



**SOYA (*GLYCİNE MAX L.*)' NİN DİŞİ RATLARDA
BÖBREKLER ÜZERİNE ETKİSİNİN
STEREOLOJİK METODLA DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Esmā Gölcan KARACA
ANATOMİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Vural ÖZDEMİR
Tez No: 2016 - 005**

2016 - Afyonkarahisar

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SOYA (*Glycine max* L.)' NİN DİŞİ RATLARDA BÖBREKLER
ÜZERİNE ETKİSİNİN STEREOLOJİK METODLA
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Esmâ Gülcan KARACA

VETERİNER ANATOMİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Vural ÖZDEMİR

Tez No: 2016-005

2016 - AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

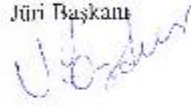
Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 12.05.2016

Doç. Dr. Vural ÖZDEMİR

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Jüri Başkanı



Doç. Dr. M. Orhan DAYAN

Selçuk Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Murat Sırm AKOSMAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye

Anatomi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı Öğrencisi Esma Gülcan KARACA'nın " Soya (*Glycyne max L.*)' nin Diş. Ra. larında Böbrek Dokusuna Etkilerinin Stereolojik Olarak Araştırılması " başlıklı tezi 09.06.2016 perşembe günü saat. 15:00 'de Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

İnsanoğlu daima kendi vücudunu oluşturan sistemleri ve sistemleri oluşturan organları merak etmiştir. Temel tıp bilimlerinden olan anatomi doku ve organların yapıları ile biçimlerini inceleyen en önemli bilim dalıdır. Aynı zamanda insan ve hayvan hekimliklerinin eğitim ve araştırma çalışmalarının temelini oluşturmaktadır. Stereoloji ise bu alanda çalışma yapan araştırmacılara, gerçeğe en yakın verileri elde edebilmeleri için ışık veren metotlar topluluğudur. Stereoloji sayesinde bir yapının yüzey alanı, hacmi, içerdiği hücre sayısı ve hücre hacmi gibi verilere ulaşılabilir. Güncel, geçerliliği ve doğrulukları ispatlanmış olan stereolojik metotların uygulamasının artırılması, tıp alanında kullanım alanı bulabilme isteği ve günlük yaşamda sıklıkla kullanılmasından dolayı tercih edilmektedir. Güncel ve etkin bir antioksidan olarak bilinen soyanın böbrek üzerine olan etkilerine yönelik birçok çalışma mevcuttur ancak stereolojik olarak hücre değerlendirmesine yönelik çalışmalara rastlanmaması bu tip bir çalışma yapılmasının gerekli olduğunu gündeme getirmiştir.

Öncelikle, stereoloji konusunda beni cesaretlendiren ve yol gösteren Doç. Dr. Murat Sırrı AKOSMAN hocama ve tezimin istatistiksel analizinde ve tezimin diğer kısımlarında bilgilerimi ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Aziz BÜLBÜL hocama tez çalışmamda göstermiş oldukları destek, ilgi ve anlayıştan ötürü teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bugünlere gelmem için fedakârlıklarını hiçbir zaman esirgemeyen ve üzerimde büyük emekleri olan sevgili aileme sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Esma Gülcan KARACA

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kabul ve Onay	
Önsöz	i
İçindekiler	ii
Simgeler ve Kısaltmalar	iii
Tablolar	iv
Şekiller	v
1. GİRİŞ	1
2. GEREÇ VE YÖNTEM	14
2.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer.....	14
2.2. Deneklerin Seçimi.....	14
2.3. Deney Gruplarına Verilen Ekstrelerin Hazırlanması.....	15
2.4. Etil asetat Ekstresinin Hazırlanması.....	15
2.5. Deney grupları.....	15
2.6. Deney.....	16
2.6.1. Deneysel Prosedür.....	16
2.6.2. Ratların Diseksiyonu.....	16
2.6.3. Dokuların Takibi ve Dokuların Saklanması.....	17
2.7. Böbreklerden Kesit Alma İşlemleri.....	17
2.8. Histolojik Çalışmalar.....	18
2.8.1. Böbreklerin Boyanma İşlemleri.....	18
2.8.2. Parafin İşlemi.....	19
2.8.3. Parafinin Uzaklaştırılması İşlemi.....	19
2.9. Örneklem Şeklinin Belirlenmesi.....	20
2.10. Mikroskopta stereolojik inceleme.....	21
2.11. İstatistiksel Analiz.....	22
3. BULGULAR	23
4. TARTIŞMA	26
5. SONUÇ	31
ÖZET	32
SUMMARY	33
KAYNAKLAR	34

SİMGELER ve KISALTMALAR

% : Yüzde

± : Standart Sapma

°C: Santigrat derece

ACE: Anjiotensin konverting enzim

ALA : Alfa linoleik asit

CA: Canlı Ağırlık

DHA: Dokozaheksanoik asit

EPA: Eikozapentaenoik asit

G: Gram

GFR: Glomerüler Filtrasyon Hızı

IGF-1: İnsulin Büyüme Faktörü 1

Mm³ : Milimetreküp

µm: Mikronmetre

PAS: Periyodik asit Schiff

PKBH: Polikistik Böbrek Hastalığı

PUFA: Doymamış yağ asitleri

SNP: Sodyum nitroprusid

SRÖ: Sistematik Rastgele Örnekleme

TABLULAR

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Soya tohumunun bileşimi.....	5
Tablo 2. Ratların Deney Öncesi ve Sonrası Canlı Ağırlıkları.....	23
Tablo 3. Deney sonrası kontrol grubundaki rat böbreklerinin jukstamedullar ve kortikomedullardaki glomerulus çap ölçümleri.....	23
Tablo 4. Deney sonrası deney grubundaki rat böbreklerinin jukstamedullar ve kortikomedullardaki glomerulus çap ölçümleri	24
Tablo 5. Deney sonrası deney ve kontrol grubundaki rat böbreklerinin ağırlık, hacim, en ve boylarının ortalaması alınmış ölçümleri.....	24
Tablo 6. Deney sonrası kontrol ve deney grubundaki rat böbreklerinin jukstamedullar ve kortikomedullardaki glomerulus çaplarının ortalaması alınmış ölçümleri.....	25

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Soya bitkisinin resmi.....	2
Şekil 2. Böbrek kesiti.....	11
Şekil 3. Bilateral böbrek diseksiyonu.....	16
Şekil 4. Parafine gömülmüş kesit alma işlemine hazır bir doku örneği.....	17
Şekil 5. Sayımda kullanılan fotoğraf atışmanı ilave edilmiş mikroskop.....	18
Şekil 6. Boyama sonrası mikroskopta incelenmek üzere hazır lamlar.....	21
Şekil 7. Bilgisayar programında görülen jukstamedullar ve kortikomedullardaki glomeruluslar.....	21

1. GİRİŞ

Halk arasında Soya, Çin fasulyesi gibi isimlerle bilinen *Glycine max* L. Leguminosae familyasına ait tek yıllık bir bitkidir. Çoğunlukla Asya ülkelerinde yağ ve un olarak tüketilmek üzere yetiştirilen soyanın anavatanı Doğu Asya (Çin ve Mançurya) dır (Markley, 1950; Modaresi et al. 2011).

Sarı altın olarak da bilinen soya, içerdiği değerli besin maddeleri ve 250'den fazla değişik kullanım olanakları ile asrın harika bitkisi olarak tanımlanmaktadır (Arioğlu, 2007). Bugün 50'nin üzerinde ülkede ticari anlamda üretimi yapılan soya; içerdiği ortalama % 40 protein, % 20 yağ, % 35 karbonhidrat ve %5 madensel maddeler nedeniyle insan ve hayvan beslenmesinde önemli bir enerji kaynağıdır (Lee et al. 2007).İnsan vücudu için gerekli tüm aminoasitleri içeren bu bitkinin protein miktarı % 38-40 gibi oldukça yüksek orandadır (Anaç ve Ertürk, 2003; Eldin et al. 2011, Modaresi et al. 2011). Protein kalitesi açısından, hayvansal kaynaklı besinlerin proteinlerine yakın özellik gösteren tek bitkisel protein içermesi nedeniyle özellikle Asya ülkelerinde oldukça değerli bir gıda ürünü olarak kullanım alanı bulmaktadır (Şahingöz ve Arlı, 2002; Modaresi et al. 2011). Soya % 18 oranında yağ içeren bir bitkidir. Bu yağın yaklaşık %85'ini doymamış yağ asitleri oluşturur, bu oranın % 60'ını linoleik asit ve linolenik asit oluşturur. Bu bitki yüksek karbonhidrat içeriğine rağmen glisemik yükünün düşük olması, aynı zamanda ferritin formunda demir seviyelerinin yüksek olması, B12 vitamini hariç diğer B grubu vitaminler açısından zengin olması nedeniyle sağlık alanında kullanımı tercih edilen bitkiler arasında yer almaktadır (Sosic et al. 2011; Anaç ve Ertürk, 2003).



Şekil 1. Soya bitkisinin resmi

Ayrıca, soya ürünlerinin kanser, kemik erimesi (osteoporoz), böbrek hastalıkları gibi kronik hastalıkları önleyici veya tedavi edici ve menopoz rahatsızlıklarını azaltıcı etkisi olduğu da belirtilmiştir (Garcia ve dig., 1997; FDA, 1999). Sarılık ve ödemin tedavisinde bitkisel bir ilaç olarak kullanılmıştır. Aynı zamanda böbrek ve dalak fonksiyonlarını etkileyerek enürezis tedavisinde kullanılmıştır (Fukuda et al. 2011). Soya fasüyesinin kardiyovasküler hastalıkların insidansını ve trombosit agregasyonunu azalttığı (Arjmandı et al. 1996; Yıldırım ve Tokgözoğlu, 2001; Kamiloğlu ve ark., 2002; Büyüktuncer ve Başaran, 2005; Okwu et al. 2007; Xiao, 2008; Byun ve Lee, 2010; Sosic et al. 2011), hafıza güçlendirici etkiye sahip olduğu, menopoz döneminde hormonal denge, diyabet ve böbrek yetmezliğinde olumlu etkilerinin bulunduğu (Tham et al. 1998; Albert et al. 2002; Naciff et al. 2002; Şahingöz ve Arlı, 2002; Anaç, 2003; Kim et al. 2006; Aydın, 2007; Ünsal ve Sarıyar, 2008; Byun ve Lee, 2010; Modaresi et al. 2011; Ponnusha et al. 2011) kadınlarda ani ateş basması, uykusuzluk, migren, eklem ağrıları gibi semptomların tedavisinde kullanılabildiği (Başer, 2002) pek çok çalışmada gösterilmiştir. Soya ve ürünleri hormon replasman tedavisi (HRT) ile ilişkili risk olmaksızın doğal bir alternatif ürün olarak piyasada yer almaktadır (Allred et al. 2001).

Soyanın en önemli özelliklerinden biri de antioksidan etkiye sahip olmasıdır (Wei et al. 1995; Burak ve Çimen, 1999; Albert et al. 2002; İnanç, 2005; Kim et al.

2006; Aydın, 2007). Antioksidan etkinliği sayesinde canlı dokulardaki oksidatif stresi önler. Soya bitki fenolikleri antibakteriyel, antiviral, antifungal etkilere de sahiptir (Burak ve Çimen, 1999; Aydın, 2007).

Ham soya içerdiği hemaglütininlerden (lektinler) dolayı, antikorlara benzer şekilde, alyuvarların parçalanmasına veya bir araya gelmelerine sebep olur (Bondi ve Alumot, 1987; Liener, 1979).

Soyanın, hızla artan obezite sorununda olumlu etkilerinin olduğu, kilo düşürücü etkilerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Bu durum besin değeri yüksek olan soyanın daha stratejik bir öneme sahip olmasına neden olmaktadır (Sosic et al. 2011).

Soya fasulyesi son derece besleyici, yüksek protein içeriği, aminoasit dengesi, kolay sindirilebilir olması, üretiminin kolay olması nedeniyle insan ve hayvan sağlığında oldukça önemli bir yere sahip bir besin öğesidir. Bu nedenle günümüzde soyaya olan eğilim giderek artmaktadır (Anaç, 2003).

Soya fasulyesinden elde edilen 453 gramlık soya ununda 31 yumurtanın, 6 büyük şişe sütün, 900 gramlık kemiksiz etin ihtiva ettiği kadar protein bulunduğu laboratuvar deneyleriyle ispatlanmıştır (Ünsal ve Sarıyar, 2008).

Günümüzde soya ve soya fasulyesi ürünleri oldukça fazla tüketilmektedir. Özellikle fast-food ve diğer işlenmiş gıdalarda düşük maliyet nedeniyle et ürünleri yerine fitoöstrojenleri içeren soya ürünlerinin kullanılması oldukça yaygındır. Vejetaryenler ve süt ürünlerine alerjisi olan kişiler tarafından da soya ürünleri oldukça fazla tüketilmektedir. Bu ürünler aynı zamanda hayvanların beslenmesi için kullanılan yemlerde de bulunmaktadır (Ekinci, 2009).

Günümüzde, soyadan (kahve kreması, yemeklik yağ, dolgu yağı, margarin, mayonez, ilaç, yem, farmasötik, insektisit, kauçuk, yağ, anti korozyon maddeleri, anti statik maddeler, macun bileşenleri, inşaat malzemeleri, beton katkı maddeleri, bakım yağları, mürekkep, baskı maddeleri, kalemler, dezenfektan, yapıştırıcı,

elektrik yalıtım maddeleri, analitik kimyasallar vb.) sayı ve çeşit bakımından oldukça fazla ürün elde edilebilmektedir (Hoşgün, 2008).

Yüksek kaliteli protein içeriğinin yanında, insan bünyesindeki yağ metabolizmasını düzenleyen çok değerli yağ asitleri içerdiğinden (omega-3 ve benzeri); şeker hastalığı, damar sertliği ve kronik kalp hastalığı olan kişilerin beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Ayrıca, soya yağı, kandaki kolesterol miktarını düşürerek, insanlardaki kalp krizi riskini de azaltmaktadır (Alpay, 2003).

İnsan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan soya, vücuttaki yağ ve lipid metabolizmasını düzenleyen yağ asitlerini içermesi sebebiyle şeker hastalığı olan kişiler için faydalıdır. Soya, omega-3 yağ asidi olarak da bilinen linolenik asit yönünden de oldukça zengindir. Kemik erimesine karşı mutlak alınması gereken omega-3 yağ asidi miktarı soyanın tanesinde % 5-11 arasında değişen oranda bulunmaktadır. Soya fasulyesindeki “kalsiyum” oranı sütte nispeten iki mislidir. Bu içeriği sayesinde soya proteini osteoporoz hastalıklarını önlemektedir. İnsan vücudunun her gün alması gereken madeni tuzlar bakımından da çok zengin bir gıdadır. Kalsiyuma ilaveten bol miktarda fosfor, demir, bakır, manganez, potasyum ve sodyum ihtivâ eder (Lee et al. 2007). Kimyasal yapısında bulunan izoflavonların anti-östrojenik etkileri sayesinde soyanın göğüs ve endometriyal kanserler gibi hormonlarla ilişkili kanser risklerini azaltıcı yöndeki etkisi vardır (Allred et al. 2001).

FDA, soya fasulyesinin hormon ilişkili olsun olmasın pek çok tipteki kanserli hücrenin (örneğin prostat, mide, meme, bağırsak, rahim, deri, akciğer ve kolon kanseri gibi) oluşmasını engellediğini ortaya koymuştur. İçeriğindeki “genistein” adlı bir madde anormal hücre oluşmasına neden olan enzimlerin aktivitesini ortadan kaldırarak bu etkiyi sağlamaktadır (FDA, 1999). Soya filizlerindeki C vitamini “Scurvy” hastalığını önlemektedir. Soya fasulyesi, B1 ve B2 vitaminleriyle E ve K vitaminlerini ihtivâ eder. Bilhassa “Pellegra” hastalığına karşı “Niacin” maddesince zengindir. (Tulum, 2007)

Su %	5.0-9.2
Yağ %	18-20
Protein %	30-40
Karbonhidrat %	18.8-31.3
Ham lifler %	4.7-6.3
Kül %	3.3-6.5
Lesitin %	0.6-1.5

Tablo 1 : Soya tohumunun bileşimi (Yazıcıoğlu ve Karaali, 1983)

Soyada bulunan Omega-3 yağ asitleri, hücre membranının yapısına katılan esansiyel yağ asitleridir ve hücrenin normal fonksiyonlarını idame ettirebilmesi açısından önemlidir (Gülçen ve ark., 2012). Omega-3 (ω -3) yağ asitleri balık yağı başta olmak üzere keten tohumu, ceviz, soya yağı gibi bitkisel yağlarda ve yeşil yapraklı sebzelerde bol miktarda bulunur. Hücre membranının akışkanlığı ve fleksibilitesi esansiyel yağ asitlerinin membrandaki miktarına bağlıdır. Gen ekspresyonu ve hücre içi haberleşme üzerinde etkili olan omega-3 yağ asitleri, ayrıca hücrenin enerji ihtiyacını sağlar ve vücut ısısının korunmasına yardımcı olur (Zararsız, 2011).

Dokozaheksanoik asit (DHA, 22:6n-3), eikozapentaenoik asit (EPA, 20:5n-3) ve alfa linoleik asit (ALA 18:3n-3) omega-3 (n-3) yağ asitleri olarak bilinirler (Gülçen ve ark., 2012). Dokozaheksanoik Asit (DHA) ve Eikozapentaenoik Asit (EPA) uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA: polyunsaturated fatty acids) üyelerindedir. Mutlaka diyetimizin içinde PUFA bulunmalıdır. DHA özellikle beyin, retina ve diğer nöral dokularda yoğun olarak bulunan bir yağ asididir. Kısa zincirli bir omega-3 yağ asidi olan ALA sağlıklı erişkinlerin metabolizmasında yer alır. ALA ve EPA DHA'ya dönüştürülebilirler. Ancak yeni doğanda bu metabolizma olmadığı için bu dönüşüm gerçekleşmemektedir. Bu sebeple yeni doğanlarda DHA ve EPA'nın hücrenin normal fonksiyonlarını sürdürebilmesi için mutlaka diyetle alınması gerekmektedir (Zararsız, 2011).

Erişkin bir insanın normal şartlarda günlük olarak 1-1,5 gram omega-3 yağ asidi alması tavsiye edilmektedir. Bazı özel hastalıkların tedavisinde 3 gr ve daha fazlası kullanılabilir (Zararsız, 2011). Omega-3 yağ asitlerinin antihipertansif, antiinflama-tuar, antioksidan, antiaterojenik, antiapitotik, antihiper-lipidemik, antiagregan ve antiaritmik özellikler taşıdığı ortaya konulmuştur (Gülçen ve ark., 2012).

Omega-3 yağ asitlerinden fakir beslenmenin, şizofreni ve depresyon gibi bazı psikolojik hastalıkların ortaya çıkmasına katkıda bulunacağı bildirilmiştir. Omega-3 yağ asidi bakımından zengin diyetle beslenmenin testis dokusu açısından da çok önemli olduğunu yapılan klinik çalışmalarla ortaya konulmuştur. Subfertil erkeklerde omega-3 yağ asitlerinin yeterli miktarda alınmamasının sperm motilitesini azalttığı tespit edilmiştir (Zararsız, 2011).

Omega-3 yağ asidi alımı ile renal vazodilatatör rezerv artmaktadır. Daha önceki yapılan çalışmalarda DHA'dan kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, alerjik astım, glomerulonefrit, otoimmün hastalıklar, romatoid artrit, meme ve kolon tümörlerinin tedavisinde istifade edilebileceği bildirilmiştir. Grande JP ve arkadaşlarının farelerde yaptıkları çalışmalarda, DHA'nın mezengial proliferatif glomerulonefrit modelinde renal mezenşimde antiproliferatif etkileri olduğu gösterilmiştir (Gülçen ve ark., 2012).

Rousseu ve arkadaşlarının farelerde renovasküler hipertansiyon modelinde yaptıkları çalışmalarda omega-3 yağ asidi kullanımı sonucu anjiotensin konverting enzim (ACE) ile ilgili muhtemel mekanizmalarla kan basıncı kontrolünün kolaylaştığını ve tek taraflı renal arter klemplenmesi suretiyle yapılan çalışmalarda da hipertansiyon gelişmesinin engellendiğini belirtmişlerdir. Yapılmış olan bir başka çalışmada da omega-3 yağ asiti ile zenginleştirilmiş diyet ile beslenen ratlarda sodyum nitroprusid (SNP)'in indüklediği nefrotoksisiteye karşı olası koruma sağlandığı tespit edilmiştir (Gülçen ve ark., 2012).

Düşük protein veya soya proteinleri ile hazırlanan medikal diyetler böbrek sağlığı açısından önem arz etmektedir. Yapılan son çalışmalarda uygun dozda soyanın beslenme diyetine katılmasının dahi hem böbrek fonksiyonlarına faydalı olduğu hem de böbrek problemleri riskini azalttığını ortaya koymuştur (Kosif et al. 2011, Azadbakht et al. 2003, Anderson et al. 1999). Soya yağı ile beslenen polikistik böbrek hastalığı olan ratlarda epitelyal hücre proliferasyonunun, kistik değişimin, makrofaj infiltrasyonunun, fibrosisin dolayısıyla renal hasarın azaldığı gösterilmiştir (Altıparmak MR, 2007).

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar, deneysel hayvan modellerinde, polikistik böbrek hastalığının ilerlemesini geciktirmede diyet soya proteininin etkinliğini göstermiştir (Aukema et al., 1999; Ogborn et al., 1998; Tomobe et al., 1998). Farklı protein kaynaklarının PKBH (Polikistik Böbrek Hastalığı) üzerindeki etkilerini tespit etmek için yapılan bir çalışmada; genç erkek ve dişi Han:SPRD-cy fareleri 6 hafta boyunca soya veya kazein içeren (%20) diyetle beslenmişlerdir. Soya proteini ile beslenen hem dişi hem de erkek farelerde PKBH'nın ilerlemesi yavaşlamıştır. Bu yavaşlama düşük böbrek ağırlığı ve su miktarı, düşük kist alanı ve azalmış serum kreatinin ve serum üre, artmış kreatinin klirensi değişimlerinin gösterdiği artmış renal fonksiyon varlığı ile tespit edilmiştir. Bu olumlu sonuçlar; soya proteininin, büyüme ve GFR'yi (Glomerüler Filtrasyon Hızı) düzenleyen insülin büyüme faktör 1'i (IGF-1) değiştirmesiyle PKBH'nın ilerlemesini azaltmasına bağlanmıştır. Soya ile beslenenlerde IGF-1 miktarının, kazein ile beslenenlerden daha düşük miktarda olduğu ve hastalığın ilerlemesi ile IGF-1 miktarının arttığı rapor edilmiştir (Aukema et al., 2001).

Soya proteini ile beslenen polikistik böbrek hastalığı modeli olan Han:SPRD-cy ratlarda epitelyal hücre proliferasyonunun, kistik değişimin, makrofaj infiltrasyonunun, fibrosizin dolayısıyla renal hasarın azaldığı gösterilmiştir. Bu olumlu etki doymamış yağ asitleri metabolizmalarında olan değişikliklerle ilişkili bulunmuştur (Altıparmak, 2007).

Soyanın sayılan yararlı etkilerinin yanında, fazla tüketildiğinde zararlı etkilerinin olabileceğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Yeşilkaya, 2008; Brasil et al. 2009; Ekinci, 2009; Patisaul ve Jefferson, 2010; El din et al. 2011; Modaresi et al. 2011). Soyadaki anti-gıdalar arasında bulunan oksalat bileşikleri bazı besinlerde bulunan ve kalsiyumun absorpsiyonunu azaltan maddelerdir (Kaayla, 2005). Araştırmalar, diyetle alınan yüksek oksalat miktarının böbrek taşları oluşumuna zemin hazırlayabildiğini göstermektedir (Kaayla, 2005; Aydın, 2012). Normal insanlarda aşırı olmayan seviyelerdeki oksalat bileşikleri kalsiyum ile birleşerek vücuttan dışkı yolu ile dışarı atılmaktadır. Ancak yağ emilimi problemi bulunan insanlarda kalsiyum mineralleri oksalat yerine yağlar ile birleşerek vücutta serbest oksalat birikmesine yol açmaktadır. Buna ek olarak eğer kişi oksalat oranı yüksek bir diyet ile besleniyor ise ince bağırsaktan emilerek kana geçen oksalat miktarı giderek artarak böbreklerde kalsiyum çökeltileri oluşma ihtimali yükselecektir (Kaayla, 2005). Soya fasülyesinde bulunan küçük molekül ağırlıklı bir peptid de, tiroid bezine iyot girişini bozarak, guatrıa sebep olabilmektedir (Bondi ve Alumot, 1987; Lienar, 1969).

Soyanın tüketim süresinin de alınan miktar kadar önemli olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Grant et al. 1995). Farklı dozlarda soya fasulyesi, barbunya fasulyesi, börülce içeren diyet 700 gün boyunca sıçanlara uygulanmış, organ ve vücut ağırlıkları değerlendirildiğinde tüm baklagil temelli diyetler ilk 250 gün boyunca büyüme oranlarını ve yem dönüşüm verimliliğini azaltırken, 250 gün sonra sıçanlarda ağırlık artışının kontrol grubuna benzer sonuçlar verdiği belirtilmiştir (Grant et al. 1995).

Soya ve soya içeren gıdaların tüketimi ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda sağlıklı ve güvenilir dozlarda alınması Food and Drug Administration (Gıda ve ilaç İdaresi), The American Heart Association (Amerikan Kalp Derneği) ve diğer sağlık organizasyonları tarafından tavsiye edilmektedir. Sağlıklı yetişkin bir bireyin ideal bir diyetle günlük yaklaşık 10-25 g soya proteini tüketmesi gerektiği vurgulanmaktadır (Hasler, 2004).

Üriner sistem organları genel itibariyle idrarın üretildiği böbrekler, idrarı ileten bir çift üreter, idrarın depolandığı mesane ve mesanedeki idrarın dışarı atılmasında kanal görevi gören üretradan oluşmaktadır (Demirsoy, 1993; Standrind, 2005; Gövsa, 2003; Ovale ve Nahirney, 2009).

Karın boşluğunun üst ve arka kısmında yer alan böbrekler son thoracal ve ilk lumbal omurların ventralinde yapışık halde bulunmaktadır. Karaciğerin vücuttaki yerleşiminden dolayı sağ böbrek sol böbreğe nazaran daha aşağıda konumlanmıştır.

Ratlarda sol böbrek sağ böbrekten biraz kaudaldedir. Bir çift böbrek dorsal abdominal kavitenin retroperitonealinde yerleşmiştir. Rat böbreği tek papillalıdır. Organ fibröz bir kapsül ile sarılmıştır ve yağ doku (kapsula adipoza) içinde gömülüdür. Her bir böbrek korteks, medulla, papilla ve pelvis renalisten oluşur. Korteste glomeruluslar ve “kortikal labirintler” olarak isimlendirilen medullaya uzanan kıvrımlar bulunur. Tubulus proksimalis hücrelerinin mikrovilluslarının oluşturduğu fırçamsı kenar, periyodik asit Schiff (PAS) boyamasında pozitif reaksiyon verir. Glomeruluslar Bowman kapsülü ile çevrelenmiştir. Bu kapsülü saran hücreler gençlerde yassı şekilli iken yaşın ilerlemesi ile birlikte prizmatikleşir (Hebel, 1986). Ratların glomerulusları küçüktür. Bir defada birkaç damla idrar atar ve bu idrar insan ile (1160 mOsm/l) karşılaştırıldığında oldukça yoğundur (4300 mOsm/l). Bu yüksek yoğunluk uzun henle kulpuna sahip olmalarından kaynaklanmaktadır (Poyraz, 2000). Juxtaglomeruler aparat makula densa, afferent arteriyole yerleşmiş rennin üreten hücreler ve ekstraglomeruler mezangiyal hücrelerden oluşur. Medulla, medullar radiuslar ve daha alt kısımda papilladan oluşmaktadır. Bu bölgede proksimal, intermediyer, distal ve toplayıcı kanallar bulunmaktadır. Toplayıcı kanalların epiteli kübik ya da prizmatik karakterdedir. Papillar kanallar pelvis renalise açılır. Pelvis renalisin parenşimal bölgeleri tek sıralı kübik, dışında kalan kısımları ise 3-4 sıralı tranzisyonel epitel ile örtülüdür. Pelvis renalis üreterlere açılır. Ratlarda böbreğin besleyici damarlarının organa giriş ve seyir şekli diğer memeli türleri ile benzerdir (Montgomery JR, 1990).

Böbreklerin margo medialis ve margo lateralis diye iki kenarı, extremitas superior ve extremitas inferior diye iki ucu ve facies anterior ve facies posterior diye iki yüzü bulunmaktadır (McEwen, 1959; Standrind, 2005; Gövsa, 2003; Ovale ve Nahirney, 2009).

Sağlıklı bir böbrek dikey bir kesitle ikiye ayrıldığında iki farklı renkte kendini belli eden iki farklı bölümden oluştuğu görülmektedir. Dıştaki kısma korteks adı verilirken içteki kısma ise medulla denir. Medullada pyramis renalis olarak bilinen koni şekilli yapılar mevcuttur. Bu piramidal yapıların taban kısmı böbreğin dış kısmına tepe kısmı ise sinus renalis'e bakmaktadır. Bu piramidal yapılar sinus renalis etrafında birbirine değmeyecek şekilde sıralanmıştır. Böbreklerde esas işi yapan bölüm nefronlar olup yetişkin bir bireyde her bir böbrek yaklaşık olarak 1-4 milyon arasında nefron içermektedir. Böbrekte fonksiyonel olarak idrarın oluşturulduğu kısım cortex renalis olarak adlandırılmaktadır. Bu yapı içerisinde yer alan damar yumağına glomerulus, bu yapıyı koruyup saran kısma ise Bowman kapsülü adı verilir (Jungueria et al. 1998; Standrind, 2005; Gövsa, 2003; Ovale ve Nahirney, 2009). Böbrekler filtrasyon, reabsorbsiyon ve sekresyon gibi fonksiyonları sayesinde organizmadaki görevlerini yerine getirmektedirler. Bu sayede vücudun homeostazını korumuş olurlar (Guyton ve Hall, 2001; Aktümsek, 2006).



Şekil 2. Böbrek kesiti

Özellikle sıçan, renal anatomi ve fizyoloji çalışmalarında çok kullanılan bir hayvan olup birçok renal hastalığın modellenmesinde de; sıklıkla tercih edilmektedir. Sıçan böbreği insan böbreğine göre çok daha küçük olmakla birlikte ünipapillerdir ve daha az renal tubule sahiptir. Ayrıca sıçan böbreğinin pelvisi çok daha basit olup çok küçük bir üriner boşluğu bulunmaktadır. Bununla beraber medulla hacminin korteks hacmine oranı insan böbreğine çok yakındır. Bu oran sıçan, köpek ve insanda 1:2 iken tavşanda 1:16'dır (Coe et al. 1991).

Stereoloji, üç boyutlu örneklerin iki boyutlu kesitlerinden yararlanılarak, onların gerçekteki üç boyutlu özellikleri ile ilgili yorumlar yapılmasını sağlayan bilim dalıdır (Acer ve ark., 2006; Keleş, 2007; Çolakoğlu, 2006).

Stereolojik metotlar, organizmanın makroskobik ve mikroskobik yapılarının morfolojisi ile ilgilenen tüm bilim dallarındaki araştırmacıların bilmesi gereken konulardan biridir. Bunun sebebi ise, canlıdaki olayların üç boyutlu olan yapılarda gerçekleşmesine rağmen, bu yapılardan alınan iki boyutlu kesitlerin, ilgili yapı-organ hakkında genellikle doğru bilgi sağlayamamasıdır. Organ ve yapılarda bulunan objelerin sayısı, uzunluğu, yüzey alanı, hacmi ve hacim bileşenleri gibi geometrik

özellikler ile ilgili gerçekçi bilgiler ancak stereolojik yöntemler kullanılarak elde edilebilir (Ünal ve ark., 2002)

Yapılan mikroskobik çalışmaların başlangıcından günümüze kadar, ilgili biyolojik yapı içerisindeki taneciklerin sayısını bulmak için birçok yöntem kullanılmıştır. Metotların çok sayıda olmasının sebebi her metodun kendi içerisinde bazı hata kaynaklarına sahip olmasıdır. Bu metotların hatalarını düzeltmek içinde yeni metotlar icat edilmiştir. Güvenirliği açısından en çok ilgi çeken ve sıklıkla kullanılmakta geçerli olan yöntem ise stereolojik metotlardır (Ünal ve ark., 2002; Kaplan, 2011).

Stereoloji, etkin (daha kısa zamanda daha az hatalı iş yapmayı sağlayan) ve tarafsız (gerçek değerden sistematik bir sapmaya sebep olmayan) metotları ile problemleri ortadan kaldırmak üzere geliştirilmiş kurallar bütünüdür (Roberts et al. 2000; Mazonakis et al. 2004). Stereolojide, hata kaynaklarından etkilenmesi muhtemel olan yöntemler taraflı, yani "gerçek değerden sistematik sapma gösteren" manasındadır. Stereolojik metotlar ise, tarafsız metotlardır. Bunun anlamı; stereolojik metotlar kurallarına uygun bir biçimde uygulandığında, sistematik hatadan bağımsız sonuçlar elde edilmesini sağlar ve örnekleme sayısı arttırıldıkça gerçek değere daha fazla yaklaşmak mümkün olur (Mayhew et al. 1996; Mayhew et al. 1991).

Stereolojik metotların temelini "Sistematik Rastgele Örnekleme" (SRÖ) stratejisi oluşturmaktadır. Bu örnekleme biçiminin temel özelliği, çalışılacak olan yapıdan örnekler alınırken gerekli olduğu durumlarda, yapının her noktasının eşit örnekleme şansına sahip olmasını sağlamasıdır (Kalkan ve ark., 2007; Keleş, 2007; Karacan, 2008).

SRÖ, önceden belirlenmiş sabit bir örnekleme aralığı boyunca, ilk aralık içinden rastgele bir noktadan başlanmak suretiyle, ilgilenilen yapının tamamının örnekleme şansına sahiptir. Önceden belirlenen örnekleme aralığı (örneğin, her onuncu kesiti veya parçayı seçmeye karar verildiğinde ilk on kesitlik seri), örneklemenin

sistematik kısmını oluşturur. İlk aralık içinde rastgele bir noktadan başlanması (örneğin, ilk on kesit içinden herhangi birinin başlangıç olarak seçilerek, bu kesitten sonra gelen her onuncu kesitin örnek olarak seçilmesi) ise, örnekleminin rastgelelik özelliğini sağlar. İstatistiksel bakış açısıyla, bu tip bir örnekleme, ne kadar çok örnek üzerinde uygulanırsa, yapının her noktasına eşit örnekleme şansı tanıdığı için, homojen ve verimli bir örnekleme elde etme şansı da o kadar artar (Gundersen et al. 1987). Stereolojik metotlarda kullanılan yöntem ve prensiplerin büyük bir kısmı, SRÖ mantığının çeşitlemeleri olarak düşünülebilir. Tanecik sayımı, alan hesaplamaları, alan ve hacim oranları gibi hesaplamalarda ilk şart, çalışılan yapının her aşamada (parçaların seçimi, kesitlerin örneklenmesi, sayım alanlarının ve alan örneklerinin belirlenmesi vb.) sistematik ve rastgele bir tarzda örneklenmesidir (Emirzeoğlu ve ark., 2005; Gundersen et al. 1987; Gundersen et al. 1986).

Çalışmamızın amacı, soya bitkisinin değişik dozlarda dişi ratların böbrekleri üzerine olan etkilerini modern bir metot olan stereolojik yöntemler kullanarak değerlendirmektir. Soyanın böbrek dokusu üzerine olan etkilerini araştıran çalışma sayısının azlığı ve stereolojik olarak yeni bir yöntem olan optik disektör yönteminin çalışmamızda kullanılması bu konuda yapılacak diğer çalışmalara ışık tutması açısından oldukça önemlidir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamızda, genel anestezi altında servikal dislokasyon yolu ile ötenazi edilerek böbrek organ numuneleri alınan ratların böbrekleri %10luk formaldehidde muhafaza edildi. Çalışmada 2 aylık, 180-220 gr. ağırlığında dişi 16 adet Sprague-Dawley rat'a ait toplamda 32 tane böbrek kullanıldı. Böbrek hacminin hesaplanması için Arşimet Prensibi kullanıldı. Böbrekler içerisinde su bulunan dereceli bir kaba konularak taşıdıkları su hacimlerine bakıldı. Böbreğin taşıdığı ya da yükselttiği su miktarı böbreğin hacmine eşittir prensibi ile hacimleri ölçüldü. Böbrekler hassas terazi ile tartılarak ağırlıkları kaydedildi. Böbrek boylarını ölçmede kumpas kullanıldı. Böbrek doku kesitlerinde korteks ve medulla daki glomerulusların boyut ölçümü okuler mikrometre (Beck Kassel, CBS, px8) vasıtasıyla x 40 büyütme kullanılarak yapıldı. Rastgele alanlardan korteks ve medulla üzerinde glomerulusların çapları ölçüldü, ölçülen her bir çapın ortalaması yazıldı.

2.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi'nde ve Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi.

2.2. Deneklerin Seçimi

Bu çalışma öncesi Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (16/02/2012; AKÜHADYEK-83-12) izin alındı. Çalışmada Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi'nden temin edilen, Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca 12.SAĞ.BİL.05 proje numarası ile desteklenen 2014-01 nolu çalışmada kullanılan hayvan materyalinin dokuları kullanılmıştır. Ağırlıkları 180-220 g arasında olan 2 aylık toplam 16 adet dişi Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı. Ratlar deney süresince

16x30x40cm ebatında kafeslerde tutuldu. Kafeslerde altlık materyali olarak iri talaş kullanıldı. Laboratuar ortamı 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsü, ısı 21 ± 2 °C ve nem oranı %50 olacak şekilde düzenlendi. Suluk olarak, sürekli kafeslerin üzerinde bulundurulmuş cam suluklar kullanıldı. Ratların beslenmesi için, Türk Standartları Enstitüsü (TSE) standartlarına uygun olarak yaptırılan pelet yem seçildi. Ratların yem ve suya sınırsız ulaşmaları (*ad libitum*) sağlandı. Çalışma süresince her iki günde bir kafesler düzenli olarak temizlendi, yem ve suları yenilendi. Hayvanlar kafeslere alınmadan önce ağırlıkları tartılarak istatistiksel fark olmayacak ($p=0,992$) şekilde dağılımları sağlandı ve bu sonuca göre ağırlıklarına göre kafeslere ayrıldı.

2.3. Deney Gruplarına Verilen Ekstrelerin Hazırlanması

Çalışmamızda kullanılan soya fasulyesi tohumları Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Çalışma materyali üzerinde fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmalarının yürütülebilmesi amacıyla toplanan soya fasulyesi aşamalı olarak ekstraksiyona tabii tutuldu.

2.4. Etil asetat Ekstresinin Hazırlanması

Soya bitkisi üç defa 1000 ml etil asetat ile oda ısısında 48 saat süre ile manyetik karıştırıcı vasıtasıyla ekstre edildi. Birleştirilen etil asetatlı ekstratlar alçak basınç altında, rotavaporu 40 °C sıcaklıkta yoğunlaştırıldı ve vakumlu desikatörde alçak basınç altında kurutuldu (Etil asetat ekstresi verim: %21,8).

2.5. Deney grupları

Ratlar 2 ayrı gruba ayrıldı ve her grupta 8 hayvan olacak şekilde sınıflandırıldı.

Grup A: Kontrol grubu (herhangi bir madde/solvan uygulanmayan grup).

Grup B: 200 mg/kg dozda etil asetat ekstresinin uygulandığı grup

2.6. Deney

2.6.1. Deneysel Prosedür

Ratlara 1 ay boyunca her gün kendi gruplarına ait dozajda soya ekstresi gavaj yolu ile verildi. Her günlük doz 1ml hacminde, soya yoğunluğu 200 mg/kg dozunda olacak şekilde verildi. Gavaj uygulaması her gün 15:00- 17:00 saatleri arasında yapıldı.

Deneyin son günü (30. gün) hayvanlar genel anestezi altında servikal dislokasyon yolu ile ötenazi edilerek organ numuneleri çıkarıldı.

2.6.2. Ratların Diseksiyonu

Bütün ratların diseksiyon öncesi vücut ağırlıkları tartıldı ve kayıt altında tutuldu. Ratlara 50 mg/kg Ketamin HCL ve 10 mg/kg Ksilazin HCL intramuskuler (IM) olacak şekilde anesteziye alındı (Tapısız ve Özat, 2009; Erdem ve ark., 2014). Servikal dislokasyon ile sakrifiye edilerek bilateral böbrekleri çıkarıldı. Çıkarılan organ ağırlıkları kayıt altına alındı.



Şekil 3. Bilateral böbrek diseksiyonu.

2.6.3. Dokuların Takibi ve Dokuların Saklanması

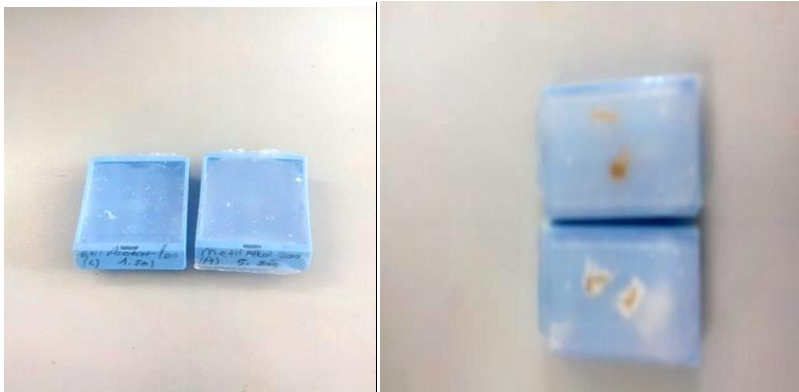
Böbrek doku örnekleri %10' luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi.

Doku Takibi Prosedürü

HCHO (Formaldehit)	1 saat
% 70'lik alkol	2 saat
% 96'lık alkol	1 saat
% 96'lık alkol	1,5 saat
% 99'luk alkol	1 saat
% 99'luk alkol	1 saat
% 99'luk alkol	1,5 saat
Xylene	1 saat
Xylene	1 saat
Xylene	1,5 saat
Parafin	2 saat
Parafin	2 saat

2.7. Böbreklerden Kesit Alma İşlemleri

Sağ ve sol böbrekler rutin histolojik doku takip işlemlerinden geçirilerek parafine gömüldü ve parafin blokları hazırlandı.



Şekil 4. Parafine gömülmüş kesit alma işlemine hazır bir doku örneği.

Parafin bloğundan rotary mikrotomla 5 µm kalınlığında ardışık kesitler alındı. Bir hayvandan ortalama 200 kesit olacak şekilde kesitler arasında rastgele bir tanesinden başlanarak ve onun ardından gelen her 5. kesit ve yanına yedeği alınarak sistematik ve rastgele bir şekilde 1/5 oranında örnekleme yapıldı. Elde edilen tüm kesitler sırayla numaralandırıldı ve jelatinli lama çekilerek kuruması beklendi. Kuruduktan sonra lamalar 60 derece ısıda bir gün etüvde bekletildi. Kesitler deparafinize edildi. Böbreklerin en iyi şekilde görüntülenebildiği boyama şekli olan hematoxylen boyama işlemine tabi tutuldu. Lamalar Entellan (Merck) aracılığıyla lamelle kapatıldı. Boyalı kesitlerin değerlendirilmesinde fotoğraf ataşmanlı Olympus BH-2 (KHW10X/20L) ışık mikroskobu kullanıldı ve sonuçlar karşılaştırıldı.



Şekil 5. Sayımda kullanılan fotoğraf ataşmanı ilave edilmiş mikroskop (Olympus BH2- Japon).

2.8. HİSTOLOJİK ÇALIŞMALAR

2.8.1. Böbreklerin Boyanma İşlemleri

Böbrek dokuları (bağ dokusu), Hematoxylen boyama yöntemi ile boyandı.

Doku Takibi Prosedürü

Xylen 1-2-3 (5 dk)

% 100 (5 dk)

% 80 (5 dk)

% 70 (5 dk)

% 50 (5 dk)

Distile suda 5 dk

Hematoksilen (5 dk)

Asit Alkol-(Daldır çıkar)

Çeşme suyu

Eosin (2 dk)

% 80'lik alkol 10 sn

% 96x2 (Daldır çıkar)

% 100-(1 dk)

Xylen 1-2-3 (5 dk)

2.8.2. Parafin işlemi**2.8.3. Parafinin Uzaklaştırılması İşlemi**

Xylene 15 dk

Xylene 15 dk

% 99'luk alkol 5 dk

% 99'luk alkol 5 dk

% 99'luk alkol 5 dk

% 96'luk alkol 5 dk

%96'luk alkol 5 dk

% 96'lık alkol 5 dk

%70'lik akol 2,5 dk

%70'lik alkol 2,5 dk

Distile suda 2 dk

Giemsa boyası 7 dk

Çeşme suyunda 5 dk

Distile su (100 ml) + 3-4 damla asetik asit 10 dk

Suyun Uzaklaştırılması

% 99'luk alkol 5 dk

Xylene

Xylene üçünde toplamda 5-10 dakika.

Xylene

2.9. Örneklem Şeklinin Belirlenmesi

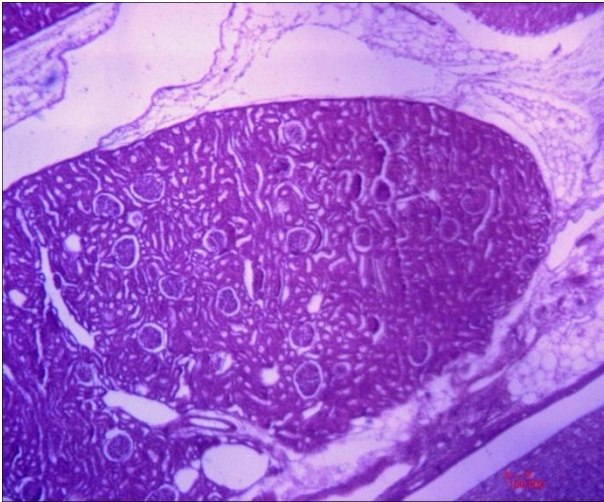
Stereolojik metotlar kullanılırken, çalışmaya başlamadan önce pilot bir çalışma yapıldı. Çalışmayla sayım esnasında uygulanan adımların uygunluğu araştırıldı. Bunun için parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler almaya, her bir kesitten ve her bir bölgesinden (korteks ve medulla) en az 30 adet düzgün görünümlü glomerulus çapı ölçmeye karar verildi..

2.10. Mikroskofta stereolojik inceleme



Şekil 6. Boyama sonrası mikroskofta incelenmek üzere hazır lamalar.

Preparatlardaki doku örnekleri mikroskop altında incelenirken korteks ve medulla kısımları belirlendikten sonra korteks ve medulla arasındaki sınıra yakın olan bölge dışında inceleme yürütüldü. Herbir bölge içindeki glomeruluslar Mshot 9.0 programı yüklü olan bilgisayar monitörü üzerinden görüntüledi. Bilgisayar programı aracılığıyla görüntülenen glomerulusların çapları en az 2 ayrı yerden ölçülerek ortalamaları kaydedildi.



Şekil 7. Bilgisayar programında görülen jukstamedullar ve kortikomedullardaki glomeruluslar.

2.11. İstatistiksel Analiz

Araştırmadan elde edilen verilere göre gruplara ait istatistiksel hesaplamalar ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılıkların önemliliği için tek yönlü varyans analizi (ANOVA), gruplar arası farkın önemlilik kontrolü için “bağımsız t testi” uygulandı. İstatistik analizler SPSS 10.00 (Inc., Chicago, II, USA) programı ile yapıldı. $p < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.



3. BULGULAR

Ratların deney başlangıcı ve bitişinde canlı ağırlıkları (CA) arasında fark olmadığı belirlendi ($p>0,05$).

Tablo 2. Ratların deney öncesi ve sonrası canlı ağırlıkları (g)

Gruplar	CA Başlangıç (g)	CA Bitiş (g)
	MEANS \pm SE	MEANS \pm SE
Kontrol	172 \pm 3,66	190 \pm 3,48
Etil Asetat 200 mg/kg	174 \pm 2,44	192 \pm 4,78
P değeri	0,974	0,955

CA: Canlı Ağırlık

Ratların deney öncesi ve sonrası canlı ağırlıkları tüm deney gruplarına bakıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Ratların sağ ve sol böbreklerinin ortalama ağırlıkları, hacimleri, boy ve en uzunluk değerleri kontrol ve deney grubunda karşılaştırılınca istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilirken böbrek hacminin deney grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak fark yaratmayacak şekilde arttığı gözlenmiştir.

KONTROL GRUBU		
	Kortikomedullar (μ m)	Jukstamedullar (μ m)
Kontrol Grubu 1	228,91	252,75
Kontrol Grubu 2	237,14	226,53
Kontrol Grubu 3	238,37	236,31
Kontrol Grubu 4	218,46	235,93
Kontrol Grubu 5	209,72	202,21
Kontrol Grubu 6	302,52	242,86

Tablo 3. Deney sonrası kontrol grubundaki rat böbreklerinin jukstamedullar ve kortikomedullardaki glomerulus çap ölçümleri.

DENEY GRUBU (EA-200)		
Deney Grubu	Kortikomedullar (μm)	Jukstamedullar (μm)
Deney Grubu 1	225,68	265,65
Deney Grubu 2	243,81	254,11
Deney Grubu 3	257,15	252,35
Deney Grubu 4	264,71	233,48
Deney Grubu 5	250,89	236,83
Deney Grubu 6	240,47	208,38

Tablo 4. Deney sonrası deney grubundaki rat böbreklerinin jukstamedullar ve kortikomedullardaki glomerulus çap ölçümleri.

	Kontrol Grubu	Deney Grubu	P
Ağırlık (g)	1,133 \pm ,28	1,106 \pm ,30	0,626
Hacim (cm ³)	0,937 \pm ,07	1,031 \pm ,64	0,346
Boy (cm)	1,675 \pm ,03	1,693 \pm ,02	0,690
En (cm)	0,912 \pm ,03	0,868 \pm ,02	0,299

Tablo 5. Deney sonrası deney ve kontrol grubundaki rat böbreklerinin ağırlık, hacim, en ve boylarının ortalaması alınmış ölçümleri.

	Kontrol Grubu	Deney Grubu	P
Kortikomedullar (μm)	239,18 \pm ,44	247,1 \pm ,59	0,598
Jukstamedullar (μm)	232,76 \pm ,06	241,8 \pm ,25	0,425

Tablo 6. Deney sonrası kontrol ve deney grubundaki rat böbreklerinin jukstamedullar ve kortikomedullar glomerulus çaplarının ortalaması alınmış ölçümleri.

Böbreklerin glomerulus çapları kontrol ve deney grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunun böbreklerinde hem korteks ve hem de medulladaki glomerulus çaplarının bir miktar artış gösterdiği gözlenirken bu artışın istatistiki olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edildi.

5. TARTIŞMA

Soya fasulyesi (*Glycine max* L.) insan ve hayvan beslenmesinde kullanılmak üzere, yüksek oranda protein ve yağ içeren, dünyada en fazla üretimi yapılan baklagil bitkisidir (Herridge ve Danso, 1995). Etten daha yüksek protein içeren, düzenli kullanıldığında kolesterolü düşüren, kalp ve damar hastalıklarına karşı koruma sağlayan, düşük yağ oranı sayesinde kilo kontrolüne yardımcı olan, menopoz sorunlarını ve kanser riskini azaltan soya, mucize bitki olarak benimsenmektedir (Liu, 2004). İnsan sağlığına faydalı etkileri nedeniyle, gıda formülasyonlarına çeşitli şekillerde ilave edilmek üzere birçok araştırmaya konu olmuştur (Liu, 1999; Endres, 2001; Liu, 2004).

Soyanın olumlu etkilerinin yanında olumsuz etkileri de vardır. Ham soya içerdiği hemaglutininlerden (lektinler) dolayı, antikorlara benzer şekilde, alyuvarların parçalanmasına veya bir araya gelmelerine sebep olur. Isıya duyarlı olan hemaglutininler, bu maddelerin işlenmesi sırasında kolayca parçalanıp tahrip olurlar. Uygun şekilde hazırlanıp kullanıldığında çok değerli bir protein kaynağı olan soya fasülyesi, özellikle ham ve iyi ısıtılmadan ve rastgele kullanıldığında, bilhassa kanatlılarda olmak üzere, hayvanlarda çok yönlü olumsuzluklara yol açabilmektedir. İşlenmemiş soyanın taşıdığı en önemli sakıncalardan birisi hayvanların sindirim kanalında *proteaz* etkinliğini engellemesidir. Yeterince ısıtılmadan yemlere katılan soya unlarında bulunan bu maddeler sindirim kanalındaki protein ayrıştırıcı enzimlerin (*tripsin* gibi) etkinliğini engelleyerek, hem kendisindeki hem de yemdeki proteinlerin ayrışmasını ve böylece sindirimini engelleyebilmektedir. Bu etkiye, vücut pankreas bezinde büyüme ve tripsin salgısını artırma şeklinde cevap verir (Bondi, 1987; Whitaker, 1973).

Soyadaki anti-gıdalar arasında bulunan oksalat bileşikleri kalsiyumun absorpsiyonunu azaltan maddelerdir. Araştırmalar, diyetle alınan yüksek oksalat miktarının böbrek taşları oluşumuna zemin hazırlayabildiğini göstermektedir. Normal insanlarda aşırı olmayan seviyelerdeki oksalat bileşikleri kalsiyum ile

birleşerek vücuttan dışkı yolu ile dışarı atılmaktadır. Ancak yağ emilimi problemi bulunan insanlarda kalsiyum mineralleri oksalat yerine yağlar ile birleşerek vücutta serbest oksalat birikmesine yol açmaktadır. Buna ek olarak eğer kişi oksalat oranı yüksek bir diyet ile besleniyor ise ince bağırsaktan emilerek kana geçen oksalat miktarı giderek artarak böbreklerde kalsiyum çökeltileri oluşma ihtimali yükselecektir (Kaayla, 2005; Aydın, 2012)

Bu çalışma, insan gıdalarında da yaygın olarak tüketilen soya bitkisinin böbrek dokusu üzerine etkisinin olup olmadığının önemini vurgulamak amacıyla yapılmıştır.

Soya ürünleri, yüksek miktarda soya proteini, izoflavonlar, omega-3 yağ asitleri ve diyet lifi içerikleri ile çok önemli fonksiyonel gıda bileşenleri veya ürünleridir (Riaz, 2001; Liu, 2004). Rousseu ve arkadaşlarının farelerde renovasküler hipertansiyon modelinde yaptıkları çalışmalarda omega-3 yağ asidi kullanımı sonucu anjiyotensin konverting enzim (ACE) ile ilgili muhtemel mekanizmalarla kan basıncı kontrolünün kolaylaştığını ve tek taraflı renal arter klemplenmesi suretiyle yapılan çalışmalarda da hipertansiyon gelişmesinin engellendiğini belirtmişlerdir. Yapılmış olan bir başka çalışmada da omega-3 yağ asidi ile zenginleştirilmiş diyet ile beslenen ratlarda sodyum nitroprusid (SNP)'in indüklediği nefrotoksisiteye karşı olası koruma sağlandığı tespit edilmiştir.

Gülçen B. ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada soya bitkisinde oldukça fazla bulunan omega-3 yağ asitlerinin sıçan böbrek dokusunda antioksidan savunma sistemini güçlendirdiği, oksidatif hasarı önlediği ve böbrek dokusu üzerine koruyucu bir etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmadan hareketle araştırmamızda soyanın böbrek dokusu üzerindeki etkisi steorolojik yöntemle çalışılmıştır. Çalışmamızda soya tüketiminin böbrek glomerulus çapında anlamlı bir artış yaptığı görülmüştür.

Ogborn MR ve ark. yaptığı bir çalışmada; soya proteini ile beslenen polikistik böbrek hastalığı olan Han:SPRD-cy ratlarda epitelyel hücre proliferasyonunun, kistik

değişimin, makrofaj infiltrasyonunun, fibrozisin, dolayısıyla renal hasarın azaldığı gösterilmiştir.

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar, deneysel hayvan modellerinde, polikistik böbrek hastalığının ilerlemesini geciktirmede diyet soya proteininin etkinliğini göstermiştir (Aukema ve ark., 1999 ; Aukema ve ark., 2001; Ogborn MR ve ark., 1998). Aukema ve ark. (2001), tarafından farklı protein kaynaklarının PKBH üzerindeki etkilerini tespit etmek için yapılan bir çalışmada; genç erkek ve dişi Han:SPRD-cy fareleri 6 hafta boyunca soya veya kazein içeren (%20) diyetle beslenmişlerdir. Soya proteini ile beslenen hem dişi hem de erkek farelerde PKBH'nın ilerlemesi yavaşlamıştır. Bu yavaşlama düşük böbrek ağırlığı ve su miktarı, düşük kist alanı ve azalmış serum kreatinin ve serum üre, artmış kreatinin klirensi değişimlerinin gösterdiği artmış renal fonksiyon varlığı ile tespit edilmiştir. Bu olumlu sonuçlar; soya proteininin, büyüme ve GFR'yi düzenleyen insülin büyüme faktör 1'i (IGF-1) değiştirmesiyle PKBH'nın ilerlemesini azaltmasına bağlanmıştır. Soya ile beslenenlerde IGF-1 miktarının, kazein ile beslenenlerden daha düşük miktarda olduğu ve hastalığın ilerlemesi ile IGF-1 miktarının arttığı rapor edilmiştir.

Altıparmak (2007), tarafından yapılan bir çalışmada, soya yağı ile beslenen polikistik böbrek hastalığı olan ratlarda epiteliyal hücre proliferasyonunun, kistik değişimin, makrofaj infiltrasyonunun, fibrozisin dolayısıyla renal hasarın azaldığı gösterilmiştir. Çalışmamızda soyayla beslediğimiz sıçanların böbrek dokularında hasar görülmemiştir.

Soroka ve ark. (1998), yaptıkları çalışmada soya kaynaklı düşük protein içerikli vejetaryen diyet ve hayvansal kaynaklı düşük proteinli diyetlerin 9 kronik böbrek yetmezliği hastasına etkileri araştırılmıştır. Hastalara 6 ay süresince her iki diyet de sırasıyla tüketirilmişdir. Çalışmanın sonunda glomerular filtrasyon hızı her iki diyetten sonra benzer çıkmış ve başlangıç seviyesinden de farklı çıkmamıştır. Kan üre nitrojen, idrar üre nitrojeni, protein katabolik hız ve 24 saatlik üre, kreatinin ve fosfor vejetaryen diyetle hayvansal kaynaklı diyetten daha düşük çıkmıştır. Bu çalışmadan hareketle çalışmamızda böbreğin medulla ve korteks yapılarındaki

glomerulus çap ölçümleri yapıldı. Yapılan sonuca göre kontrol grubundaki glomerulus çaplarında bir miktar artış olduğu görüldü.

Tip 2 diyabetli hastalarda soya proteininin renal fonksiyon ve proteinüri üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, tip 2 diyabetli 8 erkek 8 hafta süresince izlenmiştir. Sekiz haftalık sürecin sonunda, deneklere 4 haftalık standart diyabetik diyet tükettirilmiştir. Diyetin içeriği 1 g/kg/gün protein, enerjinin % 55'i kadarı karbonhidrat ve %30'u kadarı yağlardan sağlanacak şekilde ayarlanmıştır. Bu sürecin ardından denekler hem hayvansal kaynaklı protein içeren hem de soya proteini içeren iki farklı diyeti tüketmişlerdir. Test diyetlerinin de protein miktarı 1 g/kg/gün protein olarak belirlenmiş ve her iki test diyetinin de CHO ve yağ kompozisyonu benzer ayarlanmıştır. Araştırmanın sonunda, serum üre nitrojeni, soya proteini içeren diyetle hayvansal protein içeren diyetle kıyasla önemli bir düşüklük göstermiştir. Serum kreatinin değerleri, hayvansal kaynaklı protein içeren diyetle yükselmiş ancak soya proteini içeren diyetle değişmemiştir (Anderson ve ark., 1998).

Stereolojik metotlar, organizmanın makroskobik ve mikroskobik yapılarının morfolojisi ile ilgilenen tüm bilim dallarındaki araştırmacıların bilmesi gereken konulardan biridir. Bunun sebebi ise, canlıdaki olayların üç boyutlu olan yapılarda gerçekleşmesine rağmen, bu yapılardan alınan iki boyutlu kesitlerin, ilgili yapı-organ hakkında genellikle doğru bilgi sağlayamamasıdır. Organ ve yapılarda bulunan objelerin sayısı, uzunluğu, yüzey alanı, hacmi ve hacim bileşenleri gibi geometrik özellikler ile ilgili gerçekçi bilgiler ancak stereolojik yöntemler kullanılarak elde edilebilir (Ünal ve ark., 2002). Çalışmamızı böbrek dokusu üzerinde gerçekleştirerek medulla ve korteks morfolojisini değerlendirdik.

Çağın ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada iskemi-reperfüzyon işlemine karşın selenyumun sıçan böbreğinde glomerül sayısı ve ortalama çapını değiştirmeksizin, glomerüle ait yapılarda bazı dejenerasyonlara, böbrek tübüllerinde ise dilatasyona sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda rastgele alanlardan seçilen korteks ve medulla üzerinde glomerulusların çapları ölçüldü, ölçülen her bir çapın ortalaması yapıldı. Korteks ve medulladaki glomerulların ortalama çapında bir

miktar artış gösterdiği gözlenirken bu artışın istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı gözlenmiştir.

Böbrek ile ilgili morfolojik yapıların hacimlerinin somut olarak ifade edilmesi oldukça önemlidir. Böbrek yapısına ait korteks, medulla ve kaliksiyel yapılarda meydana gelen gelişme geriliği, patoloji ve anomalilerle sonuçlanır, Böbrek hacmi ile ilgili tanımlanan morfolojik sayısal tanımlamalar deneysel çalışmalarda ve tedavi sonrası takip açısından oldukça önemlidir. Daha önce yapılan çalışmalarda böbrek yapısına ait histolojik doku hacimleri ile ilgili tanımlamalar ortaya konulmuştur (Malas, 2002; Mayhew, 1999; Bertram, 1995). Çalışmamızda, böbrek doku kesitlerinde korteks ve medulladaki boyut ölçümü okuler mikrometresi (Beck Kassel, CBS, px8) ile x 40 büyütme kullanılarak yapıldı.

Bertram JF (1995), ortalama ağırlığı 215 16 gram olan Sprague Dawley ratlarda renal yapıları stereolojik yöntemle çalışmış, renal total hacimlerin 848 118 mm³ olduğunu tespit etmiştir. Çalışmamızda ise Sprague-Dawley ratlarında deney grubunun ortalama ağırlığı 174 ± 2,39 gram, kontrol grubunun ortalama ağırlığı 172 ± 3,66 gram olarak bulundu. Böbrek total hacmin deney grubunda 1031 mm³, kontrol grubunda ise 937 mm³ olarak bulundu.

Selçuk ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada, 32 adet 250±20 ağırlığında wistar albino erkek erişkin sıçanlarda borik asit ile indüklenen testis ve böbrek hasarına karşı Omega-3 yağ asitlerinin koruyucu etkisini araştırmışlardır. Böbrek ve testis dokuları Hematoksilen-Eozin ile boyama yapılmıştır. Çalışmamızda böbrek dokusu kesitlerini Hematoxylen ile boyayarak tespit ettik.

5. SONUÇ

Soya içerdiği değerli besin maddeleri sayesinde insan yaşamında önemli yer tutmaktadır. Asya ülkelerinde yağ ve un elde etmek üzere kullanılmıştır. Ayrıca yüksek protein içeriği nedeniyle binlerce yıldır et yerine kullanılan bir gıda ürünüdür. Asrın harika bitkisi olarak birçok çalışmaya katkı sağlamıştır.

Soyayı tüketim süresinin de alınan miktarı kadar önemli olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Uygun şekilde hazırlanıp kullanıldığında çok değerli bir protein kaynağı olan soya fasülyesi, özellikle ham ve iyi ısıtılmadan ve rastgele kullanıldığında, bilhassa kanatlılarda olmak üzere, hayvanlarda çok yönlü olumsuzluklara yol açabilmektedir (Bondi ve Alumot, 1987; Whitaker et al. 1973). Soya ve soya içeren gıdaların tüketimi ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda sağlıklı ve güvenilir dozlarda alınması Food and Drug Administration (Gıda ve ilaç İdaresi), The American Heart Association (Amerikan Kalp Derneği) ve diğer sağlık organizasyonları tarafından tavsiye edilmektedir. Sağlıklı yetişkin bir bireyin ideal bir diyet için günlük yaklaşık 10-25 g soya proteini tüketmesi gerektiği vurgulanmaktadır (Hasler, 2004).

Soya böbrek fonksiyonları üzerine olan etkileri sayesinde; enürezis tedavisinin yapılması, yapılan soya diyetiyle polistik böbrek hastalığının ilerlemesinin geciktirilmesi gibi birçok çalışmaya ışık tutmuştur. Çalışmamızda da soyanın böbrek üzerine olan etkisini değerlendirmek amacıyla medulla ve korteksteki glomerulus çap ölçümünü yaptık. Yapılan çalışma sonunda soyanın böbrek medulla ve korteks glomerulus çaplarında değişiklik yapmadığı görülmüştür.

ÖZET

SOYA (*Glycine max* L.)' NİN DİŞİ RATLARDA BÖBREKLER ÜZERİNE ETKİSİNİN STEREOLOJİK METODLA DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmada sadece hayvan beslenmesinde değil insan gıdalarında da çeşitli formlarda kendine yer bulan soya bitkisinin böbrek dokusu üzerine etkileri araştırıldı.

Çalışmanın ilk aşamasında, Türkiye'de yetişen *Glycine max* L. bitkisi üzerinde biyolojik aktivite taraması tayini amacıyla etil asetatlı ekstreler hazırlanarak ratlara oral yolla 100mg/kg ve 200 mg/kg dozlarda 1 ay süreyle verildi.

Deney süresinin sonunda ratlar genel anestezi altında servikal dislokasyon yolu ile ötenazi edildi.

Deney sonucunda ratlardan alınan böbrek dokuları stereolojik metotlar kullanılarak incelendi. Böbrek dokularının ağırlık, hacim, en ve boy ölçümleri yapılarak değerlendirilmeye alındı. Stereolojik olarak böbrek doku kesitlerinde glomerul ve medulla boyut ölçümü okuler mikrometresi ile x 40 büyütmede rastgele alanlardan seçilen düzgün yapılı glomerul ve medulla üzerinde çap ölçülerek değerlendirilmeye alındı.

Yapılan değerlendirmeler sonucunda soyanın deney öncesi ve deney sonrası böbrek ağırlık, hacim, en ve boy ortalamaları alınıp karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmemiştir. Soyanın böbrekteki medulla ve korteks glomerulus çaplarında değişiklik yapmadığı görülmüştür.

Elde edilen bulgular ışığında soya bitkisinin içeriğindeki diğer böbrek dokusu üzerine olumsuz etkilerinin olmadığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Glomerulus, *Glycine max* L., rat, böbrek, stereoloji.

SUMMARY

Effect of Soybean (*Glycine max L.*) on Kidney and evaluation by Stereological Method in Female Rats.

In the present study the effects on the female kidney tissue of soybean which can be found in various forms not only in animal nutrition but also human food have been investigated.

For this purpose, the extracts of soya plant which were prepared with ethyl acetate was given to rats orally at 100 and 200 mg/kg doses for 1 month.

At the end of the experimental period, the rats were euthanized by cervical dislocation under general anesthesia.

Kidney tissues taken from rats were analyzed by using stereological methods. The kidney tissues have been evaluated by measuring weight, volume, height and width. Stereological with renal medullary tissue sections in the glomeruli and size measurement of ocular micrometer magnification x 40 selected from random areas were evaluated by measuring the diameter properly made on the glomeruli and medulla.

As a result of the evaluations, it has been the average of kidney weight, volume, width and height of the soybean before and after the experiment and difference there has not been any significant when it is compared. It has been shown not to make any changes in the medulla and the cortex glomeruli diameter of the soybean in the kidney.

In the light of the findings of the present study, those in contact of the soybean plant were found to have immortal effects on the kidney tissue.

Key Words: Glomeruli, *Glycine max L.*, Rats, Kidney, Stereology.

KAYNAKLAR

ACER, N., SAHİN, B., EKİNCİ, N., ERGÜR, H., BASALOGLU, H. (2006 Mart). Relation between intracranial volume and the surface area of the foramen magnum. *J Craniofac Surg.*, **17**: 326-330

AKTÜMSEK, A. (2006). *Anatomi ve Fizyoloji İnsan Biyolojisi*, 3. baskı, Nobel Yayınları, Ankara, s.403-432.

ALBERT, A., ALTABRE, C., BARO, F., BUENDIA, E., CABERO, A., CANCELO, M. J., CASTELO-BRANCO, C., CHANTRE, P., DURAN, M., HAYA, J., IMBERT, P., JULIA, D., LANCHARES, J. L., LLANEZA, P., MANUBENS, M., MINANO, A., QUEREDA, F., RIBES, C., VAZQUEZ, F. (2002). Efficacy and Safety of a Phytoestrogen Preparation Derived from *Glycine max* (L.) Merr in Climacteric Symptomatology A Multicentric, Open, Prospective and Non- Randomized Trial *Phytomedicine*. **9(2)**: 85-92.

ALLRED, C., ALLRED, K., JU, Y., VIRANT, S., HELFERICH, W. (2001). Soy Diets Containing Varying Amounts of Genistein Stimulate Growth of Estrogen- Dependent(MCF-7) Tumors in a Dose-Dependent Manner. *Cancer Research*. **61**: 5045-5050.

ALPAY, F. (2003 26 Eylül). *Dünyada ve Türkiye’de Soya Gıdaları ve Soya Unu Semineri Notları*. Adana.

ALTIPARMAK, M.R. (2007). Otozomal Dominant Polikistik Böbrek Hastalığı Tedavisinde Yeni Ufuklar. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, **16**: 35-39.

ANAÇ, H., ERTÜRK, Y.E. (2003). Soya Fasulyesi. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü. T.E.A.E.- BAKIŞ., 2(6). ISSN:1303-8346.

ANDERSON, J.W., BLAKE J.E., TURNER, J., SMITH, B.M. (1998). Effects of Soy Protein on Renal Function and Proteinuria in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *AJCN.*, **68**:1347-53.

ANDERSON, J.W., SMITH, B.M., WASHNOCK, C.S. (1999). Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. *Am J Clin Nutr* **70(3)**: 464-474.

ARIOĞLU, H.H. (2007). Yağ Bitkileri Yetiştirme ve Islahı. Ders Kitapları Yayın No:A-70, Ç.Ü.Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi, 204s.,Adana.

ARJMANDI, B., ALEKEL, L., HOLLIS, B., AMIN, D., STACEWICZSA PUNTZAKIS, M., GUO, P., KUKREJA, S. (1996). Dietary Soybean Protein Prevents Bone Loss in an Ovariectomized Rat Model of Osteoporosis. *In the Journal of Nutrition.* **126**: 161-167.

AUKEMA HM, HOUSİNİ I, RAWLING JM. (1999). Dietary soy protein effects on inherited polycystic kidney disease are influenced by gender and protein level. *J Am Soc Nephrol*, **10**: 300–309.

AUKEMA HM. and HOUSİNİ. (2001). Dietary soy protein effects on disease and IGF-I in male and female Han:SPRD-cy rats. *Kidney International*, **59**: 52–61.

AYDIN, H. (2007). Kedi ve Köpek Mamalarındaki Soya ve Soyalı Ürünlerin Klinik Farmakoloji ve Toksikoloji Yönünden Değerlendirilmesi. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. **33(2)**: 51-59.

AYDIN, A. (2012 Mart). Doğru Beslenme Kanserden Korur. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fak. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD Metabolizma ve Beslenme Bilim Dalı Başkanı. Hayy kitap. 4. baskı.

AZADBAKHT, L., SHAKERHOSSEİNİ, R., ATABAK, S., JAMSHİDİAN, M., MEHRABİ, Y., ESMAİLL- ZADEH, A. (2003). Beneficiary effect of dietary soy protein on lowering plasma levels of lipid and improving kidney function in Type 2 diabetes with nephropathy. *Eur J Clin Nutr*. **57(10)**: 1292-1294.

BAŞER, K.H.C. (2002). Fonksiyonel Gıdalar ve Nutrasötikler. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildirisi. ISBN: 975-94077-2-8.

BERTRAM, JF. (1995). Analyzing renal glomeruli with the new stereology. *Int Rev Cytol.*, **161**: 111-72. Review.

BONDİ, A. and ALUMOT, R. (1987). *Anti-nutritive factors in animal feed stuffs and their effects on livestock*. Progress in Food and Nutrition Science, LL: II 5-15 1.

BRASIL, F.B., SOARES, L.L., FARIA, T.S., BOAVENTURA , G.T., SAMPAIO, F.J., RAMOS, C.F. (2009). The Impact of Dietary Organic and Transgenic Soy

on The Reproductive System of Female Adult Rat. *Reproductive Biology*. **292(4)**: 587-594.

BURAK, M., ÇİMEN, Y. (1999). Flavonidler ve Antioksidan Özellikleri. T. Klin. Tıp Bilimleri. **19**: 296-304.

BÜYÜKTUNCER, Z., BAŞARAN, A. (2005). Fitoöstrojenler ve Sağlıklı Yaşamdaki Önemleri. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*. **25(2)**: 79-94.

BYUN, J., LEE, S. (2010). Effect of Soybeans and Sword Beans on Bone Metabolism in a Rat Model of Osteoporosis. *Ann Nutrition & Metabolism*. **56**: 106-112.

COE, F.L., NAKAGAWA, Y., PARKS, J.H. (1991). Inhibitors with in the nephron. *Am J Kidney Dis*. **17**: 407-413.

ÇOLAKOĞLU, S. (2006). Boyun Omurlarının (C3-C7) Gövde Hacimlerinin Stereolojik Yöntemlerle Hesaplanması. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Anatomi Anabilim Dalı. Doktora Tezi.

DEMİRSOY, A. (1993). Yaşamın Temel Kuralları Cilt III-Kısım I. Ankara. Türkiye. 205-216.

EKİNCİ, S. (2009). Genistein'in Bildircin (Coturnix Coturnix) Testisi Üzerine Kısa Süreli Etkileri. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.

ELDIN, S., BALTA, H., ELAZIM, A., EL FATTAH, A. N. (2011). Effect of Soybean on Fertility of Male and Female Albino Rats. *Journal of American Science*. 7(6): 872-883.

EMİRZEOĞLU, M., SAHİN, B., SELÇUK, M.B., KAPLAN, S. (2005). The effects of section thickness on the estimation of liver volume by the cavalieri principle using computed tomography images. *Eur. Radiol.*, **56**: 391-397.

ENDRES, J.G. (2001). Soy Protein Products Characteristics, Nutritional Aspects, and Utilization. AOCS Press, Champaign, IL, USA.

ERDEM, MK., YURDAKAN, G., YILMAZ – SİPAHİ, E. (2014) The Effects of Ketamine, Midazolam and Ketamine/xylazine on Acute Lung Injury Induced by α -Naphthylthiourea in Rats. *Adv Clin Exp Med*. 2014 May-Jun; **23(3)**: 343-51.

FDA, Food and Drug Administration, (1999). Food Labelling: health claims; soy protein and coronary heart disease. Final rule. 21 VFR Part 101. Washington, D.C., Dept. Of Health and Human Services.

FUKUDA, I., TSUTSUI, M., YOSHIDA, T., TODA, T., TSUDA, T., ASHIDA, H. (2011). Oral Toxicological Studies of Black Soybean (*Glycine max*) Hull Extract: Acute Studies in Rats and Mice, and Chronic Studies in Mice. *Food and Chemical Toxicology*. **49(12)**: 3272-78.

- GARCÍA, M.C., TORREÜ, M., MARİNA, M.L. ve LABORDA, F. (1997). Composition and characterization of soyabean and related products, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 37, 4, 361-391.
- GÖVSA, G. (2003). F Sistematik Anatomi. 1. Baskı. İzmir güven kitabevi. İzmir. S. 531-539.
- GRANT, G., DORWARD, P.M., BUCHAN, W., ARMOUR, J., PUSZTAI, A. (1995). Consumption of Diets Containing Raw Soya Beans (*Glycine max*), Kidney Beans (*Phaseolus Vulgaris*), Cowpeas (*Vigna Unguiculata*) or Lupin Seeds (*Lupinus Angustifolius*) by Rats for up to 700 days: Effects on Body Composition and Organ Weights. *British Journal of Nutrition*. **73**: 17-29.
- GUNDERSEN, H.J.G. (1986). Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones in memory of William R Thomson. *J Microsc*, **143**: 3-45
- GUNDERSEN, H.J.G, JENSEN, E.B. (1987). The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J. Microscopy*, **147**: 229-263
- GUYTON AC, HALL JE, Tıbbi Fizyoloji, (2001). (onuncu baskıdan çeviri: ed. Çavusoğlu H.), Yüce yayımları&Nobel Tıp Kitabevi, Ankara, s. 797-798.
- GÜLCEN, B., KARACA, Ö., KUŞ, M.A., KAMAN, D., ÖGETÜRK, M., KUŞ, İ. (2012). Omega-3 Yağ Asitlerinin Böbrek Antioksidan Savunma Sistemi Üzerindeki Etkisi: Deneysel Bir Çalışma. *Balıkesir Sağlık Bil Derg.* Cilt:1 Sayı:2.

HASLER, C., MBA, PhD. (2004). Safety of Soy Products. National Safety Associates.

HEBEL, R., STROMBERG, M.W. (1986). Anatomy and Embryology of the laboratory Rat. Woerthsee: BioMed Verlag.

HERRIDGE, D.F., DANSO, S.K.A. (1995). Enhancing Crop Legume N₂ Fixation Through Selection and Breeding. *Plant Soil*, 174,51-82.

HOŞGÜN, E. (2008). Farklı Yöntemlerle Soya Yağı Ekstraksiyonu ve Karakterizasyonu. Anadolu Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.

İNANÇ, N., TUNA, Ş. (2005). Fitoöstrojenler ve Sağlıkta Etkileri. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. **2(2)**: 91-95.

JUNGUERÍA, L.C., CARNERÍO, J., and KELLEY, R.O. (1998). Temel Histoloji, Aytakin, Y.,Barış Kitapevi, İstanbul, Türkiye, 359-378, 407-422.

KAAYLA, T., DANIEL, PhD, CCN. (2005). The Whole Soy Story.

KALKAN, E., CANDER, B., GUL, M., GİRİŞGİN, S., KARABAĞLI, H., ŞAHİN, B. (2007). Prediction of prognosis in patients with epidural hematoma by a new stereological method. *Tohoku J Exp Med.*, **211**: 235-242.

KAMILOĞLU, N., BEYTUT, E., ÖZSAR, N. (2002). İnsan ve Hayvan Sağlıkta Fitoöstrojenlerin Önemi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. **8(2)**: 189-194.

KAPLAN, P.E. (2011). Gebe Sıçanlara Uygulanan Prostaglandin Sentez İnhibitörü Diklofenak Sodyumun Postnatal Ovaryum Morfolojisine Etkilerinin Stereolojik Yöntemlerle Araştırılması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.

KARACAN, K. (2008). Çocuklarda Lateral Ventrikül ve Beyin Hacminin MR İnceleme Yöntemi Kullanılarak Stereolojik Metotla Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi.

KELEŞ, O. (2007). Sıçan Fetüs, Yenidoğan ve Erişkinler Cerebrum Gelişiminin Volumetrik Açından İncelenmesi. (Bir Stereolojik ve Embriyolojik Çalışma) Atatürk Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Histoloji & Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.

KIM, H.K., DOOLEY, C.N., DELLA-FERA, M.A., YANG, J.Y., ZHANG, W., DUAN, J., HARTZELL, D.L., HAMRICK, M.W., BAILE, C.A. (2006). Genistein Decreases Food Intake, Body Weight, and Fat Pad Weight and Causes Adipose Tissue Apoptosis in Ovariectomized Female Mice. Nutrient Physiology, Metabolism, and Nutrient-Nutrient Interactions. *In the Journal of Nutrition*. **136**: 409-414.

KOSİF, R., AKTAŞ, R.G., OK, E. (2011). Sıçanlarda Soya Yağı ile Oluşturulan Böbrek Hasarı Üzerine Aloe Barbadensis'in İyileştirici Etkileri. Erciyes Tıp Dergisi **33(3)**:175-182.

- LEE, G.J., WU,X., SHANNON, J.G., SLEPER, D.A., NGUYEN, H.T., (2007).
Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants, Vol.2.
- LİENER, I.E. (1979). The nutritive significance of plant protease inhibitors. *Proc. Nutr. Soc.*, **38**: 109-113.
- LİNEAR, I.E. (1969). *Miscellaneous toxic factors*. p. 410-44.8. In: Toxic constituents of plant foodstuffs. Academic Press. New York.
- LİU, K., (2004). Soybean as Functional Foods and Ingredients, pp.1-51, AOCS Press, Champaign, IL, USA.
- LİU, K. (1999). Soybeans Chemistry, Technology, and Utilization, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland.
- MALAS, M.A., SULAK, O., ÜNGÖR, B., ÇETİN, E., ALBAY, S. (2002). Böbrek ile ilgili morfolojik yapı hacimlerinin stereolojik yöntemle araştırılması Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2002:9 -(4) -1 - 5.
- MARKLEY, S. K. (1950). Soybeans and soybean products. Volum 1. New York. USA. P. 15-210
- MAYHEW, T.M., OILSEN, DR. (1991). Magnetic resonance imaging (MRI) and model-free estimates of brain volume determined using the Cavalieri principle. *J Anat.* **178**: 133-144.

- MAYHEW, T.M., GUNDERSEN, H.J. (1996). If you assume, you can make an assumption out of it: a decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. *J Anat.* **188**: 1-15 37.
- Mayhew, T.M. (1999). Second-order stereology and ultrastructural examination of the spatial arrangements of tissue compartments within glomeruli of normal and diabetic kidneys. *J Microsc.* **195 (2)**: 87-95.
- MAZONAKIS, M., KARAMPEKIOS, S., DAMILAKIS, J., VOLUUDAKI, A., GOURTISOYIANNIS, N. (2004). Stereological estimation of total intracranial volume on CT images. *Eur Radiol* **14**: 1285-1290.
- MCEWEN, R.S. (1959). *Vertebrate Embriology*, Henry Holt and Company, California, USA, 262- 278.
- MODARESI, M., MESSRIPOUR, M., KHORAMI, H. (2011). Effect of Soybean on Male Reproductive Physiology in Mice. *International Conference on Life Science and Technology*. **3**: 15-18.
- MONTGOMERY, J.R., CHA, Seely, J.C. (1990). Pathology of the Fischer Rat. In: Boorman, GA, Eustis, SL, Elwell, MR, Montgomery JR, CHA, MacKenzie, WF, editors. *Pathology of the Fischer Rat: References and Atlas*. San Diego: Academic Press., p. 127-154.
- NACIFF, J., JUMP, M., TORONTALI, S., CARR, G., TIESMAN, J., OVERMANN, G., DASTON, G. (2002) Gene Expression Profile Induced by 17 α -Ethinyl Estradiol, Bisphenol A, and Genistein in the Developing Female Reproductive System of the Rat. *Toxicological Sciences*. **68**: 184-199.

- OGBORN MR, BANKOVIĆ-CALIC N, SHOESMITH C. (1998). and et al. Soy protein modification of rat polycystic kidney disease. *Am J Physiol* **274**:541–549.
- OKWU, W., OKWU, D.E., ORJI, B.O. (2007) Phytochemical Composition and Nutritional Quality of *Glycine max* and *Vigna Unguiculata* L.Walp. *American Journal of Food Technology*. **2(6)**: 512-520.
- OVALE WK, NAHIRNEY CP. (2009). Netter Temel Histoloji, (Çeviri Editörleri Müftüoğlu S., Kaymaz F.,Atilla P.), Günes Tıp Kitabevleri, Ankara, s. 353-372.
- PATISAUL, H., JEFFERSON, W. (2010) The Pros and Cons of Phytoestrogens. *Neuroendocrinol*. **31(4)**: 400-419.
- PONNUSHA, B. S., SUBRAMANIYAM, S., PASUPATHI, P.,SUBRAMANIYAM, B., VIRUMANDY, R. (2011) Antioksidant and Antimicrobial Properties of *Glycine max*- A Review. *International Journal of Current Biological and Medical Science*. **1(2)**: 49-62.
- POYRAZ, Ö. (2000). Sıcakkanlı hayvanlar. In: Poyraz, Ö, editör. Laboratuvar hayvanları bilimi. Ankara, Kardelen ofset, s. 179-223.
- ROBERTS N, PUDDEPHAT MJ, McNulty V. (2000). The benefit of stereology for quantitative radiology. *Br J Radiol*. **73**: 679-697 35.
- SELCUK, M.,L., BOLAT D. (2013). Stereological and biochemical evaluation of diclofenac induced acute nephrotoxicity in rats. *164(6)*. s. 290-294.

SOSIC-JURJEVIC, B., FILIPOVIC, B., SEKULIC, M. (2011). Soybean Phytoestrogens- Friends or Foes. *Intech. Sy.* 131-174. <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/22601.pdf>. 10.05.2014

STANDRIND, S. (2005). Gray's Anatomy, The Anatomical Basis Of Clinical Practice, Thirty-Ninth Edition, Elsevier Ltd. London, UK, s.1269- 1284.

ŞAHİNGÖZ, S., ARLI, M. (2002). Bireylerin Soya Fasulyesi ve Ürünleri konusundaki Bilgileri, Bu Ürünleri Tanıma ve Tüketim Düzeyleri. *Gazi Üniversitesi Endüstriyel Sanatlar Eğitim Fakültesi Dergisi.* **10**: 57-70.

SOROKA, N., SILVERBERG, D.S. (1998). Comparison of a Vegetable-Based (soya) and Animal- Based Low Protein Diet in Predialysis Chronic Renal Failure Patients. *Nephron.* **79**: 173-180.

TAPISIZ, Ö., ÖZAT, M. (2009) Histerektominin Steroidojenik Hormonlar Olan Estradiol, Progesteron ve Testosteron Düzeyleri Üzerine Etkisi:DeneySEL DiŞİ Rat Modeli. *Gazi Tıp Dergisi.* **20(4)**: 163-168.

THAM, D., GARDNER, C., HASKELL, W. (1998). Potential Health Benefits of Dietary Phytoestrogens: A Review of the Clinical, Epidemiological, and Mechanistic Evidence. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* **83(7)**: 2223- 2235.

TOMOBE, K., PHILBRICK, D.J., OGBORN, M.R. (1998). Effect of dietary soy protein and genistein on disease progression in mice with polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis* **31**: 55–61.

TULUM, Y. (2007). B Kompleks Vitaminleri ve Biyokimyası. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı. Bitirme Tezi.

ÜNAL, B., CANAN, S., ASLAN, H., ŞAHİN, B. (2002). Doku Örneklerinin Sayılarının Hesaplanmasında Tarafsız Stereolojik Metotlar: Fiziksel Disektör. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*. **22**: 15-24.

ÜNSAL, Ç., SARIYAR, G. (2008). Antiaging İçin Fitoöstrojenler. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. **28**: 160-165.

Yazıcıoğlu, T., Karaali, A. (1983). Türk Bitkisel Yağlarının Yağ Asitleri Bileşimleri. TÜBİTAK, Mar. Bil. ve End. Araştırma Enst., **70 (105)**: 42-45.

YEŞİLKAYA, E. (2008) Endokrin Bozucular. *Güncel Pediatri Dergisi*. **6(2)**: 76-82.

YILDIRIR, A., TOKGÖZOĞLU, L. (2001) Fitoöstrojenler ve Kardiyovasküler Sistem. *Türk Kardiyol Dern. Arş.* **29**: 233-237.

ZARARSIZ, İ., KUŞ, İ., DAVARCI, M., KUŞ, M. A., KARAMAN, D., SARSILMAZ, M. (2011). Omega-3 yağ asitlerinin sıçan testis dokusu üzerine koruyucu etkileri, *Dicle Tıp Dergisi*, **38 (4)**: 382-386.

WEI, H., BOWEN, R., CAI, Q., BARNES, S., WANG, Y. (1995) Antioxidant and Antipromotional Effects of the Soybean Isoflavone Genistein. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. **208**: 124-130.

WHITAKER, J.R. and Feeney, R.E. (1973). *Enzyme inhibitors in foods*. p. 276-299.
In: "Toxicants occurring naturally in foods" National Academy of Sciences.
Washington, D.C.

XIAO, C. (2008). Health Effects of Soy Protein and Isoflavones in Human. *J.Nutr.*
138(6): 1244- 1249.

