



**TYLOXAPOL İLE İNDÜKLENMİŞ
HİPERKOLESTEROLOMİK RATLARDA
CENTRANTHUS LONGIFLORUS VE BETA-
SİTOSTEROLÜN KORUYUCU ETKİLERİNİN
HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

Meryem COŞKUN

**Yüksek Lisans Tezi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı
Genetik Bilim Dalı
2021**

(Her haklı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI
GENETİK BİLİM DALI

**TYLOXAPOL İLE İNDÜKLENMİŞ HİPERKOLESTEROLOMİK RATLARDA
CENTRANTHUS LONGIFLORUS VE BETA-SİTOSTEROLÜN KORUYUCU
ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

(Histopathological examination of the protective effects of *Centranthus longiflorus* and beta-sitosterol in hypercholesterolomic rats induced by Tyloxapol)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Meryem COŞKUN

Danışman: Prof. Dr. Hakan AŞKIN

Erzurum
Ocak, 2021

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

TYLOXAPOL İLE İNDÜKLENMİŞ HİPERKOLESTEROLOMİK RATLARDA
CENTRANTHUS LONGIFLORUS VE BETA-SİTOSTEROLÜN KORUYUCU
ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

Prof. Dr. Hakan AŞKIN danışmanlığında, Meryem COŞKUN tarafından hazırlanan bu çalışma, 12/02/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Genetik Bilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Doç. Dr. Mehmet Nuri AYDOĞAN

Atatürk Üniversitesi

Danışman: Prof. Dr. Hakan AŞKIN

Atatürk Üniversitesi

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Arif AYAR

Amasya Üniversitesi

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak *Prof. Dr. Hakan AŞKIN* danışmanlığında sunulan “*Tyloxapol ile İndüklenmiş Hiperkolesterolemik Ratlarda Centranthus longiflorus ve Beta-Sitosterolün Koruyucu Etkilerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi*” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	12	30
Kuramsal Temeller	9	30
Materyal ve Yöntem	29	35
Bulgular	5	20
Tartışma	15	20
Tezin Geneli	14	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Sunulan bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ettiğimizi beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Meryem COŞKUN	Prof. Dr. Hakan AŞKIN
27.1.2021	27.1.2021
İmza:	İmza:

* Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayımlanmasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu alışma, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarında yürütüldü.

Çalışmamız süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, tezimin hazırlanmasında büyük emeği olan görüş ve bilgi birikimlerinden yararlandığım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hakan AŞKIN'a Őükranlarımı sunarım.

Çalışmamızın başlangıcında deneysel yardım ve desteklerinden dolayı Atatürk Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Bölümü değerli hocam Prof. Dr. Elif ÇADIRCI ve ekibine sonsuz teŐekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca, Elazığ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Dr. Öğr. Üyesi İlknur ÇALIK ve ekibine gösterdikleri ilgi ve alaka için teŐekkürü borç bilirim.

Son olarak tüm eğitim hayatımda olduğu gibi yüksek öğrenim dönemimde de her zaman yanımda olan değerli aile üyelerime, özellikle beni bilim insanı olmaya daha çok teşvik eden annem Refika COŞKUN'a çok teşekkür ediyorum.

Meryem COŞKUN

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TYLOXAPOL İLE İNDÜKLENMİŞ HİPERKOLESTEROLOMİK RATLARDA *CENTRANTHUS LONGIFLORUS* VE BETA-SİTOSTEROLÜN KORUYUCU ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

Meryem COŞKUN

Ocak 2021, 63 sayfa

Amaç: Bu çalışma ile tyloxapol ile indüklenmiş ratların farklı dokularında (karaciğer ve böbrek) *Centranthus longiflorus* (CL) toprak üstü bölümünün etanol bitki ekstraktı ve β -sitosterol (β S) ün koruyucu etken olma potansiyelleri histopatolojik açıdan araştırıldı.

Materyal ve Metot: Çalışmada kullanılan materyallerden Wistar dişi ve erkek ratlar, tyloxapol (TY), anacetrapib (ACP), diğer sarf malzemeler ve kitler satın alındı. Ratlardan 8 farklı deney grubu oluşturuldu. CL bitki ekstraktının ve β S'nin farklı konsantrasyonlarının hazırlanması, hiperkolesterolominin ratlarda deneysel indüksiyonu gerçekleştirildikten sonra kan numunelerinden total kolesterol (TK), total trigliserit (TG) ve LDL kolesterol (LDL-K) değerleri ölçüldü. Ratlardan karaciğer ve böbrek dokuları alınıp histopatolojik inceleme gerçekleştirildi.

Bulgular: Uygulama gruplarından elde edilen sonuçlar incelendiğinde TY ile indüklenen hiperkolesterolomik ratlarda CL ve β S'nin birlikte uygulaması, TK, TG ve LDL-K düzeylerini istatistiksel olarak önemli ölçüde düşürdü ($p < 0.05$). Histopatolojik bulgularda ise kontrol grubunda hem erkek hem de dişi bireyler için karaciğer ve böbrek dokularında histopatolojik olarak herhangi bir hasar görülmedi. CL, β S ve ACP'nin tek başına uygulandığı gruplarda; CL grubunda hem erkek hem de dişi karaciğer ve böbrek dokularında hafif düzeyde hasar; β S ve ACP uygulama gruplarında ise hem erkek hem de dişi karaciğer ve böbrek dokularında orta düzeyde hasar görüldü (ACP erkek karaciğer dokusu hariç- bu grupta hafif hasar görüldü); TY grubunda ise tüm örneklerde şiddetli hasar görüldü. Koruyucu etki çalışmalarında ise CL + TY grubunda; TY'nin tek başına uygulandığı gruplarda oluşan şiddetli hasarın, hafif düzeyde hasar yönünde değiştiği tüm dokular için tespit edildi. β S + TY grubu ile ACP + TY gruplarında; TY'nin tek başına uygulandığı gruplarda oluşan şiddetli hasarın, orta düzeyde hasar yönünde değiştiği görüldü.

Sonuç: Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre; CL bitki ekstraktının, β S etken maddesinin ve ACP ilacının tek başına uygulandığı gruplarda ancak orta düzeyde hasar oluşturdukları; bu üç grubun TY'nin oluşturmuş olduğu şiddetli hasara karşı birlikte uygulandıklarında önemli ölçüde koruyucu etki gösterdikleri tespit edildi. CL ile β S arasında bir mukayese edilmesi gerekirse bitki ekstraktının β S'ye göre çok daha iyi bir koruyucu etkiye sahip olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Anacetrapib, *Centranthus longiflorus*, Histopatoloji, Tyloxapol, β -sitosterol.

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

HISTOPATHOLOGICAL EXAMINATION OF THE PROTECTIVE EFFECTS OF *CENTRANTHUS LONGIFLORUS* AND BETA-SITOSTEROL IN HYPERCHOLESTEROLOMIC RATS INDUCED BY TYLOXAPOL

Meryem COŞKUN

Ocak 2021, 63 pages

Objective: In this study, the protective potential of *Centranthus longiflorus* (CL) whole plant extract and β -sitosterol (β S) in different tissues (liver and kidney) of rats induced by tyloxapol was investigated histopathologically.

Materials and Methods: Wistar female and male rats, tyloxapol (TY), anacetrapib (ACP), other consumables and kits were purchased from the materials used in the study. 8 different experimental groups were formed from experimental animals. After the preparation of different concentrations of CL plant extract and β S, experimental induction of hypercholesterolemia in rats, total cholesterol (TC), total triglyceride (TG) and LDL cholesterol (LDL-C) values were measured from blood samples. Liver and kidney tissues were taken from experimental animals and histopathological examination was performed.

Results: When the results obtained from the treatment groups were examined, the combined application of CL and β S in TY-induced hypercholesterolemia experimental animals significantly decreased the TC, TG and LDL-C levels ($p < 0.05$). In histopathological findings, no histopathological damage was observed in the liver and kidney tissues for both male and female individuals in the control group. In groups where CL, β S and ACP are applied alone; mild damage to both male and female liver and kidney tissues in the CL group; in the β S and ACP administration groups, both male and female liver and kidney tissues were moderately damaged (except for ACP male liver tissue - mild damage was observed in this group); in the TY group, severe damage was observed in all samples. In protective effect studies, in the CL + TY group; it was determined for all tissues that the severe damage occurred in the groups where TY was applied alone changed towards mild damage. In β S + TY group and ACP + TY groups; it was observed that the severe damage occurred in the groups where TY was applied alone changed towards moderate damage.

Conclusion: According to the results we obtained from our study; It was found that CL plant extract, β S active ingredient and ACP caused only moderate damage in the groups where it was applied alone; It was determined that these three groups had a significant protective effect when applied together against severe damage caused by TY. If it is to be compared between CL and β S, it can be said that the plant extract has a much better protective effect than β S.

Keywords: Anacetrapib, *Centranthus longiflorus*, Histopathology, Tyloxapol, β -Sitosterol.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	x
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	1
Fitosteroller	4
Fitosterollerin ve Türevlerinin Yapısal Çeşitliliği, Dağılımı ve Metabolizması	4
Fitosterollerin Kolesterol Üzerine Etkisi	5
Fitositerol Çeşitleri	7
β-Sitosterol.	7
Stigmasterol.....	9
Kampesterol.	13
Hücre membranında stigmasterol, sitosterol ve kampesterol'un işlevi.....	15
Tyloxapol (Triton WR-1339).....	16
<i>Centranthus longiflorus</i> Türü	17
Anacetrapib	18
MATERYAL VE METOT.....	19
Materyal	19
Deney hayvanlarının hazırlanması.	19
Bitki materyali <i>C. longiflorusun</i> β-sitosterol içeriğinin belirlenmesi.	20
Beta-Sitosterol (βS) uygulaması.	21
Tyloxapol (Triton WR-1339) uygulaması (Hiperkolesteroleminin oluşturulması).	21
Anacetrapib uygulaması.....	21
Metot.....	21
Anti-hiperlipidemik Çalışma.....	21

Dokuların toplanması ve homojenizasyon işlemleri.....	21
Histopatolojik İncelemeler.....	22
İstatistiksel analizler.....	22
ARAŞTIRMA BULGULARI	19
Biyokimyasal Çalışmalar	23
Toplam lipit içerikleri.....	23
Histopatolojik Çalışmalar	27
Erkek Ratlarda Karaciğer Dokusu Üzerine Histopatolojik Çalışmalar.....	27
Dişi Ratlarda Karaciğer Dokusu Üzerine Histopatolojik Çalışmalar.....	30
Erkek Ratlarda Böbrek Dokusu Üzerine Histopatolojik Çalışmalar.....	32
Dişi Ratlarda Böbrek Dokusu Üzerine Histopatolojik Çalışmalar.....	34
TARTIŞMA.....	36
SONUÇ.....	38
KAYNAKLAR.....	39
ÖZGEÇMİŞ.....	49

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. <i>Gruplar ve Gruplardaki Ratlara Deneyler Sırasında Uygulanan Prosedürler.</i>	19
Tablo 2. <i>Toplam Kolesterol (TK), Trigliserid (TG) ve LDL-K'nın Düzeyleri Ortalama \pm SD, n= 6) ile Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.</i>	24



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. β -sitosterol kimyasal yapı gösterimi (2D yapı), kristal yapı gösterimi, kimyasal diyagram.....	8
Şekil 2. Stigmasterol kimyasal yapı gösterimi (2D yapı), kristal yapı gösterimi.....	10
Şekil 3. Kampesterol kimyasal yapı gösterimi (2D yapı), kristal yapı gösterimi.....	14
Şekil 4. Stigmasterol, sitosterol ve kampesterol oluşumuna giden bitki sterol yolu.....	15
Şekil 5. Stigmasterolün fonksiyonlarının şematik gösterimi ve bitki hücrelerindeki sinyalleşme rolleri	16
Şekil 6. Triton WR-1339'un kimyasal yapısı.....	17
Şekil 7. Anacetrapib'in kimyasal yapı gösterimi (2D yapı), kristal yapı gösterimi.....	18
Şekil 8. <i>C. longiflorus</i> bitkisi.....	20
Şekil 9. TK açısından tüm uygulama gruplarından elde edilen sütun grafiği.	24
Şekil 10. TG açısından tüm uygulama gruplarından elde edilen sütun grafiği.	26
Şekil 11. LDL-K açısından tüm uygulama gruplarından elde edilen sütun grafiği.....	27
Şekil 12. Erkek ratlarda CL, β S ve ACP'nin karaciğer dokusu üzerine etkileri	28
Şekil 13. Erkek ratlarda TY, CL+TY, β S+TY ve ACP+TY'nin karaciğer dokusu üzerine etkileri.....	29
Şekil 14. Dişi ratlarda CL, β S ve ACP'nin karaciğer dokusu üzerine etkileri	30
Şekil 15. Dişi ratlarda TY, CL+TY, β S+TY ve ACP+TY'nin karaciğer dokusu üzerine etkileri.....	31
Şekil 16. Erkek ratlarda CL, β S ve ACP'nin böbrek dokusu üzerine etkileri	32
Şekil 17. Erkek ratlarda TY, CL+TY, β S+TY ve ACP+TY'nin böbrek dokusu üzerine etkileri.....	33
Şekil 18. Dişi ratlarda CL, β S ve ACP'nin böbrek dokusu üzerine etkileri	34
Şekil 19. Dişi ratlarda TY, CL+TY, β S+TY ve ACP+TY'nin böbrek dokusu üzerine etkileri.....	35

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

ABA	: Absisik Asit
ABCG5	: ATP Bağlayıcı Kaset Taşıyıcı 5
ACP	: Anacetrapib
ALT	: Alanin Aminotransferaz
ASG	: Asile Sterol Glukozitler
BL	: Brassinolid
BR	: Brassinosteroid
CAS	: Sikloartenol Senta
CD36	: Farklılaşma Kümesi 36
CE	: Kolesteril Ester
CETP	: Kolesteril Ester Transfer Proteini
CM	: Seramid
CS	: Castasterone
CS	: <i>Centranthus longiflorus</i>
CYP710A	: Sterol C-22 Desatüraz
DG	: Diaçilgliserol
FAS	: Yağ Asidi Sentaz
FFA	: Serbest Yağ Asitleri
HDL-K	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
HFWD	: Yüksek Yağlı Batı Tarzı Diyet
HMGCoAR	: Hidroksimetilglutaril Koenzim A Redüktaz
HMGR	: 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA redüktaz
HSE	: Hidroksisinnamat Sterol Esterleri
IgG	: Jejunal İmmünoglobulin G
IL-1β	: İleal İnterlökin 1β

LCAT	: Lesitin Kolesterol Asetil Transferazı
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LDL-K	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
LDLr	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Reseptör
LFD	: Düşük Yağ Diyeti
MeJA	: Metil Jasmonat
NAFLD	: Alkol Bağımsız Karaciğer Hastalığı
PC	: Fosfatidilkolin
PE	: Fosfatidiletanolaminin
PPARα	: Peroksizom Proliferatör Aktif Reseptör α
PR-1	: Patogenez İlgili Protein-1
PUFA	: Yüksek Derecede Doymamış Yağ Asitleri
SA	: Salisilik Asit
SCD1	: Stearoil-CoA Desatüraz-1
SE	: Sterol Esterleri
SG	: Steril Glukozitler
SIgA	: Salgılanan İmmünoglobulin A
SIT	: Beta-sitosterol
SM	: Sfingomiyelin
SMT1	: Sterol Metil Transferaz 1
SMT2/3	: Sterol Metiltransferaz 2/ 3
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences

SSR2	: Sterol Yan Zincir Redüktaz 2
TG	: Total Trigliserit
TK	: Total Kolesterol
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü A
TY	: Tyloxapol
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
βS	: Beta Sitosterol



GİRİŞ

Hiperkolesterolemi, birçok hastalık için önemli bir durum olsa da özellikle ateroskleroz hastalığının başlangıcı sırasında kardiyovasküler sistemde kan damarlarının endotel çeperlerinde yüksek seviyeli düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K) birikimine sebep olarak kardiyak hastalıklar için en önemli risk faktörünü oluşturmaktadır (Douglas and Channon 2014). Birçok önemli hastalığın oluşumunda rol oynayan ateroskleroz, kanda yüksek oranda kolesterol birikimi ile tanımlanır (Chávez-Sánchez *et al.* 2014). Biyolojik hedefi 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A redüktaz (HMG-CoA redüktaz) olan statin ilaç grubu, son 30 yıldır kalp ile ilişkili sorunları ve buna bağlı ölümleri azaltmak için anti-hiperlipidemik ilaçlar olarak tavsiye edilmektedir (Douglas and Channon 2014). Ancak günümüzde yapılan son araştırmalar statinlerin, başta kardiyovasküler hastalıklarda olmak üzere sayısız olumsuz etkiye neden olabileceğini ortaya koymuştur (Pineda and Cubeddu 2011). Bu sebeple son araştırmalar, HMG-CoA redüktaz benzeri lipid değişimlerini sunan ve statin ilaç grubunun oluşturduğu yan etkiler olmadan, faydalı etkiler yapabilen kolesteril ester transfer proteinini (CETP) baskılayan ajanlara (Anandhi *et al.* 2014; Xu *et al.* 2014) ve Beta-sitosterol (β S) gibi bitkisel doğal ürünler üzerine odaklanmıştır (Mohammadpour and Akhlaghi 2013; Chaudhary *et al.* 2015).

Statinlerin piyasada görülmesinden itibaren geçen 30 yılda kolesterol ilacı olarak başka lipid düzenleyicileri piyasaya sürülemediği. Ancak son yıllarda CETP'nin üretimini engellemek suretiyle yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K) üretimini artırma, kardiyovasküler hastalık ihtimalini azaltma amacıyla önemli bir yaklaşımdır. CETP'nin lipoproteinler arasındaki trigliserid ve kolesteril ester (CE) transferlerini gerçekleştirdiğinin keşfiyle birlikte son yapılan çalışmalar bu protein üzerine yoğunlaşılmasını sağlamıştır. CETP'nin gerçekleştirdiği bu transfer yolağının engellenmesi HDL-K konsantrasyonunu arttırdığı gibi LDL-K düzeylerini de azaltabilmektedir.

Günümüzde CETP inhibitörü olarak kullanılabilir anacetrapib (ACP), dalcetrapib, evacetrapib, torcetrapib olmak üzere 4 adet bileşik tanımlanmıştır. Faz 3 klinik denemelerinde kullanılan ilk CETP inhibitörü torcetrapibdir. Torcetrapib, yüksek kan basıncına ve serumda aldosteron konsantrasyonunun fazlaşmasına sebep olmuş ve böylece çok daha fazla kardiyovasküler olgulara ve ölümlere sebebiyet vermiştir. Klinik olarak geliştirilmeye başlanan ikinci CETP inhibitörü dalcetrapib ise HDL-K seviyesini yükselmektedir fakat LDL-K seviyesini azaltmayan bir CETP düzenleyicisidir. Ancak, bu bileşik ile gerçekleştirilen Faz 3

klirik çalışmaları, bu bileşiğin kolesterol düzeylerini etkili bir şekilde düşürmemesi üzerine sonlandırılmıştır.

ACP ve evacetrapibinin ise Faz 3 klinik araştırmaları devam etmektedir. İki bileşik de LDL-K seviyesini düşürüp HDL-K seviyesini arttırma potansiyeli göstererek faydalı etkiler göstermektedir. ACP ve evacetrapib'in başarısı Faz 3 klinik çalışmalarının sonucunda belli olacaktır. Biz de çalışmamızda pozitif kontrol olarak anacetrapibi kullanarak bu araştırmalara destek olmak amacındayız.

Canlıların kimyasal ve ilaçlara maruziyeti çoğunlukla toksisiteye neden olur. Tüm bileşiklerin vücudun tümüne toksik etki gösterdiği bilinmektedir ancak birçok bileşik toksik etkisini bazı organlar üzerinde daha bariz bir şekilde gösterir. Bu organlara hedef organlar denir. Karaciğer, gastrointestinal sistemdeki yeri bakımından birçok yabancı bileşiğin metabolizmasından sorumlu olması nedeniyle ilaç toksisitesi için hedef organların başında gelir. Bir diğer organ ise böbreklerdir. Hem karaciğer hem de böbrekler kimyasalları toksik ara ürünlere dnştrrlenir. Bu reaktif ara ürünler hücresel makromoleküllere (protein, lipit, karbonhidrat, nükleik asit vb.) bağlanarak veya membranlar gibi fonksiyonel açıdan önemli olan hücresel yapıların peroksidatif hasarına neden olan serbest oksijen radikali oluşturarak toksisiteyi başlatabilmektedirler. Bu toksisite sonucunda da bu tip hedef organlarda doku hasarlarına yol açabilirler.

Bu bağlamda, karaciğer ve böbrek dokularını koruma amacı ile hiperkolesterolemik ateroskleroz da dahil oksidatif stres şartlarını uyarlayabilen tıbbi bitkiler ya da bu bitkilerin sekonder metabolitleri gibi doğal ürünlerin kullanımını yeni ilaçların geliştirilmesi için önemli bir yaklaşımdır (Somacal *et al.* 2015). Beta-sitosterol (β S), *Centranthus longiflorus* (CL) ve *Bambusa balcooa*'da bulunan triterpenoid bileşeni örneğidir (Askin *et al.* 2016; Goyal *et al.* 2017). β S'nin antikanser, antioksidan ve antidiabetik etkinlikleri rapor edilmiştir ve β S'nin hipolipidemik etki gösterebileceği varsayılmaktadır (Wang *et al.* 2015). β S, karışık misellere katılmak için kolesterol ile rekabet ederek, safradan kolestroln yerini değiştirerek, ince bağırsaktaki kolestrol esterlerinin hidrolizini düşürerek kolesterol emilimini düşürebileceği öngörülmektedir (Smet *et al.* 2012). Bu bağlamda, hipotezimiz β S'nin ve içeriğinde fazlaca β S içeren CL'nin bitki ekstraktının hiperkolesterolemik hayvanlardaki karaciğer ve böbrek dokularına yararlı etkiler gösterebileceği idi.

Çalışmada, tyloxapol (TY) indüksiyonuyla hiperkolesterolemik rat modeli kullanıldı. Hiperkolesterolemik hayvanlar, kardiyak dokuda kolestrol, trigliserid, serbest yağ asitleri içeriklerinde ve aterojenik indeks ve koroner risk indeksi üzerinde belirgin artış gösterirler. Ek olarak, hiperkolesterolemik hayvanlarda kardiyak reaktif oksijen türleri ve tiyobarbitürik asit

reaktif maddeler düzeyleri artarken, glutasyon seviyesi ve glutasyon peroksidaz aktivitesi azalacaktır. Son olarak TY'nin özellikle karaciğer ve böbrek dokusu üzerinde olumsuz etkiler oluşturması ve bazı hasarlar oluşturması beklenebilir.

Bu çalışma ile TY'nin hiperkolesterolemik sonuçlara yüksek total kolesterol (TK), yüksek trigliserit (TG) ve yüksek LDL-K katkıda bulunduğu ve CL bitki ekstraktının ve β S'nin hiperkolesterolemi sırasında güçlü hipolipidemik ve antioksidan etkiler yapacağı hipotezi kurularak, CL ve β S tedavisinin hiperkolesterolemik ratların karaciğer ve böbrek dokularını koruyup koruyamayacağını araştırmak amaçlandı. Ayrıca, hiperkolesterolemiyi yüksek seçicilik ve etkinlikte inaktif eden, fakat diğer hücrelere minimal toksik etkili olan ilaç ve tedavileri geliştirmek için bilime katkı sağlamak hedeflenmektedir. Birçok anti-kolesterol ajanında olduğu gibi anacetrapibin de ciddi yan etkileri mevcuttur. Çalışmamızda; yan etkileri azaltmak ve anacetrapibin hipolipidemik etkilerini arttırmak için yeni anti-kolesterol ajanlarıyla düşük dozlardaki sinerjistik etkisinin saptanması da amaçlandı.

KURAMSAL TEMELLER

Fitosteroller

Çoğu bitki sterollerini 4-desmetil sterollerdir, çünkü sterol halka yapısının 4 pozisyonunda herhangi bir metil grubu içermezler (Moreau *et al.* 2018).

En yaygın üç fitosterol; sitosterol (29 karbon), stigmasterol (29 karbon) ve kampesterol (28 karbon) dahil olmak üzere 4-desmetil sterollerdir. Bu üç yaygın bitki sterollerine ek olarak 250'den fazla farklı bitki sterolü rapor edilmiştir (Nes 2011). 'Serbest' ilişkisiz OH sterol lipid grubunda steroller oluşabilir. Steroller ayrıca OH grubu, bir ester bağı yoluyla veya glikoza (ve bazen de diğer şekerlere) bir glikozidik bağlantı yoluyla kovalent olarak bağlandığında konjugatlar halinde de ortaya çıkabilirler. Sterol esterleri (SE, yağ asitlerine esterleştirilmiştir), hidroksisinnamat sterol esterleri (HSE, esas olarak ferulik veya p-kumarik aside esterleştirilmiştir), steril glukozitler (SG) ve asile sterol glukozitler (ASG) sterol konjugat sterol lipid sınıflarının dört yaygın türüdür (Moreau *et al.* 2018).

Fitosteroller, membranların geçirgenlik ve akışkanlık gibi biyofiziksel özelliklerini etkileyen temel yapısal bileşenlerdir (Schaller 2003, 2004; Kim *et al.* 2005; Neelakandan *et al.* 2010). Ek olarak, fitosterol türevleri Brassinosteroid'den (BR) bağımsız sinyal molekülleri olarak işlev görerek veya membrana bağlı enzimlerin aktivitesini modüle ederek hücre bölünmesi, hücre uzaması, hücre polaritesi, selüloz biyosentezi, hücre duvarı oluşumu ve embriyonik desen oluşumu gibi birçok biyolojik süreçte yer alır (Topping *et al.* 1997; Clouse 2000, 2002; Schrick *et al.* 2000, 2002, 2004; Schaeffer *et al.* 2001; Carland *et al.* 2002; Boutté and Grebe, 2009; Suzuki *et al.* 2009; Ovečka *et al.* 2010). Yapılan çalışmalar, fitosterollerin bitki büyümesi ve gelişiminde önemli rolünü ortaya koymuştur. Son çalışmalar plazma membranındaki fitosterol bileşiminin oksin taşıyıcılarının düzgün çalışmasını etkilediğini göstermiştir (Souter *et al.* 2002, 2004; Willemsen *et al.* 2003; Men *et al.* 2008).

Fitosterollerin ve Türevlerinin Yapısal Çeşitliliği, Dağılımı ve Metabolizması

Fitosteroller triterpen ailesinin üyeleridir: C-17 pozisyonunda bir yan zincir ve tetrasiklik bir yapıdan oluşurlar (Moreau *et al.* 2018). Fitosteroller C-3 pozisyonunda bir hidroksil, C-10 ve C-13 pozisyonunda birer metil grubu barındıran steran halkası

yapısında dırlar. Bu steran halkasının (siklopentanoperhidrofenantren) C-17 pozisyonundan dallanan bir yan grubun olması ile fitosteroller oluşmaktadır (Ling and Jones 1995).

Fitosterollerin yapısı, hayvan hücresinde en bol bulunan kolesterol yapısına oldukça benzerdir. Yaygın yanlış inanışın aksine, bitki hücreleri de kolesterol içerir, ancak seviyeleri genellikle toplam sterollerin %1'inin altında kalır. Hayvan hücrelerinden farklı olarak, bitki hücrelerinde yüzlerce farklı sterol tespit edilmiştir (Moreau *et al.* 2018). Hayvansal sterol olan kolesterol 8 karbonlu bir yan grup içerirken, fitosteroller 9-10 karbonlu bir yan grup içerirler ve bu yan grup doymamış yağ, etil ve metil grubu barındırması yönüyle kolesterol yapısından farklıdırlar (Ling and Jones 1995). Kolesterole yapısal benzerlik dikkat çekicidir ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi veya binlerce teorik plakayı içeren gaz kromatografisi gibi güçlü teknikler kullanılmadıkça, kolesterolü fitosterollerden veya farklı fitosterollerden fiziksel yöntemlerle ayırmak zordur (Ostlund 2002).

Gıdalarda kolesterol ya serbest alkol sterol ya da kolesteril esterler olarak ortaya çıkarken (Fenton 1992), bitki sterolleri serbest bitki sterolleri, esterlenmiş bitki sterolleri, bitki steril glikozitleri ve açillenmiş bitki steril glikozitleri olarak ortaya çıkar (Akihisa *et al.* 1991). Fitosteroller gıdalarda serbest halde ya da yağ asidi ve şeker esteri olarak da bulunabilirler (Tetik vd 2007). Fitosteroller hayvanlarda ve insanlarda geniş bir biyolojik aktivite yelpazesi üretir. Özellikle fitosteroller etkili bir kolesterol düşürücü ajan olarak kabul edilir (Ling and Jones 1995).

Önceki çalışmalar, genel olarak çeşitli bitkilerde sterol profillerini ve içeriğini tanımlamaya ve karakterize etmeye odaklanırken, daha yeni çalışmalar, bitki çeşitleri arasındaki sterol içeriğinin genetik değişkenliğini ve bitkilerdeki sterol içeriğinin kalıtımını araştırmaya odaklanmaktadır (Moreau *et al.* 2018).

Fitosterollerin Kolesterol Üzerine Etkisi

Kolesterolün bitki analogları olan fitosterollerin, bağırsak emilimi için kolesterol ile rekabet ederek veya kolesterol metabolizmasında yer alan proteinleri düzenleyerek dolaşımdaki kolesterol seviyelerini düşürdüğü bilinmektedir (Calpe-Berdiel *et al.* 2009).

Yapılan çalışmalara göre fitosteroller, serum veya plazmadaki TK ve LDL-K seviyelerini azalttığını göstermektedir. Memeli dokusundaki plazma fitosterol seviyeleri, öncelikle bağırsaktan zayıf emilim ve kolesterole kıyasla karaciğerin daha hızlı atılması nedeniyle normalde çok düşüktür (Moreau *et al.* 2018).

LDL-K seviyelerini % 10'a kadar azaltmak ve kardiyovasküler hastalık riskini azaltmak için günlük 2.0-2.5 g fitosterol alımı önerilmiştir (Lauer and Fontanarosa 2001; Brufau *et al.* 2008). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, fitosterollerin plazma triasilgliserol düzeylerinin düşürülmesinde etkili olduğunu gösterilmiştir (Rideout *et al.* 2015). Fitosterol tedavisinin, lipit düzenleyici genlerin ve *de novo* lipogenezin ekspresyonunu modüle ederek serum ve hepatic triasilgliserol düzeylerini düşürdüğü bildirilmiştir (Rideout *et al.* 2010). Fitosteroller ayrıca safra asidi homeostazını etkileyerek yağların emilimini de engelleyebilir. Bir grup bileşik olarak fitosterollerin hipolipidemik etkileri açıklanmış olmasına rağmen, bireysel fitosterollerin lipit metabolizması ve alkol bağımsız karaciğer hastalığı (NAFLD) üzerindeki etkileri tam olarak araştırılmamıştır (Feng *et al.* 2018).

Genellikle kolesterolün azalmasının, kolesterolün misellerle yer değiştirmesi yoluyla doğrudan kolesterol emiliminin inhibisyonundan kaynaklandığı varsayılır. Tekli fitosterol bileşenlerinin yapıya özgü etkileri, doymuş fitosterollerin, kolesterol seviyelerini düşürmede doymamış bileşiklere kıyasla daha verimli olduğu son zamanlarda gösterilmiştir. Ek olarak, fitosteroller, anti-tümör özellikleri dahil olmak üzere hayvanlarda geniş bir terapötik etki spektrumu gösterir (Ling and Jones 1995).

Fitosteroller vücutta endojen olarak sentezlenmez, bu nedenle sadece vücuda giren diyetten bağırsak emilimi ile elde edilir. Kolesterolün fitosterol üzerine tercihli emilimi, memelilerde bağırsak sterol emiliminin karakteristik bir özelliğidir. Sağlıklı insanlar için, fitosterollerin emilim oranı genellikle diyet seviyelerinin % 5'inden azdır, bu da % 40'ın üzerinde olan kolesterolden önemli ölçüde daha düşüktür. Böylece, diyet fitosterollerinin yaklaşık % 95'i kolona girer (Salen *et al.* 1989).

Etkin bağırsak emilimi için fitosterollerin misellerde çözünürleştirilmesi gereklidir. Fosfolipidin, kolesterolün emici tanınmasında önemli bir rol oynayabileceği öne sürülmüştür. Safra miseline fosfolipid eklenmesi, izole jejunal villus hücrelerinde kolesterolün 24-etil analogu, sitosterol üzerinde tercihli emilimini artırmaktadır. Bu fenomen, fitosterole karşı bağırsak seçiminin fosfolipid yapıların genel bir özelliği olabileceğini düşündürmektedir (Child and Kuis 1986). Ek olarak, fitosterollerin yetersiz esterleştirilmesinin, fitosterollerin bağırsak tarafından zayıf emiliminde rol oynayabileceği öne sürülmüştür (Field and Mathur 1983).

Bağırsak fitosterol emiliminde seçicidir; kampesterol hayvanda β S'den daha iyi emilir, stigmasterol minimal olarak emilir. Emici ayrımcılıktan sorumlu bileşenler ve etkileşimler, sterollerin bağırsak duvarına ilk girişi sırasında ortaya çıkabilir. Yan zincirdeki varyasyon, villus hücreleri ve fırça sınır membranları tarafından misel çözültiden fitosterollerin alınması üzerinde farklı etki yapabilir. Fitosterol alımı, sterol zincirinin C-24 pozisyonunda karbon

atomunun artmasıyla azalmıştır. Bir sterolün çekirdek çift bağının hidrojenleştirilmesinin emilimin azalmasına neden olduğu varsayılmaktadır. Sitostanol (BS'nin 5 α doymuş türevi) hiç emilmez. Bununla birlikte, doymuş bir fitosterol olan campestanolün, yakın zamanda erken varsayımın aksine doymamış formuna kıyasla daha yüksek emilime sahip olduğu gösterilmiştir (Ling and Jones 1995).

Sitosterol ve kampesterol alımı plazma sitosterol ve kampesterol konsantrasyonlarında bir artışa neden olur. Bununla birlikte, bu artış kampesterol için sitosterolden daha yüksektir. Farklılık sadece daha yüksek kampesterol emiliminden değil, aynı zamanda karaciğerden farklı eliminasyon oranından da kaynaklanmaktadır. β -sitosterolün hepatik esterlenmesi kampesterolden önemli ölçüde düşük olduğundan, safra eliminasyonu kampesterolden daha fazla olabilir (Ling and Jones 1995).

Fitosterol eliminasyonu safra yolu ile gerçekleşir ve kolesterolünkünden daha hızlı gerçekleşmektedir. Buna bağlı olarak, endojen fitosterol havuz boyutu, daha önce belirtildiği gibi bağırsakta zayıf emilim ve safra yoluyla daha hızlı atılım nedeniyle kolesterol ile karşılaştırıldığında düşüktür (Ling and Jones 1995).

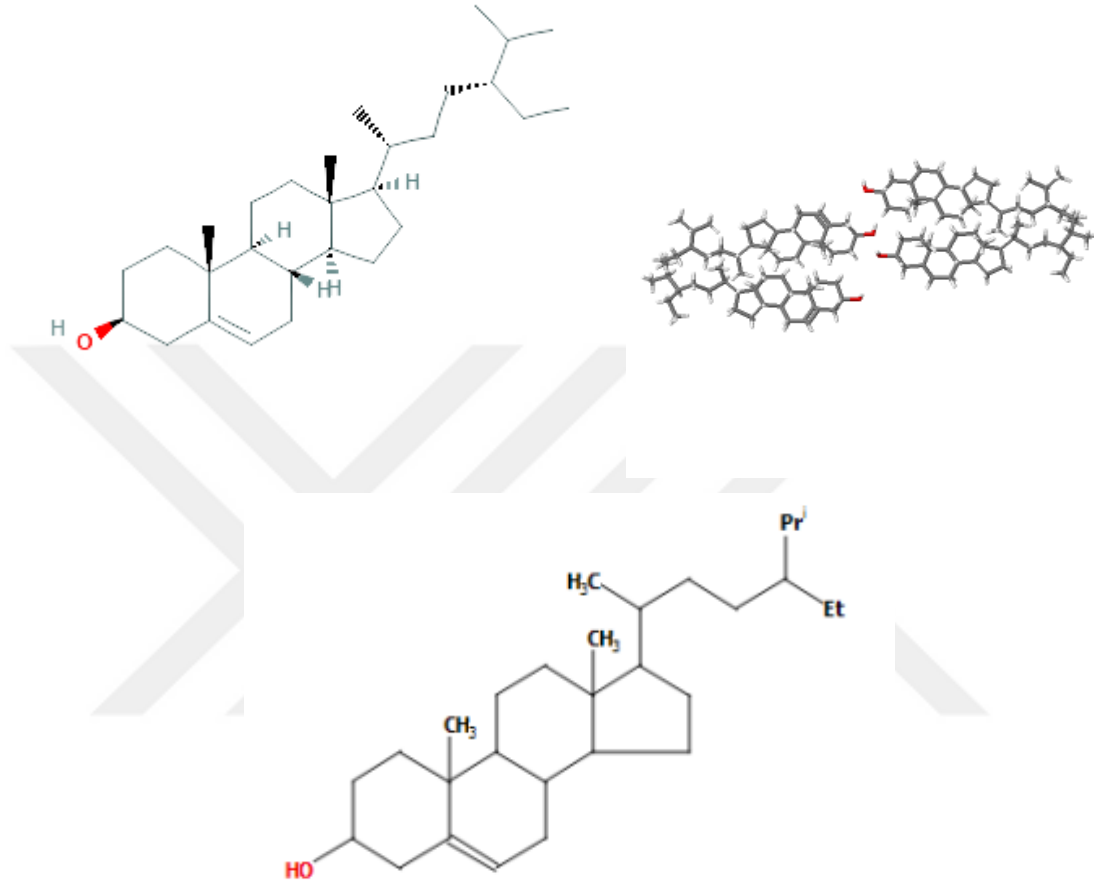
Fitosterol Çeşitleri

β -Sitosterol.

Çeşitli fitosterol arasında, beta-sitosterol (SIT, C₂₉H₅₀O), çeşitli bitkilerde, meyvelerde, tohumlarda, bitkisel yağlarda, tahıllarda, baklagillerde ve fındıkta bulunan en yaygın sterollerden biridir (Radika *et al.* 2013). Hiperkolesterolemi, koroner arter hastalığı, prostatik hiperplazi ve prostat kanseri gibi çeşitli hastalıkları tedavi etmek için birçok bitkisel ilacın formülasyonunda kullanılır (Farquhar *et al.* 1956; Weizel and Richter 1997; Nyamai *et al.* 2016). β S; viral hasar, iltihaplanma, ülser, kanser gelişimi ve immün sistemin güçlendirilmesinde önemli bir ajandır (Ling and Jones 1995; Heitzman *et al.* 2005).

Kapsamlı in vitro çalışmalar, β S'nin kolesterolü düşürdüğünü (Hwang *et al.* 2008), antioksidan (Vivancos and Moreno 2005; Wong *et al.* 2013), anti-inflamatuvar (Loizou *et al.* 2010; Shi *et al.* 2015; Lampronti *et al.* 2017) ve antikanser (Rauf *et al.* 2016; Rajavel *et al.* 2018) etkilerini göstermiştir. Ayrıca birkaç tıbbi araştırmada, yüksek yağlı diyetle beslenen veya streptozotosin veya dekstran sülfat sodyum ile muamele edilen sıçanlarda β S'nin serum lipid seviyelerini düşürmede (Radika *et al.* 2013), oksidatif hasarı iyileştirmede (Gupta *et al.* 2011) ve inflamatuvar yanıtı azaltmada (Kim *et al.* 2014; Feng *et al.* 2017) etkili olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, yapılan çalışmalarda β S ile beslenen büyüme tamamlamış

domuzların bağışıklık tepkisindeki gelişme (Fraile *et al.* 2012), diyeteki β -sitosterolün piliçlerde büyüme performansını ve et kalitesini artırabileceğini gösterilmiştir (Cheng *et al.* 2019).



Şekil 1. β -sitosterol kimyasal yapı gösterimi (2D yapı), kristal yapı gösterimi, kimyasal diyagram. (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/222284>)

Piliçlerde farklı seviyelerde diyet β S ilavesinin serum lipid seviyeleri, bağışıklık fonksiyonu, oksidatif durum ve bağırsak morfolojisi üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada; bağışıklık organı olan dalağın hem mutlak hem de göreceli ağırlıkları, diyet β S seviyelerini artırılması ile doğrusal ve kuadratik olarak arttığını ortaya koymaktadır. Çalışmada, 60 mg/kg β S seviyesinin üzerinde veya buna eşit seviyenin mutlak dalak ağırlığını artırdığı belirtilmiştir. Bağışıklık organının gelişimi, kısmen bağışıklık fonksiyonunu yansıtabilir (Liu *et al.* 2016). β S ile desteklenmiş bazal diyet verilen piliçlerde, jejunumdaki jejunal immüoglobulin G (IgG) ve ileumdaki salgılanan immüoglobulin A (SIgA) konsantrasyonlarında doğrusal artışlar sergilerken, jejunumda tümör nekroz faktörü α (TNF- α)

ve ileumda ileal interlökin 1β (IL- 1β) içeriklerinde doğrusal düşüşler sergilediği ortaya konmuştur (Cheng *et al.* 2020).

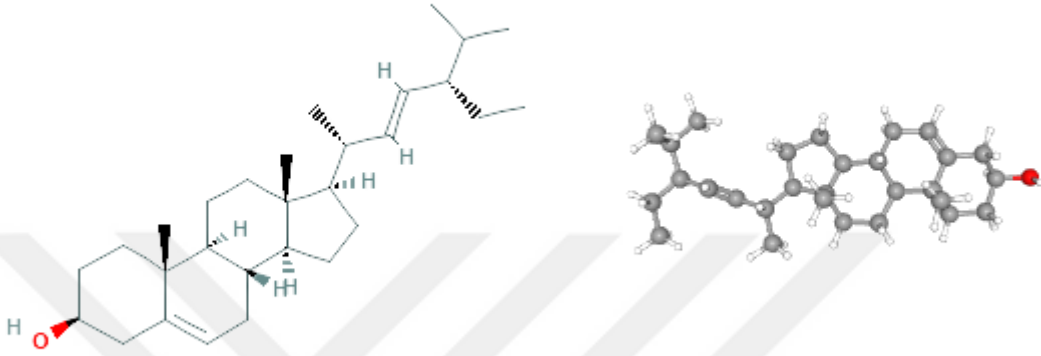
Çok sayıda çalışma, βS 'nin kanser hücresi çoğalmasını inhibe ettiğini ve ayrıca anti-hiperkolesterolemik (Ikeda *et al.* 1988), antienflamatuar ve anti-anjiyojenik etkileri içeren çeşitli farmakolojik özellikler sergilediğini göstermiştir (Gupta *et al.* 1980 and Loizou *et al.* 2010). Derin çalışmalar βS , çeşitli kanser hücrelerinde HT-29 insan kolon kanseri hücreleri (Awad *et al.* 1998), LNCaP insan prostat kanseri hücreleri (von Holtz *et al.* 1998), insan lösemi U937 hücreleri (Park *et al.* 2007), SGC-7901 insan mide kanseri hücreleri (Zhao *et al.* 2009) ve MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerinde (Vundru *et al.* 2013) apoptoz indüksiyonu ile ilişkili olan seramid üretiminde %50 artış ile sfingomiyelin döngüsünü aktive ettiğini göstermiştir (Sharmila and Sindhu 2017). βS 'nin böbrek kanserine karşı koruyucu etkilerinin, apoptozun indüksiyonu ve hücrel proliferasyonun inhibisyonu ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (Sharmila and Sindhu 2017).

Stigmasterol.

Stigmasterol, 2,3 oksidosikalen oluşumuna yol açan bir dizi enzim katalizli reaksiyonu takiben mevalonat yolunda üretilir (Schaller 2003; Bach 2016). Daha sonra 2,3-oksidosikalen, sikloartenol sentaz ile sikloartenole dönüştürülür (Schaller 2003; Gas-Pascual *et al.* 2014; Sonawane *et al.* 2016). Sikloartenol, sterol yan zincir redüktaz 2 (SSR2) ve sterol metil transferaz 1 (SMT1) dahil dallanma noktası enzimlerinin hedefidir. SSR2, sikloartenolü kolesterol dalına kanalize ederken, SMT1, bitki sterollerini için öncüler üretmek amaçlı sikloartenolün alkilasyonunu katalize eder (Benveniste 1986; Nes and Venkatramesh 1999; Diener *et al.* 2000; Schaeffer *et al.* 2001; Sonawane *et al.* 2016). SMT1'in aşağı akışı, diğer dallanma enzimleri SMT 2/3, karbonu sitosterol ve stigmasterole doğru yönlendirir (Carland *et al.* 2010). Biyosentezin yanı sıra, serbest stigmasterol içeriği, steril esterler, steril glukozitler ve asil steril glukozitler gibi sterol konjugatlarına dönüştürülerek de modüle edilebilir. Steril esterler asil transferazlar (Chen *et al.* 2007; Bouvier-Navé *et al.* 2010) ve steril glukozitler UDP-glukoz: sterol glukoziltransferaz (DeBolt *et al.* 2009) ile konjuge edilir.

Yapısal olarak, stigmasterol sitosterole benzerdir, ancak sterol C-22 desatürazın getirdiği C-22 pozisyonundaki çift bağ nedeniyle sitosterolden farklıdır (Benveniste 2002; Morikawa *et al.* 2006). *Arabidopsis*, sitokrom P450, CYP710A süper ailesine ait sterol C-22 desatürazlarını kodlayan dört gen içerir (Benveniste 2004; Morikawa *et al.* 2006) ve iki sterol C-22 desatüraz, *Physcomitrella patens*'te (ana sterolün stigmasterol olduğu bir yosun) stigmasterol biyosentezinden sorumludur (Morikawa *et al.* 2009). Bununla birlikte sterol C-22

desatürası kodlayan/kodladığı tahmin edilen genlerin sayısı türler arasında farklılık gösterir. SMT 2/3 ve CYP710A1'in stigmasterol dalında stigmasterol biyosentezine yol açan tek iki özgün enzim olduğu, kampesterol ve stigmasterol dallarının ise ara enzimleri paylaştığı belirtilmektedir. Bu, bitkilerde kolesterol sentezine benzer bir durumdur, burada yol, kampesterol dalı ile hem özgün hem de paylaşılan enzimleri içerir (Sonawane *et al.* 2016).



Şekil 2. Stigmasterol kimyasal yapı gösterimi (2D yapı), kristal yapı gösterimi. (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280794>)

Bitkilerde stigmasterol metabolizmasının oldukça koordineli bir şekilde düzenlendiği yapılan çalışmalarda gen ekspresyon verilerinde ortaya konmuştur (Aboobucker and Suza 2019). Tütün (*N. tabacum*), bezelye (*Pisum sativum*), kolza (*Brassica napus*) bitkilerinin gelişmekte olan tohumlarında ve *N. benthamiana* ve *B. napus* fidelerinde, artan gen ekspresyonu ve enzim aktiviteleri sterol birikimi ile denk gelmektedir (Harker *et al.* 2003; Schrick *et al.* 2011; Suza and Chappell 2016). Ek olarak, *B. campestris*'in apikal dokuları yüksek seviyelerde kolesterol içerir, ancak daha sonraki gelişim aşamalarında kolesterolde bir düşüş ve sitosterolde bir artış sergiler (Hobbs *et al.* 1996). Ayrıca, stigmasterol ve öncüsünün değişen konsantrasyonları hem tohum hem de tüm bitki gelişim aşamalarında göze çarpar. Örneğin, tütün tohumunun çimlenmesi sırasında, stigmasterol iki kat artar (Bush and Grunwald 1972) ve maş fasulyesi (*Vigna radiata*) fidelerinde, hipokotillerin daha genç bölümleri, sitosterole kıyasla daha yüksek seviyelerde stigmasterol içerir (Stalleart and Geuns 1994). Ayrıca stigmasterol içeriği meyve olgunlaşması sırasında domatestede (*Solanum lycopersicon*) artar ve CYP710A11 gen ekspresyonundaki artışla ilişkilidir (Whitaker and Gapper 2008). Ek olarak, mısır (*Zea mays*) fidelerinde, stigmasterol konsantrasyonu köklerde sürgünlere göre

daha yüksektir (Kemp *et al.* 1967). Kemp ve arkadaşlarının (1967) bulgularına benzer, *N. benthamiana* fideleri, köklerde yapraklardan daha yüksek stigmasterol içeriği ile organlar arasındaki sterol bileşiminde çarpıcı farklılıklar sergilemektedir (Suza and Chappell 2016). Buna karşılık, stigmasterol konsantrasyonu *P. sativum* yapraklarında yükselirken tohumlarda daha düşüktür (Schrick *et al.* 2011).

Biyotik ve abiyotik stresin stigmasterol üzerine etkisini inceleyen çalışmalarda şu bulgular elde edilmiştir; *Solanaceous* (patlıcangiller) bitkilerde, örneğin patates (*Solanum tuberosum*) kolesterol üretimi, yaralama veya patojen enfeksiyonuna yanıt olarak steroid glikoalkaloidlerin sentezine olan talebi karşılamak için yükselir (Choi *et al.* 1992; Hartmann 1998; Arnqvist *et al.* 2003). Benzer şekilde, patojenik bakteriler ve reaktif oksijen türleri, *Arabidopsis*'te stigmasterolün biyosentezini uyarır (Griebel and Zeier 2010; Sewelam *et al.* 2014). Ayrıca, sterol C-22 desatürasyonu kodlayan genler, fitohormonlara yanıt verir bu da çeşitli stres yanıtlarında stigmasterol için bir rol olduğunu gösterir. Wang (2012) ve arkadaşlarının çalışmalarına göre, *Arabidopsis*'te stigmasterol biyosentez genlerinden birinin aşırı ekspresyonu, bakteriyel patojenlere karşı artan dirençle sonuçlanmıştır. Son zamanlarda Gamir (2017) ve arkadaşları, patogenez-ilişkili protein 1'in (PR-1) stigmasterol de dahil olmak üzere sterollerini *in vitro* olarak bağlayabileceğini bildirmiştir. Yazarlar, PR-1'in sterollerini patojenlerden ayırarak patojen büyümesini inhibe ettiği sonucuna varmışlardır (Gamir *et al.* 2017).

Stigmasterol konsantrasyonu, tuza maruz kalan buğday köklerinde (*Triticum aestivum*) artar (Magdy *et al.* 1994). Filtrelenmiş güneş ışığı koşulları altında yetiştirilen soya fasulyesi bitkileri sitosterol biriktirirken, stigmasterol seviyeleri azalır (Izzo and Navari-Izzo 1981). Çeşitli çevresel etkilere yanıt olarak stigmasterol içeriğindeki dalgalanmalar, sitosterolün stigmasterole dönüştürülmesinin, bitki tepkisini çevresel uyarılara modüle edebileceğini düşündürmektedir (Aboobucker and Suza 2019).

Stigmasterol ve β -sitosterol.

Stigmasterol ve β S etkilerini araştırmak için chow diyeti uygulanan fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, yağlı karaciğer gelişimine karşı koruyucu etkilerini incelemek amacıyla yapılan histolojik analize göre, düşük yağ diyeti (LFD) uygulanan fareler karaciğer histolojik olarak normal gözlenmiştir. Yüksek yağlı batı tarzı diyet (HFWD), karaciğer dokusunda geniş mikroveziküler steatoz alanları, gelişen makroveziküler yağ değişim bölgelerini ve hepatoselüler hipertrofisi olan yağlı karaciğeri indüklemiştir. Stigmasterol tedavisi makroveziküler steatoz, mikroveziküler steatoz ve hepatoselüler hipertrofiyi LFD uygulanan

farelere kıyasla, bazı örneklerde daha normal alanlar ve hatta neredeyse normal histoloji ile azaltmıştır. LFD uygulanan fareler ile karşılaştırıldığında, histolojik skor HFWD+stigma uygulanan farelerde önemli ölçüde daha düşüktür, bu da stigmasterolün HFWD ile indüklenen NAFLD'yi önemli ölçüde azalttığını göstermektedir. Bununla birlikte, β S'nin koruyucu fonksiyonu daha az etkili olduğu yapılan çalışmada görülmektedir (Feng *et al.* 2018).

HFWD ile beslenen fareler için stigmasterol veya β S tedavisi, TK ve HDL-K konsantrasyonlarını önemli ölçüde azaltmıştır, ancak sadece stigmasterol tedavisi 8. haftada HDL-K seviyesini azaltmaktadır. Açlık kan şekeri seviyesi, HFWD ile tedavi edilen farelerde önemli ölçüde artmıştır ve her iki fitosterol tarafından önemli ölçüde değiştirilmemiştir. Stigmasterol, alanin aminotransferaz (ALT) seviyelerinin yükselmesini önlemede etkili olmuştur, ancak β S'nin etkili olmadığı yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur (Feng *et al.* 2018).

Chow diyeti uygulanan fareler üzerinde yapılan çalışmada, karaciğer lipitleri ve dışkı lipit düzeyleri üzerine etkilerine bakıldığında, β S ve stigmasterolün dışkı atılımlarını arttırarak hepatik lipit seviyelerini düşürmede etkili olduğu gösterilmiştir. Çalışmada, lipit ve safra asidi metabolizmasında rol alan genlerin q-PCR ile ekspresyonu analizinde; karaciğerde, hidrosimetilglutaril koenzim a redüktaz'ın (HMGCoAR) mRNA ekspresyonu HFWD ile önemli ölçüde azalmıştır, ancak azalma hem fitosteroller tarafından önlendiği hem de stigmasterol tarafından indüklendiği gösterilmiştir. Çalışmada düşük yoğunluklu lipoprotein reseptör (LDLr) ekspresyonunda benzer değişiklik paternleri gözlenmiştir, ancak sadece β S ile önemli farklılıklar olduğu ve β S'nin ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı 5 (ABCG5) ekspresyonunu önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir. Stearoil-CoA desaturaz-1 (SCD1) ve yağ asidi sentaz (FAS) gibi *de novo* lipogenez ile ilgili genler, stigmasterol tarafından önemli ölçüde bastırıldığı, ancak β S'nin etkili olmadığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Her iki fitosterol de peroksizom proliferatör aktif reseptör α (PPAR α) ekspresyonunu önemli ölçüde artırmış ve farklılaşma kümesi 36 (CD36) ekspresyonunu azaltmıştır (Feng *et al.* 2018).

Aynı çalışmada serum örneklerinin lipitomik analizi yapıldığında şu sonuçlar ortaya çıkmıştır; stigmasterol tedavisi, diaçilgliserol (DG), fosfatidiletanolaminin (PE), sfingomiyelin (SM), triaçilgliserol, fosfatidilkolin (PC) ve seramid (CM) dahil olmak üzere serumda 39 türü önemli ölçüde değiştirirken, β S tedavisi 54 türü önemli ölçüde değiştirmiştir. Verilerde, stigmasterolün HFWD'ye takviyesinin vücut ağırlığı artışını, serum kolesterolünü, histolojik skoru ve ALT seviyelerini önemli ölçüde azalttığı görülmektedir. Stigmasterolün, HFWD ile beslenen farelerde hepatik lipit birikimini ve NAFLD'yi azaltmada β S'den daha etkili olduğu gösterilmiştir. Stigmasterol ve β S, muhtemelen hepatik kolesterol seviyelerinin

düşürülmesinden dolayı kolesterol biyosentezinde hız sınırlayıcı enzim olan HMGCoAR mRNA ekspresyonunu artırmıştır (Geelen *et al.* 1986). Yapılan çalışmalara göre fitosterol tedavisi ile safra asidi atılımının önemli ölçüde arttığı görülmektedir (Carr *et al.* 2002). Yapılan çalışmada, diyet kaynaklarından türetilmiş, yüksek derecede doymamış yağ asitleri (PUFA) içeren triaçilgliserol, HFWD tarafından önemli ölçüde yükseltilmiş ve stigmasterol tarafından yükselme önlenmiştir. Toplam hepatik triaçilgliserol içeriği stigmasterol tedavisi ile önemli ölçüde azalmıştır (Feng *et al.* 2018).

Karaciğerde serbest yağ asitleri (FFA) birikiminin, NAFLD'de hücre hasarının önemli bir nedeni olduğuna inanılmaktadır (Feldstein *et al.* 2004). Ancak yapılan çalışmada karaciğer FFA düzeyleri HFWD'den anlamlı olarak etkilenmemiştir. Çalışmanın sonuçlarına bakıldığında, NAFLD'de hepatik FFA içeriğinin değişmeden kaldığına dair önceki bir raporla tutarlı olduğu gösterilmiştir (Puri *et al.* 2007). Her iki fitosterol de dolaşımdaki FFA'ların ana bileşenlerinin seviyelerini değiştirmemesine rağmen, lipit peroksidasyonuna maruz kalabilen ve toksisite oluşturabilen dolaşımdaki PUFA'yı azaltmışlardır (Feng *et al.* 2018).

FDA tarafından insanlar için önerilen dozda stigmasterol ve β S, kolesterolün yeniden emilimi veya emilimi, safra asitlerini ve diyet lipitlerini azalttığını; NAFLD'nin azalmasına, hepatik lipit birikimine ve vücut kilo alımının azalmasına yol açtığını göstermektedir. Stigmasterol, bazı lipojenik genlerin ekspresyonunu azaltmak ve dolaşımdaki CM seviyelerini düşürerek bu eylemlerde β S'den daha etkilidir. Fitosterol tüketiminin diyet kaynaklı NAFLD'yi önleme veya hafifletme aktivitelerine sahip olduğu gösterilmektedir. Fitosteroller tipik olarak insanlar tarafından bitki bazlı gıdalarda farklı formların bir karışımı olarak tüketilir. Yüksek stigmasterol ile β S oranına sahip bir fitosterol karışımı, bir diyet takviyesi olarak ilave avantaj sağlayabilir (Feng *et al.* 2018).

Kampesterol.

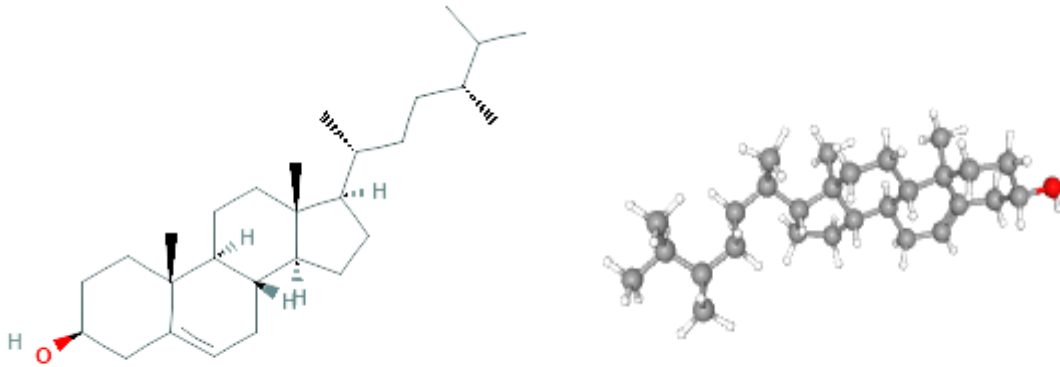
Kampesterol, brassinosteroid (BR) sentezinin öncüsüdür; aktif BR seviyesini etkiler ve bitki gelişiminde hücre uzaması, ercik ve polen gelişimi, ksilem farklılaşması, stres toleransı ve patojen direnci gibi bir dizi fizyolojik aktiviteyi düzenler (Choe *et al.* 2000; Fujioka and Yokota 2003; Asami *et al.* 2005; Chu *et al.* 2006; Gudesblat and Russinova 2011; Williams 2011; Fridman and Savaldi-Goldstein 2013). Kampesterolün, brassinolid (kök uzamansını ve hücre bölünmesini destekleyen bir bitki hormonu) biyosentezi için substrat görevi gördüğü bilinmektedir (Choe *et al.* 1999).

Kampesterolün sitosterole oranının, büyüme gereksinimlerini ve membran bütünlüğünü karşılamada önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Clouse 2000; Schaeffer *et al.* 2001; Carland

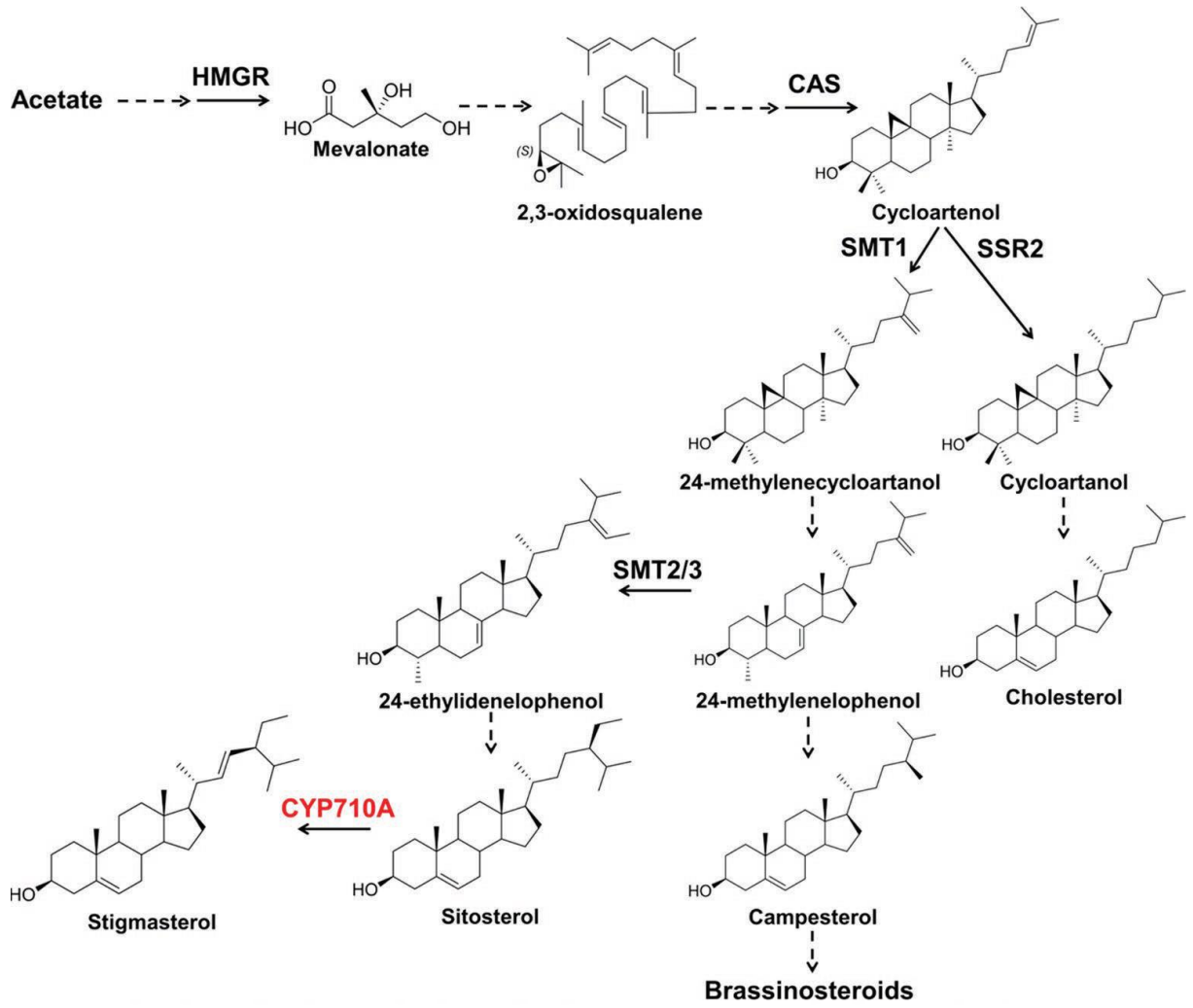
et al. 2002; Boutté and Grebe 2009; Suzuki *et al.* 2009; Ovečka *et al.* 2010). Bu oranın lif uzama hızı ile negatif ilişkili olduğunu gösterilmiştir ve lif uzamasını etkileyen önemli bir faktör olduğu öne sürülmüştür (Deng *et al.* 2016).

Kampesterol, hidrojenasyon ile kampestanol'e dönüştürülür. Kampestanol oluşturmak için 5,6 çift bağın indirgenmesine maruz kalır. Kampestanol, iki alternatif yolla Brassinolid'e (BL) dönüştürülür; erken veya geç C-6 oksidasyonu ile, castasterone (CS) oluşumuna neden olur. Teasteron ve tifasterol arasındaki C-3 epimerizasyonu 3-dehidro ara ürün aracılığıyla gerçekleşir. CS, Baeyer-Villiger tipi oksidasyon yoluyla BL'ye dönüştürülür (Choe *et al.* 1998 ve Nomura *et al.* 1999).

Kampesterolün, yan zincir yapısına dayalı olarak brassinolid'in bitki sterol öncüsü olduğu tahmin edilmektedir ve teasteron, tifasterol ve kastasteronun nispi biyolojik aktiviteleri, birlikte oluşumu ve moleküler yapısı, BL'nin bu ara maddeler yoluyla kampesterolden sentezlendiğini göstermektedir. Yapılan çalışmalardaki gaz kromatografisi/kütle spektrometresi analizleri, aslında kampesterolün, erken ve geç C6 oksidasyonu ve erken ve geç C22 hidroksilasyonu olarak adlandırılan birkaç paralel yolla BL'ye dönüştürüldüğünü göstermiştir. Son sonuçlar, ara ürünlerin dönüşümünün yolaktaki birkaç adımda gerçekleşebileceğini göstermiştir ve bu nedenle BL sentezi, sadece castasteronda birleşen iki paralel yoldan ziyade bir metabolik ızgara yoluyla daha fazla ilerlemektedir (Clouse 2017).



Şekil 3. Kampesterol kimyasal yapı gösterimi (2D yapı), kristal yapı gösterimi. (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/173183#section=2D-Structure>)

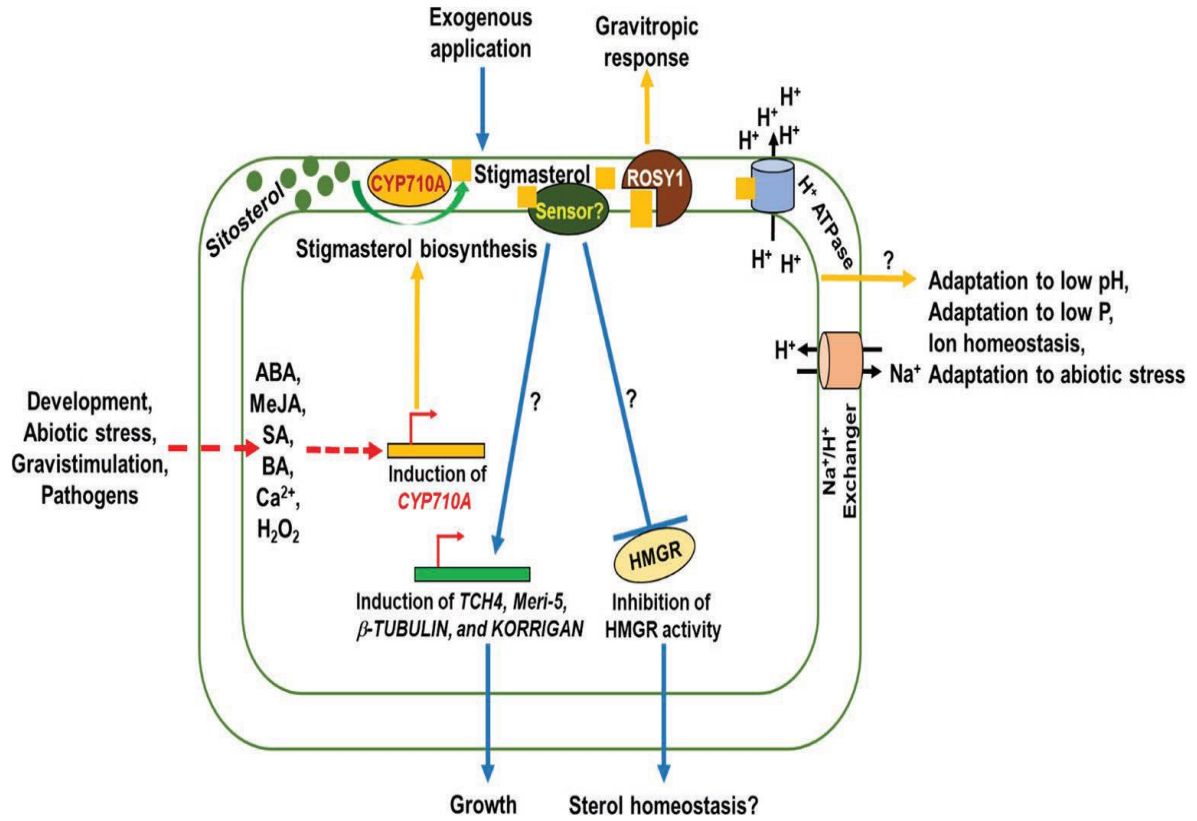


Şekil 4. Stigmasterol, sitosterol ve kampesterol oluşumuna giden bitki sterol yolu- Bitkiler steroller; kampesterol (24-metil), sitosterol ve stigmasterol (24-etil steroller) karışımı üretir. Stigmasterol, sterol C-22 desaturazların etkisi ile sitosterolden türetilir. Kampesterol, brassinosteroidlerin (BR) tercih edilen öncüsüdür. Kesikli oklar birden fazla adımı gösterir ve düz oklar yoldaki tek adımı gösterir. HMGR, 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA redüktaz; CAS, sikloartenol sentaz; SMT1, sterol metiltransferaz 1; SMT2/3, sterol metiltransferaz 2/3; SSR2, sterol yan zincir redüktaz 2; CYP710A, sterol C-22 desaturaz (Aboobucker and Suza 2019).

Hücre membranında stigmasterol, sitosterol ve kampesterol'un işlevi.

Serbest steroller ve sterol konjüгатlarının bileşimi, sıvı sıralı faz oluşumunu etkiler. Stigmasterol kendi başına membran düzenini artırma yeteneğinden yoksundur, sitosterol ve kampesterol ise düzeni artırır. Bununla birlikte, bitkideki ana sfingolipid olan glükozilinositolfosferamidler ile etkileşime girerek, stigmasterol membran sırasını artırabilir, glükozilseramid ile etkileşim ise düzeni azaltır. Sitosterolün kendisi, serbest sterol-sfingolipid ve serbest sterol-sterilglükozit/asilsterilglükozit kombinasyonunun eklenmesiyle birlikte boyut olarak artan birçok küçük alanın üretimini indükler (Grosjean *et al.* 2015). Bu bulgular, spesifik sterol türlerinin, membran sterol bileşimini ince ayarlaması ve böylece sinyal olaylarını düzenleyen bir rolü olduğunu göstermektedir (Aboobucker and Suza 2019). Stigmasterol, bitki

hücrelerinin plazma membranlarındaki ana sterollerden biridir ve hücre proliferasyonunda (Hartmann 1998) ve plazma membranı H^+ -ATPaz aktivasyonunda rol oynar (Grandmougin-Ferjani *et al.* 1997). Bitkilerde, plazma membranı H^+ -ATPaz, hücreden protonların birincil taşıyıcısıdır, böylece plazma membranı boyunca bir pH ve elektrokimyasal gradyan oluşturur (Muramatsu *et al.* 2002). Plazma membranı H^+ -ATPaz'ın aktivitesi, iyon homeostazını korumak için gereklidir, çünkü taşıyıcı aracılı iyon taşınması, yokuş aşağı bir pH gradyanına bağlanır (Niu *et al.* 1995).



Şekil 5. Stigmasterolün fonksiyonlarının şematik gösterimi ve bitki hücrelerindeki sinyalleşme rolleri- Stigmasterol biyosentezi gelişim, abiyotik stres, gravitümlasyon, patojen saldırısı sırasında ve absisik asit (ABA), metil jasmonat (MeJA), salisilik asit (SA), kalsiyum (Ca^{2+}) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi sinyal moleküllerine yanıt olarak ortaya çıkar. Stigmasterol, ROSY1'e bağlanır ve gravitropik yanıtı açar. Stigmasterol, plazma membranında pH ve elektrokimyasal gradyan oluşturmak için H^+ -ATPaz'ı aktive eder. pH gradyanı, tuzluluk stresine uyum sağlamak için Na^+ 'ı dışlamak için Na^+/H^+ değişiricinin aktivasyonuna yol açar. Ayrıca, iyon homeostazı, düşük pH'a adaptasyon, düşük fosfor ve abiyotik stres için H^+ -ATPaz aktivitesi gereklidir. Stigmasterolün eksojen uygulaması, tanımlanamayan bir sterol sensörü (stigma) yoluyla büyümeyi ve sterol homeostazını etkiler (Aboobucker and Suza 2019).

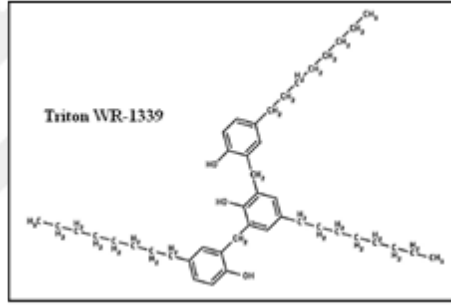
Tyloxapol (Triton WR-1339)

Tyloxapol (TY), birçok hayvanda akut hiperlipidemiği indüklemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. TY, katabolize edici enzimleri sterol sensörü (stigma) ve lesitin kolesterol asetil transferazı (LCAT) inhibe eden dolaşım lipoproteinlerinde yapısal modifikasyonlara neden olan yüzey aktif madde veya kimyasal ajan olarak işlev görür (Friedman and Bayer

1957). Hiperlipidemi indükleyici bir ajandır. TY, lipazları baskılar ve karaciğer dışı dokularda lipoprotein alımını bloke ederek kandaki lipid seviyesinin artmasına neden olur (Kellner and Correll 1951).

Noniyonik bir deterjan olan TY, doğal veya kimyasal ilaçları taramak için hayvan modellerinde akut hiperlipidemiye indüklemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Schurr *et al.* 1972). Esas olarak Tyloxapol lipoprotein lipaz aktivitesini inhibe eder, bu da çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), trigliseritlerin birikmesine neden olur ve plazmada HDL-K üretimini azaltır (Janicki and Aron 1962; Zarzecki *et al.* 2014).

TY'nin plazmadaki trigliseritlerle, enzimler (lipoprotein lipaz) tarafından hidroliz oranını azaltarak ve böylece ekstra hepatik dokular tarafından dolaşımdan emilimini engelleyecek şekilde ilişkili olduğuna inanılmaktadır (Hall *et al.* 2000). Ayrıca, TY'nin sıçanlara enjeksiyonu, kanda yüksek kolesterol ve trigliserit seviyelerine yol açarak VLDL-c'nin karaciğer tarafından salgılanmasını artırır (Khanna *et al.* 2002).



Şekil 6. Triton WR-1339'un kimyasal yapısı.

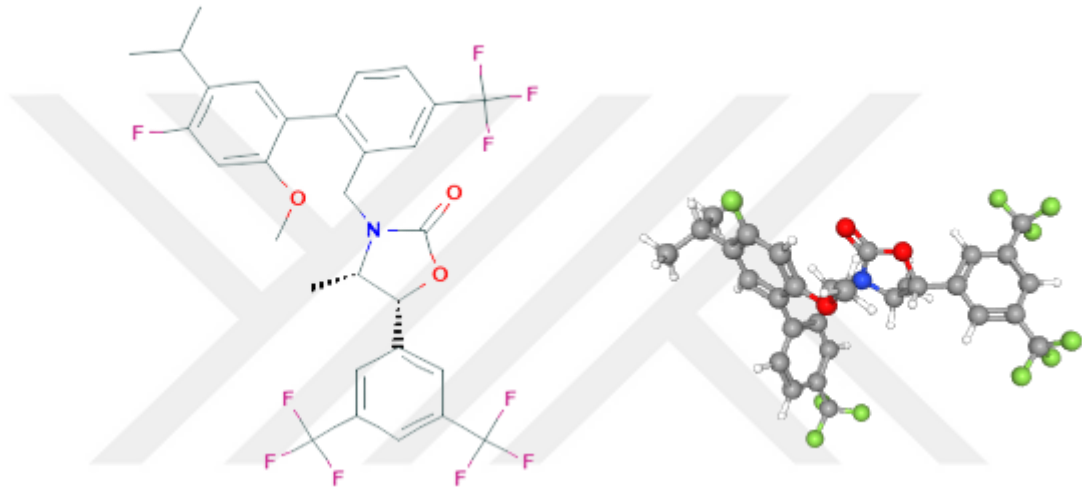
***Centranthus longiflorus* Türü**

Centranthus longiflorus; Plantae Aleminde, Tracheophyta Şubesinde, Magnoliopsida Sınıfında, Dipsacales takımında ve Valerianaceae Familyasında yer almaktadır. Valerianaceae familyasının 350 türü bulunmaktadır ve yüksek rakımlı dağ bölgelerinde yetişmektedir (Bell and Donoghue 2005).

Türkiye'de kırmızı kediotu olarak bilinen *C. longiflorus* türü, dünyada Akdeniz bölgesine (Türkiye, Suriye, İtalya, Filistin ve Lübnan) endemiktir (Makki *et al.* 2015). Yapılan çalışmalarda *C. longiflorus*'un antioksidan ve enzim inhibitör özelliklerine sahip olduğu ortaya konmuştur. Yapılan bir çalışmada *C. longiflorus* bitkisinde α -amyrin ve β S aynı anda belirlenmiştir. Bu bitkilerin özellikle şeker hastalığının tedavisi için ilaç geliştirilmesine yönelik tavsiyeler bulunmaktadır (Aşkın vd 2018).

Anacetrapib

Anacetrapib, CETP inhibitörü olarak hiperlipidemi tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Anacetrapib lipoproteinler arasındaki kolesterol ester (CE) transferine heterotipik ve homotipik olarak aracılık eder ve Faz 3 klinik çalışmaları devam etmektedir. HDL-K'yı arttırıp ve LDL-K'yı düşürerek yararlı etkiler göstermiştir. Anacetrapib, CETP inhibitörlerinin torcetrapib serisine aittir, fakat torcetrapibin aksine kardiyovasküler etkileri bulunmamaktadır. Anacetrapib, CETP'nin transfer işlevlerini bloke ederek HDL'de belirgin bir artış, LDL kolesterolünde azalma gibi olumlu bir plazma lipid profili sağlar (Goldberg and Hegele 2012).



Şekil 7. Anacetrapib'in kimyasal yapı gösterimi (2D yapı), kristal yapı gösterimi. (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11556427#section=2D-Structure>)

MATERYAL VE METOT

Materyal

Deney hayvanlarının hazırlanması.

Bu çalışma, 14.08.2017 tarih ve 42190979-000-E.1700224647 sayılı, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi etik kurulunun onay kararı ile gerçekleştirildi. Bu çalışmada toplam 48 tane Wistar ratları (250 - 350 g) kullanıldı. Ratlar, 12 saat aydınlık/karanlık döngüde deney başlangıcına kadar yiyecek ve suya serbest erişim ile oda sıcaklığında (22 ± 2 °C) ve polikarbonatlı kafeslerin içerisinde tutuldu. Hayvanları birbirine yakın ağırlığa sahip olacak şekilde 8 grup (I-VIII) oluşturuldu (n=6). Hayvanlara gerçekleştirilen uygulamalar ulusal kılavuzlarda belirtilen kurallara göre gerçekleştirildi (Cınar vd 2019). 12 saat boyunca aç kalan ratlara deneysel prosedürler uygulandı. Tüm uygulama gruplarında muameleler yapıldıktan 24 saat sonra anestezi gerçekleştirildi. Kan ile ilgili parametreleri çalışmak için kan numuneleri alındı. Daha sonra karaciğer ve böbrek dokuları alınarak bir süre -20 derecede bekletilip, süre bitiminde -80 derecede muhafaza edildi.

Uygulama grupları.

Çalışmada kullanılacak ratların ağırlıkları deneye başlamadan önce ölçüldü ve benzer ağırlık değerlerine sahip ratlar aynı gruplarda yer alacak şekilde sekiz gruba ayrıldı (n= 6). Tablo 1’de gruplar ve gruplardaki ratlara deneyler sırasında uygulanacak olan prosedürler gösterilmiştir.

Tablo 1. Gruplar ve Gruplardaki Ratlara Deneyler Sırasında Uygulanan Prosedürler.

Gruplar	Grup özel adı	Uygulama prosedürü
I	Sağlıklı (Negatif kontrol)	Fizyolojik su [2,5 mL/kg, intra peritoneal (i.p)]
II	<i>C. longiflorus</i> (CL)	Fizyolojik su (2,5 mL/kg, i.p) uygulamasından 30 dakika önce bitki özütü [150 mg/kg, oral doz (o.d)] alan grup.
III	β - Sitosterol (β S)	Fizyolojik su (2,5 mL/kg, i.p) uygulamasından 30 dakika önce β -Sitosterol (% 0,4, o.d) alan grup.
IV	Anacetrapib (Pozitif kontrol) (ACP)	Fizyolojik su (2,5 mL/kg, i.p) uygulamasından 30 dakika önce anacetrapib (0,2 mg/mL, 2,5 mL/kg, o.d) alan grup.
V	Tyloxapol (Pozitif kontrol) (TY)	Tyloxapol (400 mg/kg, 2,5 mL/kg, i.p) uygulamasından 30 dakika önce fizyolojik su alan grup.

VI	<i>C. longiflorus</i> + Tyloxapol (CL + TY)	Tyloxapol (400 mg/kg, 2,5 mL/kg, i.p) uygulamasından 30 dakika önce bitki özütü (150 mg/kg, o.d) alan grup
VII	β - Sitosterol + Tyloxapol (β S + TY)	Tyloxapol (400 mg/kg, 2,5 mL/kg, i.p) uygulamasından 30 dakika önce β - Sitosterol (% 0,4, o.d) alan grup.
VIII	Anacetrapib + Tyloxapol (ACP + TY)	Tyloxapol (400 mg/kg, 2,5 mL/kg, i.p) uygulamasından 30 dakika önce anacetrapib (0,2 mg/mL, 2,5 mL/kg, o.d) alan grup.

***C. longiflorus*un β -sitosterol içeriğinin tanımlanması.**

Centranthus longiflorus bitkisi Mayıs ve Temmuz 2019 tarihlerinde Erzurum'un Tortum ilçesi'nden toplandı (Şekil 8). Türün taksonomik tanımlaması Richardson (1975) 'a göre yapıldı. Bitki materyali uygun laboratuvar şartlarında (güneş almayan ve nemsiz bir ortamda) 72 saat kurumaya bırakıldı. Bitkiden etanol ekstraksiyonu Kotan ve arkadaşlarına (2010) göre yapıldı. Bu metotta, 100 g kurutulmuş bitkiden alınarak üzerine 200 mL etanol olacak şekilde bir cam kavanoz içerisinde 72 saat çalkalamaya bırakıldı. Süre tamamlandığında örnek bir filtreden geçirilerek süzülde. Daha sonra bir evaporatör kullanarak etanol ortamdan uzaklaştırıldı. Böylece kuru ekstrakt elde edildi. Ratlara uygulama için 150 mg/kg'lık dozlarda uygulama çözeltisi hazırlandı ve uygulama gruplarında her bir hayvana 1 mL gavaj yoluyla verildi (Zengin vd 2016).



Şekil 8. *C. longiflorus* bitkisi.

Beta-Sitosterol (β S) uygulaması.

β S etken maddesi Santa Cruz Biotechnology (ABD) firmasından satın alındı. Bu çalışmada, ratların diyetinde β S %0,4 oranında olacak şekilde ayarlandı (Lauer and Fontanarosa 2001). Ayrıca, β S'nin sulu solüsyonunu hazırlamak için %0,5 (w/v) CMC (Carbonylmethylcellulose) kullanıldı. Örnek 30 dakika 40 °C'de sonikasyona tabi tutuldu.

Tyloxapol (Triton WR-1339) uygulaması (Hiperkolesteroleminin oluşturulması).

Tyloxapol (Triton WR-1339), Santa Cruz Biotechnology (ABD) firmasından satın alındı. 12 saat süreyle aç bırakılmış ratlara Tyloxapol'un (2.5 mL/kg) intraperitoneal enjeksiyonuyla deneysel olarak hiperkolesterolemi oluşturuldu (Zarzecki *et al.* 2014). Tyloxapol uygulanan ratlar 24 saat sonra hiperkolesterolemik olarak elde edilmiş oldu.

Anacetrapib uygulaması.

Anacetrapib ilacı MedChem Express (ABD) firmasından satın alındı. Anacetrapib ilacının uygulaması, 12 saat aç bırakılmış ratlarda anacetrapibin (0,2 mg/mL, 2,5 mL/kg, o.d) gavaj yolu ile verilmesiyle yapıldı (Tan *et al.* 2010).

Metot

Anti-hiperlipidemik Çalışma.

Anti-hiperlipidemik çalışmalar için tüm uygulama gruplarında muameleler yapıldıktan 24 saat sonra ratların kardiyak kan numuneleri alındı. +4 °C'de 10 dakika ve 4000 rpmde santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen plazmalar analiz yapılıncaya kadar -80 °C' de muhafaza edildi. Çalışmada Toplam Kolesterol (TK), Trigiserit (TG) ve Düşük Densiteli Lipoprotein Kolesterol (LDL-K) değerleri ölçüldü. Ratların plazmasındaki LDL-K, TK ve TG değerlerinin belirlenmesi için Beckman Coulter AU analiz cihazında enzimatik renk testi kullanıldı.

Dokuların toplanması ve homojenizasyon işlemleri.

Her bir ratın toraksı dikey olacak şekilde açıldı. Uzman bir ekip hayvanların karaciğer ve böbreklerini alarak özenle gruplar halinde paketlenildi. Alınan örnekler sıvı azota maruz bırakıldıktan sonra -80 °C'ye kaldırıldı. Dokuların homojenizasyon işlemi için ayrı gruplar halinde -80 °C'de tutulan dokuların +4 °C'ye alınması ile başladı. Ratların karaciğer ve böbrek dokularından eşit olacak şekilde alınan doku parçaları bir havan içerisinde makroparçalamaya

maruz bırakıldı. Bu suretle ayrı ayrı ayrılan dokuların homojenik karışması sağlandı. Daha sonra hassas terazi yardımıyla 0,2 g doku tartıldı ve ayrı ayrı ependorf tüplerine alınarak üzerine belli büyüklükte homojenat boncukları yerleştirildi. Üzerine bir litrelik fosfat tamponu; pH=7.2, 50 mM ilave edildi. Homojenizasyon cihazında 4000 rpm de 4 döngü, 1 dk çalkalama, 10 sn bekleme olacak şekilde muamele edildi. En sonunda 13.000 rpm de +4 °C'de 30 dk süreyle santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Süpernatant alınarak daha sonra yapılacak çalışmalar için -80 °C'ye kaldırıldı.

Histopatolojik İncelemeler.

Her karaciğer ve böbrekten bir parça doku 24 saat formalin solüsyonunda (% 10) saklandı. Daha sonra numuneler musluk suyu kullanılarak yıkandı ve dehidrasyon için metil, etil ve saf etil seyreltileri uygulandı. Örnekler ksilen içinde saflaştırıldı ve 24 saat sıcak hava fırınında 56 °C'de parafine gömüldü. Parafin balmumu doku blokları, bir kızak mikrotomuyla 4 µm kalınlığında porsiyonlama için hazırlandı. Elde edilen doku kısımları, cam slaytlar üzerinde biriktirildi, parafinden arındırıldı ve rutin inceleme için hematoksilin ve eozin boyası ile boyandı. Ardından inceleme ışık mikroskobu Olympus BX53 model UIS 2 optik sistemi ile yapıldı. Numuneyi değerlendirmek için en az beş mikroskobik alan değerlendirildi. Karaciğer hasarı için kriterler hidropik dejenerasyon, vasküler konjesyon (tıkanıklık) ve sinüzoidal dilatasyon idi. Böbrek hasarı, interstisyel enflamasyon, vasküler konjesyon ve tübüler nekroz dikkate alınarak değerlendirildi. Her örnek, yarı kantitatif olarak yaralanma için bir ölçek (-: yok, +: hafif, ++: orta ve +++: şiddetli) kullanılarak değerlendirildi.

İstatistiksel analizler.

Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 25.0 paket programından yararlanıldı. Önce tanımlayıcı istatistikler hesaplandı. Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Gruplardan elde edilen verilere Varyans Analizi uygulandı. Anlamlı bulunan grup ortalamaları arasındaki farklılıkları ortaya koymak amacıyla çoklu karşılaştırma testlerinden Duncan testinden faydalanıldı. Grup ortalamaları arasındaki istatistiksel olarak en düşük anlamlılık düzeyi için $p < 0.05$ değeri kabul edildi.

ARAŞTIRMA BULGULARI

Biyokimyasal Çalışmalar

Toplam lipit içerikleri.

Toplam lipit içerikleri çalışmasında sekiz ayrı gruba ait TK, TG ve LDL-K düzeyleri belirlendi. Bu gruplara ait sonuçlar Tablo 2’de ve Şekil 9-Şekil 11’de verildi.

Total kolesterol (TK).

TK verileri incelendiği zaman tüm uygulama grupları arasında en yüksek TK seviyesi Tyloxapol (TY)’un tek başına uygulandığı grup olan grup V’de görüldü (319.27 ± 29.73). Bu grupta görülen TK seviyesi tüm uygulama gruplarından istatistiksel olarak önemli ölçüde yüksekti ($p < 0.05$). Bu sonuç pozitif kontrol için kullanılan TY’nin grup V’te kullanılan ratları hiperkolesterolemik yaptığının göstergesidir. Diğer bir pozitif kontrolümüz olan ve kolesterol ilacı olarak da kullanılan ACP’nin tek başına uygulandığı rat grubunda (grup IV) en düşük TK seviyesi ölçüldü (47.44 ± 11.55). Bu sonuç da ACP’nin deney yapılmadan önce beklenen etkisini gösterdiğinin kanıtıdır. Ancak grup IV’de görülen TK seviyesindeki düşüş istatistiksel olarak değerlendirildiğinde grup I, grup II ve grup III’de ölçülen TK değerlerinden çok farklı değildi ($p > 0.05$). Yani uygulama gruplarımızdan ilk dördünü oluşturan kontrol, CL, β S ve ACP grupları TK açısından birbirine yakın sonuçlar ortaya koymuştur. Yine de değerlendirmek gerekirse TK açısından bu dört grup için sıralama $TK_{\text{grup IV}} < TK_{\text{grup II}} < TK_{\text{grup III}} < TK_{\text{grup I}}$ şeklinde oldu. Yani kullandığımız bitki ekstraktının (CL) tek başına uygulandığı grup TK seviyesini neredeyse ilaç grubunda olduğu kadar düşürdü.

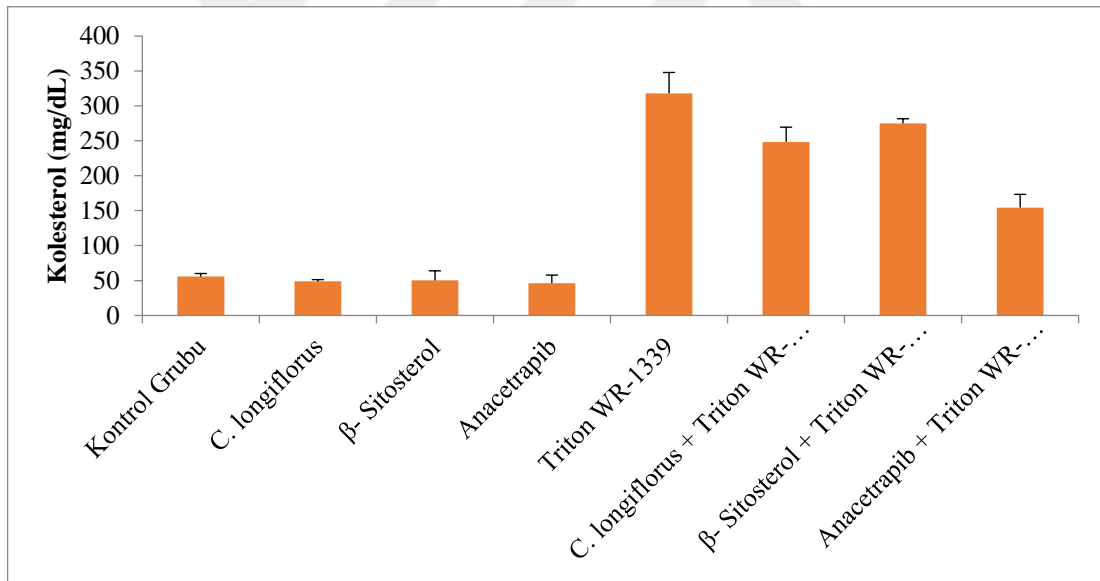
TY’nin sebep olduğu yüksek TK seviyelerini gidermeye yönelik gerçekleştirdiğimiz ve çalışmamızın ikinci aşamasını oluşturan uygulama gruplarından (grup VI, grup VII ve grup VIII) elde edilen veriler incelendiğinde ise TY’nin sebep olduğu yüksek TK seviyelerini her üç grubunda istatistiksel olarak önemli ölçüde düşürdüğü tespit edildi ($p < 0.05$). Bu üç grup kendi arasında kıyasladığı zaman ise grup VI ve grup VII’nin birbirine yakın sonuçlar gösterdiği grup VIII’in ise daha düşük TK seviyesi göstererek bu iki gruptan istatistiksel olarak ayrıldığı gözlemlendi ($p < 0.05$). Çalışmanın sinerjik etki kısmını oluşturan grupların (grup V, VI, VII ve VIII) TK açısından sıralanışı ise şu şekilde oldu ($TK_{\text{grup V}} > TK_{\text{grup VII}} > TK_{\text{grup VI}} > TK_{\text{grup VIII}}$). Yani TY uygulanarak TK seviyesi arttırılmış ratlarda, TK seviyesindeki düşüş, bitki

ekstraktının TY ile birlikte uygulandığı grup da (TY + CL) TY ile birlikte β S'nin uygulandığı gruptan (TY + β S) daha fazla oldu (249.61 ± 21.15). Ancak yine de düşüş grup VIII'de ki kadar keskin değildi.

Tablo 2. Toplam Kolesterol (TK), trigliserid (TG) ve LDL-K'nın Düzeyleri Ortalama \pm SD, n=6) ile Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları.

Gruplar	TK (mg/dL)	TG (mg/dL)	LDL (mg/dL)
I (Kontrol)	56.71 \pm 4.47 ^{d*}	46.58 \pm 10.51 ^{d*}	16.52 \pm 3.28 ^{cd*}
II (CL)	49.94 \pm 2.50 ^d	41.64 \pm 6.88 ^d	14.87 \pm 2.16 ^{cd}
III (β S)	51.27 \pm 13.66 ^d	42.98 \pm 9.91 ^d	14.81 \pm 3.34 ^{cd}
IV (ACP)	47.44 \pm 11.55 ^d	39.64 \pm 5.88 ^d	11.64 \pm 1.67 ^c
V (TY)	319.27 \pm 29.73 ^a	1388.98 \pm 182.13 ^a	52.13 \pm 32.92 ^a
VI (CL + TY)	249.61 \pm 21.15 ^b	1159.31 \pm 177.74 ^b	40.13 \pm 29.06 ^{abc}
VII (β S + TY)	275.94 \pm 6.75 ^b	1210.31 \pm 143.51 ^{ab}	27.50 \pm 18.05 ^{abc}
VIII (ACP + TY)	155.61 \pm 18.89 ^c	946.14 \pm 63.47 ^c	42.05 \pm 38.15 ^{ab}

*Aynı harfle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlı değilken ($p > 0.05$), Farklı harflerle gösterilen grup ortalamaları arasındaki farklılık anlamlıdır ($p < 0.05$). (CL: *C. longiflorus*; β S: β - sitosterol; ACP: Anacetrapib; TY: Tyloxapol)



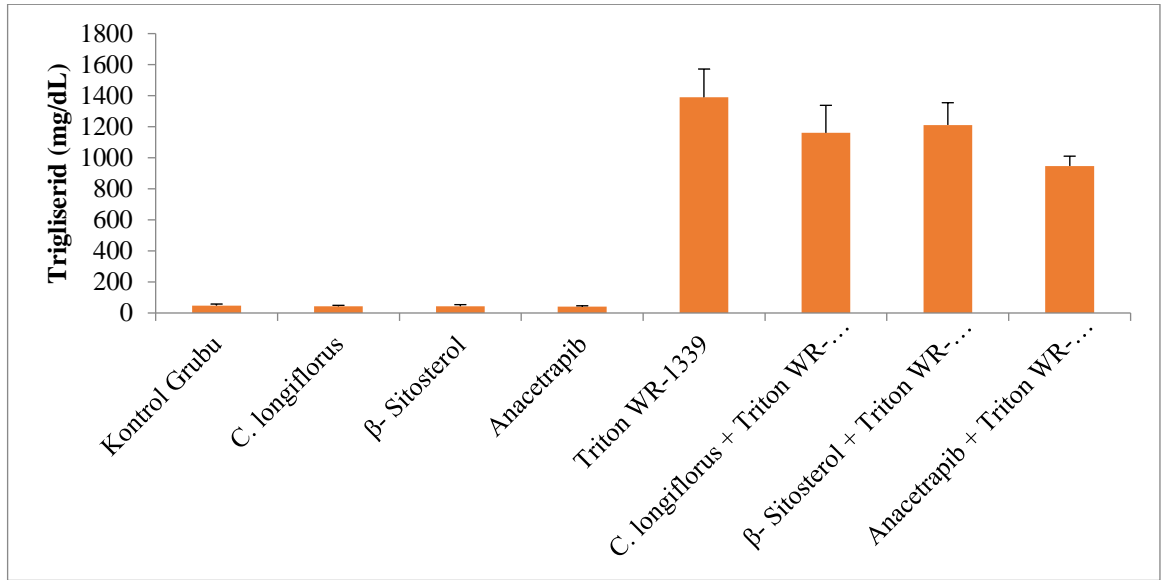
Şekil 9. TK açısından tüm uygulama gruplarından elde edilen sütun grafiği.

Trigliserid (TG).

Bir diğer parametremiz olan TG verileri incelendiğinde TK verileri ile küçük bazı farklılıklar göstermekle birlikte sonuçların paralellik gösterdiği görüldü (Tablo 2). TG verileri incelendiği zaman tüm uygulama grupları arasında en yüksek TG seviyesi Tyloxapol (TY)'un tek başına uygulandığı grup olan grup V'de görüldü (1388.98 ± 182.13). Bu grupta görülen TG seviyesi tüm uygulama gruplarından istatistiksel olarak önemli ölçüde yüksekti ($p < 0.05$). Bu sonuç pozitif kontrol için kullanılan TY'nin grup V'te kullanılan ratları hiperkolesterolemik

yaptığının bir başka göstergesidir. Diğer bir pozitif kontrolümüz olan ACP'nin tek başına uygulandığı rat grubunda (grup IV) en düşük TG seviyesi ölçüldü (39.64 ± 5.88). Bu sonuç da ACP'nin deney yapılmadan önce beklenen etkisini gösterdiğinin kanıtıdır. Ancak grup IV'de görülen TG seviyesindeki düşüş istatistiksel olarak değerlendirildiğinde grup I, grup II ve grup III'de ölçülen TG değerlerinden TK değerlerindeki gibi çok farklı değildi ($p > 0.05$). Yani uygulama gruplarımızdan ilk dördünü oluşturan kontrol, CL, β S ve ACP grupları TG açısından birbirine yakın sonuçlar ortaya koymuştur. Yine de değerlendirmek gerekirse TG açısından bu dört grup için sıralama $TG_{\text{grup IV}} < TG_{\text{grup II}} < TG_{\text{grup III}} < TG_{\text{grup I}}$ şeklinde oldu. Yani kullandığımız bitki ekstraktının (CL) tek başına uygulandığı grup TG seviyesini neredeyse ilaç grubunda olduğu kadar düşürdü. Hem TK hem de TG için değerlendirildiğinde bitki ekstraktının etken madde olarak kullanılan β -sitosterole göre daha etkili bir anti-kolesterolomik etki gösterdiği değerlendirildi.

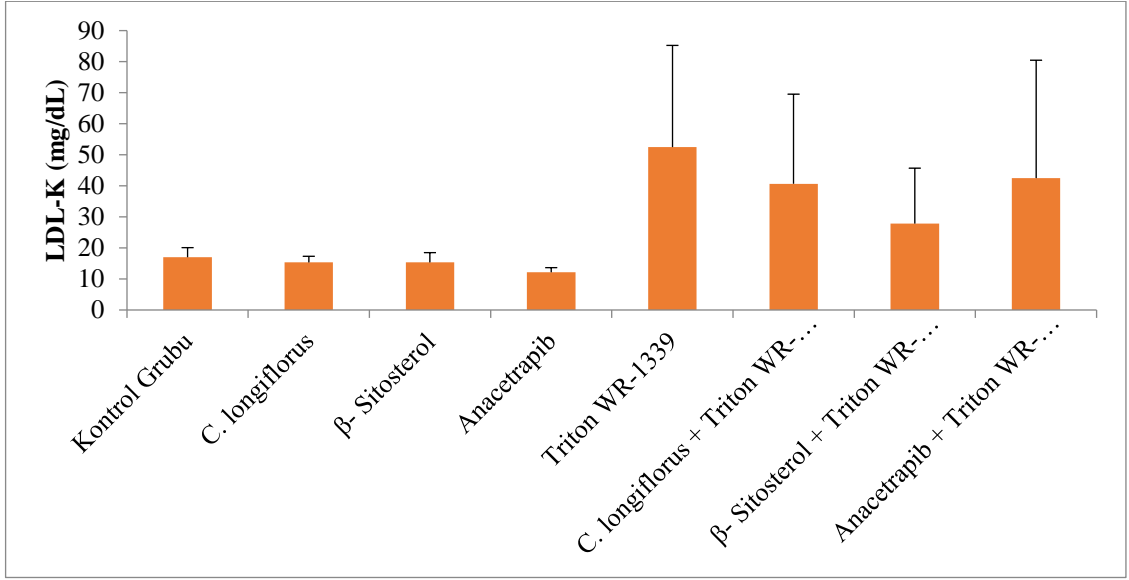
TY'nin sebep olduğu yüksek TG seviyelerini gidermeye yönelik gerçekleştirdiğimiz ve çalışmamızın ikinci aşamasını oluşturan uygulama gruplarından (grup VI, grup VII ve grup VIII) elde edilen veriler incelendiğinde ise TY'nin sebep olduğu yüksek TG seviyelerini her üç grubunda istatistiksel olarak önemli ölçüde düşürdüğü tespit edildi ($p < 0.05$). Bu üç grup kendi arasında kıyasladığı zaman ise grup VI ve grup VII'nin birbirine yakın sonuçlar gösterdiği grup VIII'in ise daha düşük TG seviyesi göstererek bu iki gruptan istatistiksel olarak ayrıldığı gözlemlendi ($p < 0.05$). Çalışmanın sinerjik etki kısmını oluşturan grupların (grup V, VI, VII ve VIII) TG açısından sıralanışı ise şu şekilde oldu ($TG_{\text{grup V}} > TG_{\text{grup VII}} > TG_{\text{grup VI}} > TG_{\text{grup VIII}}$). Yani TY uygulanarak TG seviyesi arttırılmış ratlarda, TG seviyesindeki düşüş, bitki ekstraktının TY ile birlikte uygulandığı grup da (TY + CL) TY ile birlikte β S'nin uygulandığı gruptan (TY + β S) daha fazla oldu (1159.31 ± 177.74). Ancak yine de düşüş grup VIII'de ki kadar keskin değildi (946.14 ± 63.47).



Şekil 10. TG açısından tüm uygulama gruplarından elde edilen sütun grafiği.

LDL-Kolesterol (LDL-K).

Tüm uygulama gruplarında LDL-K düzeylerinde meydana gelen değişiklikler Tablo 2 ve şekil 11’de gösterildi. CL, βS ve ACP’nin tek başına uygulandığı gruplardan elde edilen LDL-K düzeyleri sağlıklı kontrol grubu verisi ile kıyaslandığında istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$) azalışlar görülürken, TY ile indüklenen ratlarda (grup V) LDL-K düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir artış (52.13 ± 32.92) tespit edildi ($p < 0.05$). Sinerjik etkinin araştırıldığı çalışmanın ikinci aşamasında ise her üç grupta da istatistiksel olarak anlamlı düşüşler görüldü ($p < 0.05$). Özellikle βS + TY grubu (grup VII) LDL-K düzeyini istatistiksel olarak en çok düşüren grup oldu. Öyleki bu düşüş, ACP + TY grubunun (grup VIII) LDL-K üzerindeki etkisinden daha fazlaydı. Sonuç olarak LDL-K seviyesini düşürme sırası grup VII > grup VI > grup VIII olarak belirlendi (şekil 11).



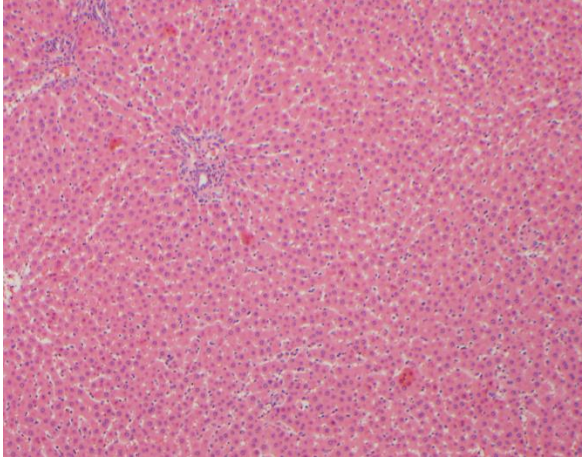
Şekil 11. LDL-K açısından tüm uygulama gruplarından elde edilen sütun grafiği.

Histopatolojik Çalışmalar

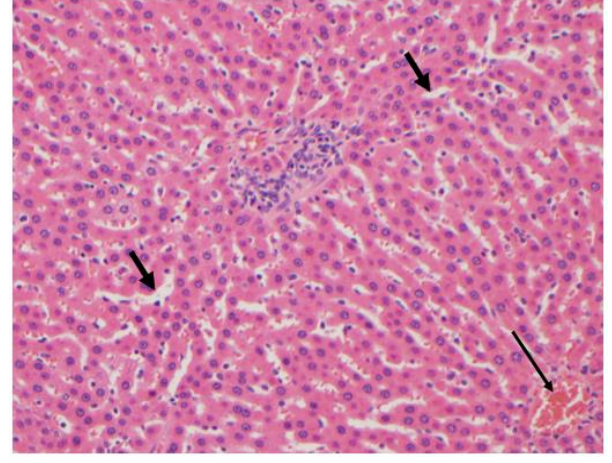
Çalışmamızın histopatolojik kısmını erkek ve dişi bireylerde ayrı ayrı olmak üzere ratların karaciğer ve böbrek dokuları kullanılarak gerçekleştirildi.

Erkek Ratlarda Karaciğer Dokusu Üzerine Histopatolojik Çalışmalar.

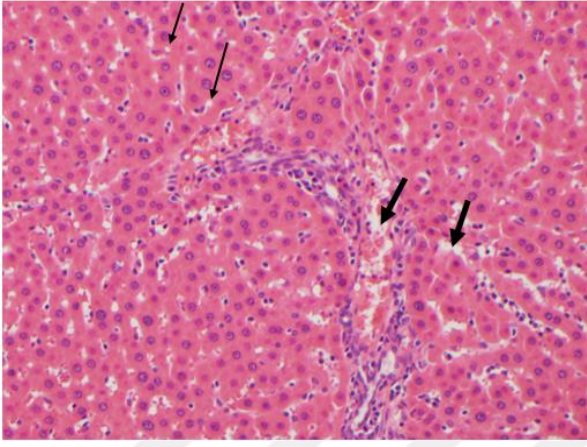
Çalışmamızın başlangıcında belirlediğimiz uygulama gruplarımızdan elde edilen sekiz ayrı gruba ait erkek ratların karaciğer dokularından uygun şartlarda kesitler alınarak histopatolojik çalışmalar yürütüldü. Şekil 12’de CL, βS ve ACP nin tek başlarına uygulandığı çalışmaya ait görüntüler verildi. Şekil 13’de ise TY, CL+TY, βS+TY ve ACP+TY uygulamalarına ait görüntüler verildi.



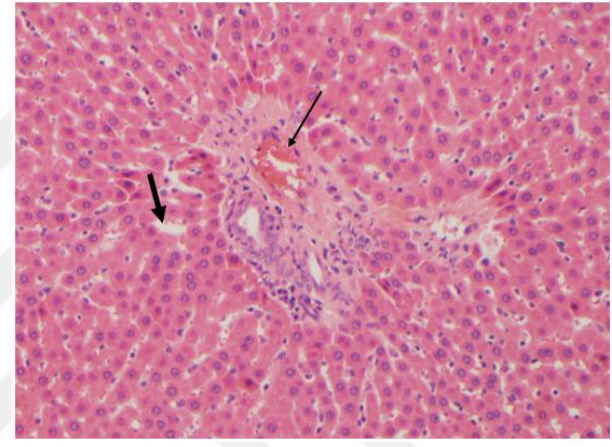
a) Karaciğer, erkek kontrol grubu (H&E x100)



b) CL grubu (H&E x 200)

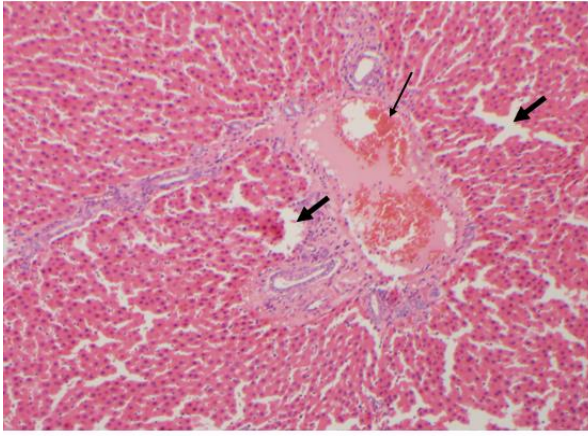


c) βS grubu (H&E x 200)

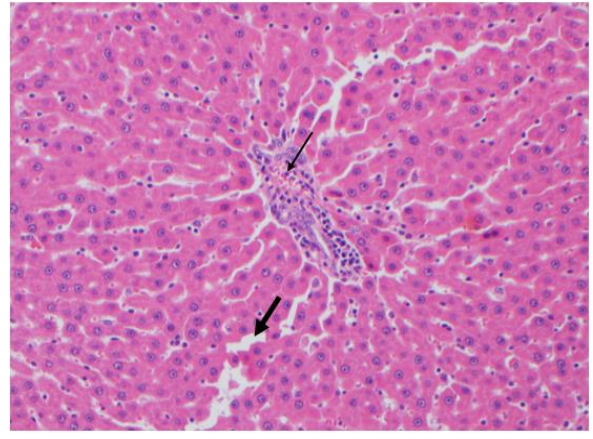


d) ACP grubu (H&E x 200)

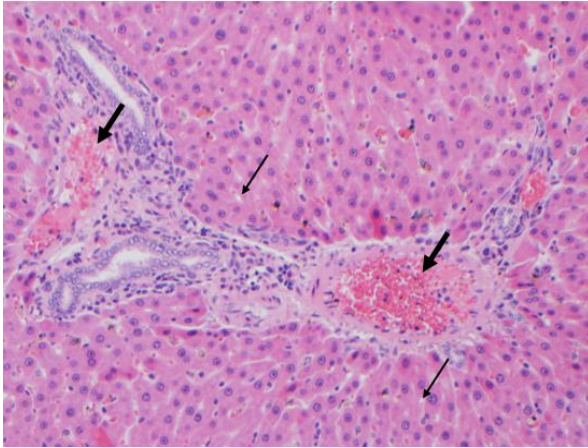
Şekil 12. Erkek ratlarda CL, βS ve ACP'nin karaciğer dokusu üzerine etkileri- **a)** Erkek karaciğer, kontrol grubu; **b)** CL grubu: hafif karaciğer hasarı (hafif tıkanıklık-ince ok ve sinüzoidal dilatasyon-kalın oklar); **c)** βS grubu: orta derecede karaciğer hasarı (mikro damlacıklar ile fokal yağ değişikliği-ince oklar, orta derecede tıkanıklık ve sinüzoidal dilatasyon-kalın oklar); **d)** ACP grubu: hafif karaciğer hasarı (hafif tıkanıklık-ince ok ve sinüzoidal dilatasyon-kalın ok).



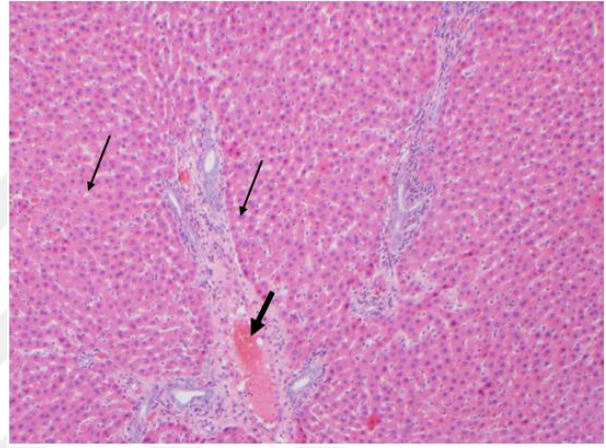
e) TY grubu (H&E x 200)



f) CL + TY grubu (H&E x 200)



g) βS + TY grubu (H&E x 200)



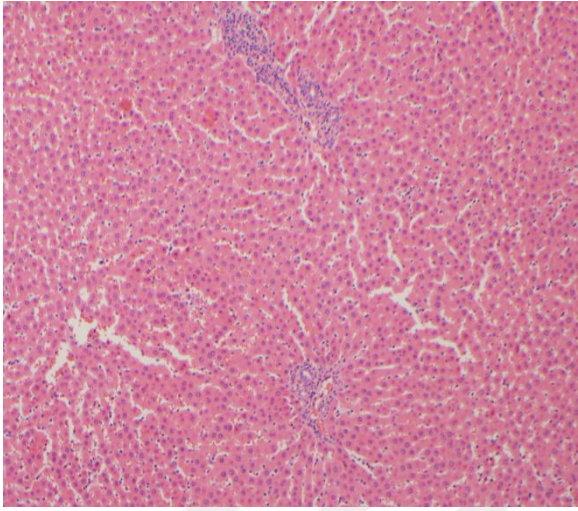
h) ACP + TY grubu (H&E x 200)

Şekil 13. Erkek ratlarda TY, CL+TY, βS+TY ve ACP+TY'nin karaciğer dokusu üzerine etkileri- e) TY grubu: ağır karaciğer hasarı (belirgin tıkanıklık-ince ok ve sinüzoidal dilatasyon-kalın oklar); f) CL + TY grubu: hafif karaciğer hasarı (hafif tıkanıklık-ince ok ve sinüzoidal dilatasyon-kalın ok). Hepatositlerde yağ değişikliği yoktur; g) βS + TY grubu: orta derecede karaciğer hasarı (mikro damlacıklar ile fokal yağ değişikimi - ince oklar ve orta derecede tıkanıklık kalın oklar); h) ACP + TY grubu: orta derecede karaciğer hasarı (mikro damlacıklar ile fokal yağ değişikimi - ince oklar ve orta derecede tıkanıklık kalın oklar).

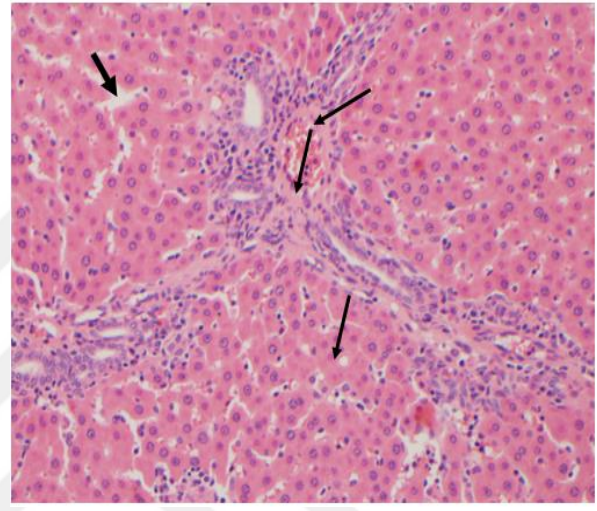
Şekil 12 ve şekil 13'de gösterilen veriler incelendiğinde, CL ve ACP'nin tek başına uygulandığı gruplar olan grup II ve grup IV erkek ratlarda hafif karaciğer hasarı olduğu tespit edildi. Her iki grupta da bu hafif hasar; biraz tıkanıklık ve sinüzoidal dilatasyon olarak tanımlandı. βS'nin tek başına uygulandığı grup olan grup III'te ise orta derece karaciğer hasarı tespit edildi. Bu grupta oluşan hasar ise mikro damlacıklar ile fokal yağ değişikliği, orta derecede tıkanıklık ve sinüzoidal dilatasyon olarak tanımlandı. Çalışmanın ikinci aşamasını oluşturan ve TY uygulaması sonucu hiperkolesterolemik yapılan erkek ratlara TY ile birlikte sırasıyla CL, βS ve ACP uygulandığında ise TY'nin tek başına uygulandığı grup olan grup V'te görülen ağır hasar CL + TY grubunda (grup VI) hafif karaciğer hasarına; βS +TY grubu (grup VII) ve ACP + TY grubunda (grup VIII) orta karaciğer hasarına dönüştüğü belirlendi. Sonuç olarak erkek ratlarda TY ile bitki ekstraktının birlikte kullanılması karaciğer üzerine en etkili korumayı sağladı.

Dişi Ratlarda Karaciğer Dokusu Üzerine Histopatolojik Çalışmalar.

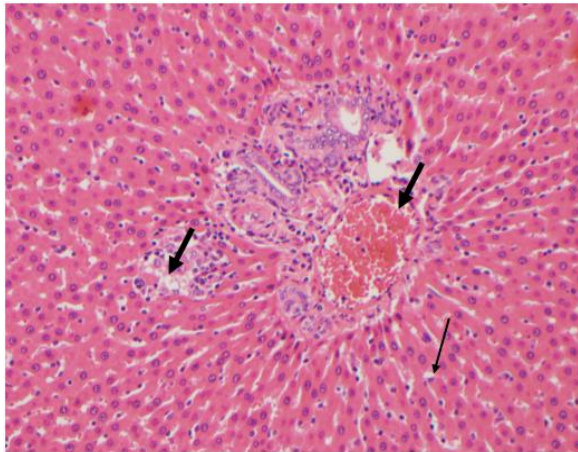
Çalışmamızın başlangıcında belirlediğimiz uygulama gruplarımızdan elde edilen sekiz ayrı gruba ait dişi ratların karaciğer dokularından uygun şartlarda kesitler alınarak histopatolojik çalışmalar yürütüldü. Şekil 14’de CL, β S ve ACP nin tek başlarına uygulandığı çalışmaya ait görüntüler verildi. Şekil 15’de ise TY, CL+TY, β S+TY ve ACP+TY uygulamalarına ait görüntüler verildi.



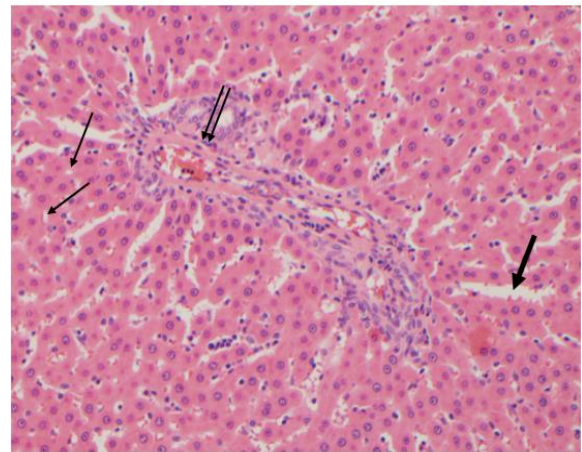
a) Karaciğer, dişi kontrol grubu (H&E x100)



b) CL grubu (H&E x 200)

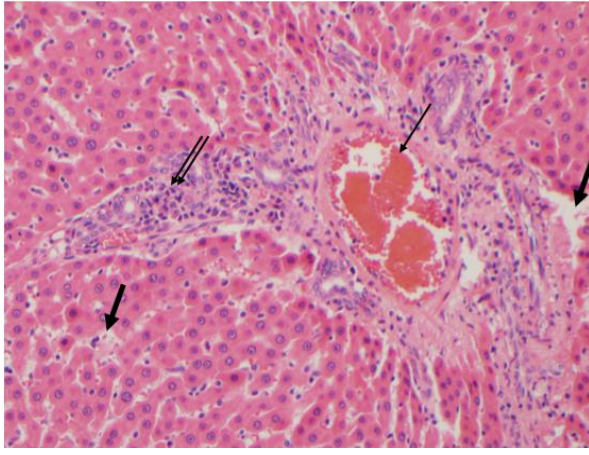


c) β S grubu (H&E x 200)

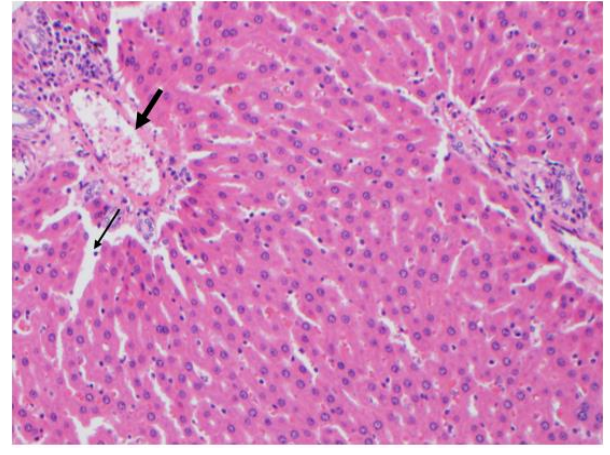


d) ACP grubu (H&E x 200)

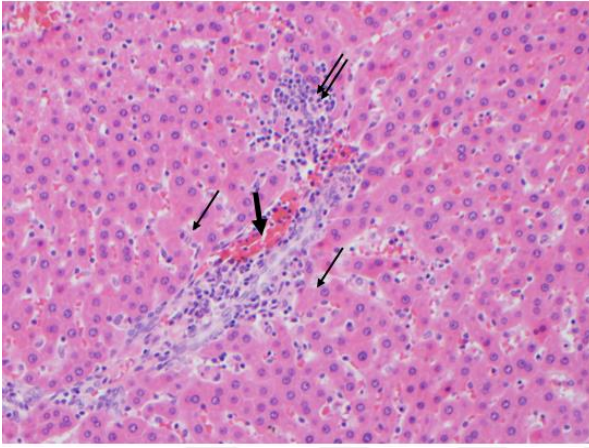
Şekil 14. Dişi ratlarda CL, β S ve ACP’nin karaciğer dokusu üzerine etkileri- **a)** Dişi karaciğer, kontrol grubu; **b)** CL grubu: hafif karaciğer hasarı (hafif tıkanıklık-ince ok ve sinüzoidal dilatasyon-kalın ok); **c)** β S grubu: orta derecede karaciğer hasarı (mikro damlacıklar ile fokal yağ değişimi-ince ok, orta derecede tıkanıklık ve sinüzoidal dilatasyon-kalın ok); **d)** ACP grubu: orta derecede karaciğer hasarı (mikro damlacıklar ile fokal yağ değişimi-ince ok, orta tıkanıklık-çift ok ve sinüzoidal dilatasyon-kalın ok).



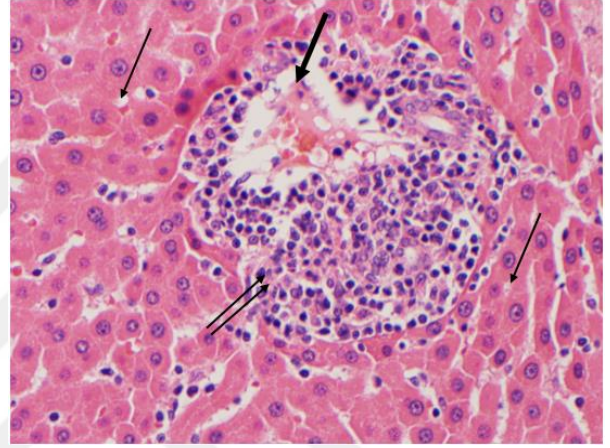
e) TY grubu (H&E x 200)



f) CL + TY grubu (H&E x 200)



g) betaS + TY grubu (H&E x 200)



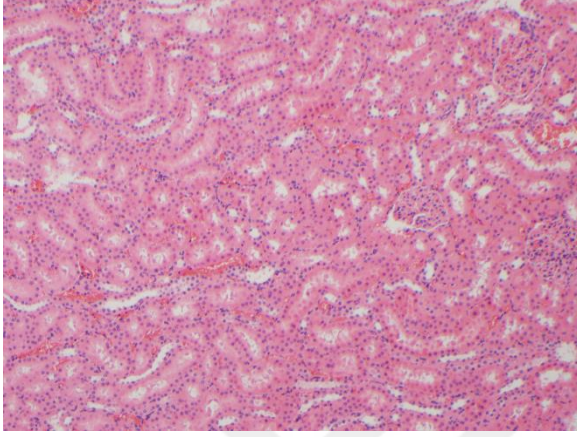
h) ACP + TY grubu (H&E x 200)

Şekil 15. Dişi ratlarda TY, CL+TY, betaS+TY ve ACP+TY'nin karaciğer dokusu üzerine etkileri-
e) TY grubu: şiddetli karaciğer hasarı (belirgin tıkanıklık-ince ok ve sinüzoidal dilatasyon-kalın oklar). Ek olarak, portal inflamasyon (iltihap)-çift ok; **f)** CL + TY grubu: hafif karaciğer hasarı (hafif tıkanıklık-ince ok ve sinüzoidal dilatasyon-kalın ok). Hepatositlerde yağ değişikliği yoktur; **g)** betaS + TY grubu: orta derecede karaciğer hasarı (mikro damlacıklar ile fokal yağ değişikimi - ince oklar ve orta derecede tıkanıklık kalın oklar). Ayrıca hafif portal inflamasyon vardır-çift ok; **h)** ACP + TY grubu: orta derecede karaciğer hasarı (mikro damlacıklar ile fokal yağ değişikimi - ince oklar ve orta derecede tıkanıklık kalın oklar), ek olarak ilaca bağlı, portal inflamasyon.

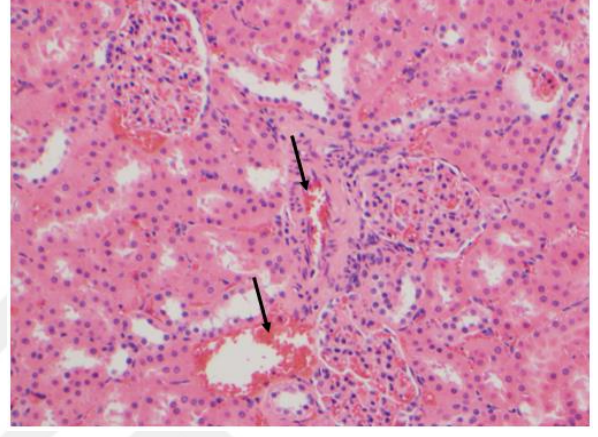
Dişi bireyler için şekil 14 ve şekil 15'de gösterilen veriler incelendiğinde; hem CL, betaS ve ACP'nin tek başına uygulandığı gruplarda hem de sinerjik etkinin çalışıldığı TY + CL, TY + betaS ve TY + ACP gruplarından elde edilen veriler erkek ratlardan elde edilen verilerle benzerlik gösterdi. Aralarındaki tek fark ise ACP'nin tek başına uygulandığı grup olan grup IV' de erkeklerde hafif karaciğer hasarı oluşurken dişi bireylerde ACP uygulamasının orta derecede bir karaciğer hasarı oluşturmasıydı. Dişi bireylerden elde edilen karaciğer dokusuna ait verileri de bitki ekstraktının (CL), etken maddeye (betaS) oranla karaciğer üzerinde daha iyi bir koruma sağladığı rapor edildi.

Erkek Ratlarda Böbrek Dokusu Üzerine Histopatolojik Çalışmalar.

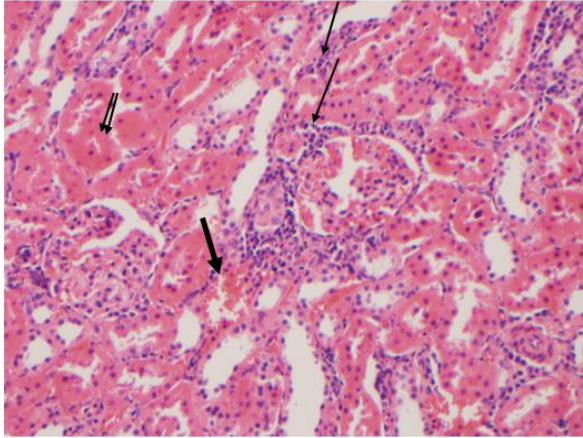
Çalışmamızın başlangıcında belirlediğimiz uygulama gruplarımızdan elde edilen sekiz ayrı gruba ait erkek ratların böbrek dokularından uygun şartlarda kesitler alınarak histopatolojik çalışmalar yürütüldü. Şekil 16'da CL, β S ve ACP nin tek başlarına uygulandığı çalışmaya ait görüntüler verildi. Şekil 17'de ise TY, CL+TY, β S+TY ve ACP+TY uygulamalarına ait görüntüler verildi.



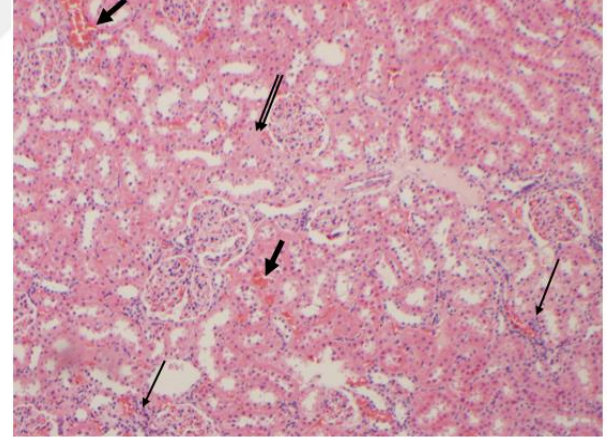
a) Böbrek, erkek kontrol grubu (H&E x100)



b) CL grubu (H&E x 200)

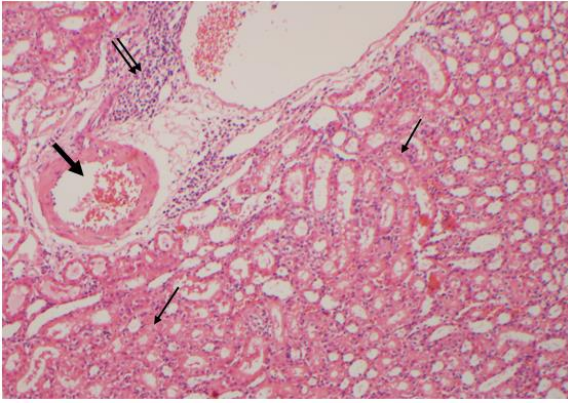


c) β S grubu (H&E x 200)

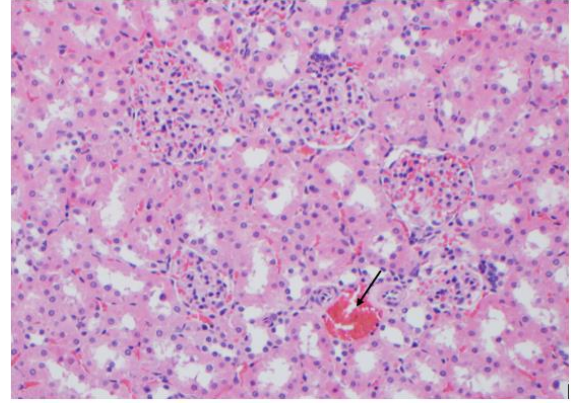


d) ACP grubu (H&E x 200)

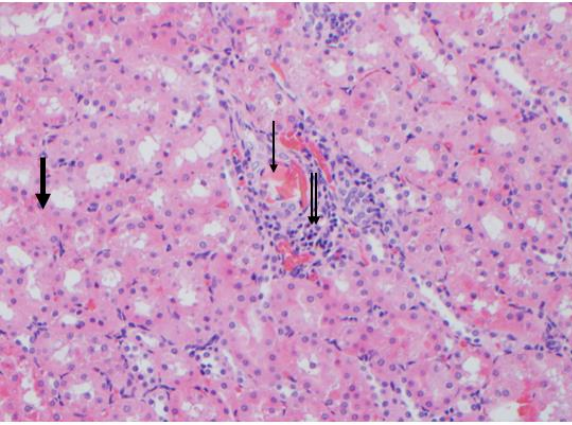
Şekil 16. Erkek ratlarda CL, β S ve ACP'nin böbrek dokusu üzerine etkileri- **a)** Erkek, böbrek kontrol grubu; **b)** CL grubu: hafif böbrek hasarı (sadece hafif tıkanıklık - oklar). İnterstisyel enflamasyon ve tübüler nekroz yoktur; **c)** β S grubu: orta derecede böbrek hasarı (orta derecede tıkanıklık-kalın ok, interstisyel inflamasyon-ince oklar ve tübüler nekroz-çift ok); **d)** ACP grubu: orta derecede böbrek hasarı (orta derecede tıkanıklık-kalın oklar, interstisyel inflamasyon-ince ok ve tübüler nekroz-çift ok).



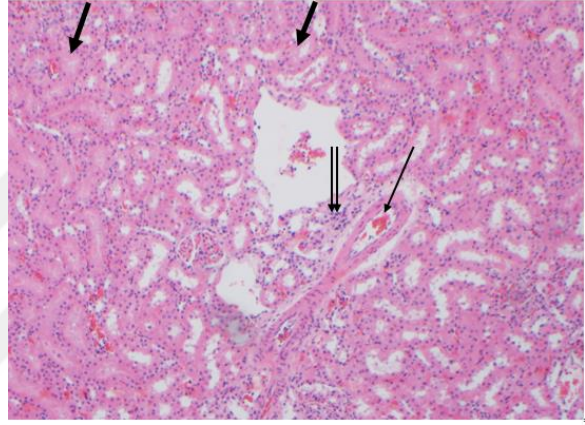
e) TY grubu (H&E x 200)



f) CL + TY grubu (H&E x 200)



g) βS + TY grubu (H&E x 200)



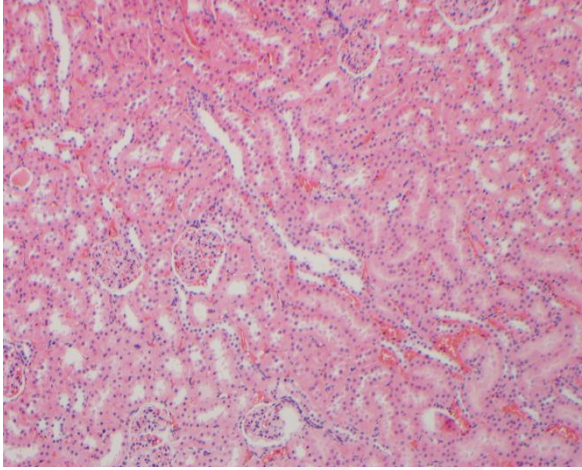
h) ACP + TY grubu (H&E x 200)

Şekil 17. Erkek ratlarda TY, CL+TY, βS+TY ve ACP+TY'nin böbrek dokusu üzerine etkileri-
e) TY grubu: şiddetli böbrek hasarı (belirgin tıkanıklık-kalın ok ve tübüler nekroz-ince ok). Ek olarak, interstisyel inflamasyon-çift ok; **f)** CL + TY grubu: hafif böbrek hasarı (hafif tıkanıklık sadece ok). İnterstisyel enflamasyon ve tübüler nekroz yoktur; **g)** βS + TY grubu: orta derecede böbrek hasarı (orta derecede tıkanıklık-ince ok ve orta derecede tübüler nekroz - kalın ok). Orta derecede interstisyel inflamasyon da vardır-çift ok; **h)** ACP + TY grubu: orta derecede böbrek hasarı (orta derecede tıkanıklık-ince ok ve orta derecede tübüler nekroz - kalın ok). Orta derecede interstisyel inflamasyon da vardır-çift ok.

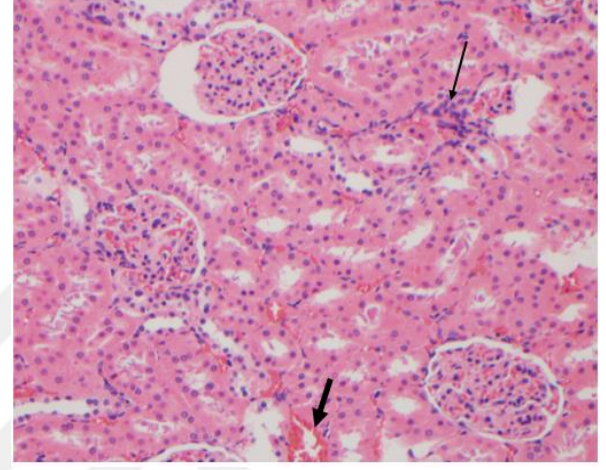
Şekil 16 ve şekil 17'de gösterilen veriler incelendiğinde, CL'nin tek başına uygulandığı grup olan grup II erkek ratlarda hafif böbrek hasarı olduğu tespit edildi. Bu grupta ki hafif hasar; sadece biraz tıkanıklık olarak tanımlandı. βS ve ACP'nin tek başına uygulandığı gruplar olan grup III ve grup IV'de ise orta derece böbrek hasarı tespit edildi. Bu gruplarda oluşan hasarlar ise orta derecede tıkanıklık, interstisyel inflamasyon ve tübüler nekroz olarak tanımlandı. Çalışmanın ikinci aşamasını oluşturan ve TY uygulaması sonucu hiperkolesterolemik yapılan erkek ratlara TY ile birlikte sırasıyla CL, βS ve ACP uygulandığında ise TY'nin tek başına uygulandığı grup olan grup V'te görülen ağır hasar CL + TY grubunda (grup VI) hafif böbrek hasarına; βS +TY grubu (grup VII) ve ACP + TY grubunda (grup VIII) orta böbrek hasarına dönüştüğü belirlendi. Sonuç olarak erkek ratlarda TY ile bitki ekstraktının birlikte kullanılması böbrek üzerine en etkili korumayı sağladı.

Dişi Ratlarda Böbrek Dokusu Üzerine Histopatolojik Çalışmalar.

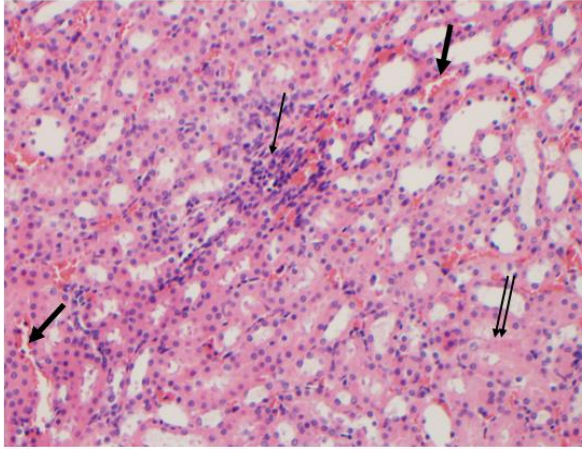
Çalışmamızın başlangıcında belirlediğimiz uygulama gruplarımızdan elde edilen sekiz ayrı gruba ait dişi ratların böbrek dokularından uygun şartlarda kesitler alınarak histopatolojik çalışmalar yürütüldü. Şekil 18’de CL, β S ve ACP nin tek başlarına uygulandığı çalışmaya ait görüntüler verildi. Şekil 19’da ise TY, CL+TY, β S+TY ve ACP+TY uygulamalarına ait görüntüler verildi.



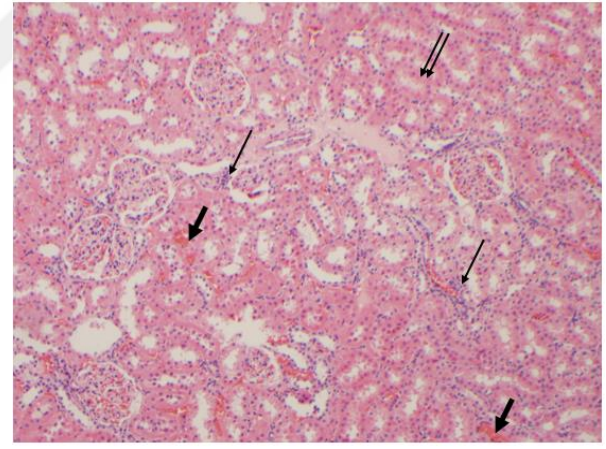
a) Böbrek, dişi kontrol grubu (H&E x100)



b) CL grubu (H&E x 200)

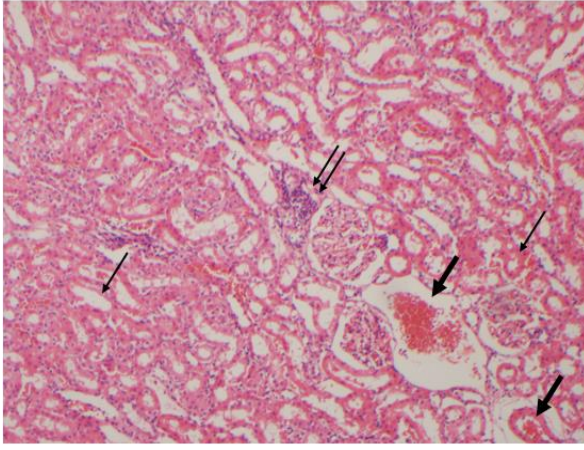


c) β S grubu (H&E x 200)

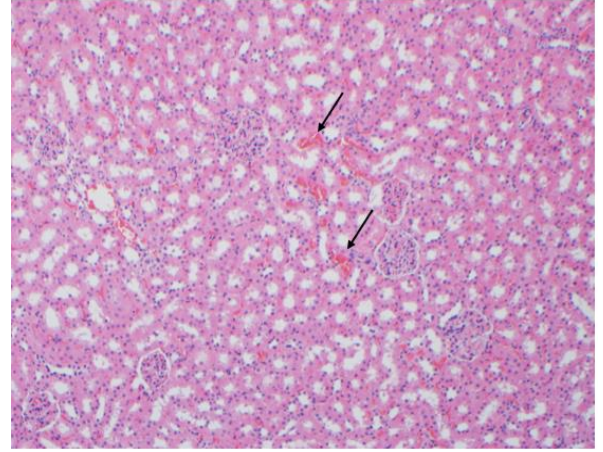


d) ACP grubu (H&E x 200)

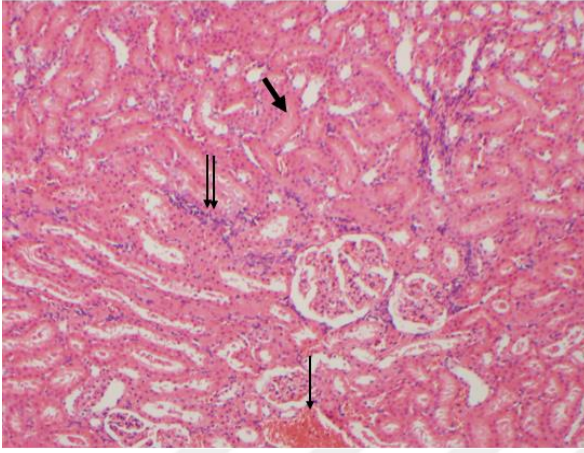
Şekil 18. Dişi ratlarda CL, β S ve ACP’nin böbrek dokusu üzerine etkileri- **a)** Dişi, böbrek kontrol grubu; **b)** CL grubu: hafif böbrek hasarı (hafif tıkanıklık-kalın ok ve interstisyel inflamasyon-ince ok). Tübüler nekroz yoktur; **c)** β S grubu: orta derecede böbrek hasarı (orta derecede tıkanıklık-kalın oklar, interstisyel inflamasyon-ince ok ve tübüler nekroz-çift ok); **d)** ACP grubu: orta derecede böbrek hasarı (orta derecede tıkanıklık-kalın oklar, interstisyel inflamasyon-ince ok ve tübüler nekroz-çift ok).



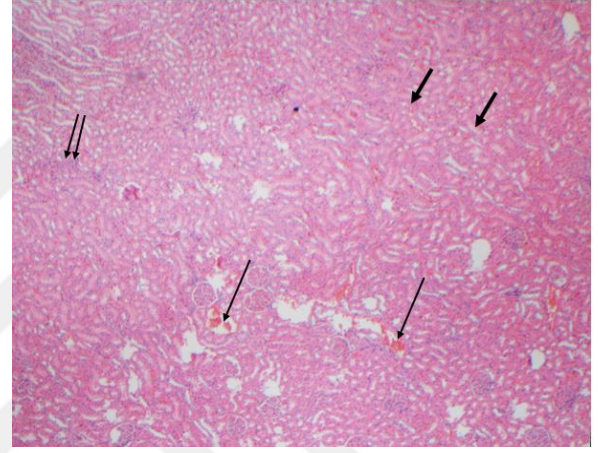
e) TY grubu (H&E x 200)



f) CL + TY grubu (H&E x 200)



g) βS + TY grubu (H&E x 200)



h) ACP + TY grubu (H&E x 200)

Şekil 19. Dişi ratlarda TY, CL+TY, βS+TY ve ACP+TY'nin böbrek dokusu üzerine etkileri- **e)** TY grubu: şiddetli böbrek hasarı (belirgin tıkanıklık-kalın oklar ve tübüler nekroz-ince ok). Ek olarak, interstisyel inflamasyon-çift ok; **f)** CL + TY grubu: hafif böbrek hasarı (sadece hafif tıkanıklık - oklar). İnterstisyel enflamasyon ve tübüler nekroz yoktur; **g)** βS + TY grubu: orta derecede böbrek hasarı (orta derecede tıkanıklık-ince ok ve orta derecede tübüler nekroz - kalın ok). Orta derecede interstisyel inflamasyon da vardır-çift ok; **h)** ACP + TY grubu: orta derecede böbrek hasarı (orta derecede tıkanıklık-ince ok ve orta derecede tübüler nekroz - kalın ok). Orta derecede interstisyel inflamasyon da vardır-çift ok.

Dişi bireyler için şekil 18 ve şekil 19'da gösterilen veriler incelendiğinde; hem CL, βS ve ACP'nin tek başına uygulandığı gruplarda hem de sinerjik etkinin çalışıldığı TY + CL, TY + βS ve TY + ACP gruplarından elde edilen veriler erkek ratlardan elde edilen verilerle benzerlik gösterdi. Dişi bireylerden elde edilen böbrek dokusuna ait verileri de bitki ekstraktının (CL), etken maddeye (βS) oranla böbrek üzerinde daha iyi bir koruma sağladığı tespit edildi.

TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, tyloxapol (TY) ile indüklenen hiperlipidemik ratlarda *C. longiflorus* (CL) bitki ekstraktının ve β -sitosterol (β S) etken maddesinin hipolipidemik etkisinin olup olmadığını, histopatolojik veriler ışığında göstermekti. TY'nin tek başına uygulandığı grupta TK, TG ve LDL-K değerleri kontrol grubuna göre arttığı; CL ve β S'nin tek başına kullanıldığı gruplarda ise bu değerlerin istatistiksel olarak önemli oranda düştüğü tespit edildi ($p<0.05$).

Doğal bileşiklerin veya bitki ekstraktlarının yaygın olarak kullanımları, bu bileşiklerin sahip oldukları hipolipidemik özelliklerinden dolayı hiperlipideminin yol açtığı birçok hastalığı engellemek ve oluşan hastalıkları tedavi etmek amacıyla günümüzde artmaktadır (Walton *et al.* 1999; Ahmad and Beg 2016). Geçmişte yapılmış olan çalışmalar, β -caryophyllene, chrysin ve *Marrubium vulgare* gibi diğer doğal bileşiklerin ve bitki ekstraktlarının, TY tarafından indüklenen ratlarda hiperlipidemi üzerindeki benzer bulguları göstermiştir (Zarzecki *et al.* 2014; Baldissera *et al.* 2017).

Deney hayvanlarının hızlı bir şekilde hiperlipidemik yapılmasında sıklıkla tercih edilen tyloxapol (TY), doğal veya kimyasal hipolipidemik ilaçları tarama araştırmaları için çok önemli avantajlar sunmaktadır. Diğer yöntemlerde hiperlipidemik rat elde edebilmek için yüksek kalorili diyet ile beslenen ratların eldesi en iyimser tahminler ile 90 gün kadar sürmekte ve bu uygulamalar maliyetleri çok arttırmaktadır. TY ile muamele de ise ratlar yaklaşık 24 saat içerisinde hiperlipidemik olmaktadır. TY, kandan dokulara geçen lipoproteinlerin geçişini engelleyerek hiperlipideminin gereği olan lipitlerin (TK, TG, LDL-K) kanda aşırı bir şekilde bulunmasına sebep olur (Goldfarb 1978).

Çalışmamızda TY grubunu oluşturan her bir rata tek bir doz (400 mg/kg, 2,5 mL/kg, i.p) verilmesinden 24 saat sonra total kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserit seviyelerinde sağlıklı kontrol grubuna göre sırasıyla 6, 5 ve 30 kat artış görüldü. Elde edilen sonuçlar, diğer bilim insanlarınca elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir (Harnafi *et al.* 2008; da Rocha *et al.* 2009).

Histopatolojik değerlendirme neticesinde CL ve β S, kontrol gruplarında gözlenmeyen karaciğer ve böbrek hasarlarına yol açtı. Erkek ve dişi ratlarda CL, hafif karaciğer ve böbrek hasarına neden olurken β S, orta düzeyde karaciğer ve böbrek hasarlarına sebebiyet verdi. TY'nin tek başına uygulandığı grupta ise hem erkek hem de dişi ratlarda şiddetli karaciğer ve

böbrek hasarlarına rastlanıldı. TY ile hiperlipidemik yapılan ratlara birlikte uygulanan CL ve β S'nin ise hem erkek hem de dişi ratlarda oluşan şiddetli hasarın genel olarak hafif ve orta derecede karaciğer ve böbrek hasarına evrildiği görüldü. Bulduğumuz bu veriler CL'nin ve β S'nin TY ile oluşturulan hiperkolesterolemisi sırasında oluşan karaciğer ve böbrek hasarına karşı önleyici etkisini göstermektedir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda CL'nin bitki sulu ekstraktlarının antibakteriyel, antioksidan ve enzim inhibitör etkisi gösterilmiştir. CL bitki ekstraktının özellikle süperoksit anyon radikali karşı scavenging aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Çoban vd 2003). Geçmişte gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, CL'nin sulu ekstraktları kolinesteraz enziminin çok iyi bir şekilde inhibisyonuna yol açmıştır (Zengin vd 2016). CL'nin bitki etanol ekstraktlarının *Staphylococcus epidermis*'e karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği (Makki *et al.* 2015) ve CL bitkisinin şeker hastalığının tedavisi için kullanılabileceği önerilmiştir (Askin vd 2018). Yaptığımız literatür çalışmaları göz önüne alındığında CL ile çalışmaların çok sınırlı olduğunu söyleyebiliriz. Bu nedenle gerçekleştirdiğimiz bu çalışma bizden sonra bu bitki ile çalışacak diğer araştırmacılar için önemli bir kaynak niteliğinde olacaktır. Çalışmamız neticesinde CL ile muamelenin hiperlipidemi sırasında karaciğer ve böbrek dokularını koruyabildiğini söyleyebiliriz.

β S'nin kullanıldığı son dönem çalışmalarında β S uygulamasının sıçanlarda genotoksisite ve sitotoksisiteye yol açmadığı bildirilmiştir (Paniagua-Perez *et al.* 2005). Ayrıca β S'nin anti-enflamatuar, anti-mikrobiyal, immüno-modülatör, anti-oksidan, anjiyojenik, anti-kanser ve anti-diyabetik etki gösterdiği rapor edilmiştir (Song *et al.* 2000; Alernany *et al.* 2014). Ancak, β S ile ilgili bildiğimiz bilgiler günümüzde dahi yeterli değildir. β S ile gelecekte yapılacak daha ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

SONUÇ

Özetle, bulgularımız neticesinde, tyloxapol tarafından indüklenen hiperlipidemili ratlarda *Centranthus longiflorus* bitki ekstraktının ve β -sitosterol'ün, TK, TG, LDL-K, artışı azalttığından hipolipidemik etkisinin olduğu, bunun yanısıra histopatolojik olarak hiperlipidemik ratlarda oluşan karaciğer ve böbrek hasarına karşı koruyucu etkisinin olabileceği sonucuna varılmıştır. Bu iki bileşen etkilerini anacetrapib (ACP) ilacında olduğu gibi hepatik CETP aktivitesinin inhibisyonu yoluyla gösterdiklerini düşünmekteyiz. Ayrıca bulgularımız, CL ve β S'nin ratlarda karaciğer ve böbrek dokuları üzerinde koruyucu etkili olduğunu histopatolojik olarak göstermiştir. Bu nedenle hiperlipidemi ile ilişkili hastalıklarda bu iki bileşenin ilaçlarla birlikte tavsiye edilebileceği kanısındayız.

KAYNAKLAR

- Aboobucker, S. I., & Suza, W. P., 2019. Why do plants convert sitosterol to stigmasterol?. *Frontiers in plant science*, 10, 354.
- Ahmad, S., & Beg, Z. H., 2016. Evaluation of therapeutic effect of omega-6 linoleic acid and thymoquinone enriched extracts from *Nigella sativa* oil in the mitigation of lipidemic oxidative stress in rats. *Nutrition*, 32(6), 649-655.
- Alemanly, L., Barbera, R., Alegría, A., & Laparra, J. M., 2014. Plant sterols from foods in inflammation and risk of cardiovascular disease: A real threat?. *Food and Chemical Toxicology*, 69, 140-149.
- Anandhi, R., Thomas, P. A., Geraldine, P., 2014. Evaluation of the anti-atherogenic potential of chrysin in Wistar rats. *Molecular and cellular biochemistry*, 385(1), 103-113.
- Arnqvist, L., Dutta, P. C., Jonsson, L., & Sitbon, F., 2003. Reduction of cholesterol and glycoalkaloid levels in transgenic potato plants by overexpression of a type 1 sterol methyltransferase cDNA. *Plant Physiology*, 131(4), 1792-1799.
- Asami, T., Nakano, T., & Fujioka, S., 2005. Plant brassinosteroid hormones. *Vitamins & Hormones*, 72, 479-504.
- Askin, H., Yilmaz, B., Bakirci, S., Ayar, A., 2018. Simultaneous determination of α -amyrin and β -sitosterol in *Centranthus longiflorus* Stev. Subsp. *longiflorus* Stev and *Iris taochia* Woronow ex Grossh by GC-MS method. *PROGRESS IN NUTRITION*, 20, 209-217.
- Askin, S., Askin H., Bakirci, S., Ayar, A., Erdogan, M. K., Yildiz, M., 2016. Chemical constituents of endemic species grow in Turkey: *Centranthus longiflorus* and its new cholesterol-lowering plant sterol ester: beta-sitosterol. *Febs Journal*, 283: 342-342.
- Awad, A. B., & Fink, C. S. 2000. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *The Journal of nutrition*, 130(9), 2127-2130.
- Baldissera, M. D., Souza, C. F., Grando, T. H., Doleski, P. H., Boligon, A. A., Stefani, L. M., & Monteiro, S. G., 2017. Hypolipidemic effect of β -caryophyllene to treat hyperlipidemic rats. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 390(2), 215-223.
- Bancroft, J. D. and Stevens, A., 1990. Theory and practice of histological techniques. (No.616.07583 T4).
- Bell, C. D., & Donoghue, M. J., 2005. Phylogeny and biogeography of Valerianaceae (Dipsacales) with special reference to the South American valerians. *Organisms Diversity & Evolution*, 5(2), 147-159.
- Benveniste, P., 1986. Sterol biosynthesis. *Annual review of plant physiology*, 37(1), 275-308.
- Benveniste, P., 2002. Sterol metabolism. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 1.
- Bouvier-Navé, P., Berna, A., Noiriel, A., Compagnon, V., Carlsson, A. S., Banas, A., et al., 2010. Involvement of the phospholipid sterol acyltransferase1 in plant sterol homeostasis and leaf senescence. *Plant Physiol.* 152, 107–119. doi: 10.1104/pp.109.145672

- Boutté, Y., & Grebe, M. (2009). Cellular processes relying on sterol function in plants. *Current opinion in plant biology*, 12(6), 705-713.
- Brufau G, Canela MA, Rafecas M. Phytosterols: physiologic and metabolic aspects related to cholesterol-lowering properties. *Nutr Res* 2008;28(4):217-225.
- Bush, P. B., & Grunwald, C., 1972. Sterol changes during germination of *Nicotiana tabacum* seeds. *Plant physiology*, 50(1), 69-72.
- Carland, F. M., Fujioka, S., Takatsuto, S., Yoshida, S., & Nelson, T., 2002. The identification of CVP1 reveals a role for sterols in vascular patterning. *The Plant Cell*, 14(9), 2045-2058.
- Carr, T. P., Cornelison, R. M., Illston, B. J., Stuefer-Powell, C. L., & Gallaher, D. D., 2002. Plant sterols alter bile acid metabolism and reduce cholesterol absorption in hamsters fed a beef-based diet. *Nutrition research*, 22(6), 745-754.
- Chaudhary S, Chandrashekar KS, Pai KSR, Setty MM, Devkar RA, Reddy ND, Shoja MH., 2015. Evaluation of antioxidant and anticancer activity of extract and fractions of *Nardostachys jatamansi* DC in breast carcinoma. *Bmc Complementary and Alternative Medicine*, 15.
- Chávez-Sánchez, L., Espinosa-Luna, J. E., Chávez-Rueda, K., Legorreta-Haquet, M. V., Montoya-Díaz, E., Blanco-Favela, F., 2014. Innate immune system cells in atherosclerosis. *Archives of medical research*, 45(1), 1-14.
- Calpe-Berdiel, L., Escolà-Gil, J. C., & Blanco-Vaca, F., 2009. New insights into the molecular actions of plant sterols and stanols in cholesterol metabolism. *Atherosclerosis*, 203(1), 18-31.
- Chen, Q., Steinhauer, L., Hammerlindl, J., Keller, W., Zou, J., 2007. Biosynthesis of phytosterol esters: identification of a sterol O-acyltransferase in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 145(3), 974-984.
- Cheng, Y., Chen, Y., Li, J., Qu, H., Zhao, Y., Wen, C., Zhou, Y., 2019. Dietary β -Sitosterol improves growth performance, meat quality, antioxidant status, and mitochondrial biogenesis of breast muscle in broilers. *Animals*, 9(3), 71.
- Cheng, Y., Chen, Y., Li, J., Qu, H., Zhao, Y., Wen, C., Zhou, Y., 2020. Dietary β -sitosterol regulates serum lipid level and improves immune function, antioxidant status, and intestinal morphology in broilers. *Poultry science*, 99(3), 1400-1408.
- Child, P., & Kuksis, A., 1986. Investigation of the role of micellar phospholipid in the preferential uptake of cholesterol over sitosterol by dispersed rat jejunal villus cells. *Biochemistry and Cell Biology*, 64(8), 847-853.
- Choe, S., Dilkes, B. P., Gregory, B. D., Ross, A. S., Yuan, H., Noguchi, T., ... & Feldmann, K. A. (1999). The *Arabidopsis* dwarf1 mutant is defective in the conversion of 24-methylenecholesterol to campesterol in brassinosteroid biosynthesis. *Plant physiology*, 119(3), 897-908.
- Choe, S., Dilkes, B. P., Fujioka, S., Takatsuto, S., Sakurai, A., & Feldmann, K. A., 1998. The DWF4 gene of *Arabidopsis* encodes a cytochrome P450 that mediates multiple 22α -hydroxylation steps in brassinosteroid biosynthesis. *The Plant Cell*, 10(2), 231-243.
- Choe, S., Tanaka, A., Noguchi, T., Fujioka, S., Takatsuto, S., Ross, A. S., ... & Feldmann, K.A., 2000. Lesions in the sterol $\Delta 7$ reductase gene of *Arabidopsis* cause dwarfism due to a block in brassinosteroid biosynthesis. *The Plant Journal*, 21(5), 431-443.

- Choi, D., Ward, B. L., & Bostock, R. M., 1992. Differential induction and suppression of potato 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase genes in response to *Phytophthora infestans* and to its elicitor arachidonic acid. *The Plant Cell*, 4(10), 1333-1344.
- Chu, Z., Li, L., Song, L., & Xue, H., 2006. Advances on brassinosteroid biosynthesis and functions. *Chinese Bulletin of Botany*, 23(5), 543.
- Clouse, S. D., 2000. Plant development: a role for sterols in embryogenesis. *Current Biology*, 10(16), R601-R604.
- Clouse, S. D., 2002. Arabidopsis mutants reveal multiple roles for sterols in plant development. *The Plant Cell*, 14(9), 1995-2000.
- Clouse, S. D., 2017. Brassinosteroids. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, 378-385. doi:10.1016/b978-0-12-394807-6.00100-3.
- Cinar I, Sirin B, Aydin P, Toktay E, Cadirci E, Halici I, Halici Z. Ameliorative effect of gossypin against acute lung injury in experimental sepsis model of rats. *Life Sciences*, 2019, 221: 327-334.
- Çoban, T., Çitoğlu, G. S., Sever, B., İşcan, M., 2003. Antioxidant activities of plants used in traditional medicine in Turkey. *Pharmaceutical biology*, 41(8), 608-613.
- Da Rocha, J. T., Sperança, A., Nogueira, C. W., & Zeni, G., 2009. Hypolipidaemic activity of orally administered diphenyl diselenide in Triton WR-1339-induced hyperlipidaemia in mice. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 61(12), 1673-1679.
- Deng, S., Wei, T., Tan, K., Hu, M., Li, F., Zhai, Y., ... & Luo, M., 2016. Phytosterol content and the campesterol: sitosterol ratio influence cotton fiber development: role of phytosterols in cell elongation. *Science China Life Sciences*, 59(2), 183-193.
- DeBolt, S., Scheible, W. R., Schrick, K., Auer, M., Beisson, F., Bischoff, V., ... & Somerville, C., 2009. Mutations in UDP-glucose: sterol glucosyltransferase in Arabidopsis cause transparent testa phenotype and suberization defect in seeds. *Plant physiology*, 151(1), 78-87.
- Diener, A. C., Li, H., Zhou, W. X., Whoriskey, W. J., Nes, W. D., & Fink, G. R., 2000. Sterol methyltransferase 1 controls the level of cholesterol in plants. *The Plant Cell*, 12(6), 853-870.
- Douglas, G., Channon, K. M., 2014. The pathogenesis of atherosclerosis. *Medicine*, 42(9), 480-484.
- Espindola, P. P. D. T., Rocha, P. D. S. D., Carollo, C. A., Schmitz, W. O., Pereira, Z. V., Vieira, M. D. C., dos Santos, E.L., de Picoli Souza, K., 2016. Antioxidant and antihyperlipidemic effects of *Campomanesia adamantium* O. Berg Root. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016.
- Farquhar, J. W., Smith, R. E., & Dempsey, M. E., 1956. The effect of beta sitosterol on the serum lipids of young men with arteriosclerotic heart disease. *Circulation*, 14(1), 77-82.
- Feldstein, A. E., Werneburg, N. W., Canbay, A., Guicciardi, M. E., Bronk, S. F., Rydzewski, R., ... & Gores, G. J., 2004. Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF- α expression via a lysosomal pathway. *Hepatology*, 40(1), 185-194.
- Feng, S., Dai, Z., Liu, A., Wang, H., Chen, J., Luo, Z., & Yang, C. S., 2017. β -Sitosterol and stigmasterol ameliorate dextran sulfate sodium-induced colitis in mice fed a high fat Western-style diet. *Food & function*, 8(11), 4179-4186.
- Feng, S., Dai, Z., Liu, A. B., Huang, J., Narsipur, N., Guo, G., ... & Yang, C. S., 2018. Intake of stigmasterol and β -sitosterol alters lipid metabolism and alleviates NAFLD in mice

- fed a high-fat western-style diet. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1863(10), 1274-1284.
- Fenton, M., 1992. Chromatographic separation of cholesterol in foods. *Journal of Chromatography A*, 624(1-2), 369-388.
- Field, F. J., & Mathur, S. N., 1983. beta-sitosterol: esterification by intestinal acylcoenzyme A: cholesterol acyltransferase (ACAT) and its effect on cholesterol esterification. *Journal of lipid research*, 24(4), 409-417.
- Fraile, L., Crisci, E., Córdoba, L., Navarro, M. A., Osada, J., & Montoya, M., 2012. Immunomodulatory properties of beta-sitosterol in pig immune responses. *International Immunopharmacology*, 13(3), 316-321.
- Friedman, M., & Byers, S. O., 1957. Mechanism underlying hypercholesteremia induced by Triton WR-1339. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 190(3), 439-445.
- Fridman, Y., & Savaldi-Goldstein, S., 2013. Brassinosteroids in growth control: how, when and where. *Plant Science*, 209, 24-31.
- Fujioka, S., & Yokota, T., 2003. Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Annual review of plant biology*, 54(1), 137-164.
- Gamir, J., Darwiche, R., van't Hof, P., Choudhary, V., Stumpe, M., Schneiter, R., & Mauch, F., 2017. The sterol-binding activity of PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN 1 reveals the mode of action of an antimicrobial protein. *The Plant Journal*, 89(3), 502- 509.
- Gas-Pascual, E., Berna, A., Bach, T. J., & Schaller, H., 2014. Plant oxidosqualene metabolism: cycloartenol synthase-dependent sterol biosynthesis in *Nicotiana benthamiana*. *PLoS one*, 9(10), e109156.
- Geelen, M. H., Gibson, D., & Rodwell, V., 1986. Hydroxymethylglutaryl-CoA reductase-the rate-limiting enzyme of cholesterol biosynthesis: A report of a meeting held at Nijenrode Castle, Breukelen, The Netherlands, August 24, 1985. *FEBS letters*, 201(2), 183-186.
- Goldberg, A. S., & Hegele, R. A., 2012. Cholesteryl ester transfer protein inhibitors for dyslipidemia: focus on dalcetrapib. *Drug design, development and therapy*, 6, 251.
- Goldfarb, S., 1978. Rapid increase in hepatic HMG CoA reductase activity and in vivo cholesterol synthesis after Triton WR 1339 injection. *Journal of lipid research*, 19(4), 489-494.
- Goyal, A. K., Middha, S. K., Usha, T., Sen, A., 2017. Analysis of toxic, antidiabetic and antioxidant potential of *Bambusa balcooa* Roxb. leaf extracts in alloxan-induced diabetic rats. *3 Biotech*, 7(2), 1-11.
- Grandmougin-Ferjani, A., Schuler-Muller, I., & Hartmann, M. A., 1997. Sterol modulation of the plasma membrane H⁺-ATPase activity from corn roots reconstituted into soybean lipids. *Plant physiology*, 113(1), 163-174.
- Griebel, T., & Zeier, J., 2010. A role for β -sitosterol to stigmasterol conversion in plant pathogen interactions. *The Plant Journal*, 63(2), 254-268.
- Grosjean, K., Mongrand, S., Beney, L., Simon-Plas, F., & Gerbeau-Pissot, P., 2015. Differential effect of plant lipids on membrane organization specificities of phytosphingolipids and phytosterols. *Journal of Biological Chemistry*, 290(9), 5810- 5825.
- Gudesblat, G. E., & Russinova, E., 2011. Plants grow on brassinosteroids. *Current opinion in plant biology*, 14(5), 530-537.

- Gupta, M. B., Nath, R., Srivastava, N., Shanker, K., Kishor, K., & Bhargava, K. P. (1980). Anti-inflammatory and antipyretic activities of β -sitosterol. *Planta medica*, 39(06), 157-163.
- Gupta, R., Sharma, A. K., Dobhal, M. P., Sharma, M. C., & Gupta, R. S. (2011). Antidiabetic and antioxidant potential of β -sitosterol in streptozotocin-induced experimental hyperglycemia. *Journal of diabetes*, 3(1), 29-37.
- Hall, J. A., Gradin, J. L., Andreasen, C. B., & Wander, R. C., 2000. Use of a nonionic detergent (Triton WR 1339) in healthy cats to assess hepatic secretion of triglyceride. *American journal of veterinary research*, 61(8), 941-950.
- Harker, M., Hellyer, A., Clayton, J. C., Duvoix, A., Lanot, A., & Safford, R., 2003. Coordinate regulation of sterol biosynthesis enzyme activity during accumulation of sterols in developing rape and tobacco seed. *Planta*, 216(4), 707-715.
- Harnafi, H., Caid, H. S., el Houda Bouanani, N., Aziz, M., & Amrani, S., 2008. Hypolipemic activity of polyphenol-rich extracts from *Ocimum basilicum* in Triton WR-1339-induced hyperlipidemic mice. *Food chemistry*, 108(1), 205-212.
- Hartmann, M. A., 1998. Plant sterols and the membrane environment. *Trends in plant science*, 3(5), 170-175.
- Heitzman, M. E., Neto, C. C., Winiarz, E., Vaisberg, A. J., & Hammond, G. B., 2005. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae). *Phytochemistry*, 66(1), 5-29.
- Hobbs, D. H., Hume, J. H., Rolph, C. E., & Cooke, D. T., 1996. Changes in lipid composition during floral development of *Brassica campestris*. *Phytochemistry*, 42(2), 335-339.
- Hwang, S. L., Kim, H. N., Jung, H. H., Kim, J. E., Choi, D. K., Hur, J. M., ... & Huh, T. L., 2008. Beneficial effects of β -sitosterol on glucose and lipid metabolism in L6 myotube cells are mediated by AMP-activated protein kinase. *Biochemical and biophysical research communications*, 377(4), 1253-1258.
- Ikeda, I., Tanaka, K., Sugano, M., Vahouny, G. V., & Gallo, L. L., 1988. Discrimination between cholesterol and sitosterol for absorption in rats. *Journal of lipid research*, 29(12), 1583-1591.
- Izzo, R., & Navari-Izzo, F., 1981. Sterol composition and accumulation in *Glycine max* (L.) Merr leaves under different filtered sunlight conditions. *Plant Physiology*, 67(6), 1073-1077.
- Janicki, B. W., & Aron, S. A., 1962. Effect of Triton WR-1339 on lipoproteins and lipoprotein lipase of Guinea pig plasma. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 109(3), 507-509.
- Kellner, A., Correll, J. W., & Ladd, A. T., 1951. Sustained hyperlipemia induced in rabbits by means of intravenously injected surface-active agents. *The Journal of experimental medicine*, 93(4), 373.
- Kemp, R. J., Goad, L. J., & Mercer, E. I., 1967. Changes in the levels and composition of the esterified and unesterified sterols of maize seedlings during germination. *Phytochemistry*, 6(12), 1609-1615.
- Khanna, A. K., Rizvi, F., & Chander, R., 2002. Lipid lowering activity of *Phyllanthus niruri* in hyperlipemic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 82(1), 19-22.
- Kim, H. B., Schaller, H., Goh, C. H., Kwon, M., Choe, S., An, C. S., ... & Feyereisen, R., 2005. *Arabidopsis cyp51* mutant shows postembryonic seedling lethality associated with lack of membrane integrity. *Plant physiology*, 138(4), 2033-2047.

- Kotan, R., Cakir, A., Dadasoglu, F., Aydin, T., Cakmakci, R., Ozer, H., Kordali, S., Mete, E., Dikbas, N., 2010. Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish Achillea, Satureja and Thymus species against plant pathogenic bacteria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 145-160.
- Lampronti, I., M. C. Dehecchi, A. Rimessi, V. Bezzetti, E. Nicolis, A. Guerrini, M. Tacchini, A. Tamanini, S. Munari, E. D'Aversa, A. Santangelo, G. Lippi, G. Sacchetti, P. Pinton, R. Gambari, M. Agostini, and G. Cabrini., 2017. β -sitosterol reduces the expression of chemotactic cytokine genes in cystic fibrosis bronchial epithelial cells. *Frontiers in pharmacology*, 8, 236.
- Lauer, MS., Fontanarosa, PB., 2001. Updated guidelines for cholesterol management. *Jama Journal of the American Medical Association*, 285: 2508-2509.
- Li, Z., Wang, Y., van der Sluis, R. J., van der Hoorn, J. W., Princen, H. M., Van Eck, M., ... & Hoekstra, M., 2012. Niacin reduces plasma CETP levels by diminishing liver macrophage content in CETP transgenic mice. *Biochemical pharmacology*, 84(6), 821-829.
- Ling, W. H., & Jones, P. J. H. 1995. Dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects. *Life sciences*, 57(3), 195-206.
- Liu, L., Fu, C., Yan, M., Xie, H., Li, S., Yu, Q., ... & He, J., 2016. Resveratrol modulates intestinal morphology and HSP70/90, NF- κ B and EGF expression in the jejunal mucosa of black-boned chickens on exposure to circular heat stress. *Food & function*, 7(3), 1329-1338.
- Loizou, S., Lekakis, I., Chrousos, G. P., & Moutsatsou, P., 2010. β -Sitosterol exhibits anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells. *Molecular nutrition & food research*, 54(4), 551-558.
- Magdy, M., Mansour, F., van Hasselt, P. R., & Kuiper, P. J., 1994. Plasma membrane lipid alterations induced by NaCl in winter wheat roots. *Physiologia Plantarum*, 92(3), 473-478.
- Makki, R., Dirani, Z. E., Rammal, H., Sweidan, A., Al Bazzal, A., & Chokr, A., 2015. Antibacterial activity of two Lebanese plants: *Eryngium creticum* and *Centranthus longiflorus*. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 6(5), 1.
- Marshall, W. J., Lapsley, M., Day, A., & Ayling, R. (2014). *Clinical Biochemistry E-Book: Metabolic and Clinical Aspects*. Elsevier Health Sciences, 722.
- Men, S., Boutté, Y., Ikeda, Y., Li, X., Palme, K., Stierhof, Y. D., ... & Grebe, M., 2008. Sterol-dependent endocytosis mediates post-cytokinetic acquisition of PIN2 auxin efflux carrier polarity. *Nature cell biology*, 10(2), 237-244.
- Moghadasian, MH., Frohlich, JJ., 1999. Effects of dietary phytosterols on cholesterol metabolism and atherosclerosis: Clinical and Experimental Evidence. *The American Journal of Medicine* 107: 588-594.
- Mohammadpour, A. H., & Akhlaghi, F., 2013. Future of cholesteryl ester transfer protein (CETP) inhibitors: a pharmacological perspective. *Clinical pharmacokinetics*, 52(8), 615-626.
- Moreau, R. A., Nyström, L., Whitaker, B. D., Winkler-Moser, J. K., Baer, D. J., Gebauer, S. K., & Hicks, K. B., 2018. Phytosterols and their derivatives: Structural diversity, distribution, metabolism, analysis, and health-promoting uses. *Progress in Lipid Research*, 70, 35-61.

- Morikawa, T., Mizutani, M., Aoki, N., Watanabe, B., Saga, H., Saito, S., ... & Ohta, D., 2006. Cytochrome P450 CYP710A encodes the sterol C-22 desaturase in Arabidopsis and tomato. *The Plant Cell*, 18(4), 1008-1022.
- Morikawa, T., Saga, H., Hashizume, H., & Ohta, D., 2009. CYP710A genes encoding sterol C22-desaturase in *Physcomitrella patens* as molecular evidence for the evolutionary conservation of a sterol biosynthetic pathway in plants. *Planta*, 229(6), 1311-1322.
- Muramatsu, Y., Harada, A., Ohwaki, Y., Kasahara, Y., Takagi, S., & Fukuhara, T., 2002. Salt tolerant ATPase activity in the plasma membrane of the marine angiosperm *Zostera marina* L. *Plant and cell physiology*, 43(10), 1137-1145.
- Neelakandan, A. K., Nguyen, H. T., Kumar, R., Tran, L. S. P., Guttikonda, S. K., Quach, T. N., ... & Nguyen, H. T., 2010. Molecular characterization and functional analysis of Glycine max sterol methyl transferase 2 genes involved in plant membrane sterol biosynthesis. *Plant molecular biology*, 74(4-5), 503-518.
- Nes, W. D., 2011. Biosynthesis of cholesterol and other sterols. *Chemical reviews*, 111(10), 6423-6451.
- Nes, W. D., & Venkatramesh, M., 1999. Enzymology of phytosterol transformations. *Critical reviews in biochemistry and Molecular Biology*, 34(2), 81-93.
- Niu, X., Bressan, R. A., Hasegawa, P. M., & Pardo, J. M., 1995. Ion homeostasis in NaCl stress environments. *Plant physiology*, 109(3), 735.
- Nomura, T., Kitasaka, Y., Takatsuto, S., Reid, J. B., Fukami, M., & Yokota, T., 1999. Brassinosteroid/Sterol synthesis and plant growth as affected by lka and lkb mutations of pea. *Plant Physiology*, 119(4), 1517-1526.
- Nyamai, D. W., Arika, W. M., Rachuonyo, H. O., Wambani, J. R., & Ngugi, M. P., 2016. Herbal management of benign prostatic hyperplasia. *Journal of Cancer Science & Therapy*, 8(5), 130-134.
- Ostlund Jr, R. E. (2002). Phytosterols in human nutrition. *Annual review of nutrition*, 22(1), 533-549.
- Ovečka, M., Berson, T., Beck, M., Derksen, J., Šamaj, J., Baluška, F., & Lichtscheidl, I. K., 2010. Structural sterols are involved in both the initiation and tip growth of root hairs in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*, 22(9), 2999-3019.
- Park, C., Moon, D. O., Rhu, C. H., Choi, B. T., Lee, W. H., Kim, G. Y., & Choi, Y. H., 2007. β -Sitosterol induces anti-proliferation and apoptosis in human leukemic U937 cells through activation of caspase-3 and induction of Bax/Bcl-2 ratio. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(7), 1317-1323.
- Paniagua-Pérez, R., Madrigal-Bujaidar, E., Reyes-Cadena, S., Molina-Jasso, D., Gallaga, J. P., Silva-Miranda, A., ... & Chamorro, G., 2005. Genotoxic and cytotoxic studies of beta-sitosterol and pteropodine in mouse. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2005(3), 242-247.
- Pineda, A., & Cubeddu, L. X., 2011. Statin rebound or withdrawal syndrome: does it exist?. *Current atherosclerosis reports*, 13(1), 23-30.
- Puri, P., Baillie, R. A., Wiest, M. M., Mirshahi, F., Choudhury, J., Cheung, O., ... & Sanyal, A. J., 2007. A lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 46(4), 1081-1090.
- Radika, M. K., Viswanathan, P., & Anuradha, C. V., 2013. Nitric oxide mediates the insulin sensitizing effects of β -sitosterol in high fat diet-fed rats. *Nitric Oxide*, 32, 43-53.

- Rağbetli, C., 2009. Hiperlipidemi. *Van Tıp Dergisi*, 16(1), 43-47.
- Rajavel, T., Packiyaraj, P., Suryanarayanan, V., Singh, S. K., Ruckmani, K., & Devi, K. P., 2018. β -Sitosterol targets Trx/Trx1 reductase to induce apoptosis in A549 cells via ROS mediated mitochondrial dysregulation and p53 activation. *Scientific reports*, 8(1), 1-15.
- Rauf, A., Uddin, G., Khan, H., Raza, M., Zafar, M., & Tokuda, H., 2016. Anti-tumour-promoting and thermal-induced protein denaturation inhibitory activities of β -sitosterol and lupeol isolated from *Diospyros lotus* L. *Natural product research*, 30(10), 1205-1207.
- Richardson I.B.K., 1975. A revision of the genus *Centranthus* DC. (Valerianaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 71: 211-234.
- Rideout, T. C., Harding, S. V., & Jones, P. J., 2010. Consumption of plant sterols reduces plasma and hepatic triglycerides and modulates the expression of lipid regulatory genes and de novo lipogenesis in C57BL/6J mice. *Molecular nutrition & food research*, 54(S1), S7-S13.
- Rideout, T. C., Marinangeli, C. P., & Harding, S. V., 2015. Triglyceride-lowering response to plant sterol and stanol consumption. *Journal of AOAC International*, 98(3), 707-715.
- Salen, G., Shore, V., Tint, G. S., Forte, T., Shefer, S., Horak, I., ... & Batta, A. K., 1989. Increased sitosterol absorption, decreased removal, and expanded body pools compensate for reduced cholesterol synthesis in sitosterolemia with xanthomatosis. *Journal of lipid research*, 30(9), 1319-1330.
- Schaeffer, A., Bronner, R., Benveniste, P., & Schaller, H., 2001. The ratio of campesterol to sitosterol that modulates growth in *Arabidopsis* is controlled by Sterol Methyltransferase 2; 1. *The Plant Journal*, 25(6), 605-615.
- Schaller, H., 2003. The role of sterols in plant growth and development. *Prog Lipid Res* 42, 163–175.
- Schaller, H., 2004. New aspects of sterol biosynthesis in growth and development of higher plants. *Plant Physiol Biochem* 42, 465–476.
- Schrack, K., Mayer, U., Horrichs, A., Kuhnt, C., Bellini, C., Dangl, J., ... & Jürgens, G., 2000. FACKEL is a sterol C-14 reductase required for organized cell division and expansion in *Arabidopsis* embryogenesis. *Genes & development*, 14(12), 1471-1484.
- Schrack, K., Mayer, U., Martin, G., Bellini, C., Kuhnt, C., Schmidt, J., & Jürgens, G., 2002. Interactions between sterol biosynthesis genes in embryonic development of *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 31(1), 61-73.
- Schrack, K., Fujioka, S., Takatsuto, S., Stierhof, Y. D., Stransky, H., Yoshida, S., & Jürgens, G., 2004. A link between sterol biosynthesis, the cell wall, and cellulose in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 38(2), 227-243.
- Schrack, K., Cordova, C., Li, G., Murray, L., & Fujioka, S., 2011. A dynamic role for sterols in embryogenesis of *Pisum sativum*. *Phytochemistry*, 72(6), 465-475.
- Schurr, P. E., Schultz, J. R., & Parkinson, A. T., 1972. Triton-induced hyperlipidemia in rats as an animal model for screening hypolipidemic drugs. *Lipids*, 7(1), 68-74.
- Sewelam, N., Jaspert, N., Van Der Kelen, K., Tognetti, V. B., Schmitz, J., Frerigmann, H., ... & Maurino, V. G., 2014. Spatial H₂O₂ signaling specificity: H₂O₂ from chloroplasts and peroxisomes modulates the plant transcriptome differentially. *Molecular Plant*, 7(7), 1191-1210.

- Sharmila, R., & Sindhu, G., 2017. Modulation of angiogenesis, proliferative response and apoptosis by β -sitosterol in rat model of renal carcinogenesis. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 32(2), 142-152.
- Shi, C., Luo, X., Wang, J., & Long, D., 2015. Incorporation of β -sitosterol into the membrane prevents tumor necrosis factor- α -induced nuclear factor- κ B activation and gonadotropin-releasing hormone decline. *Steroids*, 96, 1-6.
- Smet, E. D., Mensink, R. P., Plat, J., 2012. Effects of plant sterols and stanols on intestinal cholesterol metabolism: suggested mechanisms from past to present. *Molecular nutrition & food research*, 56(7), 1058-1072.
- Sonawane, P. D., Pollier, J., Panda, S., Szymanski, J., Massalha, H., Yona, M., ... & Aharoni, A., 2016. Plant cholesterol biosynthetic pathway overlaps with phytosterol metabolism. *Nature plants*, 3(1), 1-13.
- Somacal S, Figueiredo CG, Quatrin A, Ruviaro AR, Conte L, Augusti PR, Roehrs M, Denardin IT, Kasten J, da Veiga ML, Duarte MMF, Emanuelli T., 2015. The antiatherogenic effect of bixin in hypercholesterolemic rabbits is associated to the improvement of lipid profile and to its antioxidant and anti-inflammatory effects. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 403(1): 243-253.
- Song, Y. S., Jin, C., & Park, E. H., 2000. Identification of metabolites of phytosterols in rat feces using GC/MS. *Archives of pharmacal research*, 23(6), 599-604.
- Souter, M., Topping, J., Pullen, M., Friml, J., Palme, K., Hackett, R., ... & Lindsey, K., 2002. hydra mutants of Arabidopsis are defective in sterol profiles and auxin and ethylene signaling. *The Plant Cell*, 14(5), 1017-1031.
- Souter, M. A., Pullen, M. L., Topping, J. F., Zhang, X., & Lindsey, K., 2004. Rescue of defective auxin-mediated gene expression and root meristem function by inhibition of ethylene signalling in sterol biosynthesis mutants of Arabidopsis. *Planta*, 219(5), 773-783.
- Stalleart, V. M., & Geuns, J. M., 1994. Phospholipid and free sterol composition of hypocotyl plasma membranes of ageing mung bean seedlings. *Phytochemistry*, 36(5), 1177-1180.
- Suza, W. P., & Chappell, J., 2016. Spatial and temporal regulation of sterol biosynthesis in *Nicotiana benthamiana*. *Physiologia Plantarum*, 157(2), 120-134.
- Suzuki, M., Nakagawa, S., Kamide, Y., Kobayashi, K., Ohyama, K., Hashinokuchi, H., ... & Nagata, N., 2009. Complete blockage of the mevalonate pathway results in male gametophyte lethality. *Journal of experimental botany*, 60(7), 2055-2064.
- Tan EY, Hartmann G, Chen Q, Pereira A, Bradley S, Doss G, Zhang AS, Ho JZ, Braun MP, Dean DC, Tang W, Kumar S., 2010. Pharmacokinetics, Metabolism, and Excretion of Anacetrapib, a Novel Inhibitor of the Cholesteryl Ester Transfer Protein, in Rats and Rhesus Monkeys. *Drug Metabolism and Disposition*, 38: 459-473.
- Topping, J. F., May, V. J., Muskett, P. R., & Lindsey, K., 1997. Mutations in the HYDRA1 gene of Arabidopsis perturb cell shape and disrupt embryonic and seedling morphogenesis. *Development*, 124(21), 4415-4424.
- Vivancos, M., & Moreno, J. J., 2005. β -Sitosterol modulates antioxidant enzyme response in RAW 264.7 macrophages. *Free Radical Biology and Medicine*, 39(1), 91-97.
- von Holtz, R. L., Fink, C. S., & Awad, A. B. 1998. β -sitosterol activates the sphingomyelin cycle and induces apoptosis in LNCaP human prostate cancer cells.

- Vundru, S. S., Kale, R. K., & Singh, R. P. (2013). β -Sitosterol induces G1 arrest and causes depolarization of mitochondrial membrane potential in breast carcinoma MDA-MB-231 cells. *BMC complementary and alternative medicine*, 13(1), 1-9.
- Walton, K., Walker, R., Van De Sandt, J. J. M., Castell, J. V., Knapp, A. G. A. A., Koziarowski, G., Roberfroid, M., Schilter, B., 1999. The application of in vitro data in the derivation of the acceptable daily intake of food additives. *Food and Chemical Toxicology*, 37(12), 1175-1197.
- Wang, K., Senthil-Kumar, M., Ryu, C. M., Kang, L., & Mysore, K. S., 2012. Phytosterols play a key role in plant innate immunity against bacterial pathogens by regulating nutrient efflux into the apoplast. *Plant Physiology*, 158(4), 1789-1802.
- Wang, X. B., Huang, W. H., Lei, L., Liu, Y. W., Ma, K. Y., Li, Y. M., Wang, L. J., Huang, Y., Chen, Z. Y., 2015. Blockage of hydroxyl group partially abolishes the cholesterol-lowering activity of β -sitosterol. *Journal of functional foods*, 12, 199-207.
- Weizel, A., Richter, W.O., 1997. Drug therapy of severe hypercholesterolemia. *Eur J Med Res* 2, 265–269. PMID: 9182654.
- Whitaker, B. D., & Gapper, N. E., 2008. Ripening-specific stigmasterol increase in tomato fruit is associated with increased sterol C-22 desaturase (CYP710A11) gene expression. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(10), 3828-3835.
- Willemsen, V., Friml, J., Grebe, M., Toorn, A.V.D., Palme, K., and Scheres, B., 2003. Cell polarity and PIN protein positioning in *Arabidopsis* require STEROL METHYLTRANSFERASE1 function. *Plant Cell* 15, 612–625.
- Williams, M. E., 2011. Brassinosteroids: Plant steroid hormones. *Teaching Tools in Plant Biology: Lecture Notes*. The Plant Cell (online), doi/10.1105/tpc, 110.
- Wong, H. S., Chen, N., Leong, P. K., & Ko, K. M., 2014. β -Sitosterol Enhances Cellular Glutathione Redox Cycling by Reactive Oxygen Species Generated From Mitochondrial Respiration: Protection Against Oxidant Injury in H9c2 Cells and Rat Hearts. *Phytotherapy Research*, 28(7), 999-1006.
- Xu, X., Pan, J., Zhou, X., 2014. Amelioration of lipid profile and level of antioxidant activities by epigallocatechin-gallate in a rat model of atherogenesis. *Heart, Lung and Circulation*, 23(12), 1194-1201.
- Zarzecki, M. S., Araujo, S. M., Bortolotto, V. C., de Paula, M. T., Jesse, C. R., & Prigol, M., 2014. Hypolipidemic action of chrysin on Triton WR-1339-induced hyperlipidemia in female C57BL/6 mice. *Toxicology Reports*, 1, 200-208.
- Zengin G, Nithiyanantham S, Locatelli M, Ceylan R, Uysal S, Aktumsek A, Selvi PK, Maskovic P., 2016. Screening of in vitro antioxidant and enzyme inhibitory activities of different extracts from two uninvestigated wild plants: *Centranthus longiflorus* subsp *longiflorus* and *Cerintho minor* subsp *auriculata*. *European Journal of Integrative Medicine*, 8: 286-292.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/222284>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280794>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/173183#section=2D-Structure>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11556427#section=2D-Structure>

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Meryem COŞKUN
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	T.C.
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	Şükrüpaşa Anadolu Lisesi
Lisans:	Erzurum Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı Genetik Bilim Dalı
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	İyi
Almanca:	-
Rusça:	-