RESEARCH ARTICLE

Soya (*Glycine max L.*) ekstraktının dişi ratlarda böbrek dokusuna etkilerinin stereolojik olarak araştırılması

Esma Gülcan Karaca¹, Vural Özdemir^{2*}

¹Emet Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi, ²Afyon Kocatepe Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar
Geliş: 31.10.2016, Kabul: 15.12.2016
*vozdemir@aku.edu.tr

Soya (*Glycine max L.*) ekstraktının dişi ratlarda böbrek dokusuna etkilerinin stereolojik olarak araştırılması

Eurasian J Vet Sci, 2017, 33, 1, 16-19

DOI: 10.15312/EurasianJVetSci.2016.130

Öz

Amaç: Soya ekstraktının dişi ratlarda böbrek dokusu üzerine etkilerinin stereolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır

Gereç ve Yöntem: Araştırmada 16 dişi Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı. Ratlar, kontrol ve soya ekstraktı grubu olmak üzere ikiye ayrıldı. Kontrol grubuna 1 mL solvent peroral yolla verilirken, soya ekstraktı grubuna 1 mL etil asetatda çözündürülmüş 200 mg/kg/gün soya ekstraktı bir ay peroral yolla uygulandı. Araştırma sonunda ratlardan alınan böbrekler stereolojik yöntemle değerlendirildi.

Bulgular: Soya ekstraktının ratların böbreklerinin morfolojik özellikleri ile medulla ve korteks glomeruluslarının çaplarında değişiklik yapmadığı görüldü.

Öneri: Sonuç olarak soyanın etil asetat ekstraktının böbrek glomerulusu üzerine stereolojik düzeyde olumsuz etkilerinin olmadığı ifade edilebilir.

Anahtar kelimeler: Glomerulus, *Glycine max L.*, böbrek, stereoloji.

Abstract

Aim: In this study, it was aimed that stereologically investigation to effect of soybean extract to renal tissue in female rats.

Materials and Methods: Totally 16 female Sprague Dawley rats were used. Rats were divided into control and soy extract groups. In Control group, 1 mL solvent was given perorally, while 200 mg/kg/day doses soybean extract were given to experiment group orally for 1 month. Finally, the kidneys taken from rats were analyzed by using stereological methods

Results: Morphometric features and diameters of glomerulus in medulla and cortex were failing a change in rats of experiment groups.

Conclusion: As a result, it may be stated that ethyl acetate extract of the soybean has no effect to the glomerulus and morphometric features of the renal tissue.

Keywords: Glomerulus, *Glycine max L.*, kidney, stereology

Giriş

Soya fasulyesi (*Glycine max L.*) insan ve hayvan beslenmesinde kullanılan 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).

Soyanın antinutrisyonelleri arasında bulunan oksalat bileşikler kalsiyumun absorpsiyonunu azaltan maddelerdir. Araştırmalar, diyetle alınan yüksek oksalat miktarının böbrek taşları oluşumuna zemin hazırlayabildiğini göstermektedir. Normal insanlarda aşırı olmayan seviyelerdeki oksalat bileşikler kalsiyum ile birleşerek vücuttan dışı 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 yükseltecektir (Kaayla 2005, Aydın 2012). Altıparmak (2007) tarafından yapılan çalışmada, soya yağı ile beslenen polikistik böbrek hastalığı olan ratlarda epiteliyal hücre proliferasyonunun, kistik değişimin, makrofaj infiltrasyonunun, fibrosisin dolayısıyla renal hasarın azaldığı gösterilmiştir.

Bu çalışmanın amacı soya bitkisi ekstraktının 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.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca 12.SAĞ.BİL.05 proje numarası ile desteklenen 2014-01 nolu çalışmada kullanılan hayvan materyalinin dokuları kullanıldı. Özetle, çalışmada, 180-220 g arasında olan 2 aylık toplam 16 dişi Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı. Ratlar 2 ayrı gruba ayrıldı ve her grupta 8 hayvan olacak şekilde sınıflandırıldı. Kontrol grubuna oral 1 mL/gün solvent verilirken (etil asetat), etil asetat grubuna soya ekstraktı 1 mL solventte 200 mg/kg/gün dozunda gavaj ile intragastrik verildi. Uygulama 30 gün yapıldı. Araştırma sonunda 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. Takibinde

böbreklerde morfometrik ve stereolojik incelemeler yapıldı.

Etil asetat ekstresinin hazırlanması

Soya fasulyesinin 100 gramı oda ısısında 1000 mL etil asetat ile 48 saat süre ile manyetik karıştırıcıda ekstre edildi. Birleştirilen etil asetatlı ekstrere alçak basınç altında, rotavaporda 40°C sıcaklıkta yoğunlaştırıldı ve vakumlu desikatörde alçak basınç altında kurutuldu (Etil asetat ekstresi verim: %21.8). Liyofilize edilmiş etil asetat 200 mg/mL olacak şekilde çözündürüldü.

Böbrek morfometrik ölçümleri

Çıkarılan böbreklerin organ ağırlıkları hassas terazi ile ölçülürken dijital kumpas yardımıyla en ve boyları ölçülüp kayıt altına alınarak %10'luk formaldehidde muhafaza edildi. 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.

Böbrek dokusunun stereolojik incelemesi.

%10'luk formaldehitte muhafaza edilen böbrekler prafin bloklara gömüldü. Takibinde 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 hematoksilin 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.

İstatistiksel analiz

Araştırmadan elde edilen verilere göre gruplara ait istatistiksel hesaplamalarda bağımsız t testi kullanıldı (SPSS 10.00, Inc., Chicago, IL, USA). P<0.05 değeri anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Araştırma başlangıcı ve bitişinde ratların canlı ağırlıkları Tablo 1, böbreklerinin ortalama ağırlıkları, hacimleri, boy ve en uzunlukları Tablo 2 ve glomerulus çapları ise Tablo 3'de gösterildi. Buna göre deneme sonu canlı ağırlık (P>0.05), sağ

ve sol böbreklerinin ortalama ağırlıkları, hacimleri, boy ve en uzunluk değerleri ve medulla ve kortekste glomerulus çapları bakımından gruplar arasında fark görülmedi (Resim 1, $P>0.05$).

Tartışma

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

Tablo 1. Ratların deney öncesi ve sonrası canlı ağırlıkları (Mean±SE).

Gruplar	Başlangıç (g)	Bitiş (g)
Kontrol	172±3.66	190±3.48
Etil Asetat	174±2.44	192±4.78
P değeri	0.974	0.955

Tablo 2. Rat böbreklerinin ağırlık, hacim, en ve boyları (Mean±SE).

	Kontrol Grubu	Deney Grubu	P
Ağırlık (g)	1.133±28.6	1.106±30.6	0.626
Hacim (cm ³)	0.937±0.07	1.031±0.06	0.346
Boy (cm)	1.675±0.03	1.693±0.03	0.690
En (cm)	0.912±0.03	0.868±0.03	0.299

Tablo 3. Rat böbreklerinin medulla ve kortekste glomerulus çap ölçümleri (Mean±SE).

	Kontrol Grubu	Deney Grubu	P
Korteks (µm)	239.1±13.4	247.1±5.59	0.598
Medulla (µm)	232.7±7.06	241.8±8.25	0.425

Resim 1. Böbrek dokusu stereomikroskopik görüntüsü. Ok: Bowman kapsülü, G: Glomerulus.

deneyisel çalışmalarda ve tedavi sonrası takip açısından oldukça önemlidir. Daha önce yapılan çalışmalarda böbrek yapısına ait histolojik doku hacimleri ile ilgili tanımlamalar ortaya konulmuştur (Bertram 1995, Mayhew 1999, Malas 2002). Çalışmamızda, böbrek doku kesitlerinde korteks ve medulladaki boyut ölçümü okuler mikrometresi (Beck Kasel, CBS, px8) ile x 40 büyütme kullanılarak yapıldı.

Bertram (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 192 g, kontrol grubunun ortalama ağırlığı 190 g olarak bulundu (Tablo 1). Böbrek total hacmin deney grubunda 1.31 cm³, kontrol grubunda ise 0.937 cm³ olarak bulundu (Tablo 2). Selçuk ve Bolat (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. Bu çalışmada da böbrek dokusu kesitlerini Hematoxylen ile boyayarak tespit edildi.

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 ark (2009) farelerde renovasküler hipertansiyon modelinde yaptıkları çalışmalarda omega-3 yağ asidi kullanımı sonucu anjiotensin konverting enzim 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 nefrotoksititeye karşı olası koruma sağlandığı tespit edilmiştir (Gülçen ve ark 2012). Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar, deneyel hayvan modellerinde, polikistik böbrek hastalığının ilerlemesini geciktirmede diyet soya proteininin etkinliğini göstermiştir (Ogborn ve ark 1998, Aukema ve ark 1999, Aukema ve Housini 2001). Aukema ve Housini (2001) tarafından farklı protein kaynaklarının polikistik böbrek hastalığının 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 polikistik böbrek hastalığının 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 glomerüler filtrasyon hızını düzenleyen insülin büyüme faktör 1'i (IGF-1) değiştirmesiyle polikistik böbrek hastalığının ilerlemesini azaltmasına bağlanmıştır. Soroka ve ark (1998) yaptıkları çalışmada soya kaynaklı düşük protein

içerikli vejetaryen diyet ve hayvansal kaynaklı düşük prote-
inli diyetlerin 9 kronik böbrek yetmezliği hastasına etkileri
araştırılmıştır. Hastalara 6 ay süresince her iki diyet de sı-
rasıyla tükettirilmiştir. Çalışmanın sonunda glomerular filt-
rasyon hızı her iki diyetten sonra benzer çıkmış ve başlangıç
seviyesinden de farklı çıkmamıştır. Bu çalışmada da böbreğin
medulla ve korteks yapılarındaki glomerulusların çaplarında
anlamli bir değişiklik saptanmamıştır (Tablo 3).

Öneriler

Sonuç olarak soyanın etil asetat ekstraktının böbrek morfo-
metrik ölçümleri ile medulla ve korteks glomerulus çapların-
da değişiklik yapmadığı, ancak bu sonucun farklı ekstreler
kullanılarak daha fazla araştırma ile doğrulanması gerektiği
ifade edilebilir.

Teşekkür

Bu çalışma Soyanın dişi ratlarda böbrekler üzerine etkisinin
sterolojik metotla değerlendirilmesi isimli yüksek lisan-
s tezinden özetlenmiştir (Tez No: 2016-005)

Kaynaklar

- Altıparmak MR, 2007. Otozomal dominant polikistik böbrek
hastalığı tedavisinde yeni ufuklar. Turk Neph Dial Transpl,
16, 35-39.
- Aukema HM, Housini I, 2001. Dietary soy protein effects on
disease and IGF-I in male and female Han:SPRD-cy rats.
Kidney Int, 59, 52-61.
- Aukema HM, Housini I, Rawling JM, 1999. Dietary soy prote-
in effects on inherited polycystic kidney disease are influ-
enced by gender and protein level. J Am Soc Nephrol, 10,
300-309.
- Aydın H, 2007. Kedi ve köpek mamalarındaki soya ve soyalı
ürünlerin klinik farmakoloji ve toksikoloji yönünden de-
ğerlendirilmesi. İstanbul Üniv Vet Fak Derg. 33, 51-59.
- Bertram JF, 1995. Analyzing renal glomeruli with the new

stereology. Int Rev Cytol, 161, 111-172.

- Bolat D, Selcuk ML, 2013. Stereological and biochemical eva-
luation of diclofenac induced acute nephrotoxicity in rats.
Revue Med Vet, 164, 290-294.
- Gülçen B, Karaca Ö, Kuş MA, Kaman D, Ögetürk M, Kuş İ, 2012.
Omega-3 yağ asitlerinin böbrek antioksidan savunma sis-
temi üzerindeki etkisi: deneysel bir çalışma. Balikesir Sag-
lik Bil Derg, 1, 70-74
- Herridge DF, Danso SKA, 1995. Enhancing crop legume n2
fixation through selection and breeding. Plant Soil, 174,
51-82.
- Kaayla T, Daniel, 2005. The whole soy story. Newtrends Pub-
lishing Inc, 1st edition, USA, pp: 15-52.
- Liu K, 2004. Soybean as functional foods and ingredients,
AOCS Press, Champaign, IL, USA, pp: 1-51.
- Malas M.A, Sulak O, Üngör B, Çetin E, Albay S, 2002. Böbrek
ile ilgili morfolojik yapı hacimlerinin stereolojik yöntemle
araştırılması. SDÜ Tıp Fak Derg, 9, 1-5.
- Mayhew TM, 1999. Second-order stereology and ultrastruc-
tural examination of the spatial arrangements of tissue
compartments within glomeruli of normal and diabetic
kidneys. J Microsc, 195, 87-95.
- Ogborn MR, Bankovic-Calic N, Shoesmith C, Buist R, Peeling
J, 1998. Soy protein modification of rat polycystic kidney
disease. Am J Physiol, 274, 541-549.
- Riaz MN, 2001. Textured soy protein and its uses. Agro-Food-
Industry Hi-Tech, 12, 28-31.
- Rousseau-Ralliard D, Moreau D, Guillaud JC, Raederstorff D,
Grynberg A, 2009. Docosahexaenoic acid, but not eicosa-
pentaenoic acid, lowers ambulatory blood pressure and
shortens interval QT in spontaneously hypertensive rats
in vivo. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 80, 269-
277
- Soroka N, Silverberg DS, 1998. Comparison of a vegetable-ba-
sed (soya) and animal based low protein diet in predialysis
chronic renal failure patients. Nephron. 79, 173-180.
- Tapısız Ö, Özat M, 2009. Histerektominin steroidojenik hor-
monlar olan estradiol, progesteron ve testosteron düzeyleri
üzerine etkisi: Deneysel dişi rat modeli. Gazi Tıp Der, 20,
163-168.