stenvinkel et al., 2002b). Bununla birlikte endotoksine maruz kalan makrofajlar, enflamatuar hastalıklarda önemli roller oynayan pro-enflamatuar sitokinler üretirler (Choi ve Hwang, 2005). TNF-α, bir enflamatuar reaksiyon sürecinin en erken ve birincil endojen aracısıdır (Connolly et al., 2009; Maskrey et al. 2011).

IL-1β, hem lokal hem de sistemik seviyelerde enflamatuar yanıtı aracılık eden önemli bir pro-enflamatuar sitokindir (Christman et al., 2000; McCoy et al., 2011). Bu pro-enflamatuar sitokinler, ciddi doku hasarına ve septik şoka yol açarlar. Bu sebeple, pro-enflamatuar sitokinleri baskılamayı amaçlayan tedaviler, enflamatuar hastalıklar için potansiyel terapötik stratejiye sahiptirler (Ha et al., 2010; Lee et al., 2011). NF-κB, hücre dışı uyarana karşı enflamatuar ve immun yanıtları düzenlemede kritik bir rol oynar. NF-κB normalde sitoplazmada NF-KB (IκB'ler) inhibitörleri olarak bilinen bir inhibitör protein ailesi tarafından sekestre edilir. Bununla birlikte aktive edildiğinde, NF-κB birimi p65, inhibitör proteininden ayrılır. IκB-α ve sitoplazmadan çekirdeğe doğru yer değiştirir ve burada TNF-α, IL-1β ve IL-6 gibi sitokinlerin spesifik hedef genlerinin transkripsiyonunu tetikler (Rao 2001; Jiang et al., 2002).

İnflamasyon, böbrekte glomerulonefrite sebep olarak akut böbrek yetmezliğinden kronik böbrek yetmezliğine kadar ilerleyen böbrek hasarına önemli katkıda bulunmaktadır. Böbrek dokusunda gelişen enflamasyonda MCP-1 ve RANTES kemokinlerinin rol oynadığı bilinmektedir (Lloyd et al., 1997; Wada et al., 2001). Hasar oluşumu ile birlikte RANTES ve MCP-1 gibi mediyatörler hasar oluşumunu gösteren biyokimyasal belirteçler olarak kullanılmaktadır. Renal tübüler epitel hücrelerinin MCP-1 ve RANTES gibi C-C kemokinlerinin önemli bir kaynağı

olduğu belirlenmiştir (Holdsworth et al., 2000). Bakteriyel bileşenlere doğrudan maruz kalınma ile birlikte böbrek hücrelerinde C-C kemokin üretimini Toll-like (köprü benzeri) reseptörler (TLRs) artırmaktadır. Bu nedenle, renal tübüler epitel hücresi ile C-C kemokin üretiminde TLRs reseptörler önem taşımaktadır (Takeuchi et al., 2002). TLRs reseptör ailesi bakteri bileşenlerinin tanınmasında önemli rol oynar. (Zhang ve Ghosh, 2001).

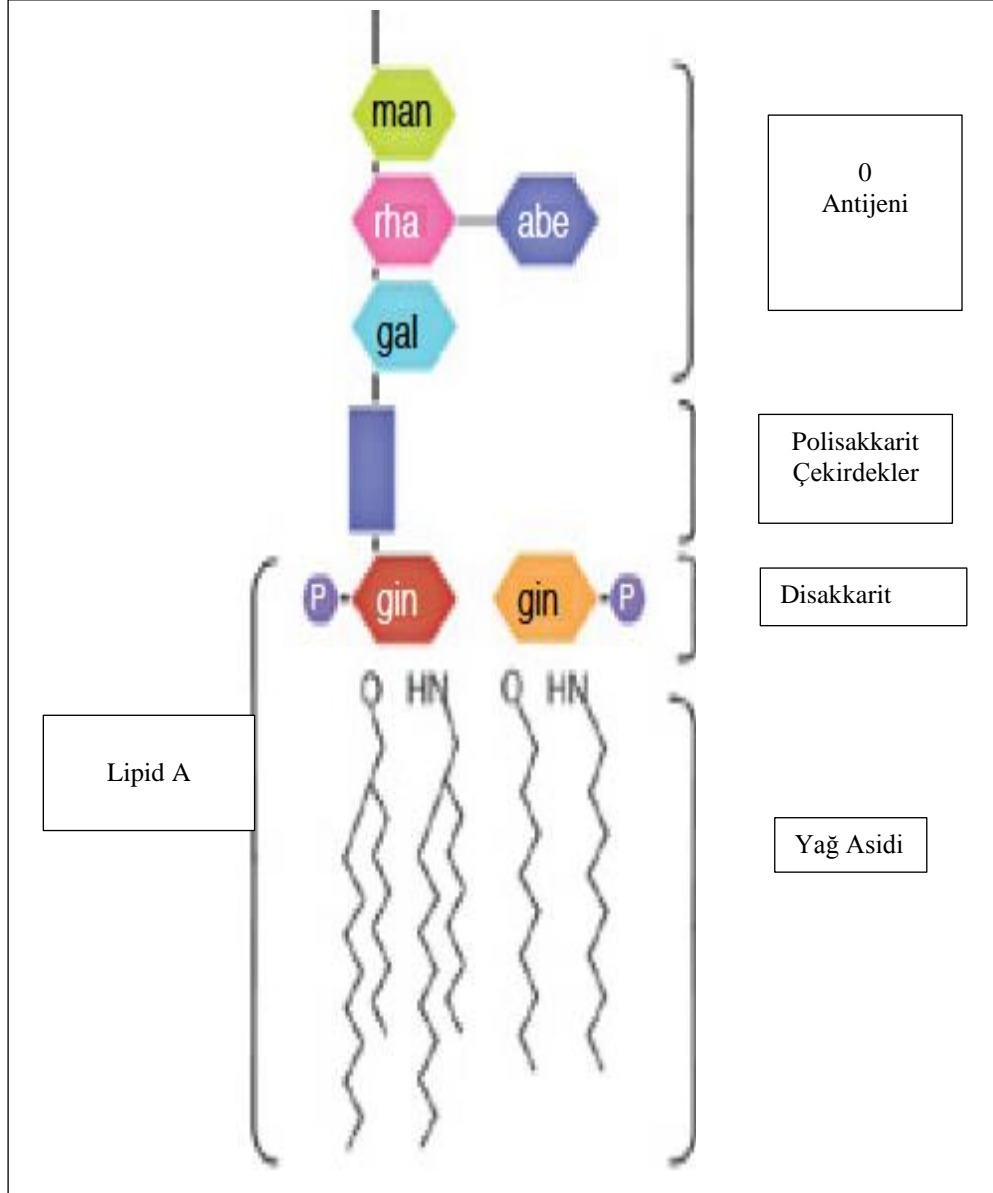
Böbrek tübüler epitel hücrelerinden salgılanan MCP-1 ve RANTES gibi C-C kemokinler interstisyum ve glomerulus içine bağışıklık hücrelerinin çekilmesini indükleyerek böbrek enflamasyonunun patogenezinde önemli rol almaktadır (Holdsworth et al., 2000). Böbrekte gelişen enflamasyonun hafifletilmesinde veya tedavi edilmesinde kemokinlerin modüle edilmesi başarı sağlamaktadır (Rovin, 1999; Holdsworth et al., 2000; Segerer et al., 2000). Böbreğin enflamatuvar hasarına katkıda bulunmaları nedeniyle MCP-1 ve RANTES düzeylerinin baskılanmasının enflamatuvar böbrek hasarının hafifletilmesinde ve tedavisinde terapötik potansiyele sahip olabileceği düşünülmektedir. enflamatuvar süreçlerin sebep olduğu böbrek hasarının profilaksisi ve tedavisi amacıyla steviosid gibi glikozitlerin de yer aldığı yeni terapötik yaklaşımlar denenmekte ve başarılı sonuçlar elde edilmektedir (Potočnjak et al., 2017; Yuajit et al., 2017; Noitem et al., 2018).

2.8. Lipopolisakkarit

Lipopolisakkarit (LPS) gram-negatif bakterilerin çoğunun dış zarlarında bulunan yapısal olarak ilişkili glikolipit ailesidir (Megrian, 2020). Lipopolisakkaritler ve gram-pozitif bakterilerden peptidoglikanlar gibi bakteriyel ürünler için dedektör görevi görürler ve konakçı bağışıklık hücrelerinin alımını aktive etmek için sinyaller üreterek yanıt verirler (Hagar et al., 2013; Kayagaki et al., 2013; Shi et al., 2014). LPS yapısında O antijenleri, polisakkarit çekirdekler, disakkarit yapı, yağ asitleri ile Lipit A'dan oluşmaktadır. O antijeni gram negatif bakterilerin patolojik açıdan sınıflandırılmasının temelini oluşturur. O antijeni bağışıklık hücreleri tarafından tek tanınandır ve immünolojik yanıtta sorumludur. O antijenini Lipit A'ya polisakkarit çekirdekler bağlar (Whitfield et al., 2020). Tüm LPS molekülleri, arketipik yapısı 4-7 asıl zinciri taşıyan bir bisfosforile disakkarit omurgasından oluşan bir lipit bileşeni (lipit A) içerir (Whitfield and Trent, 2014). LPS'nin yapısı Şekil 2.5'te sunuldu.

Renal tübüler epitel hücrelerinin doğrudan bakteriyel bileşene maruz kaldığı

pyelonefrit, böbrek yetmezliğinin başlıca nedenlerinden biridir. Gram-negatif bakterilerin temel bir bileşeni olan LPS, akut böbrek yetmezliğinin gelişmesinde ve kronik nefritin hızlanmasında önemli bir faktördür ve sıklıkla böbrek yetmezliğine yol açar (Svanborg et al., 1991; Karkar ve Rees; 1997). Hayvan modellerinde LPS, deneysel glomerülonefrit veya IgA nefropati, lupus nefrit, antiglomerüler bazal membran hastalığı ve akut tübüler nekroz gibi bozuklukları indükler (Endo et al., 1993; Granholm ve Cavallo, 1994; Kang et al., 1995; Karkar ve Rees; 1997). Bakteriyel istiladan iki ile üç saat sonra, enterik epitel hücreleri kemokinler ve sitokinler dahil araçları serbest bırakarak doğuştan gelen ve edinilmiş bağışıklık tepkilerini kolayca uyarır. Akut bir mukozal enflamatuar yanıtı aktive etmek ve aynı zamanda erken bir enflamatuar bağışıklık tepkisinin başlangıcı ile birlikte çalışmak için erken sinyaller olarak işlev görür (Chen et al., 2006).



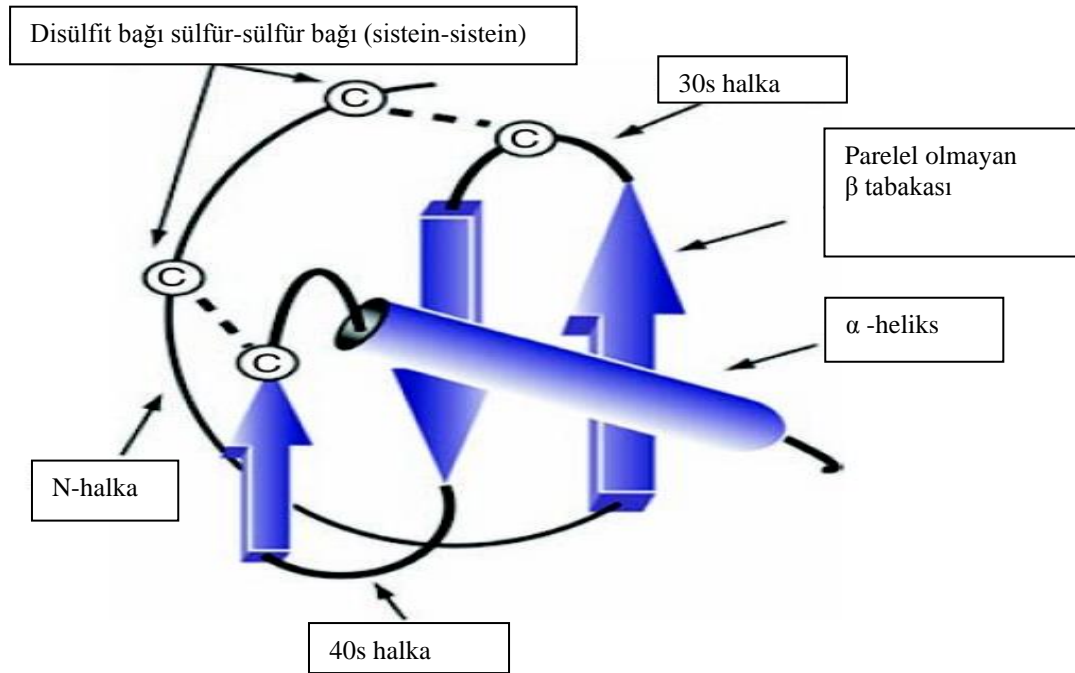
Şekil 2.5. LPS'nin yapısı. **man**: D-mannoz, **rha**: L-rannoz, **gal**: D-galaktoz **gin**: Glutamin (Galdiero ve et al., 2012' den)

2.9. Kemokinler

Kemokinler, kemotaktik sitokinler, molekül ağırlığı 8-14 kDa olan protein yapısındaki küçük sitokinlerdir (Oppenheim et al., 1991; Calapoğlu ve Calapoğlu, 2009; Coşkun, 2013). Kemokinler, primer yapılarında yer alan iki sisteinin C konfigürasyonuna göre; alfa (α)-kemokinler, beta (β)-kemokinler, C kemokin

(lenfotaktin) ve C-X3-C kemokinler [fraktalkin (insanlarda) ve nörotaktin (farelerde)] olmak üzere dört gruba ayrılmaktadırlar (Baggiolini ve Loetscher, 2000; Moser ve Loetscher, 2001).

Beta-kemokinlerde [sistein-sistein (C-C)], N terminalde iki sistein birbirine bağlı bulunmaktadır. Aminoasit konfigürasyonları, sekonder ve tersiyer yapıları birbirine benzemekle birlikte kemokinler farklı etkilere sahiptirler (Zlotnik ve Yoshie, 2000; Horuk, 2007). Beta-kemokinler, başlıca monositler ve T-lenfositler olmak üzere eozinofiller, bazofiller ve NK (natural-killer, doğal-öldürücü) hücreler üzerinde de kuvvetli kemotaktik etki ederek kronik enflamasyonda, alerjik reaksiyonlarda ve paraziter enfeksiyonlarda rol oynamaktadırlar (Zlotnik ve Yoshie, 2000; Çağlar ve Kansu, 2004).



Şekil 2.6. Kemokinlerin üç boyutlu yapısının şematik gösterimi. α ve β tabakasının yanı sıra sistein kalıntıları ve 30s ve 40s halkaların gösterildiği bir kemokinin üç boyutlu gösterimi. Tüm kemokinlerin, konserve sistein kalıntıları arasındaki disülfid bağlarıyla stabilize edilmiş tipik bir anahtar yapısını taşımaktadır (Deshmane et al. 2009' dan)

Kemokinler üstlendikleri görevlere göre enflamatuar kemokinler ve homeostatik kemokinler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. İnflamatuar kemokinler, immun uyarılar sonucunda enflamasyon ya da hasarının bulunduğu bölgeye lökositlerin göçünü kontrol etmektedirler. Homeostatik kemokinler ise lökositlerin, lenfoid organlara yönlendirilmesini sağlamaktadırlar (Baggiolini ve Loetscher, 2000; Wong ve Fish, 2003; Moser et al., 2004). Aktive olmuş monosit-makrofaj, lökosit, lenfosit,

ve endotel hücrelerinden salgılanan kemokinler reseptörler aracılığıyla hücreye bağlanarak ve bu hücreleri infeksiyon ve enflamasyon bölgesine çekerek farklı hücre tiplerinde kemotaktik aktivite göstermektedirler.

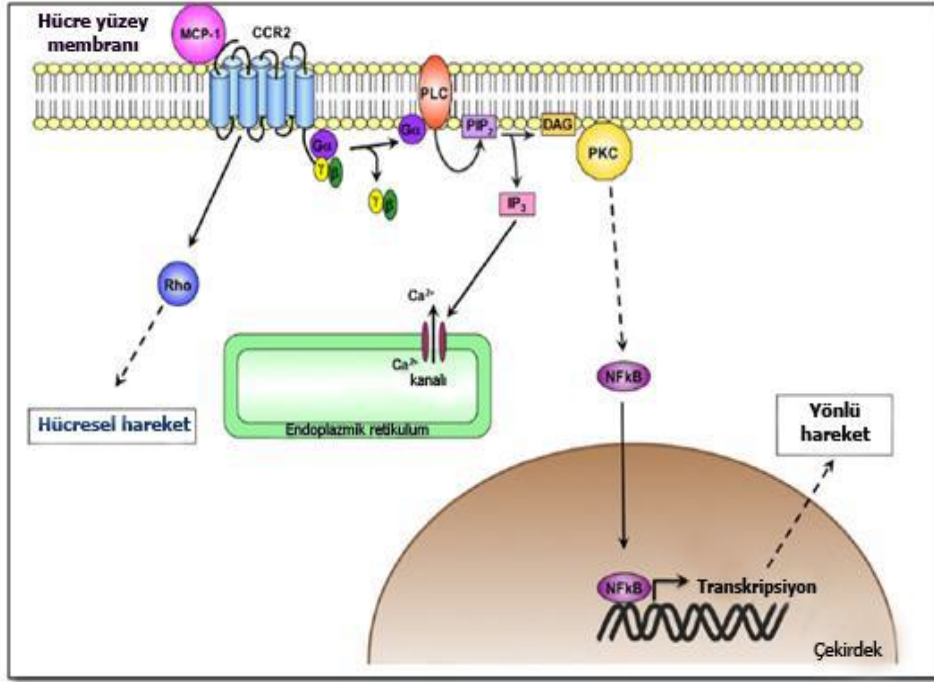
Kemokinler, lökositleri, lenfositleri, monosit/makrofaj kökenli birçok hücreyi ve dendritik hücreleri yönlendirerek ve aktive ederek immun sistemin antijenik yanıt oluşturmada ve otoimmün reaksiyonlar da dahil enflamatuvar süreçte görev almaktadırlar (Baggiolini 2001; Calapoğlu ve Calapoğlu, 2009; Deshmane et al., 2009; Yadav et al., 2010). Kemokinler, hücre zarındaki özel reseptörlerine bağlanıp onları aktive ettikten sonra Ca^{+2} metabolik yolunu kullanarak hücre içinde bir dizi enzimatik reaksiyona ve endoplazmik retikulumdan sinyal moleküllerinin salınmasına neden olarak hedef proteinin fonksiyonel hale gelmesini sağlamaktadırlar (David ve Mortari, 2000; Horuk, 2007; Commins et al., 2010; Blanchet et al., 2012).

2.10. Monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1)

Monosit kemoatraktan protein (MCP) ailesinin MCP-1 (CCL2), MCP-2 (CCL8), MCP-3 (CCL7), MCP-4 (CCL13) ve MCP-5 (CCL12) olmak üzere beş üyesi bulunmaktadır (Proost et al., 1996; Yadav et al., 2010). CC kemokinleri, MCP-1 gibi, ara yüzeyi esas olarak N terminal alan (CC kemokin) veya iki α -“heliks” sarmalı (CXC kemokin) yakınında sistein kalıntıları ile birlikte antiparalel β -tabakasından oluşmaktadır (Baggiolini ve Loetscher, 2000). MCP ailesi, monositler, T hücreleri, fibroblastlar, endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri ve enflamasyonda görev alan hücrelerden salgılanmaktadır (Taylor et al., 2000; Conti ve DiGioacchino, 2001; Shin et al., 2002; Charo ve Taubman, 2004; O'Hayre et al., 2008; Melgarejo et al., 2009).

Beta-kemokin ailesinin bir üyesi olan MCP-1 monositler, bazofiller ve T lenfositler için kemotaktik aktiviteye sahip olup moleküler ağırlığı 9 kDa veya 13 kDa'dur. Molekül ağırlığı 13 kDa olan MCP-1'de N-asetil-D-galaktozamin yer alırken, 9 kDa moleküler ağırlığa sahip izoformunda yoktur. Bununla birlikte glikolizasyondaki bu farklılık, MCP-1'in monosit göç kapasitesini etkilememektedir (Melgarejo et al., 2009). Monosit kemoatraktan protein-1, hücre yüzeyindeki CC kemokin reseptör 2 (CCR2)'ye bağlanarak monositlerin enflamasyon ya da hasar bölgesine göçünü ve kemotaksisi tetiklemekte ve bu şekilde enflamasyonun başlamasında anahtar rol oynamaktadır (O'Hayre et al., 2008; Deshmane et al., 2009).

MCP-1, hedef hücre yüzeyindeki CCR2 kemokin reseptörüne bağlanmaktadır (O'Hayre et al., 2008). CCR2 monositlerden eksprese olur, bunun T hücrelerinden ekspresyonu sadece onların aktivasyonundan sonra tespit edilir (Jung ve Miller, 2008). MCP-1' in CCR2 ile etkileşimi sonucunda fosfatidilinositol sinyal yolağının aktivasyonu Şekil 2.7'de sunuldu.



Şekil 2.7. MCP-1' in CCR2 ile etkileşimi sonucunda fosfatidilinositol sinyal yolağının aktivasyonu
PLC: Fosfolipaz C; **PIP2:** Fosfatidilinositol-bifosfat; **IP3:** İnositol trifosfat;
DAG:Diasilgliserol; **PKC:** Protein kinaz C; **NF-κB:** Nüklear faktör-kappa B (Melgarejo et al., 2009'dan)

MCP-1' in sadece insan periferel kan mononükleer hücrelerinde değil endotelial hücrelerde de MCP-1'in uyardığı protein "MCP-1-induced protein" i (MCPIP) arttırdığı ve bu transkripsiyon faktörünün MCP-1 tarafından başlatılan anjiyogeneze aracılık ettiği saptanmıştır (O'Hayre et al., 2008). Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda infeksiyon durumlarında MCP-1' in mRNA ekspresyonunun arttığı ve pek çok hastalığın patogenezinde rol oynayabileceği bildirilmiştir (Cagnard et al., 2005; Lutgens et al., 2005; Vaziri et al., 2005; Adarichev et al., 2006; Tucci et al., 2006, Wara et al., 2008; Levinger et al., 2011; Munshi et al., 2011; Jia et al., 2012; Razmkhah et al., 2012; Renga et al., 2012; Santos et al., 2012; Zheng et al., 2012; Liu et al., 2013; Tourniaire et al., 2013).

MCP-1, pro-enflamatuar sitokinlere yanıt olarak salgılanan ve enflamatuar hücre trafiğini düzenleyen, monositlerin, nötrofillerin ve lenfositlerin seçici olarak çekilmesinde önemli rol almakta, özellikle monositler için güçlü bir kemotaktik faktör

olan MCP-1 pek çok patofizyolojik durumda önemli bir rol oynamaktadır (Holdsworth et al., 2000; Moser ve Loetscher, 2001; Deshmane et al., 2009). Böbrek dokusundan salınan MCP-1 monosit/makrofaj infiltrasyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynamakta ve böbrek dokusundaki enflamasyona önemli katkıda bulunmaktadır (Haberstroh et al., 2002; Anders et al., 2003; Eardley et al., 2006). Glomeruler hipertansiyon ile ilişkili kronik böbrek yetmezliğinde MCP-1'in tubulointerstisyel hasarda rol oynadığı belirlenmiştir (Ota et al., 2002). Aynı zamanda idrarda yüksek MCP-1 seviyesinin ilerleyici böbrek hasarı ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Yokoyama et al., 1998; Wada et al., 1999).

2.11. Aktivasyon üzerine düzenlenen, normal T hücrelerince eksprese edilen ve salınan (RANTES)

Aktivasyon üzerine düzenlenen RANTES, bazı T hücrelerinin alt kümelerinde kemoatraksiyona karışan ve salgılanan 8-10 kD boyutunda bir kemokindir. Beta-kemokin ailesinin bir üyesi olan RANTES, epitel hücreler, makrofajlar, lenfositler ve eozinofiller tarafından üretilen, dolaşımdaki lökositlerin enflamasyon bölgesine alınmasında aktif rol oynayan, özellikle eozinofiller ve monositler için kemoatraktan etkiye sahip olan bir kemokindir (Baggiolini, 1998). Bununla birlikte, RANTES olarak da bilinen CCL5, iltihaplanmanın sonraki aşamasında özellikle aktive edilmiş efektör T hücrelerini ve yeni üretilen T hücrelerini toplamak için birkaç güne ihtiyaç duyar (Schall et al., 1990; Ortiz et al., 1996). RANTES CCR5'e bağlanır ve ayrıca CCR1 kemokin reseptörlerini tanır (Anders et al., 2002; Charo ve Ransohof, 2006; Wells et al., 2006; Griffith et al., 2014).

Aktivasyon sırasında indüklenen bu ekspresyona ek olarak, CCL5 ayrıca T hücreleri ve lokal doğal öldürücü (NK) hücreler tarafından enflamasyonsuz koşullarda da eksprese edilir (Swanson et al., 2002; Walzer et al., 2003; Kumar et al., 2009). Nötrleştirici anti-CCL5 antikolları, insanda dokuda yerleşik T hücrelerinin korunmasında düzenleyici bir rol oynadığı bilinmekte, homeostatik CCL5 ekspresyonu olarak anılacak olan iltihaplanmayan koşullarda yapıcı CCL5 ekspresyonunun, dokuda yerleşik lenfositlerin homeostazı için önemli olabileceği ileri sürülmektedir (Iijima et al., 2014; Collins et al., 2016). Ayrıca RANTES olarak bilinen CCL5' in hematopoietik kök hücrelerin farklılaşmasını doğrudan etkilemek için pleiotropik faktör olarak işlev görebildiği bilinmektedir (Ergen et al., 2012). Böbrek tubuler hücreleri tarafından üretilen RANTES'in, akut böbrek hasarına aracılık eden

anahtar bir kemokin olduğu rapor edilmiştir (Yu et al., 2016). Böbreğin tubuler epitel hücrelerinden salgılanan RANTES, interstisyum ve glomerulus içine bağışıklık hücrelerinin çekilmesini sağlayarak böbrek enflamasyonunun patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (Holdsworth et al., 2000).

3. MATERYAL VE METOT

Sunulan tez çalışması, Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) devamlı hücre kültüründe yürütülmüş olup hücreler % 10 fetal dana serumu ve % 1 penisilin/streptomisin içeren Dulbecco's minimum essential medium (DMEM) vasatı içerisinde üretildi. Hücreler bu besi ortamını içeren 25 cm²' lik ve 75 cm²'lik flasklarda, iç ortamı % 5 CO₂, % 95 hava karışımı kapsayan 37° C'lik inkubatörde tutularak ve rutin pasajları yapılarak üretildi. Hücrelerin sağkalımı ve morfolojik yapıları invert mikroskopta takip edildi.

MDBK hücreleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı hücre koleksiyonundan temin edildi. Hücreler %10 fetal dana serumu, 2 mM L-Glutamine (Gibco Cat no:A2916801), % 1 antibiyotik (Penisilin, Streptomisin) (Sigma-Aldrich, ABD) içeren 5 ml Dulbecco's Minimum Essential Medium (Gibco) hücre üreme vasatı ile 25 cm² yüzey alanına sahip flasklara çözüldükten sonra 37⁰ C'lik CO₂ 'li (Nuve-EC 160) etüve kaldırıldı.

Hücrelerin günlük olarak takibi yapıldı ve hücreler, flaskların taban yüzeyinin tamamını kapladıktan sonra 1 flasktan 2 flask olacak şekilde subkültüre edildi. Hücre canlılığı ölçümü pasajlama sırasında yapıldı. Bu amaçla hücre tripsin ile muamele edildikten sonra hücre süspansiyonundan 10µl alınıp, 10µl tripan blue ile karıştırıldı. Hücre sayım kasetlerine koyularak Biorad PC20 Automated cell counter cihazı ile hücre canlılık ölçümleri yapıldı.

- ▶ 1. grup (negatif kontrol grubu): Herhangi bir uygulama yapılmayan DMEM vasat ortamındaki MDBK hücreleri
- ▶ 2. grup: LPS'ye maruz bırakılan DMEM vasat ortamındaki MDBK hücreleri
- ▶ 3. grup: Steviosid eklenen DMEM vasat ortamındaki MDBK hücreleri
- ▶ 4. grup: LPS+steviosid uygulanan DMEM vasat ortamındaki MDBK hücreleri

3.1. MDBK hücre kültüründe enflamasyonun oluşturulması

Enflamasyonun indüklenmesi amacıyla; MDBK hücreleri 8 saat boyunca, steril dimetil sülfoksit içerisinde hazırlanan 5 µg/ml LPS (E. coli O111: B4, L4391, Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA)'ye maruz bırakıldı (Hu et al., 2012; Tapan, 2019). Daha sonra hücreler, 24 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda (10 µM, 20 µM, 50 µM, 100 µM ve 200 µM) steviosid (CDS020802, Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA) ile kültüre edildi (Yuajit et al., 2017; Noitem et al., 2018; Alavala et al., 2019).

- MDBK hücrelerinde, lipopolisakkaritin sitotoksik ve steviosidin sitoprotektif etkisi kolorimetrik hücre sayım kiti ((96992, Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA) ile değerlendirildi.
- Tüm uygulamalar dört tekrarlı gerçekleştirildi.
- Uygulamalardan sonra hücre kültürü mediumları 2.500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve üstteki supernatantlarda ELISA analizleri gerçekleştirildi.
- Hücre kültürü mediumlarında MCP-1 ve RANTES düzeyleri ELISA test kitleri kullanılarak ELISA yöntemi ile ölçüldü (Li et al., 2017).

3.2. Sitotoksite analizleri

MDBK hücrelerinin canlılığı, kolorimetrik hücre sayım kiti kullanılarak belirlendi. Testin uygulanmasında üretici firmanın bildirdiği basamaklar takip edildi. Deneme guplarına ait MDBK hücreleri, 96 oyuklu bir mikroplyette 1 ml'sinde 1×10^5 hücre olacak şekilde ekilerek 37°C ' lik inkübatörde 24 saat bekletildi. Hücreler pleyt yüzeyini kapladığında kuyucuklardaki hücre üretme vasatı uzaklaştırıldıktan sonra hücre üretme vasatında hazırlanan LPS (5 $\mu\text{g/ml}$) ve/veya steviosid (10 μM , 20 μM , 50 μM , 100 μM ve 200 μM) ikişer kuyucuğa olmak üzere 10 μl eklendi ve 37°C ' lik inkübatörde 12 saat süre ile inkube edildi.

Negatif kontrol hücrelerin kuyucuklarına steviosid yerine 10 μl hücre üretme vasatı pipetlendi. Daha sonra, her bir kuyucuğun kültür ortamına 10 μl (Cell Counting Kit-8) CCK-8 çözeltisi ilave edildi ve mikroplyet 2 saat boyunca 37°C ' lik inkübatörde tutuldu. Süre sonunda her bir kuyucuğun 450 nm'deki absorbansı, mikroplyet okuyucuda (Infinite F50, Tecan, Grödig, Austria) kaydedildi.

3.3. ELISA analizleri

Gruplardan elde edilen hücre kültürü mediumlarında IL-1 β (MBS2609338, MyBioSource, Inc. San Diego, CA, USA), TNF- α (MBS2609886, MyBioSource, Inc. San Diego, CA, USA), MCP-1 (DZE201041011, Sunred Biological Technology Co., Shanghai, China) ve RANTES (E2197Bo, Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, China) konsantrasyonları sığira spesifik sitokin ticari ELISA test kitleri kullanılarak gerçekleştirildi. ELISA anaizlerinde üretici firmanın belirttiği prosedür takip edilerek tüm parametreler paralel çalışıldı.

kullanıldığı analizlerde Mikropleytle oluşan rengin absorbansı mikropleyt okuyucuda (Infinite F50, Tecan, Grödig, Austria) değerlendirilerek sonuçlar standart eğriden hesaplandı. Sitokinlerin her biri çift örnekleme çalışıldı.

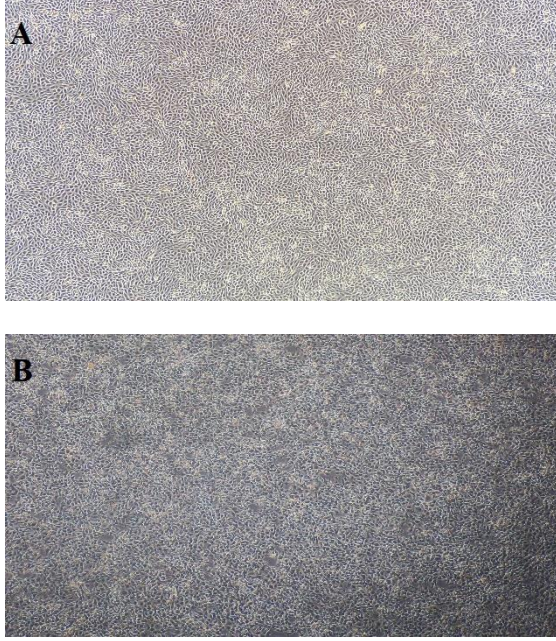
3.4. İstatistiksel analizler

Deneme gruplarından elde edilen sonuçların istatistiksel analizlerinde SPSS 22.0 paket programından yararlanıldı. Tüm sonuçlara önemlilik testi öncesinde parametrik test varsayımlarından normallik yönünden Shapiro Wilk, varyansların homojenliği yönünden Levene testi uygulandı. Gruplar arası farklılığın anlamlı bulunduğu durumlarda ileri aşama (post-hoc) testi olarak parametrik test varsayımlarını sağlayan değişkenler için Duncan testi gerçekleştirildi. Tekrarlı deneylerin sonuçları, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Tüm istatistiksel değerlendirmeler için $p < 0,05$ anlamlı fark olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. MDBK hücrelerinin invert mikroskoptaki görünümü

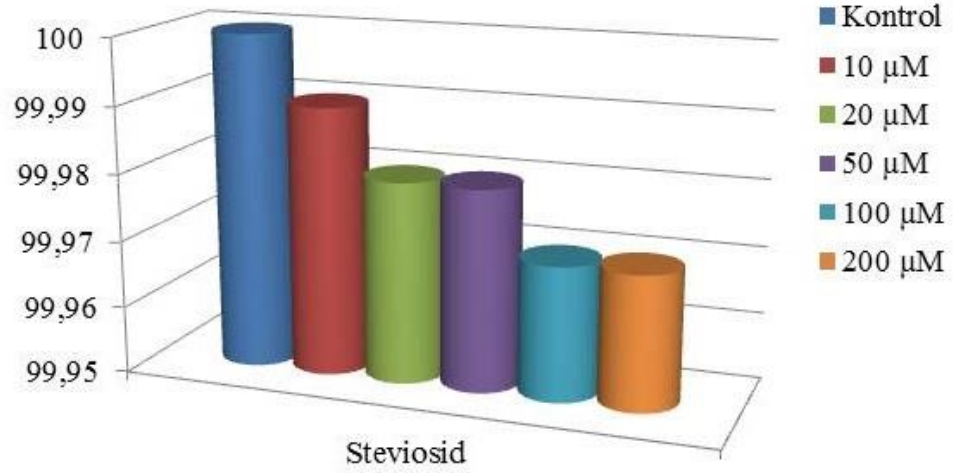
MDBK hücrelerinin invert mikroskoptaki görünümü Şekil 4.1’de sunuldu.



Şekil 4.1. A: MDBK hücre kontrol (40x) (48. saat); B: 200µM steviosid uygulanan MDBK hücre kültürü (40x) (48. Saat)

4.2. MDBK hücrelerinin sağkalım oranları

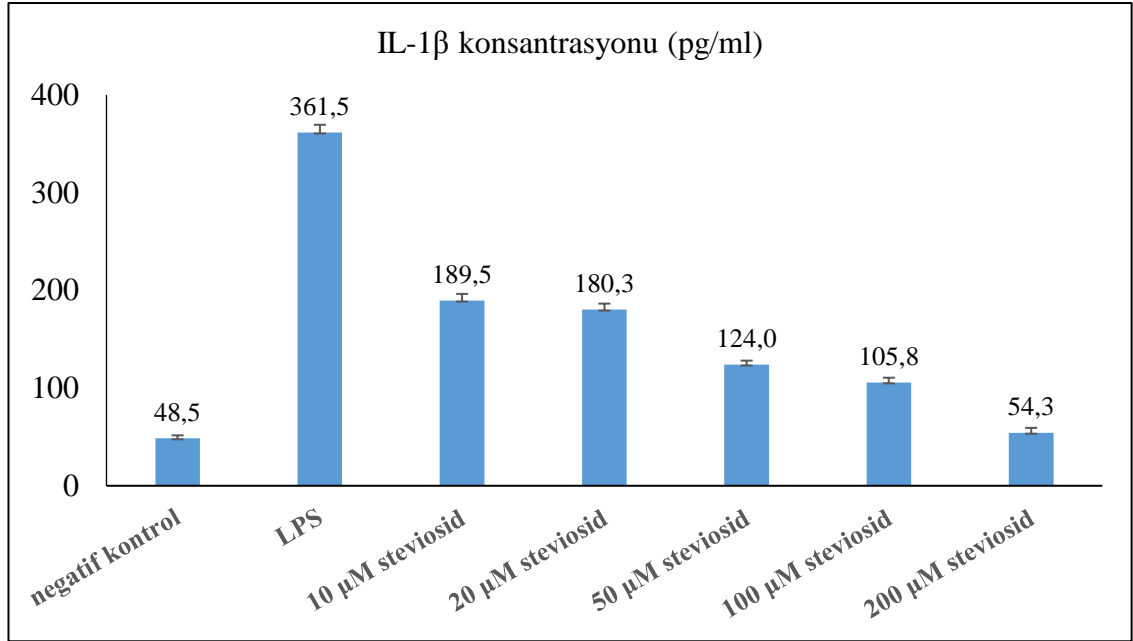
DeneySEL uygulamaların gerçekleştirildiği MDBK hücrelerinin sağkalım oranları Şekil 4.2’ de sunuldu. Kontrol grubundaki hücrelerin sağkalım oranı % 100 iken, 10 µM, 20 µM, 50 µM, 100 µM ve 200 µM steviosid uygulanan hücre gruplarında sırasıyla % 99,99, % 99,98 % 99,97, % 99,96 % ve % 99,95 olarak belirlendi.



Şekil 4.2. Farklı konsantrasyonlarda steviosid uygulamalarından sonra hücrelerde ölçülen sağkalım oranları.

4.3. IL-1 β konsantrasyonu

Negatif kontrol, LPS, 10 µM steviosid, 20 µM steviosid, 50 µM steviosid, 100 µM steviosid ve 200 µM steviosid hücre gruplarına ait IL-1 β konsantrasyonları Şekil 4.3' de sunuldu.



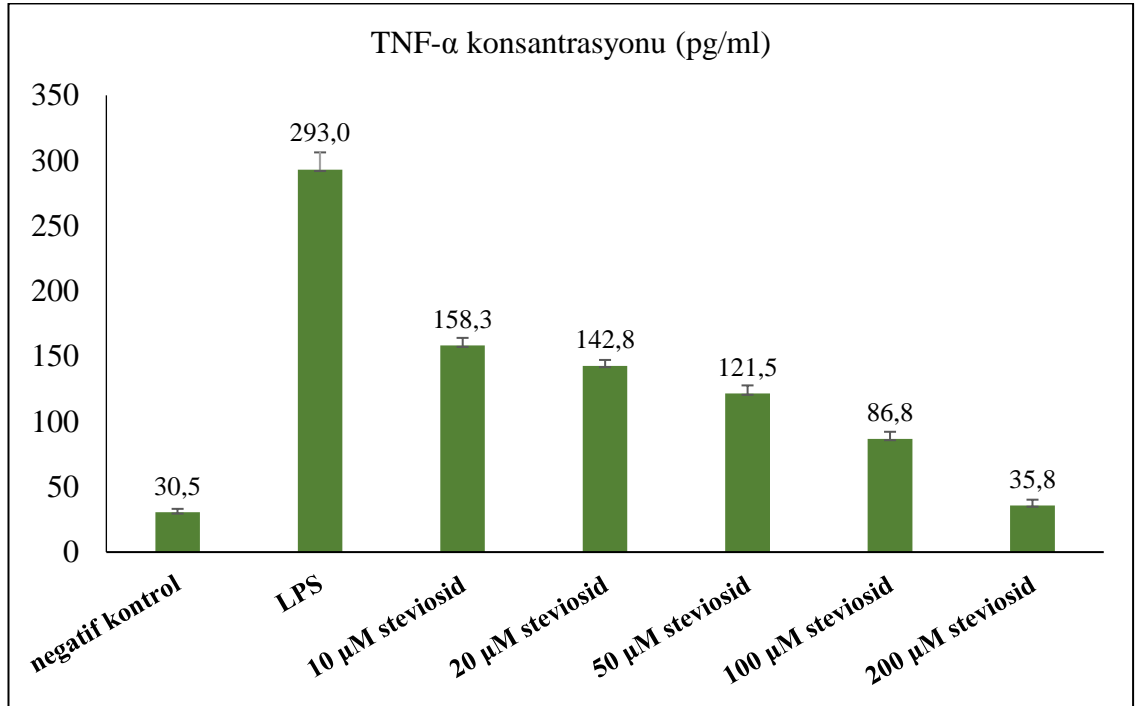
Şekil 4.3. MDBK hücre hattında IL-1 β konsantrasyonları (n=4)

Bulgular doğrultusunda, 8 saat süreyle 200 µM steviosid uygulanan hücre kültürü mediumlarında IL-1 β konsantrasyonunun negatif kontrol hücrelerindeki değere oldukça yakın olduğu belirlendi. Bununla birlikte MDBK hücrelerine 8 saat

süreyle 200 μ M steviosid uygulamasının enflamasyon göstergesi olan IL-1 β salınımını bastırıldığını göstermektedir.

4.4. TNF- α konsantrasyonu

Negatif kontrol, LPS, 10 μ M steviosid, 20 μ M steviosid, 50 μ M steviosid, 100 μ M steviosid ve 200 μ M steviosid gruplarına ait TNF- α konsantrasyonları Şekil 4.4' de sunuldu.

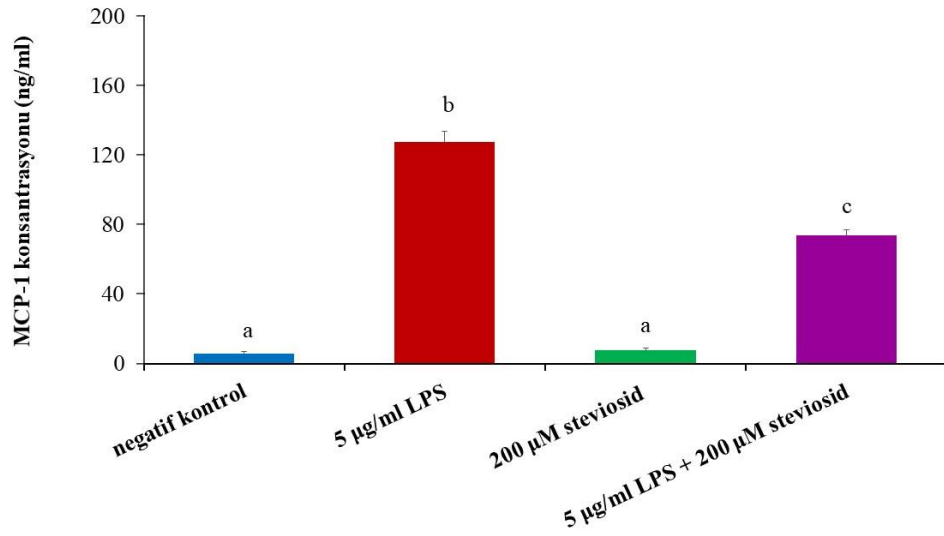


Şekil 4.4. MDBK hücre hattında TNF- α konsantrasyonları (n=4)

8 saat süreyle 200 μ M steviosid uygulanan hücre kültürü mediumlarında TNF- α konsantrasyonunun negatif kontrol hücrelerindeki değere en yakın olduğu belirlendi. Araştırma bulguları, MDBK hücrelerine 8 saat süreyle 200 μ M steviosidin enflamasyon göstergesi olan TNF- α salınımını bastırıldığını doğrulamaktadır.

4.5. MCP-1 konsantrasyonu

Negatif kontrol, 5 μ g/ml LPS, 200 μ M steviosid ve 5 μ g/ml LPS + 200 μ M steviosid gruplarının kültür supernatantlarındaki MCP-1 konsantrasyonları Şekil 4.5' te sunuldu.

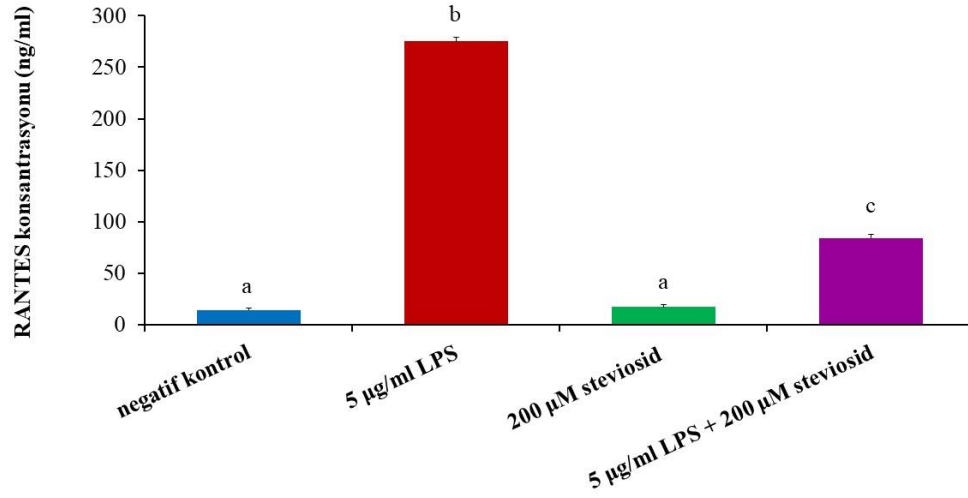


Şekil 4.5. MDBK hücre hattında MCP-1 konsantrasyonları (n=4). ^{a,b,c}: p < 0,05, (Duncan test)

Negatif kontrol grubunun hücre supernatantında MCP-1 konsantrasyonu $5,8 \pm 1,0$ ng/ml olarak ölçüldü. Sekiz saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS'ye maruz bırakılan MDBK hücre supernatantında MCP-1 konsantrasyonunun $127,8 \pm 5,9$ ng/ml olduğu belirlendi. Sekiz saat boyunca $200 \mu\text{M}$ steviosid uygulanan hücre supernatantında MCP-1 konsantrasyonu $7,5 \pm 1,3$ ng/ml olarak belirlendi. Sekiz saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS + $200 \mu\text{M}$ steviosid uygulanan MDBK hücre supernatantındaki MCP-1 konsantrasyonu $73,8 \pm 3,3$ ng/ml olarak ölçüldü. Sekiz saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS'ye maruz kalan MDBK hücre supernatantındaki MCP-1 konsantrasyonunun negatif kontrol hücrelerindeki düzeye göre 22,03 kat yüksek olduğu belirlendi ($p < 0,05$). Sekiz saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS + $200 \mu\text{M}$ steviosid uygulanan MDBK hücre supernatantında MCP-1 konsantrasyonunun negatif kontrol hücrelerinininkine oranla 12,72 kat daha fazla olduğu saptandı ($p < 0,05$). MDBK hücre kültüründe LPS maruziyeti ile artmış olan MCP-1 konsantrasyonunun steviosid uygulaması ile 1,73 kat azaldığı belirlendi ($p < 0,05$).

4.6. RANTES konsantrasyonu

Negatif kontrol, $5 \mu\text{g/ml}$ LPS, $200 \mu\text{M}$ steviosid ve $5 \mu\text{g/ml}$ LPS + $200 \mu\text{M}$ steviosid gruplarının kültür supernatantlarındaki RANTES konsantrasyonları Şekil 4.6' da sunuldu.



Şekil 4.6. MDBK hücre hattında RANTES konsantrasyonları (n=4). ^{a,b,c} p < 0,05, (Duncan test)

Negatif kontrol grubunun hücre supernatantında RANTES konsantrasyonunun $14,3 \pm 1,7$ ng/ml olduğu belirlendi. Sekiz saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS'ye maruz bırakılan MDBK hücre supernatantında RANTES konsantrasyonunun $275,3 \pm 4,1$ ng/ml olduğu saptandı. Sekiz saat boyunca $200 \mu\text{M}$ steviosid uygulanan hücre supernatantında RANTES konsantrasyonu $17,3 \pm 2,2$ ng/ml olarak ölçüldü. Sekiz saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS + $200 \mu\text{M}$ steviosid uygulanan MDBK hücre supernatantındaki MCP-1 konsantrasyonu $84,0 \pm 3,7$ ng/ml olarak ölçüldü. Sekiz saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS'ye maruz kalan MDBK hücre supernatantındaki RANTES konsantrasyonunun negatif kontrol hücrelerindeki düzeye göre 19,25 kat yüksek olduğu belirlendi ($p < 0,05$). Sekiz saat boyunca $5 \mu\text{g/ml}$ LPS + $200 \mu\text{M}$ steviosid uygulanan MDBK hücre supernatantında RANTES konsantrasyonunun negatif kontrol hücrelerinkine oranla 5,87 kat daha fazla olduğu saptandı ($p < 0,05$). MDBK hücre kültüründe LPS maruziyeti ile artmış olan RANTES konsantrasyonunun steviosid uygulaması ile 3,28 kat azaldığı belirlendi ($p < 0,05$).

5. TARTIŞMA

Böbrek hastalıkları, gerek insanlarda gerekse de hayvanlarda hayatı tehdit eden önemli bir sağlık problemidir. Böbrek hastalıklarının erken teşhis edilerek kontrol altına alınması ilerleyici böbrek hasarının engellenmesinde ve morbiditenin azaltılmasında oldukça önemlidir (Locatelli et al., 2002). Akut ve kronik böbrek hasarının etiopatogenezinde enflamasyonun önemli bir rol oynamaktadır (Akçay et al., 2009; Awad et al., 2009; Bolisetty ve Agarwal, 2009; Silverstein, 2009; Sato and Yanagita, 2018). Böbrekteki akut hasar, kronik böbrek hasarına dönüşebilmekte ve dönem böbrek hastalığına kadar varan ölümcül bir duruma neden olabilmektedir (Imig ve Ryan, 2013). Sitokinler ve kemokinler gibi enflamasyon modülatörleri, toll benzeri reseptörler (TLR) ve sitokin reseptörleri ile etkileşime girerek enflamasyonda rol almaktadırlar (Hendrayani et al., 2016). Böbrek yetmezliğinde IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuar sitokinler aterosklerotik komplikasyonlar bakımından önemli bir risk faktörü olmakta ve kardiyovasküler bozukluklara neden olarak mortaliteye yol açmaktadır (Zoccali et al., 2000; Stenvinkel et al., 2002a; Stenvinkel et al., 2002b).

Lipopolisakkarit maruziyeti, TNF- α ve IL-1 β gibi pro-enflamatuar sitokinlerin salgılanmasını tetikleyerek bağışıklık yanıtında görev alan hücreleri aktive etmektedir (Reyes et al., 2012). Sunulan tez çalışmasında, LPS' ye maruz bırakılan MDBK hücre hattından elde edilen mediumdaki IL-1 β konsantrasyonunun, negatif kontrol hücrelerdekine göre önemli düzeyde yükseldiği gözlemlendi ($p < 0,05$). Bu bulguyla uyumlu olarak, LPS uygulanan MDBK hücre hattından elde edilen mediumdaki TNF- α konsantrasyonunun da negatif kontrol hücrelerdekine göre önemli oranda arttığı belirlendi ($p < 0,05$). Proenflamatuar sitokinlerin salgılanmasındaki artışın doku hasarına, sistemik enflamatuar cevap sendromuna ve septik şoka varan ağır bir tabloyla sonuçlandığı rapor edilmiştir (Huang et al., 2005). İnterlökinlerin ve TNF- α ' nın glomeruler filtrasyon hızını ve sodyum atılımını bozarak, böbrek dokusundaki kan akışını etkileyerek böbrek dokusunun hemodinamiğini negatif yönde etkilediği rapor edilmiştir (Imig and Ryan, 2013). Pro-enflamatuar sitokinlerin, böbrek dokusuna bağışıklık hücrelerin göçüne neden olarak ve kemokinlerin yanıtlarını modüle ederek böbrek dokusundaki yangısal reaksiyonları başlattıkları ileri sürülmüştür (Burne et al., 2001; Ramesh and Reeves, 2002).

Steviosidin anti-enflamatuar etkiler sergilediği pek çok bilimsel çalışma ile kanıtlanmıştır. Fare, hamster ve ratlara steviosit verilmiş ve çok düşük düzeyde oral toksisiteye neden olduğu rapor edilmiştir (Asaki et al., 1975).

Steviosid takviyesi gerçekleştirilen bir çalışmada, farelerin ciğerlerinde doz-cevap ilişkili histopatolojik değişimler olduğunu tespit etmişlerdir (Aze et al., 1991). *Stevia Rebundiana* bitkisinden elde edilen steviosid üzerine yapılan toksikolojik çalışmalar doğrultusunda kanserojenik herhangi bir sonuç ile karşılaşılması ve mutajenik olmadığı bildirilmiştir (Klongpanichpak et al., 1997; Hajihashemi and Ehsanpour, 2014). Bununla birlikte, steviosidin toksik dozunun memeli canlı hücrelerindeki kromozomal DNA' larında hasar oluşturabileceği rapor edilmiştir (Nunes et al., 2007). Steviosid verilen hamster, fare ve ratlarda çok düşük düzeyde oral toksisite olduğu gözlemlenmiştir (Toskulkae et al., 1997). *Stevia Rebundiana* verilen hamsterlerde günde kilogram başına 250 mg dozda tüketimin kandaki maksimum steviol konsantrasyonunun toksik olma ihtimalinin olmadığı belirtilmiştir (Geuns, 2003). Steviyanın sulu ekstraktlarının dişi sıçanların üremesini engellemediği tespit edilmiştir. Bu sebeple gebelikte tüketiminin herhangi bir olumsuz etkisinin olmayacağı ifade edilmiştir (Saenphet and ark., 2006). *Stevia Rebundiana* yapraklarından elde edilen ekstraktların antioksidan etkili olduğu belirlenmiştir (Tadhani et al., 2007). *Stevia Rebundiana* yapraklarında içeriğinde bulunan glikozitlerin antihiperglisemik, antihipertansif, anti-enflamatuar, antitümör ve idrar söktürücü etkilerinin bulunduğu bildirilmiştir (Chatsudthipong and Muanprasat, 2009).

Farklı konsantrasyonlarda (50 µg/ml, 100 µg/ml ve 200 µg/ml) steviosid takviyesinin RAW 264.7 hücrelerinde LPS uygulamasının neden olduğu NF-κB aktivasyonunu, IκBα degradasyonunu, ERK, JNK ve P38 fosforilasyonunu baskılayarak enflamatuar sitokin ekspresyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir. Ayrıca LPS'nin yokluğu veya varlığında; hücre canlılıklarının steviosidten etkilenmediği belirtilmiştir. Bu çalışma, steviosidin LPS ile uyarılan makrofajlarda TNF-α, IL-6 ve IL-1β ekspresyonunu inhibe ettiğini de göstermiştir (Fengyang et al., 2012). Caco-2 hücrelerine uygulanan 0,001 mmol/l - 1 mmol/l steviosid ve 0,1 µmol/l - 100 µmol/l steviol konsantrasyonlarının toksisite göstermediği belirlenmiştir. Her iki doğal maddenin tüm dozlarında hücre sağkalımlarının, tedavi edilmeyen kontrol numuneleriyle karşılaştırıldığında yaklaşık olarak % 100 olduğu tespit edilmiştir. Bu

iki bileşimin anti-enflamatuar aktiviteleri, potansiyel olarak bastırılmış LPS-aracılı TNF- α , IL-1 β ve IL-6 salınımının bastırılmasıyla teyit edilmiştir. Sunulan tez çalışmasında da benzer şekilde LPS'ye maruz bırakılan MDBK hücre hattında artmış olan MCP-1 konsantrasyonunun steviosid uygulamasıyla önemli düzeyde baskılandığı belirlendi ($p < 0,05$). Benzer olarak, MDBK hücre hattında LPS maruziyetinin neden olduğu artmış RANTES konsantrasyonunun steviosid takviyesi ile düştüğü gözlemlendi ($p < 0,05$).

Steviosidin, kolon epitel hücre hattında LPS ile uyarılmış TNF- α ve IL-1 β salınımını, I κ B α /NF- κ B sinyalleme yoluyla azalttığı ve anti-enflamatuar etkiler sergilediği bildirilmiştir (Boonkaewwan and Burodom 2013). Steviosidin, akciğerde LPS ile indüklenen proenflamatuar sitokinlerin üretimini ve LPS tarafından uyarılan COX-2 ve iNOS ekspresyonunu inhibe ettiği ve akut akciğer hasarının tedavisi için umut verici olabileceği ifade edilmiştir (Yingkun et al., 2013). Madin-Darby köpek böbrek (MDCK) hücrelerinde bir kist modeli kullanılarak steviol ve türevlerinin kist büyümesi üzerindeki inhibitör etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 200 μ M'ye kadar olan dozlardaki steviolün, MDCK hücre canlılığında, proliferasyonunda ve apoptozunda herhangi bir etkiye sahip olmadığı ve steviolün MDCK hücrelerinde kist ilerlemesini geciktirdiği saptanmıştır (Yuajit et al., 2013). Steviosidin, *Staphylococcus aureus* ile enfekte edilen farelerin meme bezinde MAPK, TLR2 ve NF- κ B yoluyla IL-6, TNF- α ve IL-1 ekspresyonunu azaltarak enflamasyonu baskıladığı ortaya konulmuştur (Wang et al., 2014).

Yapılan bir çalışmada erkek Wistar farelere 6 hafta boyunca steviosid (0 mg/kg/gün, 500 mg/kg/gün ve 1000 mg/kg/gün) uygulamasının plazmadaki TNF- α ve IL-1 β seviyelerini ve periferik kan mononükleer hücrelerinden TNF- α ve IL-1 β salınımını inhibe ettiğini rapor etmişlerdir (Noosud et al., 2017). Sisplatin-indüklü böbrek hasarı oluşturulmuş farelere 2 gün boyunca, oral, 50 mg/kg steviosid uygulamasının böbrek dokusunda TNF- α ekspresyonunu azaltarak enflamasyonu baskıladığı ortaya konulmuştur (Potočnjak et al., 2017).

İnsan kolon karsinoma hücresi, (HCT 116-hedeflenen hücre) ve insan kolonu kaynaklı CCD18Co miyofibroblast hücre hatları (hedef olmayan hücre) üzerinde steviosidin etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada hem HCT 116 hem de CCD18Co hücre hatlarında steviosidin hücre ölümünü indüklediğini, yalnızca 200 μ M dozunda CCD18Co ve HCT 116 hücre hatlarında sırasıyla % 20 ve % 30' dan fazla olmayan

hücre ölümüne neden olduğu ancak DNA hasarına neden olmadığı tespit edilmiştir. Steviosidin HCT 116 ve CCD18Co hücre hatları üzerinde sitotoksik ve genotoksik etki göstermediği, bu nedenle kalorisiz bir tatlandırıcı olarak kullanımının güvenli olduğu ileri sürülmüştür (Sharif et al., 2017).

Steviolün böbrek epitel hücrelerinde, polisistin 1 protein ekspresyonunu güçlendirerek ve stabilize ederek ve ayrıca kistik fibroz transmembran iletkenlik düzenleyici ve β -katenin lizozomal degradasyonunu teşvik ederek, kist ilerlemesini yavaşlattığı ve bu sonuca istinaden, steviolün polikistik böbrek hastalığının tedavisi için umut verici olabileceği öne sürülmüştür (Yuajit et al., 2017). Steviolün kısmen aquaporin 2 transkripsiyonunu azaltarak, proteazomu teşvik ederek ve lizozom aracılı aquaporin 2 bozunmasını sağlayarak böbrekte polikistik ilerlemeyi yavaşlattığı rapor edilmiştir (Noitem et al., 2018). LPS ile enflamatuar ortamın indüklendiği, TNF- α ve IL-6 sitokin salınımının önemli ölçüde arttığı RAW264.7 hücrelerinin 20 μ M ve 40 μ M olarak iki ayrı konsantrasyonda stevioside maruz bırakılması sonucunda, bu sitokinlerin salınımının baskılandığı ve hücre hatında reaktif oksijen türlerinin ve nitritlerin üretimini de önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (Alavala et al., 2019). Tavuk yavrularında maternal stevioside takviyesinin, LPS-maruziyetinin neden olduğu bozulmuş bağırsak mikrobiyotasını ve bağırsak mukozal hasarını iyileştirdiği ve kuluçka ağırlığını arttırdığı rapor edilmiştir (Jiang et al., 2021).

Stevia yapraklarının ratlarda tioasetamid kaynaklı sirozu önleme potansiyelinin değerlendirildiği bir araştırmanın sonuçları stevianın NF- κ B' yi baskılayarak, Nrf2' yi indükleyerek, profibrojenik yolları bloke ederek, hepatik stellat hücrelerin aktivasyonunu inhibe ederek, fibroz ve dopamin dönüşümünü önleyerek antioksidan, anti-enflamatuar ve antifibrotik etkiler sergilediğini göstermiştir (Ramos-Tovar et al., 2019). Steviosidin farelerde makrofajlardan IL-6, TNF- α , IL-1 β gibi proenflamatuar sitokinlerin LPS-kaynaklı ekspresyonunu aşağı regüle ettiği ve COX2 ve HMGB1, anti-enflamatuar sitokinler olan IL-10' u ve TGF- β 1' i yukarı regüle ettiği saptanmıştır. Steviosidin anılan bu etkileriyle fareleri LPS' nin neden olduğu ölümcül şoktan koruduğu farelerin hayatta kalma oranını artırdığı ve enflamatuar hastalıklara karşı terapötik bir ajan olarak geliştirilebileceği öne sürülmüştür (Wei et al., 2021).

6. SONUÇ

Böbrek dokusunda gelişen enflamasyonda MCP-1 ve RANTES gibi kemokinlerin rol oynadığı bilinmektedir. MCP-1, pro-enflamatuar sitokinlere yanıt olarak salgılanan ve enflamatuar hücre trafiğini düzenleyen, monositlerin, nötrofillerin ve lenfositlerin seçici olarak çekilmesinde etki göstermektedir. Böbrek dokusundan salgılanan MCP-1 monosit/makrofaj infiltrasyonunda rol alarak böbrek dokusundaki enflamasyona katkıda bulunmaktadır. Böbrek tubuler hücreleri tarafından salgılanan RANTES de interstisyum ve glomerulus içine bağışıklık hücrelerinin çekilmesine aracılık ederek böbrek enflamasyonuna aracılık etmektedir. Anti-enflamatuar, antioksidan ve antimikrobiyal etkileri sayesinde pek çok biyoyararlılığa sahip olan stevyanın anılan etkilerinden faydalanmak üzere gerçekleştirilen araştırmaların sayısı günbegün artmaktadır. Stevyanın karsinojenik ve mutajenik etkilerinin olmadığı kanıtlanmış olması gıda sektöründe güvenli bir tatlandırıcı olarak kullanılmasını sağlamaktadır. Steviosidin enflamasyonla giden böbrek hastalıklarının profilaksisinde ve tedavisine yönelik *in vivo* çalışmalar ve klinik araştırmalar oldukça sınırlıdır. Sunulan tez çalışması ile steviosidin MDBK hücrelerinde LPS maruziyeti ile indüklenen MCP-1 ve RANTES salgılanmasının baskılanması yoluyla anti-enflamatuar etki gösterdiği belirlendi. Bu bulgular, steviosidin enflamatuar böbrek hastalıklarının tedavisinde kullanılma potansiyeli olabileceğine işaret etmektedir. Steviosidin *in vitro* bu etkisinin *in vivo* çalışmalarla teyit edilmesine gereksinim bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abou-Arab, AE., Abou-Arab, AA., Abu-Salem, MF. (2010). Physico-chemical assessment of natural sweeteners steviosides produced from *Stevia rebaudiana* Bertoni plant. *Afr. J. Food Sci.* 4:269–281.
- Adarichev, VA., Vermes, C., Hanyecz, A., Ludanyi, K., Tunyogi-Csapo, M., Finnegan, A., Mikecz, K., Glant, TT. (2006). Antigen-induced differential gene expression in lymphocytes and gene expression profile in synovium prior to the onset of arthritis. *Autoimmunity.* 39:663-73.
- Akçay, A., Nguyen, Q., Edelstein, CL. (2009). Mediators of inflammation in acute kidney injury. *Mediators of Inflammation.* 137072.
- Akkoç, H. (2008). Miyokardiyal İskemi reperfüzyon hasarı. *Dicle Tıp Derg.* 35(3):211-5.
- Alavala, S., Sangaraju, R., Nalban, N., Sahu, BD., Jerald, MK., Kilari, EK., Sistla, R. (2019). Stevioside, a diterpenoid glycoside, shows anti-inflammatory property against dextran sulphate sodium-induced ulcerative colitis in mice. *European Journal of Pharmacology.* 855:192-201.
- Alphan, E. (2005). Tatlandırıcı içeren özel beslenme amaçlı gıdalar. *Diyabet Yıllığı.*
- Anders, HJ., Vielhauer, V., Frink, M., Linde, Y., Cohen, CD., Blattner, SM., Kretzler, M., Strutz, F., Mack, M., Gröne, HJ et al. (2002). Chemokine receptor CCR-1 antagonist reduces renal fibrosis after unilateral ureter ligation. *J. Clin. Investig.* 09:251–259.
- Anders, HJ., Vielhauer, V., Schlöndorff, D. (2003). Chemokines and chemokine receptors are involved in the resolution or progression of renal disease. *Kidney Int.* 63:401-415.
- Angelini, LG and Tavarini, S. (2014). Crop productivity, steviol glycoside yield, nutrient concentration and uptake of *Stevia Rebaudiana* Bertoni under Mediterranean field conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis.* 45:2577–2592.
- Asaki, H and Yokoyama, Y. (1975). Dried-leaf extracts of stevia. Toxicological tests. *Shokukin Kogyo.* 18(20):34–43.
- Awad, AS., Rouse, M., Huang, L., Vergis, AL., Reutershan, J., Cathro, HP., Linden, J., Okusa, MD. (2009). Compartmentalization of neutrophils in the kidney and lung following acute ischemic kidney injur. *Kidney International.* 75:689-698.
- Aze, Y., Toyoda, K., Imaida, K., Hayashi, Y., Takahashi, M. (1991). Subchronic oral toxicity of stevioside in F344 rats. *Eisei Shikenjo Hokoku – Bull. Natl Inst Hygienic Sci.* 109:48–54.
- Baggiolini, M. (1998). Chemokines and leukocyte traffic. *Nature.* 392(6676): 565-568.
- Baggiolini M, Loetscher P. (2000). Chemokines in inflammation and immunity. *Immunol Today.* 21:418-20.
- Blanchet, X., Langer, M., Weber, C., Koenen, RR., von Hundelshausen P. (2012). Touch of chemokines. *Front Immunol.* 3:175.
- Barba, F., Zhu, Z., Koubaa, M., Santana, AS. (2016). Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by products. *Trends Food Sci. Tech.* 49:96-109.
- Barriocanal, L., Palacios, M., Benitez, G., Benitez, S., Jimenez, J., Jimenez, N. (2008). Apparent lack of pharmacological effect of steviol glycosides used as sweeteners in humans, a pilot study of repeated exposures in some normotensive and hypotensive individuals and in type 1 and type 2 diabetics *Regulatory Toxicology and Pharmacology.* 51,37-41.

- Belda-Galbis, CM., Pina-Perez, MC., Espinosa, J., Marco-Celdran, A., Martinez, A., Rodrigo, D. (2014). Use of the modified Gompertz equation to assess the stevia rebaudiana bertonii antilisterial kinetics. *Food Microbiol.* 38:56-61.
- Boileau, A., Fry, J., Murray, R. (2012). A new calorie-free sugar substitute from the leaf of the stevia plant arrives in the UK. *Nutr. Bull.* 37(1):47-50.
- Bolisetty, S and Agarwa, IA. (2009). Neutrophils in acute kidney injury: not neutral any more. *Kidney International.* 5:674-676.
- Boonkaewwan, C and Burodom, A. (2013). Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of stevioside and steviol on colonic epithelial cells. *J Sci Food Agric.* 93:3820-3825.
- Brandle, JE and Telmer, PG. (2007). Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry.* 68:1855-1863. [doi:10.1016/j.phytochem.2007.02.010](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.02.010). PMID. [17397883](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17397883/).
- Burne, MJ., Daniels, F., El Ghandour, A., Mauiyyedi, S., Colvin, RB., O'Donnell, MP., Rabb, H. (2001). Identification of the CD4+ T cell as a major pathogenic factor in ischemic acute renal failure. *The Journal of clinical investigation.* 108(9), 1283-1290.
- Calapoğlu, NŞ., Calapoğlu, M. (2009). Alzheimer hastalığında kemokin ve kemokin reseptörlerinin rolü. *Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fak. Derg., Isparta,* 2009:16(4):39.
- Carakostas, MC., Curry, LL., Boileau, AC., Brusick, DJ. (2008). Overview: the history, technical function and safety of rebaudioside A, a naturally occurring steviol glycoside, for use in food and beverages. *Food Chem Toxicol.* 46(7):1-10.
- Ceunen, S and Geuns, JMC. (2013). Influence of photoperiodism on the spatio-temporal accumulation of steviol glycosides in *Stevia rebaudiana* (Bertonii). *Plant Science.* 198:72–82.
- Cagnard, N., Letourneur, F., Essabbani, A., Devauchelle, V., Mistou, S., Rapinat, A., Decraene, C., Fournier, C., Chiochia, G. (2005). Interleukin-32, CCL2, PF4F1 and GFD10 are the only cytokine/chemokine genes differentially expressed by in vitro cultured rheumatoid and osteoarthritis fibroblast-like synoviocytes. *Eur Cytokine Netw.* 16:289-92.
- Charo, IF and Ransohof, RM. (2006). The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N. Engl. J. Med.* 354:610-621.
- Charo, IF., Taubman, MB. (2004). Chemokines in the pathogenesis of vascular disease. *Circ Res.* 95:858-66.
- Chatsudthipong, V., Muanprasat, C. (2009). Stevioside and related compounds: therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacol Therapeut.* 121:41-54.
- Chaturvedula, VSP., Upreti, M. and Prakash, I. (2011). Diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana*. *Molecules.* 16:3552-3562.
- Chen, J., Ng, CP., Rowlands, DK., Xu, PH., Gao, JY., Chung, YW., et al. (2006). Interaction between enteric epithelial cells and Peyer's patch lymphocytes in response to *Shigella* lipopolysaccharide: effect on nitric oxide and IL-6 release. *World J Gastroenterol.* 12:3895–3900.
- Cho, BO., Ryu, HW., So, Y., Cho, JK., Woo, HS., Jin, CH., Jeong IY. (2013). Antiinflammatory effect of austroinulin and 6-O-acetyl-austroinulin from *Stevia rebaudiana* in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages. *Food and Chemical Toxicology.* 62:638–644.

- Choi, EM. and Hwang, JK. (2005). Effects of *Morus alba* leaf extract on the production of nitric oxide, prostaglandin E2 and cytokines in RAW 264.7 macrophages. *Fitoterapia*. 76: 608–613.
- Christman, JW., Sadikot, RT. And Blackwell, TS. (2000). The role of nuclear factor-kappa B in pulmonary diseases. *Chest*. 117:1482–1487.
- Collins, N., Jiang, X., Zaid, A., Macleod, BL., Li, J., Park, CO., et al. (2016). Skin CD4+ memory T cells exhibit combined cluster-mediated retention and equilibration with the circulation. *Nature communications*. 7(1):1-13.
- Connolly, MK., Bedrosian, AS., Mallen-St Clair, J., Mitchell, AP., Ibrahim, J., Stroud, A., Pachter, HL., Bar-Sagi, D., Frey, AB., Miller, G. (2009). In liver fibrosis, dendritic cells govern hepatic inflammation in mice via TNF-alpha. *Journal of Clinical Investigation*. 119:3213–3225.
- Conti, P., DiGioacchino, M. (2001). MCP-1 and RANTES are mediators of acute and chronic inflammation. *Allergy Asthma Proc*. 22:133-7.
- Cortes, R., Hernandez-Ceruelos, A., Torres-Valencia, JM., Gonzalez-Avila, M., Arriaga-Alba, M., Mmadrigal-Bujaidar, E. (2007). Antimutagenicity of *stevia pilosa* and *stevia eupatoria* evaluated with the ames test. *Toxicology in vitro*. 21(4): 691-697.
- Commins, SP., Borish, L., Steinke, JW. (2010). Immunologic Messenger molecules: cytokines, interferons, and chemokines. *J Allergy Clin Immunol*. 125;(2):53-72.
- Coşkuner, Ş. (2013). Agresif periodontitis hastalarında Monosit Kemoatraktan Protein (MCP-1)-1 ve CC kemokin reseptör-2 polimorfizmlerinin sıklığının ve bu polimorfizmin gen ekspresyonu ve dişeti oluşu sıvısı mcp-1 düzeylerine etkisinin incelenmesi. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji Anabilim Dalı, , Konya, Doktora tezi. 1-96.
- Cushnie, TPT. and Lamb, AJ. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26(5), 343–356.
- Çağlar, M., Kansu, E. (2004). Kemokinler, kemokin reseptörleri ve enflamasyon. *Ankem Dergisi*. 18(2):164.
- David, J., Mortari, F. (2000). Chemokine Reseptors. *Clinical and Applied Immunology Reviews* 2000;105-125.
- Deshmane, SL., Kremlev, S., Amini, S., Sawaya, BE. (2009). Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *J Interferon Cytokine Res*. 29:313-326.
- Duran, AS, Rodriguez, NMP., Cordon, AK., Record, CJ. (2012). *Stevia* (*Stevia rebaudiana*), edulcorante natural y no calórico. *Rev. Chil. Nutr*. 39(4):203–206.
- Eardley, KS., Zehnder, D., Quinkler, M., Lepenies, J., Bates, RL., Savage, CO., Howie, AJ., Adu, D., Cockwell, P. (2006). The relationship between albuminuria, MCP-1/CCL2, and interstitial macrophages in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 69:1189-1197.
- Endo, Y., Kanbayashi, H. and Hara, M. (1993). Experimental immunoglobulin A nephropathy induced by Gram-negative bacteria. *Nephron*. 65:196.
- Ergen, AV., Boles, NC. and Goodell, MA. (2012). Rantes/CCL5 influences hematopoietic stem cell subtypes and causes myeloid skewing. *Blood*. 119:2500–2509.
- Ertoran, İ. (2015). Bazı *Salvia* türlerinin ekstrelerinin, böbrek iskemi/reperfüzyon modeli oluşturulan ratlarda enflamasyon ve oksidatif stres açısından değerlendirilmesi. Doktora tezi. 8-99
- Fengyang, L., Yunhe, F., Bo, L., Zhicheng, L., Depeng, L., Dejie, L., Wen, Z., Yongguo, C., Naisheng, Z., Xichen, Z., Zhengtao, Y. (2012). Stevioside suppressed inflammatory

- cytokine secretion by downregulation of NF- κ B and MAPK signaling pathways in LPS-stimulated RAW264.7 cells. *Inflammation*. 35:1669-1675.
- Fleit, HB. (2014). Chronic Inflammation. In: Mitchell RN (ed). *Pathobiology of Human Disease*. San Diego: Academic Press. 300-314.
- Franceschi, C. and Campisi, J. (2014). Chronic Inflammation (Inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J. Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 69:4-9.
- Galdiero, S., Falanga, A., Cantisani, M., Tarallo, R., Della Pepa, ME., D’Oriano, V., Galdiero, M. (2012). Microbe-host interactions: structure and role of Gram-negative bacterial porins. *Curr. Protein Pept.Sci*. 13(8):843-854.
- Gantait, S., Das, A. and Mandal, N. (2015). Stevia: A comprehensive review on ethnopharmacological properties and in vitro regeneration June. *Sugar Technology*. 17(2), 95-106.
- Gedik, S., Tansı, LS. (2017). Çukurova Koşullarında Bitki Yoğunluğu ve Bitki Yaşının Şeker Otu (*Stevia rebaudiana* Bertoni)’nun Verimine Etkisi, Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der. 7(3):285-292.
- Geuns, JMC. (2003). Stevioside. *Phytochemistry*. 64:913–921.
- Ghanta, S., Banerjee, A., Poddar, A., Chattopadhyay, S. (2007). Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of *Stevia rebaudiana* Bertoni, a natural sweetener. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 55:10962-10967.
- Ghosh, S., Subudhi, E., Nayak, S. (2008). Antimicrobial assay of *Stevia rebaudiana* bertoni leaf extracts against 10 pathogens. *IJIB*.2:27–31.
- Goyal, SK., Samsher, L. and Goyal, RK. (2010). Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 61:1–10.
- Granholm, NA. and Cavallo, T. (1994). Long-lasting effects of bacterial lipopolysaccharide promote progression of lupus nephritis in NZB/W mice. *Lupus*. 3:507.
- Gregersen, S., Jeppesen, PB., Holst, JJ., Hermansen, K. (2004). Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism*. 53:73-76.
- Griffith, JW., Sokol, CL. and Luster, AD. (2014). Chemokines and chemokine receptors: positioning cells for host defense and immunity. *Annu Rev Immunol*. 32:659-702.
- Gupta, E., Purwar, S., Sundaram, S., Rai, GK. (2013). Nutritional and therapeutic values of *Stevia rebaudiana*: A review. *J. Med. Plant Res*. 7(46):3343–3353.
- Gürleyik, E. (2010). Stevianın Rat Karaciğerinde Oksidan/Antioksidan Sistem Üzerine Etkisinin Araştırılması. Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara.
- Ha, YM., Chung, SW., Kim, JM., Kim, DH., Kim, JY., Lee, EK., Lee, J., Kim, YJ., Yoo, MA., Jeong, KS., Chung, HY. (2010). Molecular activation of NF-kappaB, pro-inflammatory mediators, and signal pathways in gamma-irradiated mice. *Biotechnology Letters*. 32:373–378.
- Haberstroh, U., Pocock, J., Gómez-Guerrero, C., Helmchen, U., Hamann, A., Gutierrez-Ramos, JC., Stahl, RAK., Thaiss F. (2002). Expression of the chemokines MCP-1/CCL2 and RANTES/CCL5 is differentially regulated by infiltrating inflammatory cells. *Kidney Int*. 62:1264-1276.
- Hagar, JA., Powell, DA., Achoui, Y., Ernst, RK., Miao, EA. (2013). Cytoplasmic LPS activates caspase-11: implications in TLR4-independent endotoxic shock. *Science*. 341: 1250 – 1253.

- Hajihashemi, S. and Ehsanpour, AA. (2014). Antioxidant response of *Stevia rebaudiana* b. To polyethylene glycol and paclobutrazol treatments under in vitro culture. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 172:4038–4052.
- Hendrayani, SF., Al-Harbi, B., Al-Ansari, MM., Silva, G., Aboussekhra, A. (2016). The inflammatory/cancer-related IL-6/STAT3/NF- κ B positive feedback loop includes AUF1 and maintains the active state of breast myofibroblasts. *Oncotarget.* 7(27):41974.
- Holdsworth, SR., Kitching, AR. and Tipping, PG. (2000). Chemokines as therapeutic targets in renal disease. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 9:505.
- Horuk, R. (2007). Chemokines. *The Scientific World JOURNAL*, 7, 224-232.
- Hsieh, MH., Chan, P., Sue, YM., Liu, JC., Liang, TH., Huang, TY., Tomlinson, B., Chow, MS., Kao, PF., Chen, YJ. (2003). Efficacy and tolerability of oral stevioside in patients with mild essential hypertension: A two-year, randomized, placebo-controlled study. *Clin Ther.* 25:2797-2808.
- Hu, F., Liang, W., Ren, Z., Wang, G., Ding, G. (2012). Surfactant protein D inhibits lipopolysaccharide-induced monocyte chemoattractant protein-1 expression in human renal tubular epithelial cells: implication for tubulointerstitial fibrosis. *Clinical & Experimental Immunology.* 167(3):514-522.
- Huang, S., Eichler, G., Bar-Yam, Y., Ingber, DE. (2005). Cell fates as high-dimensional attractor states of a complex gene regulatory network. *Physical review letters*, 94(12), 128701.
- Iijima, N. and Iwasaki, A. (2014). T cell memory. A local macrophage chemokine network sustains protective tissue-resident memory CD4 T cells. *Science.* 346:93–98.
- Imig, JD. and Ryan, MJ. (2013). Immune and Inflammatory Role in Renal Disease. *Compr Physiol.* 3(2):957–976.doi: 10.1002/cphy.c120028.
- ISO. (2012). Alternative sweeteners in a high sugar price environment. *MECAS.* (12):04.
- İnanç, AL., Çınar, İ. (2009). Alternatif doğal tatlandırıcı: Stevya. *Gıda.* 34(6):411-415.
- Jarma, OA. (2008). Estudios de adaptación y manejo integrado de estevia (*Stevia rebaudiana*Bertoni) en el Caribe Colombiano. *Rev. Colomb. Cienc. Hortic.* 2(1):109–120.
- Jayaraman, S., Manoharan, MS. and Illanchezian, S. (2008). In-vitro antimicrobial and antitumor activities of *Stevia rebaudiana* (Asteraceae) leaf extracts. *Trop J Pharm Res.* 7:1143-1149.
- JECFA. (2007). Steviolglycosides Chemical and Technical Assessment (CTA). 1-7
- Jeppesen, PB., Gregersen, S., Poulsen, C., Hermansen, K. (2000). Stevioside acts directly on pancreatic β cells to secrete insulin: Actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate-sensitive K^+ -channel activity. *Metabolism.* 49:208-214.
- Jia, X., Ju, H., Yang, L., Tian, Y. (2012). A novel multiplex polymerase chain reaction assay for profile analyses of gene expression in peripheral blood. *BMC Cardiovasc Disord.* 12:51.
- Jiang, J., Qi, L, Wei, Q., Shi, F. (2021). Maternal stevioside supplementation ameliorates intestinal mucosal damage and modulates gut microbiota in chicken offspring challenged with lipopolysaccharide. *Food Funct.* 12:6014-6028.
- Jiang JX, Zhang Y, Ji SH, Zhu P, Wang ZG. (2002). Kinetics of mitogen-activated protein kinase family in lipopolysaccharide-stimulated mouse Kupffer cells and their role in cytokine production. *Shock.* 18:336–341.

- Jung H, Miller RJ. (2008). Activation of the nuclear factor of activated T-cells (NFAT) mediates upregulation of CCR2 chemokine receptors in dorsal root ganglion (DRG) neurons: A possible mechanism for activity-dependent transcription in DRG neurons in association with neuropathic pain. *Mol Cell Neurosci.* 37:170–177.
- Kang, YH, Falk MC, Bentley TB, Lee CH. (1995). Distribution and role of lipopolysaccharide in the pathogenesis of acute renal proximal tubule injury. *Shock.* 4:441.
- Karaca, S. (2010). Stevia rebaudiana yapraklarından ekstrakte edilen stevioside ile rebaudioside a' nın meyveli ve gazlı içeceklerde kullanımı. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya.
- Karagöz, Ş., Demirdöven, A. (2018). Stevia rebaudiana Bitkisinin Tatlandırıcı, Antioksidan ve Antimikrobiyal Özellikleri. *Akademik Gıda.* 16(4):431-43.
- Karkar, AM. and Rees, AJ. (1997). Influence of endotoxin contamination on anti-GBM antibody induced glomerular injury in rats. *Kidney Int.* 52:1579.
- Kayagaki, N., Wong, MT., Stowe, IB., Ramani, SR., Gonzalez, LC., Akashi-Takamura, S., Miyake, K., Zhang, J., Lee, WP., Muszynski, A. et al. (2013). Noncanonical inflammasome activation by intracellular LPS independent of TLR4. *Science.* 341: 1246-1249.
- Kinghorn, AD., Wu, CD., Soejarto, DD. (2001). Alternative Sweeteners (3.ed), revised and expanded, In: Stevioside, O'Brien.
- Klongpanichpak, S., Temcharoen, P., Toskulkao, C., Apibal, S., Glinsukon, T. (1997). Lack of mutagenicity of stevioside and steviol in salmonella typhimurium TA98 and TA100. *J Med Assoc Thai.* 80(1):121–128.
- Komissarenko, NF., Derkach, AI., Kovalyov, IP., Bublik, NP. (1994). Diterpene glycosides and phenylpropanoids of stevia rebaudiana bertonii, *Rast Res.* 1(2):53-64.
- Kovacevic, DB., Maras, M., Barba, FJ., Granato, D., Roohinejad, S., Mallikarjunan, K., Montesano, D., Lorenzo, JM., Putnik, P. (2018). Innovative technologies for the recovery of phytochemicals from Stevia rebaudiana Bertonii leaves: a review. *Food Chem.* 268:513–521.
- Kumar, D., Hosse, J., von Toerne, C., Noessner, E., Nelson, PJ. (2009). JNK MAPK pathway regulates constitutive transcription of CCL5 by human NK cells through SP1. *J. Immunol.* 182:1011–1020.
- Kumar, V., Abbas, AK., Aster, JC. (2013). Robbins Basic Pathology (9nd.ed). Philadelphia: Elsevier Health Sciences. 472-489.
- Lee, CN., Wong, K., Liu, J., Chen, Y., Chen, J., Chan, P. (2001). Inhibitory effect of stevioside on calcium influx to produce anti-hypertension. *Planta Medica.* 67:796-799.
- Lee, SM., Kim, EJ., Suk, K., Lee, WH. (2011). Stimulation of Fas (CD95) induces production of pro-inflammatory mediators through ERK/JNK-dependent activation of NF-kappaB in THP-1 cells. *Cellular Immunology.* 271:157–162.
- Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L., Ah-Hen, K. (2012). Stevia rebaudiana Bertonii, source of a high-potency natural sweetener: a comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chem.* 132:1121–1132.
- Levinger, I., Levinger, P., Trenerry, MK., Feller, JA., Bartlett, JR., Bergman, N., McKenna, MJ., Cameron-Smith, D. (2001). Increased inflammatory cytokine expression in the vastus lateralis of patients with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 63:1343-8.
- Li, B., Hu, Y., Zhao, Y., Cheng, M., Qin, H., Cheng, T., Wang, Q., Peng, X., Zhang, X. (2017). Curcumin attenuates titanium particle-induced inflammation by regulating macrophage polarization *in vitro* and *in vivo*. *Frontiers in Immunology.* 8-55.

- Lisak, K., Jeličić, I., Tratnik, L., Božanić, R. (2011). Influence of sweetener stevia on the quality of strawberry flavoured fresh yoghurt. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 61(3), 220-225.
- Liu, SC., Hsu, CJ., Fong, YC., Chuang, SM., Tang, CH. (2013). CTGF induces monocyte chemoattractant protein-1 expression to enhance monocyte migration in human synovial fibroblasts. *BiochimBiophys Acta*. 1833:1114-24.
- Lloyd, CM., Minto, AW., Dorf, Me., Proudfoot, A., Wells, TN., Salant, DJ., Gutierrez-Ramos, JC. (1997). RANTES and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) play an important role in the inflammatory phase of crescentic nephritis, but only MCP-1 is involved in crescent formation and interstitial fibrosis. *J Exp Med*. 185:1371-1380.
- Locatelli, F., Manzoni, C., Di Filippo, S. (2002). The importance of convective transport. *Technical Advances In Hemodialys*. Department of Nephrology, A. Manzoni Hospital, Lecco, Italy. *Kidney International*. 61(80):115–120.
- Lutgens, E., Faber, B., Schapira, K., Evelo, CT., van Haften, R., Heeneman, S., Cleutjens, KB., Bijnsens, AP., Beckers, L., Porter, JG., Mackay, CR., Rennert, P., Bailly, V., Jarpe, M., Dolinski, B., Kotliansky, V., de Fougerolles, T., Daemen, MJ. (2005). Gene profiling in atherosclerosis reveals a key role for smallinducible cytokines: validation using a novel monocyte chemoattractant protein monoclonalantibody. *Circulation*. 111:3443-52.
- Macchia, M., Andolfi, L., Ceccarini, L., Angelini, LG. (2007). Effects of temperature, light and prechilling on seed germination of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni accessions. *Italian Journal of Agronomy/Rivista di Agronomia*. 2:55–62.
- Manisha, G., Soumya, C. and Indrani, D. (2012). Studies on interaction between stevioside, liquid sorbitol, hydrocolloids and emulsifiers for replacement of sugar in cakes. *Food Hydrocolloid*. 29:363-373.
- Marcinek, K. and Krejpcio, Z. (2015). *Stevia rebaudiana bertoni*; chemical composition and functional properties. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment*. 14(2):145–152.
- Martins, PM., Thorat, BN., Lanchote, AD., Freitas, LAP. (2016). Turbo-extraction of glycosides from *Stevia rebaudiana* using a fractional factorial design. *Rev. Bras.Farmacogn*. 2:247–253.
- Maskrey, BH., Megson, IL., Whitfield, PD., Rossi, AG. (2011). Mechanisms of resolution of inflammation. A focus on cardiovascular disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 31:1001–1006.
- McCoy, MK., Ruhn, KA., Blesch, A., Tansey, MG. (2011). Tnf: A key neuroinflammatory mediator of neurotoxicity and neurodegeneration in models of Parkinson's disease. *Advances in Cirrhosis, Hyperammonemia, and Hepatic Encephalopathy*. 691 539–540.
- Megeji, NW, Kumar, JK., Singh, V., Kaul, VK., Ahuja, PS. (2005). Introducing *Stevia rebaudiana*, a natural zero-calorie sweetener. *Current Science*. 88:801–804.
- Megrian, D., Taib, N., Witwinowski, J., Beloin, C., Gribaldo S. (2020). One or two membranes? Diderm Firmicutes challenge the Gram-positive/Gram-negative divide. *Mol Microbiol*. 113:659–671.
- Meireles, MAA., Wang, GM., Hao, ZB., Shima, K., Teixeira da Silva, JA. (2006). *Stevia* (*Stevia rebaudiana* Bertoni: Futuristic view of the sweeter side of life. In: Teixeira da Silva J.A. (Ed) *Floriculture. Ornamental and Plant Biotechnology: Advances and Topical Issues* (1th Edn.Vol IV) Global Science Books Ltd.. Isleworth. UK. 416-425.
- Mejia-Espejel, L., Robledo-Paz A., Lozoya-Gloria, E., Pena-Valdivia, CB., Carrillo-Salazar, JA. (2018). Elicitors on steviosides production in *Stevia rebaudiana* Bertoni calli *Scientia Horticulturae*. 242:95–102.

- Melgarejo, E., Medina, MA., Sanchez-Jimenez, F., Urdiales, JL. (2009). Monocyte chemoattractant protein-1: a key mediator in inflammatory processes. *Int J Biochem Cell Biol.* 41:998-1001.
- Misra, H., Soni, M., Silawat, N., Mehta, D., Mehta, BK., Jain, DC. (2011). Antidiabetic activity of medium-polar extract from the leaves of *Stevia rebaudiana* Bert. (Bertoni) on alloxan-induced diabetic rats. *J Pharm Bioallied Sci.* 3(2):242–8.
- Mohammad, MR., Mohammad, UD., Sher, MM., Habib, AN., Lqbal, AQ. (2007). In vitro clonal propagation and biochemical analysis of field established *Stevia rebaudiana* bertoni. *Pakistan Journal of Botany.* 39:2467–2474.
- Momtazi-Borojeni, AA., Esmaeili SA., Abdollahi, E., Sahebkar, A. (2017). A Review on the pharmacology and toxicology of steviol glycosides extracted from *Stevia rebaudiana*. *Curr Pharm Des.* 23:1616-1622.
- Morales, EP. and Machado, NRC. (2001). Clarification of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni extract by adsorption in modified zeolites. *Acta Scientiarum.* 23:69.1375-1380.
- Morlock, GE., Meyer, S., Zimmermann, BF., Roussel, JM. (2014). High-performance thin-layer chromatography analysis of steviolglycosides in stevia formulations and sugar-free food products, and benchmarking with (ultra) high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A.* 1350:102–111.
- Moser, B., Loetscher, P. (2001). Lymphocyte traffic control by chemokines. *Nat. Immunol.* 2:123-128.
- Moser, B., Wolf, M., Walz, A., Loetscher, P. (2004). Chemokines: multiple levels of leukocyte migration control. *Trends Immunol.* 25:75-84.
- Munshi, R., Johnson, A., Siew, ED., Ikizler, TA., Ware, LB., Wurfel, MM., Himmelfarb, J., Zager, RA. (2011). MCP-1 gene activation marks acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol.* 22:165-75.
- Nabor, LO. (2002). Sweet choices: sugar replacements for foods and beverages. *Food Tech.* 56(7):28-35.
- Neff, K. and Le Roux, C. (2014). Chronic kidney disease and inflammation. In: *Immunonutrition.* New York: CRC Press. 67-180.
- Noitem, R., Yuajit, C., Soodvilai, S., Muanprasat, C., Chatsudthipong, V. (2018). Steviol slows renal cyst growth by reducing AQP2 expression and promoting AQP2 degradation. *Biomed Pharmacother.* 101:754-762.
- Noosud, J., Lailerd, N., Kayan, A., Boonkaewwan, C. (2017). In vitro and in vivo assessment of inhibitory effect of stevioside on pro-inflammatory cytokines. *Avicenna J Phytomed.* 7:101-107.
- Nunes, APM., Ferreira-Machado, SC., Nunes, RM., Nantas, FJS., de Mattas, JCP., Caldeira-de-Araujo, A. (2007). Analysis of genotoxic potentiality of stevioside by comet assay. *Food and Chem Toxicol.* 45:662-666.
- O'Hayre, M., Salanga, CL., Handel, TM., Allen, SJ. (2008). Chemokines and cancer: migration, intracellular signalling and intercellular communication in the microenvironment. *Biochem J.* 409:635-49.
- Okawa, M., Kinjo, J., Nohara, T., Masateru, O. (2001). DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of Xavonoids obtained from some medicinal plants. *Biol Pharm Bull.* 24:1202–1205.
- Oppenheim, JJ., Zachariae, COC., Mukaida, N., Matsushima, K. (1991) Properties of the novel proinflammatory supergene .intercrine. cytokine family. *Annu Rev.Immunol.* 9:617-48.

- Ortiz, BD., Krensky, AM., Nelson, PJ. (1996). Kinetics of transcription factors regulating the RANTES chemokine gene reveal a developmental switch in nuclear events during T-lymphocyte maturation. *Mol. Cell Biol.* 16:202–210.
- Ota, T., Tamura, M., Osajima, A., Doi, Y., Kudo, H., Anai, H., Miyazaki, M., Nishino, T., Nakashima, Y. (2002). Expression of monocyte chemoattractant protein-1 in proximal tubular epithelial cells in a rat model of progressive kidney failure. *J Lab Clin Med.* 140:43-51.
- Parpinello, GP., Versari, A., Castellari, M., Galassi, S. (2001). Stevioside as a replacement of sucrose in peach juice: sensory evaluation. *J Sens Stud.* 16:471–484.
- Pol, J., Hohnova, B. and Hyötylainen T. (2007). Characterisation of stevia *rebaudiana* by comprehensive twodimensional liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. *J. of Chromatogr A.* 1150(1-2):85-92.
- Proost, P., Wuyts, A., Van Damme, J. (1996). Human monocyte chemotactic proteins-2 and -3: structural and functional comparison with MCP-1. *J Leukoc Biol.* 59:67-74.
- Potočnjak, I., Broznić, D., Kindl, M., Kropek, M., Vladimir-Knežević, S., Domitrović, R. (2017). Stevia and stevioside protect against cisplatin nephrotoxicity through inhibition of ERK1/2, STAT3, and NF-κB activation. *Food Chem Toxicol.* 107:215-225.
- Ramesh, G., Reeves, W. B. (2002). TNF- α mediates chemokine and cytokine expression and renal injury in cisplatin nephrotoxicity. *The Journal of clinical investigation.* 110(6), 835-842.
- Ramesh, K., Singh, V., Megeji N. (2006). Cultivation of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni): A comprehensive review. *Advances in Agronomy.* 89:137– 177.
- Ramos-Tovar, E., Casas-Grajales, S., Hernández-Aquino, E., Flores-Beltran, RE., Galindo-Gomez, S., Vera-Aguilar, E., Diaz-Ruiz, A., Montes, S., Camacho, J., Tsutsumi, V., Muriel P. (2019). Cirrhosis induced by thioacetamide is prevented by stevia. *Molecular mechanisms. Journal of Functional Foods.* 52:552–564.
- Razmkhah, M., Jaberipour, M., Safaei, A., Talei, AR., Erfani, N., Ghaderi, A. (2012). Chemokine and chemokinereceptors: a comparative study between metastatic and nonmetastatic lymph nodes in breastcancer patients. *Eur Cytokine Netw.* 23:72-7.
- Rao, KM. (2001). Map kinase activation in macrophages. *Journal of Leukocyte Biology.* 69:3–10.
- Renga, B., Francisci, D., D'Amore, C., Schiaroli, E., Carino, A., Baldelli, F., Fiorucci, S. (2012). HIV-1 infection is associated with changes in nuclear receptor transcriptome, pro-inflammatory and lipid profile of monocytes. *BMC Infect Dis.* 12:274.
- Reyes, EP., Abarzúa, S., Martin, A., Rodríguez, J., Cortés, PP., & Fernández, R. (2012). LPS-induced c-Fos activation in NTS neurons and plasmatic cortisol increases in septic rats are suppressed by bilateral carotid chemodeneration. In *Arterial Chemoreception.* Springer, Dordrecht. 185-190.
- Rovin, BH. (1999). Chemokines as therapeutic targets in renal inflammation. *Am. J. Kidney Dis.* 34:761.
- Saenphet, K., Aritajat, S., Saenphet, S., Manosroi, J., Manosroi, A. (2006). Safety Evaluation of Aqueous Extracts from *Aegle marmelos* and *Stevia rebaudiana* on Reproduction of Female Rats. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 37(3):203-205.
- Salazar, VAG., Encalada, SV., Cruz, AC. (2018). Campos, *Stevia rebaudiana*: a sweetener and potential bioactive ingredient in the development of functional cookies. *J. Funct.Foods.* 44:183–190.

- Santos, JC., de Brito, CA., Futata, EA., Azor, MH., Orii, NM., Maruta, CW., Rivitti, EA., Duarte, AJ., Sato, MN. (2012). Up-regulation of chemokine C-C ligand 2 (CCL2) and C-X-C chemokine 8 (CXCL8) expression by monocytes in chronic idiopathic urticaria. *Clin Exp Immunol.* 167:129-36.
- Sato, Y. and Yanagita, M. (2018). Immune cells and inflammation in AKI to CKD progression. *The American Journal of Physiology-Renal Physiology.* 315: F1501-F1512.
- Savita, SM., Sheela, K., Sunanda, S., Shankar, AG., Ramakrishna, P. (2004). Stevia rebaudiana a functional component for food industry. *J. Hum.Eco.*15(4):261- 264.
- Schall, TJ., Bacon, K., Toy, KJ., Goeddel, DV. (1990). Selective attraction of monocytes and T lymphocytes of the memory phenotype by cytokine RANTES. *Nature.* 347, 669–671.
- Segerer, S., Nelson, PJ. and Schlondorff, D. (2000). Chemokines, chemokine receptors, and renal disease: from basic science to pathophysiologic and therapeutic studies. *J Am Soc Nephrol.* 11:152.
- Serfaty, M., Ibdah, M., Fischer, R., Chaimovitch, D., Saranga, Y., Nativ, D. (2013). Dynamics of yield components and stevioside production in Stevia rebaudiana grown under different planting times, plant stands and harvest regime. *50:731-736.*
- Serio, L. (2010). La Stevia rebaudiana. une alternative au sucre. *Phytothérapie.* 8:26–32.
- Sezgin, AC ve Koç, F. (2016). Gastronomi alanında doğal tatlandırıcı stevia'nın kullanımı. *Akademik Sosyal Araştırmalar Dergisi.* (26):255-265.
- Sharif, R., Chan, KM., Ooi, TC., Mohammad, NF. (2017). Cytotoxicity and genotoxicity evaluation of stevioside on CCD18Co and HCT 116 cell lines. *International Food Research Journal.* 24(1):341-345.
- Shi, J., Zhao, Y., Wang, Y., Gao, W., Ding, J., Li, P., Hu, L., Shao, F. (2014). Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS. *Nature.* 514:187 – 192.
- Shin, WS., Szuba, A., Rockson, SG. (2002). The role of chemokines in human cardiovascular pathology: enhanced biological insights. *Atherosclerosis.* 160:91-102.
- Shivanna, N., Naika, M., Khanum, F., Kaul, VK. (2013). Antioxidant, anti-diabetic and renal protective properties of Stevia rebaudiana. *J. Diabetes Complications.* 27:103-113.
- Silverstein, DM. (2009). Inflammation in chronic kidney disease: Role in the progression of renal and cardiovascular disease. *Pediatr.Nephrol.* 24:1445-1452.
- Smith, J. and Vanstadin, H. (1992). Subcellular pathway for glycoside synthesis. *South Afr.J. Sci.* 88:206.
- Soejarto, D. (2002). Botany of Stevia and Stevia rebaudiana. In A. Kinghorn (Ed.), *Stevia: The genus Stevia*, London, New York: Taylor and Francis. 18-39.
- Souksu, H., Yılmaz, K. Ve Demir ÖF. (2016). Kahramanmaraş Türkoğlu Topraklarında Stevia Rebaudiana Bertoni (Şeker Bitkisi)'nin Yetiştirilmesi ve Azot İhtiyacının Belirlenmesi, *Çukurova Tarım Gıda Bil. Der.* 31(3):109-114.
- Sreedhar, R., Watanabe, K. and Arumugam S. (2017). General Mechanisms of Immunity and Inflammation. In: *Japanese Kampo Medicines for the Treatment of Common Diseases: Focus on Inflammation.* Academic Press. 23-31.
- Stenvinkel, P., Barany, P., Heimbürger, O., Pecoits-Filho, R., Lindholm, B. (2002a). Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: what is the role of interleukin-6?. *Kidney International Supplements.* 80:103-108.
- Stenvinkel, P., Wanner, C., Metzger, T., Heimbürger, O., Mallamaci, F., Tripepi, G., Malatino, L., Zoccali, C. (2002b). Inflammation and outcome in end-stage renal failure: does female gender constitute a survival advantage?. *Kidney International.* 62:1791-1798.

- Svanborg, C., De Man, P. and Sandberg T. (1991). Renal involvement in urinary tract infection. *Kidney Int.* 39:541.
- Swanson, BJ., Murakami, M., Mitchell, TC., Kappler, J., Marrack P. (2002). RANTES production by memory phenotype T cells is controlled by a posttranscriptional, TCR-dependent process. *Immunity.* 17:605–615.
- T.C. Şeker Kurumu. (2015). Yüksek Yoğunluklu Tatlandırıcılar.
- Tadhani, MB., Patel, VH. And Subhash, R. (2007). In vitro antioxidant activities of stevia rebaudiana leaves and callus. *J Food Compos Anal.* 20:323-329.
- Takasaki, M., Konoshima, T., Kozuka, M., Tokuda, H., Takayasu, J., Nishino, H., Miyakoshi, M., Mizutani, K., Lee, KH. (2009). Cancer preventive agents. Part 8: Chemopreventive effects of stevioside and related compounds. *Bioorg Med Chem.* 17:600-605.
- Takeuchi, O., Akira, S., Matsuguchi, T., Kikuchi, T., Ken-Ichiro Iwami, KI., Yoshiyuki Nagai, Y., Tsuboi, N., Yoshikai, Y., Matsuo S. (2002). Roles of Toll-Like Receptors in C-C Chemokine Production by Renal Tubular Epithelial Cells. *J. Immunol.* 169:2026-2033.
- Tansi, LS., Samadpourriganı, E., Gedik, S., Soltanbeigi, A. (2017). Effects of Ontogenetic variability and Plant Density on Yield of Stevia. *KSU J. Nat. Sci.* 20:323-326.
- Tapan S. (2019). Naringinin böbrek hücre hattında oluşturulan enflamasyona etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Lisanüstü Eğitim Enstitüsü, Veterinerlik Biyokimyası Anabilim Dalı, Samsun.
- Taylor, PC., Peters, AM., Paleolog, E., Chapman, PT., Elliott, MJ., McCloskey, R., Feldmann, M., Maini, RN. (2000). Reduction of chemokine levels and leukocyte traffic to joints by tumor necrosis factor alphablockade in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 43:38-47.
- Temel, M., Tinmaz, AB., Öztürk, M., Batmaz, B. (2014). Şeker otunun (Stevia) üretim girdileri, maliyeti ve karlılığının belirlenmesi. II. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu, Bildiri Kitabı. 438-442.
- Toskulkao, C., Chaturat, L., Temcharoen, P., Glinsukon, T. (1997). Acute toxicity of stevioside, a natural sweetener and its metabolite, steviol, in several animal species. *Drug Chem Toxicol.* 20: 31–44.
- Tourniaire, F., Romier-Crouzet, B., Lee, JH., Marcotorchino, J., Gouranton, E., Salles, J., Malezet, C., Astier, J., Darmon, P., Blouin, E., Walrand, S., Ye, J., Landrier, JF. (2013). Chemokine Expression in Inflamed Adipose Tissue Is Mainly Mediated by NF-kappaB. *PLoS One.* 8:e66515.
- Tucci, M., Barnes, EV., Sobel, ES., Croker, BP., Segal, MS., Reeves, WH., Richards, HB. (2004). Strong association of a functional polymorphism in the monocyte chemoattractant protein 1 promoter gene with lupus nephritis. *Arthritis Rheum.* 50:1842-9.
- Turgut, K., Ucar, E., Tutuncu, B., Ozyigit, Y. (2015). Stevia rebaudiana Bertoni could be an alternative crop in the Mediterranean region of Turkey. In: Geuns, J.M.C., Ceunen, S. (Eds.), *Stevia: Growth in Knowledge and Taste, Proceedings of the 8th EUSTAS Stevia Symposium.* 103-107.
- Uçar, E., Özyiğit, Y., Turgut K. (2011). Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni). IX. Tarla Bitkileri Kongresi, Bildiri Kitabı, Bursa. 1446–1449.
- Uçar, SE. (2015). Şeker Otu (Stevia rebaudiana bertoni) Bitkisinin Bazı Verim ve Kalite Özellikleri Üzerine Farklı Azot Dozlarının Etkisi. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Antalya.

- Vaziri, ND., Xu, ZG., Shahkarami, A., Huang, KT., Rodriguez-Iturbe, B., Natarajan, R. (2005). Role of AT-1receptor in regulation of vascular MCP-1, IL-6, PAI-1, MAP kinase, and matrix expressions in obesity. *Kidney Int.* 68:2787-93.
- Victoria Peteliuka, V., Rybchuka, L., Bayliaka, M., Storeyb, KB., Lushchak O. (2021). Natural sweetener stevia rebaudiana: functionalities, health benefits and potential risks. *EXCLI Journal.* 20:1412-1430.
- Wada, T., Furuichi, K., Segawa-Takaeda, C., Shimizu, M., Sakai, N., Takeda, SI., Takasawa, K., Kida, H., Kobayashi, KI., Mukaida, N., Ohmoto, Y., Matsushima, K., Yokoyama, H. (1999). MIP-1alpha and MCP-1 contribute to crescents and interstitial lesions in human crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int.* 56:995-1003.
- Wada, T., Yokoyama, H., Matsushima, K., Kobayashi, K. (2001). Chemokines in renal diseases. *Int Immunopharmacol.* 1:637-645.
- Walzer, T., Marçais, A., Saltel, F., Bella, C., Jurdic, P., Marvel, J. (2003). Cutting edge: immediate RANTES secretion by resting memory CD8 T cells following antigenic stimulation. *J. Immunol.* 170,1615–1619.
- Wang, T., Guo, M., Song, X., Zhang, Z., Jiang, H., Wang, W., Fu, Y., Cao, Y., Zhu, L., Zhang, N. (2014). Stevioside plays an anti-inflammatory role by regulating the NF-κB and MAPK pathways in *S. aureus*-infected mouse mammary glands. *Inflammation.* 37:1837-1846.
- Wara, AK., Mitsumata, M., Yamane, T., Kusumi, Y., Yoshida, Y. (2008). Gene expression in endothelial cells and intimal smooth muscle cells in atherosclerosis-prone or atherosclerosis-resistant regions of the human aorta. *J Vasc Res.* 45:303-13.
- Wei, F., Zhu, H., Li, N., Yu, C., Song, Z., Wang, S., Sun, Y., Zheng, L., Wang, G., Huang, Y., Bao, Y., Sun, L. (2021). Stevioside Activates AMPK to Suppress Inflammation in Macrophages and Protects Mice from LPS-Induced Lethal Shock. *Molecules.* 26:858.
- Wells, TN., Power, CA., Shaw, JP., Proudfoot AE. (2006). Chemokine blockers-Therapeutics in the making? *Trends Pharmacol. Sci.* 27:41–47.
- Whitfield, C., Danielle, M., Williams, D., Kelly, SD. (2020). Lipopolysaccharide O-antigens - bacterial glycans made to measure. Department of Molecular and Cellular Biology, University of Guelph, Ontario, N1G 2W1, Canada JBC Papers in Press. 1-27,(doi: 10.1074/jbc.REV120.009402).
- Whitfield, C and Trent, MS. (2014). Biosynthesis and export of bacterial lipopolysaccharides. *Annu Rev Biochem.* 83:99–128.
- Wong, MM., Fish, EN. (2003). Chemokines: attractive mediators of the immune response. *Sem Immunol* 2003;15:5-14.
- Yadav, A., Saini, V., Arora, S. (2010). MCP-1: chemoattractant with a role beyond immunity: a review. *ClinChim Acta.* 411:1570-9.
- Yadav, AK., Singh, S., Dhyani, D., Ahuja, PS. (2011). A review on the improvement of *Stevia rebaudiana* (Bertoni), *Canadian Journal of Plant Scienc.* 91:1–27.
- Yang, YH., Huang, SZ., Han, YL., Yuan, HY., Gu, CS., Zhao, YH. (2014). Base substitution mutations in uridinediphosphate-dependent glycosyltransferase 76g1 gene of *Stevia rebaudiana* causes the low levels of rebaudioside A mutations in ugt 76g1, a key gene of steviol glycosides synthesis. *Plant Physiol. Bioch.* 80:220-225.
- Yavaş, SA. (2015). Düşük kalorili dondurma üretiminde doğal tatlandırıcı olarak stevya ekstraktı kullanımının ürünün kalite kriterleri üzerine etkisi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İzmir.

- Yıldırım, K. (2017). *Stevia rebaudiana* Bertoni Bitkisinin İn vitro Üretim Potansiyeli ve Tokat Şartlarına Adaptasyonu. 34(1):238-251.
- Yingkun, N., Zhenyu, W., Jing, L., Xiuyun, L., Huimin, Y. (2013). Stevioside protects LPS-induced acute lung injury in mice. *Inflammation*. 36:242-250.
- Yokoyama, H., Wada, T., Furuichi, K., Segawa, C., Shimizu, M., Kobayashi, K., Su, S., Mukaida, N., Matsushima, K. (1998). Urinary levels of chemokines (MCAF/MCP-1, IL-8) reflect distinct disease activities and phases of human IgA nephropathy. *J Leukoc Biol*. 63:493-499.
- Yu, B., Shao, H., Su, C., Jiang, Y., Chen, X., Bai, L., Li, X. (2016). Exosomes derived from MSCs ameliorate retinal laser injury partially by inhibition of MCP-1. *Scientific reports*, 6(1), 1-12.
- Yuajit, C., Homvisasevongsa, S., Chatsudthipong, L., Soodvilai, S., Muanprasat, C., Chatsudthipong V. (2013). Steviol reduces MDCK cyst formation and growth by inhibiting CFTR channel activity and promoting proteasome-mediated CFTR degradation. *PLoS one*. 8(3):e58871.
- Yuajit, C., Muanprasat, C., Homvisasevongsa, S., Chatsudthipong, V. (2017). Steviol stabilizes polycystin 1 expression and promotes lysosomal degradation of CFTR and β -catenin proteins in renal epithelial cells. *Biomed Pharmacother*. 94:820-826.
- Yücesan, B. (2015). *Stevia (Stevia rebaudiana) ve İkinci Şeker Devrimi*.
- Yücesan, B., Büyükgöçmen, R., Mohammed, A., Sameeullah, M., Altuğ, C., Gürel, S., Gürel, E. (2016a). An efficient regeneration system and Steviol glycoside analysis of *Stevia rebaudiana* Bertoni, a source of natural highintensity sweetener. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. 52:330–337.
- Yücesan, B., Mohammed, A., Büyükgöçmen, R., Altuğ, C., Kavas, Ö., Gürel, S., Gürel E. (2016b). In vitro and ex vitro propagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni with high Rebaudioside-A content-A commercial scaleapplication. *Scientia Horticulturae*. 203:20–28.
- Zahn, S., Forker, A., Krügel, L., Rohm, H. (2013). Combined use of rebaudioside A and fibres for partial sucrose replacement in muffins. *LWT-FoodSci Technol*. 50(2):695-701.
- Zhang, G. and Ghosh, S. (2001). Toll-like receptor-mediated NF- κ B activation: a phylogenetically conserved paradigm in innate immunity. *J. Clin. Invest*. 107:13.
- Zheng, M., Lv, LL., Cao, YH., Liu, H., Ni, J., Dai, HY., Liu, D., Lei, XD., Liu, BC. (2012). A pilot trial assessing urinary gene expression profiling with an mRNA array for diabetic nephropathy. *PLoS One*. 7:e34824.
- Zlotnik, A., Yoshie, O. (2000). Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity*, 12(2), 121-127.
- Zoccali, C., Benedetto, FA., Mallamaci, F., Tripepi, G., Fermo, I., Focà, A., Paroni, R., Malatino, LS. (2000). Inflammation is associated with carotid atherosclerosis in dialysis patients. *Creed Investigators. Cardiovascular Risk Extended Evaluation in Dialysis Patients. Journal of Hypertension*. 18(9):1207-1213.

ÖZ GEÇMİŞ

SEÇİL MÜDERRİSOĞLU 1994-1997 yıllarında Bafra Lisesi'ni bitirdikten sonra Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik bölümünden 05.07.2005 tarihinde mezun oldu. Anadolu Üniversitesi (İkinci üniversite-önlisans) Sağlık Kurumları İşletmeciliği bölümünden 2012 yılında mezun oldu. 2014 yılında OMÜ LEE Veterinerlik Biyokimyası Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi. 2017 yılında OMÜ LEE Veterinerlik Biyokimyası Ana Bilim Dalı Doktora programına başladı. Mezuniyetinden bu yana Özel Medibafra Hastanesi (Kurum, klinik ve poliklinik diyetisyeni-Samsun), İstanbul Pediatri Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği (Klinik diyetisyeni ve poliklinik diyetisyeni-İstanbul), Özel Medicalpark Hastanesi (Klinik ve poliklinik diyetisyeni-İstanbul), JFK Hospital (Klinik diyetisyeni ve poliklinik diyetisyeni-İstanbul), Sofra Yemek A.Ş (Bayındır hastanesi proje müdürü, kurum diyetisyeni-Ankara) olarak görev yapan SEÇİL MÜDERRİSOĞLU orta derecede İngilizce bilmektedir (YÖK DİL: 55). Temel ilgi alanları, Biyokimya ve Beslenme Biyokimyasıdır. 7. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi Eğitime katılım Sertifikası (Samsun-2015), Kalite Yönetim Sistem Dokümantasyonu Sertifikası (ALKA Müh.Dnş.Tic.Ltd.Şti, Samsun-2010), İstatistiksel Proses Kontrol Teknikler Sertifikası (ALKA Müh. Dnş. Tic. Ltd. Şti, Samsun-2010), Kuruluş İçi Kalite Yönetim Sistem Denetçisi Sertifikası (ALKA Müh. Dnş. Tic. Ltd. Şti, Samsun-2010), Kuruluş İçi Kalite Yönetim Sistem Denetçisi Sertifikası (ALKA Müh. Dnş. Tic. Ltd. Şti, Samsun-2010), Hasta ilişkileri ve Hasta Memnuniyeti Sertifikası (Türkiye Psikolojik Danışma ve Rehberlik Derneği, Samsun-2010), İş güvenliği sertifikası (T.C. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı, Türkiye İş kurumu Genel Müdürlüğü, İşletmelerde Eğitim Semineri, Samsun-2010), Yetişkinlerde ağırlık yönetimi sertifika programı (Bolu-2007), Compass Koçluk Uygulamaları Sertifikası (Karya Yönetim Danışmanlığı-Sofra Yemek A.Ş, Ankara-2005) ve IV. Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi Eğitime katılım Sertifikası (2003-Antalya)'na sahiptir.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0001-8802-5752

Yayınlar:

1. Müderrisoğlu, S. Deneysel olarak sodyum florür verilen farelerde kan ve karaciğer dokusunda oksidan ve antioksidan parametreler üzerine kuersetinin etkisinin belirlenmesi (Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).2017. (Sodyum Florür Toksikasyonunda Kuersetinin Oksidan-antioksidan Etkileri Adı ile Lamber Acedemy Publishing de 26.12.2017 itibari ile kitap olarak yayımlanmıştır)
2. Çubukçu M, Acı R, Müderrisoğlu S. Samsun İlinde D Vitamini Düzeylerinin Yaş, Cinsiyet ve Mevsimsel Özelliklere Göre Değerlendirilmesi. Ankara Medical Journal. 2019;19(4):769-775
3. Acı R, Müderrisoğlu S, Duran U, Shakouri N, Çiftci G. Content of minerals in muscle tissue of diploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in freshwater (Derbent Dam) and seawater (The Black Sea). Journal of Elementology. 2020;25(4):1375-1384. DOI: 10.5601/jelem.2020.25.2.2017
4. Türe E, Müderrisoğlu S, Acı R, Çubukçu M, Erdem MA. Adölesan ve çocuklarda D vitamini düzeylerinin yaş, cinsiyet ve mevsimsel özelliklere göre değerlendirilmesi. Ankara Medical Journal. 2020;20(2), 380-386.
5. Yazıcıoğlu B, Oruç MA, Türe E, Müderrisoğlu S, Çubukçu M. The Effect Of Pregnancy Follow-Up On Birth Expectations In Primary Health Care. Ankara Med J. 2021; 21(4): 573-584.
6. Müderrisoğlu S, Çenesiz S, Yarım M. Determination of the effect of Quercetinon oxidant-antioxidant parameters in the blood and liver tissues of rats given sodium fluoride experimentally. Journal of the Indian Chemical Society, Elsevier. 2022;99(7):100486.
7. Müderrisoğlu S, Yarım G. Alzheimer hastalığında vitaminlerin rolü. Samsun Sağlık Bilimleri Dergisi. 2022;7(1):1-18.
8. Müderrisoğlu S, Çubukçu M. Eet ale Sağlık Hizmeti Alan Alzheimer Hastalarına Bakım Verenlerin Yaşam Kalitelerinin Değerlendirilmesi. Turkish Journal of Family Medicine and Primary Care. 2022;16(1):48-56.
9. Müderrisoglu S, Çenesiz S, Yarım M. Determination of the effect of Quercetinon oxidant-antioxidant parameters in the blood and liver tissues of rats given sodium fluoride experimentally. Elsevier, Journal of the Indian Chemical Society. 2022;99(7):100486. [ISSN Uluslararası Araştırma Ödülleri 2022 (IISTAC-2022 "International Best Researcher Award" ödülü almıştır.)]

10. Yağlıoğlu LM, ubukcu M, Mderrisođlu S. Bir Palyatif Bakım Servisi'nde Takip Edilen Tetanoz Olgusu. Turkish Journal of Family Medicine and Primary Care, 2022;16(2), 465-468.