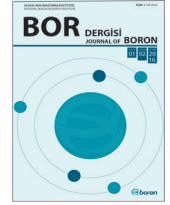




BOR DERGİSİ

JOURNAL OF BORON

Journal homepage: www.journal.boren.gov.tr



Borun ratlarda embriyo morfolojisi üzerine etkisi

Hasan Hüseyin Demirel¹, Metin Erdoğan², Cevdet Uğuz², Yüksel Ağca³, Gamze Dal², Sinan İnce^{4*}

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Bayat Meslek Yüksekokulu, Laborant ve Veteriner Sağlık Bölümü, 03780 Afyonkarahisar, Türkiye

²Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Medikal Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, 03200 Afyonkarahisar, Türkiye

³Department of Veterinary Pathobiology, College of Veterinary Medicine, University of Missouri, MO 65211 Columbia, USA

⁴Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, 03200 Afyonkarahisar, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Makale Geçmişi:

İlk gönderi 27 Ocak 2016

Revize gönderi 23 Mayıs 2016

Kabul 26 Mayıs 2016

Online yayınlanması 9 Eylül 2016

Araştırma Makalesi

Anahtar kelimeler:

Bor,
Embriyo,
Morfoloji,
Rat

ÖZET

Doğada birçok bileşiği bulunan, sanayi alanındaki kullanımının yanı sıra bitkiler için esansiyel bir element olan borun, canlıların metabolik ve fizyolojik olaylarında etkin bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu çalışmada, ilk kez borun embriyo gelişimine etkisinin *in vivo* olarak belirlenmesi amaçlandı. *In vivo* değerlendirmede dişi ratlar her grupta 3 hayvan olacak şekilde, kontrol-pozitif (normal yem), kontrol-negatif (bor içermeyen), düşük (0,04 µg bor/ml), marjinal (0,3 µg bor/ml) ve normal (2 µg bor/ml) miktarda bor içeren diyetlerle beslenenler olarak 5 gruba ayrıldı. Dişi ratlar 14 gün boyunca beslendi ve çiftleşmeden sonra 10-13 günlük embriyolar gebelik süresince gruplardan toplandı. Embriyo gelişimleri morfolojik olarak incelendi. Buna göre embriyoların morfolojik gelişim parametrelerinin bordan eksik diyetle beslenen grupta bor verilen gruplara kıyasla istatistiksel olarak azaldığı belirlendi. Sonuç olarak borun ratlarda embriyonik gelişimin şekillenmesinde önemli rol oynadığı sonucuna varıldı.

The effect of boron on embryo morphology in rats

ARTICLE INFO

Article history:

Received 27 January 2016

Received in revised form 23 May 2016

Accepted 26 May 2016

Available online 9 September 2016

Research Article

Keywords:

Boron,
Embryo,
Morphology,
Rat

ABSTRACT

Boron is present as a constituent of several different compounds in nature. Besides its industrial use, boron is an essential element and plays a very important role in the metabolism and physiology of plants. In this study, we aimed to determine the effects of boron on *in vivo* embryo development. Rats were divided into 5 experimental groups containing 3 animals in each group. Experimental groups are as follows; positive control (fed with normal feed), negative control (fed with feed containing no boron), low boron group (fed with feed containing 0.04 µg boron/ml), marginal boron group (fed with feed containing 0.3 µg boron/ml) and normal boron group (fed with feed containing 2 µg boron/ml). Animals were fed for 14 days and embryos were collected after 10-13 days during embryo development. Embryo development was investigated morphologically. According to the results, morphological development parameters of embryos were decreased in the boron deficient group compared to boron groups. In conclusion boron has an important role for embryonic development in rats.

1. Giriş (Introduction)

Türkiye, borun üretimi bakımından dünyada birinci sıradadır. Bu durum, bu elementin bizim için önemini daha da arttırmaktadır. Bundan dolayıdır ki, son yıllarda bor ile ilgili araştırmalar sanayi alanı yanında sağlık alanında da artarak devam etmektedir.

Doğada elemental formu olmayan borun yaklaşık olarak 230'dan fazla bileşiği bulunmaktadır. Bitkiler,

hayvanlar ve insanlar için esansiyel bir element olan bor organizmada fizyolojik ve metabolik olaylarda rol oynamaktadır. Şu ana kadar borun iki muhtemel mekanizmayla metabolizma üzerindeki etkisinden bahsedilmiştir. Birincisi, borun hücre membranında, transmembran sinyalin oluşumunda ve iyonların hücre membranından geçişinde [1], ikinci olarak da çeşitli enzimatik sistemlerde metabolik düzenleyici olarak rol alabileceği vurgulanmıştır [2].

*Sorumlu yazar: incesinan@gmail.com

Bor, daha çok bitkisel yiyeceklerden eser miktarda sağlanan bir elementtir. Borun son yıllara kadar bitkiler için gerekli temel element olduğu bilinmekteydi. Son yıllarda insanlar için de gerekli olduğunu, bazı patolojik durumlarda ve hastalıklarda bor takviyesinin tedavi açısından faydalı olabileceğini ifade eden birçok çalışma yapılmıştır [3-5]. Bor özellikle kemik ve dişlerin yapısında bulunmaktadır [6]. Bor vücutta kalsiyum, magnezyum ve fosfor absorpsiyonunu dengeleyici rolü ile kemik sağlığı açısından önemli bir elementtir. Nitekim günlük bor takviyesinin östrojen etkisini artırarak osteoporoz tedavisinde etkili olduğu [2] belirlenmiştir. Yapılan bir başka çalışmada koroner kalp hastalıklarına iyi geldiği ve HDL kolesterolde azalma sağladığı [7] ifade edilmektedir.

Yapılan bir [8] çalışmada, bor bileşiklerinin bazı temel biyokimyasal parametreler üzerine olan etkilerini incelemek amacıyla tiroid hormonları, leptin, insülin, karnitin, NEFA (nonesterified fatty acid) gibi parametreler analiz edilmiş, bu parametrelerden yola çıkılarak boraksın hormonal statüye etkisinin daha baskın olduğu belirlenmiştir. Yine borik asit ve boraksın birlikte kullanıldığı başka çalışmalarda da borun antioksidan aktiviteyi olumlu yönde etkileyerek, lipid peroksidasyon düzeylerini düşürdüğü ve DNA hasarını azalttığı ifade edilmektedir [3,4]. Yapılan diğer bir çalışmada ise bir organofosfat olan malatyon toksisitesi oluşturulan ratlarda borun çeşitli dokularda oluşan oksidatif strese etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla malatyon toksikasyonuna maruz kalan ratların, beyin, karaciğer ve böbrek dokularında, malondialdehid, glutatyon, nitrik oksit, katalaz ve superoksit dismutaz aktivitelerine aynı zamanda serum asetilkolinesteraz ve oksidatif DNA hasarı göstergesi olan 8-dihidroksiguanin seviyeleri analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen histopatolojik ve biyokimyasal veriler, malatyon toksisitesi ile artan oksidatif strese ve doku hasarına karşı borun tedavi edici etkilerinin olduğu belirlenmiştir [9].

Yapılan çalışmaların tamamına yakını fizyolojik ve biyokimyasal düzeyde kalmıştır. Memeli embriyolarının gelişimine borun etkisi histolojik ve morfolojik kapsamda tam olarak değerlendirilememiştir. Yapılan bu çalışmada ise, borun gebelik sürecinde 10-13. günler arasındaki etkisinin morfolojik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

2. Malzemeler ve yöntemler (Material and methods)

2.1. Hayvan materyali (Animals)

Proje çalışması kapsamında Afyon Kocatepe Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 100-200 g ağırlığındaki 15 adet dişi Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı. Ratlar 25 °C de % 50±5 nemli odalarda barındırıldı. Ratların su ve yemleri ad *libitum* olarak ve her gün değiştirilerek verildi. Çalışmada kullanılan yem, yöntemine uygun olarak bordan yoksun olarak hazırlandı [10]. Kullanı-

lan yem örneklerinde çalışmada herhangi bir olumsuzluğa yol açmaması için TÜBİTAK-MAM tarafından ICP-OES ile bor minerali yönünden miktar analizleri yapıldı. Ayrıca, çalışma için Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan (AKUHADYEK-2013/358) onay alındı.

2.2. Deneysel aşama (Experimental protocol)

Çalışmanın *in vivo* denemesi için; sütten kesilen ve kuru yem yemeye başlamış 2 haftalık dişi ratlar her grupta 3 hayvan olacak şekilde, kontrol-pozitif (işlem görmemiş yem), kontrol-negatif (işlem görmüş ve bor içermeyen), işlem görmüş bor içermeyen yemlere ilaveten gastrik gavaj ile düşük (0,04 µg B/ml), marjinal (0,3 µg B/ml), ve normal (2 µg B/ml) miktarda bor verilenler olarak 5 gruba ayrıldı. İki haftalık bor içeren diyetlerle beslemenin ardından dişi ratlara sırasıyla 25-30 IU gebe kısrak serumu gonodotropini ve 24 saat sonrasında insan 30 IU serum gonodotropin hormonları yapılarak ve erkek ratlarla çiftleştirilmeye bırakıldı. Çiftleşen hayvanlar yem yemeye devam ederek 10-13 günlük gebelik süresi boyunca embriyoların toplanması yapıldı.

2.3. Embriyolarda gelişimin değerlendirilmesi (Evaluation of embryo development)

Embriyonun büyüme ve gelişmesini kantitatif olarak hesaplamada morfolojik skorlama sistemi kullanıldı [11]. Genel olarak büyüme değerlendirmesi için, ön (baş)-arka (kıç) uzunluğu; farklılaşma için somit sayısı; gelişme için embriyo fleksiyonu başta olmak üzere ön/orta/arka beyin, kaudal nöral tüp, optik ve olfaktör sistem, maksiler ve mandibuler çıkıntı, brankiyal ark ve ön ile arka ekstremiteler mikroskop altında değerlendirildi. Bu sistem kullanılarak sıçan gebeliğinin 10, 11, 12 ve 13. günlerinde çıkartılan embriyolarda 17 morfolojik özelliğe bakıldı. Gelişim safhalarına 0 ile 5 arasında değişen puanlar verildi. Her bir embriyo için skorların toplam sayısal değeri morfolojik skor olarak değerlendirildi. Embriyo kültür deneylerinde morfolojik skorlama sisteminin kullanımı embriyonik gelişimin ayrıntılı indeksini vermektedir [11-13].

2.4. Sonuçların değerlendirilmesi (Statistical analyses)

Elde edilen veriler SPSS 20 istatistik programında, gruplar arasında tek yönlü varyans analizi yapılarak değerlendirildi. Gruplar arası önemlilikler Duncan post-hoc testi kullanılarak belirlendi. p<0,05 istatistiksel açıdan önemli kabul edildi.

3. Sonuçlar (Results)

3.1. Bor analiz bulguları (Results of boron analyses)

Hayvanlara verilen bor içermeyen diyetin bor miktarı <0,018 mg/kg olarak tespit edildi. Çalışmada kullanılan işlem görmemiş yem örneklerinin bor miktarı ise 0,265 ve 0,666 mg/kg olarak belirlendi. Bu değerler

incelendiğinde, özellikle özel hazırlanan diyetteki bor oranının çok düşük olması bu diyetin çalışma için uygun olduğunu ve çalışmada verilen bor miktarları üzerinde ilave bir etki yapmadığını göstermektedir

3.2. Borun morfolojik olarak embriyo gelişimine etkileri (Morphological effects of boron on embryo development)

Embriyonun büyüme ve gelişmesinin 10. gün morfolojik olarak değerlendirilmesinde (Çizelge 1); vitellüs kesesi damarlanması, allantois, fleksiyon, kaudal nöral tüp, arka beyin, orta beyin, ön beyin, otik sistem, optik sistem, olfaktör sistem, brankiyal ark ve somitlerin bor eksik grupla karşılaştırıldığında bor verilen gruplardaki değerlerin daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p < 0,05$).

Kalp, maksiller çıkıntı, mandibular çıkıntı, ön ve arka ayak değerlerin ise istatistiksel açıdan gruplar arasında önemlilik göstermediği belirlendi.

Embriyonun 11. (Çizelge 2), 12. (Çizelge 3) ve 13. (Çizelge 4) gün morfolojik değerlendirilmesinde; vitellüs kesesi damarlanması, allantois, fleksiyon, kalp, kaudal nöral tüp, arka beyin, orta beyin, ön beyin, otik sistem, optik sistem, olfaktör sistem, brankiyal ark, maksiller çıkıntı, mandibular çıkıntı ve somitlerin bor eksik grupla karşılaştırıldığında bor verilen gruplardaki değerlerin daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p < 0,05$). Ön ve arka ayaklara ait gruplar arası değerlendirmeden elde edilen değerler arasında ise istatistiksel açıdan önemlilik olmadığı belirlendi.

Çizelge 1. Embriyo büyüme ve gelişmesinin morfolojik olarak 10. gün skorlaması (Morphological scoring of embryo growth and development on the 10th day)

	Kontrol (Pozitif)	Kontrol (Negatif)	10. GÜN			P değeri
			Düşük (0,04 µg B/ml)	Marjinal (0,3 µg B/ml)	Normal (2 µg B/ml)	
Vitellüs kesesi damarlanması	3,7 ± 0,5 ^a	1,0 ± 0,0 ^c	1,1 ± 0,4 ^e	1,8 ± 0,7 ^b	3,1 ± 0,7 ^a	0,000
Allantois	2,3 ± 0,5 ^a	0,7 ± 0,5 ^d	1,0 ± 0,0 ^{cd}	1,3 ± 0,5 ^{bc}	1,6 ± 0,5 ^b	0,000
Fleksiyon	2,7 ± 0,5 ^a	0,3 ± 0,5 ^b	0,8 ± 0,4 ^b	1,0 ± 0,0 ^b	2,1 ± 0,9 ^a	0,000
Kalp	1,2 ± 0,4	0,7 ± 0,5	0,7 ± 0,5	0,8 ± 0,4	0,8 ± 0,4	0,332
Kaudal nöral tüp	1,8 ± 0,4 ^a	0,8 ± 0,4 ^b	0,7 ± 0,5 ^b	1,5 ± 0,5 ^a	1,6 ± 0,5 ^a	0,001
Arka beyin	1,8 ± 0,4 ^a	1,0 ± 0,0 ^b	0,8 ± 0,4 ^b	1,1 ± 0,4 ^b	1,8 ± 0,4 ^a	0,000
Orta beyin	1,8 ± 0,4 ^a	0,3 ± 0,5 ^c	1,1 ± 0,4 ^b	1,0 ± 0,0 ^b	1,6 ± 0,5 ^a	0,000
Ön beyin	2,0 ± 0,6 ^a	0,7 ± 0,5 ^b	0,8 ± 0,4 ^b	1,0 ± 0,0 ^b	2,0 ± 0,0 ^a	0,000
Otik sistem	1,8 ± 0,4 ^a	0,3 ± 0,5 ^c	1,0 ± 0,0 ^b	1,2 ± 0,4 ^b	1,8 ± 0,4 ^a	0,000
Optik sistem	2,0 ± 0,6 ^a	0,2 ± 0,4 ^c	0,7 ± 0,5 ^{bc}	1,0 ± 0,0 ^b	1,6 ± 0,5 ^a	0,000
Olfaktör sistem	0,8 ± 0,4 ^a	0,2 ± 0,4 ^b	0,8 ± 0,4 ^a	0,8 ± 0,4 ^a	0,8 ± 0,4 ^a	0,030
Brankiyal ark.	1,0 ± 0,0 ^a	0,2 ± 0,4 ^b	0,5 ± 0,5 ^b	1,0 ± 0,0 ^a	1,0 ± 0,0 ^a	0,000
Maksiller çıkıntı	0,8 ± 0,4	0,5 ± 0,5	0,8 ± 0,4	0,8 ± 0,4	0,8 ± 0,4	0,606
Mandibular çıkıntı	0,8 ± 0,4	0,2 ± 0,4	0,5 ± 0,5	0,7 ± 0,5	0,8 ± 0,4	0,100
Ön ayak	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,4	0,426
Arka ayak	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,4	0,426
Somitler	0,8 ± 0,4 ^a	0,0 ± 0,0 ^b	0,0 ± 0,0 ^b	0,3 ± 0,5 ^b	0,8 ± 0,4 ^a	0,000

Ortalama ± Standart sapma; n:6

a,b,c,d: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır, $p < 0,05$.

Çizelge 2. Embriyo büyüme ve gelişmesinin morfolojik olarak 11. gün skorlaması (Morphological scoring of embryo growth and development on the 11th day)

	Kontrol (Pozitif)	Kontrol (Negatif)	11. GÜN			P değeri
			Düşük (0,04 µg B/ml)	Marjinal (0,3 µg B/ml)	Normal (2 µg B/ml)	
Vitellüs kesesi damarlanması	3,5 ± 0,5 ^a	0,6 ± 0,8 ^d	1,3 ± 0,5 ^{cd}	1,5 ± 0,5 ^c	2,6 ± 0,5 ^b	0,000
Allantois	1,8 ± 0,4 ^{ab}	1,1 ± 0,4 ^d	0,8 ± 0,4 ^c	1,5 ± 0,5 ^b	2,3 ± 0,5 ^a	0,000
Fleksiyon	1,1 ± 0,4 ^{ab}	0,0 ± 0,0 ^c	0,3 ± 0,5 ^c	1,0 ± 0,0 ^b	1,5 ± 0,5 ^a	0,000
Kalp	1,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^c	0,5 ± 0,5 ^b	1,0 ± 0,0 ^a	1,3 ± 0,5 ^a	0,000
Kaudal nöral tüp	1,8 ± 0,4 ^a	0,0 ± 0,0 ^d	0,6 ± 0,5 ^c	1,3 ± 0,5 ^b	2,0 ± 0,0 ^a	0,000
Arka beyin	1,8 ± 0,7 ^a	0,0 ± 0,0 ^c	1,0 ± 0,0 ^b	1,0 ± 0,0 ^b	1,6 ± 0,5 ^a	0,000
Orta beyin	2,1 ± 0,4 ^a	0,0 ± 0,0 ^c	1,0 ± 0,0 ^b	1,0 ± 0,0 ^b	1,1 ± 0,4 ^b	0,000
Ön beyin	2,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^c	1,0 ± 0,0 ^b	1,1 ± 0,4 ^b	1,0 ± 0,0 ^b	0,000
Otik sistem	2,3 ± 0,5 ^a	0,0 ± 0,0 ^d	1,0 ± 0,0 ^c	1,0 ± 0,0 ^c	1,5 ± 0,5 ^b	0,000
Optik sistem	2,1 ± 0,4 ^a	0,1 ± 0,4 ^c	1,0 ± 0,0 ^b	1,0 ± 0,0 ^b	1,1 ± 0,4 ^b	0,000
Olfaktör sistem	1,8 ± 0,7 ^a	0,3 ± 0,5 ^b	0,3 ± 0,5 ^b	1,1 ± 0,4 ^b	1,3 ± 0,5 ^a	0,000
Brankiyal ark.	1,1 ± 0,4 ^a	0,1 ± 0,4 ^b	1,0 ± 0,0 ^a	1,1 ± 0,4 ^a	1,1 ± 0,4 ^a	0,000
Maksiller çıkıntı	1,1 ± 0,4 ^a	0,0 ± 0,0 ^b	0,1 ± 0,4 ^b	0,1 ± 0,4 ^b	1,0 ± 0,0 ^a	0,000
Mandibular çıkıntı	1,3 ± 0,5 ^a	0,0 ± 0,0 ^c	0,0 ± 0,0 ^c	0,0 ± 0,0 ^c	1,0 ± 0,0 ^b	0,000
Ön ayak	0,1 ± 0,4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,4	0,1 ± 0,4	0,736
Arka ayak	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,4	0,0 ± 0,0	0,736
Somitler	0,8 ± 0,4 ^a	0,0 ± 0,0 ^b	0,0 ± 0,4 ^b	0,8 ± 0,0 ^a	1,0 ± 0,0 ^a	0,000

Ortalama ± Standart sapma; n:6

a,b,c,d: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır, $p < 0,05$.

Çizelge 3. Embriyo büyüme ve gelişmesinin morfolojik olarak 12. gün skorlaması (Morphological scoring of embryo growth and development on the 12th day)

	Kontrol (Pozitif)	Kontrol (Negatif)	12. GÜN			P değeri
			Düşük (0,04 µg B/ml)	Marjinal (0,3 µg B/ml)	Normal (2 µg B/ml)	
Vitellüs kesesi damarlanması	3,8 ± 0,4 ^a	1,3 ± 0,5 ^d	1,6 ± 0,5 ^{cd}	2,0 ± 0,0 ^c	3,0 ± 0,6 ^b	0,000
Allantois	2,5 ± 0,5 ^a	0,1 ± 0,4 ^d	0,8 ± 0,4 ^c	2,0 ± 0,0 ^b	2,1 ± 0,4 ^{ab}	0,000
Fleksiyon	1,3 ± 0,5 ^a	0,0 ± 0,0 ^b	0,1 ± 0,4 ^b	1,0 ± 0,0 ^a	1,3 ± 0,5 ^a	0,000
Kalp	1,1 ± 0,4 ^a	0,0 ± 0,0 ^b	1,1 ± 0,4 ^a	1,0 ± 0,0 ^a	1,1 ± 0,4 ^a	0,000
Kaudal nöral tüp	1,1 ± 0,5 ^a	0,1 ± 0,4 ^c	0,8 ± 0,4 ^b	2,0 ± 0,0 ^a	1,8 ± 0,4 ^a	0,000
Arka beyin	2,3 ± 0,5 ^a	0,1 ± 0,4 ^d	1,1 ± 0,4 ^c	1,0 ± 0,0 ^c	1,8 ± 0,4 ^b	0,000
Orta beyin	2,3 ± 0,5 ^a	0,1 ± 0,4 ^c	1,1 ± 0,4 ^b	1,0 ± 0,0 ^b	1,1 ± 0,4 ^b	0,000
Ön beyin	2,5 ± 0,5 ^a	0,1 ± 0,4 ^c	1,1 ± 0,4 ^b	1,0 ± 0,0 ^b	1,0 ± 0,0 ^b	0,000
Otik sistem	1,1 ± 0,5 ^a	0,1 ± 0,4 ^c	1,0 ± 0,0 ^b	1,0 ± 0,0 ^b	1,5 ± 0,5 ^a	0,000
Optik sistem	1,1 ± 0,5 ^a	0,3 ± 0,5 ^c	1,0 ± 0,0 ^b	1,0 ± 0,0 ^b	1,3 ± 0,5 ^{ab}	0,000
Olfaktör sistem	1,1 ± 0,4 ^a	0,1 ± 0,4 ^b	0,1 ± 0,4 ^b	0,3 ± 0,5 ^b	1,3 ± 0,5 ^a	0,000
Brankiyal ark.	1,0 ± 0,0 ^{ab}	0,5 ± 0,5 ^b	0,6 ± 0,5 ^b	1,0 ± 0,0 ^{ab}	1,5 ± 0,5 ^a	0,004
Maksiller çıkıntı	1,0 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,4 ^b	0,3 ± 0,5 ^b	0,1 ± 0,4 ^b	1,0 ± 0,0 ^a	0,000
Mandibular çıkıntı	1,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^b	0,1 ± 0,4 ^b	0,1 ± 0,4 ^b	1,0 ± 0,0 ^a	0,000
Ön ayak	0,1 ± 0,4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,420
Arka ayak	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	-
Somitler	1,1 ± 0,4 ^a	0,1 ± 0,4 ^b	0,3 ± 0,5 ^b	0,6 ± 0,5 ^{ab}	1,0 ± 0,0 ^a	0,001

Ortalama ± Standart sapma; n:6

a,b,c,d: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır, p<0,05.

Çizelge 4. Embriyo büyüme ve gelişmesinin morfolojik olarak 13. gün skorlaması (Morphological scoring of embryo growth and development on the 13th day)

	Kontrol (Pozitif)	Kontrol (Negatif)	13. GÜN			P değeri
			Düşük (0,04 µg B/ml)	Marjinal (0,3 µg B/ml)	Normal (2 µg B/ml)	
Vitellüs kesesi damarlanması	3,8 ± 0,4 ^a	1,3 ± 0,8 ^b	1,3 ± 0,5 ^b	1,5 ± 0,5 ^b	2,0 ± 0,8 ^b	0,000
Allantois	2,6 ± 0,5 ^a	0,0 ± 0,0 ^d	1,0 ± 0,0 ^c	1,6 ± 0,5 ^b	2,0 ± 0,6 ^b	0,000
Fleksiyon	1,6 ± 0,5 ^a	0,0 ± 0,0 ^d	0,5 ± 0,5 ^c	1,0 ± 0,0 ^b	1,1 ± 0,4 ^b	0,000
Kalp	1,3 ± 0,5 ^a	0,0 ± 0,0 ^c	0,6 ± 0,5 ^b	1,0 ± 0,0 ^{ab}	1,3 ± 0,5 ^a	0,000
Kaudal nöral tüp	1,8 ± 0,4 ^a	0,0 ± 0,0 ^c	0,8 ± 0,4 ^b	1,6 ± 0,5 ^a	2,0 ± 0,0 ^a	0,000
Arka beyin	2,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^c	1,0 ± 0,0 ^b	1,1 ± 0,4 ^b	1,8 ± 0,4 ^a	0,000
Orta beyin	1,6 ± 0,5 ^a	0,0 ± 0,0 ^c	1,0 ± 0,0 ^b	1,1 ± 0,4 ^b	1,1 ± 0,4 ^b	0,000
Ön beyin	1,1 ± 0,5 ^a	0,0 ± 0,0 ^c	1,0 ± 0,0 ^b	1,1 ± 0,4 ^b	1,1 ± 0,4 ^b	0,000
Otik sistem	1,8 ± 0,4 ^a	0,1 ± 0,4 ^c	0,8 ± 0,4 ^b	1,1 ± 0,4 ^b	1,0 ± 0,0 ^b	0,000
Optik sistem	1,1 ± 0,5 ^a	1,0 ± 0,0 ^b	1,0 ± 0,0 ^b	1,1 ± 0,4 ^b	1,3 ± 0,5 ^{ab}	0,026
Olfaktör sistem	1,3 ± 0,5 ^a	0,1 ± 0,4 ^b	0,1 ± 0,4 ^b	0,3 ± 0,5 ^b	1,0 ± 0,0 ^a	0,000
Brankiyal ark.	1,5 ± 0,5 ^a	0,3 ± 0,5 ^c	0,6 ± 0,5 ^{bc}	0,8 ± 0,4 ^{bc}	1,0 ± 0,0 ^{ab}	0,002
Maksiller çıkıntı	1,6 ± 0,5 ^a	0,0 ± 0,0 ^b	0,1 ± 0,4 ^b	0,3 ± 0,5 ^b	1,5 ± 0,5 ^a	0,000
Mandibular çıkıntı	1,1 ± 0,4 ^a	0,0 ± 0,0 ^b	0,0 ± 0,0 ^b	0,2 ± 0,4 ^b	1,0 ± 0,0 ^a	0,000
Ön ayak	0,1 ± 0,4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,426
Arka ayak	0,1 ± 0,4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,426
Somitler	1,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^c	0,0 ± 0,0 ^c	0,6 ± 0,5 ^b	0,5 ± 0,5 ^{ab}	0,000

Ortalama ± Standart sapma; n:6

a,b,c,d: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır, p<0,05.

4. Tartışma (Discussion)

Canlının gebelik sürecini etkileyen ve normal embriyonik gelişimi hasara uğratan birçok unsur bulunmaktadır. Gerek hastalık hali ve gerekse dışarıdan alınan ya da maruz kalınan maddeler embriyonik gelişimi etkilemektedirler [14].

Yapılan bir çalışmada [15] doza bağlı olarak dimenhidrinatin ratların gebelik sürecindeki embriyo üzerine etkilerini araştırmış, çalışmada toplam 11,5 günlük embriyo kültüründe morfolojik skor, yolk salk çapı ve tepe kık uzunluğu bakımından 5 µg/ml dozundaki dimenhidrinatin gelişimsel olarak toksik etkilerini tespit

edilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada ise [16] sıtmanın tedavisinde kullanılan klorakinin (0,25-0,50 mg/kg) rat embriyo kültürlerindeki etkilerini incelenmiş, çalışmada rat embriyolarının gelişim parametreleri olan total morfolojik skor, yolk salk çapı, tepe kık mesafesi, somit sayıları belirlenmiş ve sonuçta klorakinin doza bağımlı olarak bütün gelişimsel parametreleri gerilediği ve genel morfolojik bozukluklara neden olduğu belirtilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalardan birinde [17] borun memeli üretmesi üzerine etkisini *in vitro* ve *in vivo* incelemişlerdir. Düşük (0,04 µg B/g) ve yeterli (2,00 µg B/g) bor verilmiş farelerden alınan 2 hücreli embriyolar 72 saat süresince geliştirilmiş, 10, 12 ve 16 hafta düşük dozda bor ile beslenen farelerin embriyolarında blas-

tosit aşamasına gelişin azaldığını ve dejenerasyonların olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonunda, bor eksikliğinin rodentlerde embriyonik gelişimi hasara uğrattığı belirtilmiştir. Bu duruma benzer olarak yapılan diğer bir çalışmada da [18] alabalık embriyolarının büyümesini borun olumlu yönde etkilediğini bildirilmiştir. Ayrıca düşük bor içeren diyetle beslemenin yapıldığı diğer bir çalışmada [19] ise *Xenopus laevis* hem gelişmesinin hem de çoğalmalarında kötü etkilere neden olduğunu ve borun bunlar için gerekli olduğunu belirtilmiştir. Yapılan bu çalışmada, bor içeren diyetle beslenen hayvanlardan alınan embriyoların morfolojik olarak 10-13. gün değerlendirmesinde embriyonel gelişim parametrelerinin daha belirgin ve net olarak şekillendiği dolayısıyla sağlıklı bir gelişim gösterdiği, bor eksik diyetle beslemenin bu dönemde embriyonik gelişimi hasara uğrattığı belirlenmiştir. Bu durum özellikle canlılar için esansiyel bir element olan borun diyetlerde bulunmasının sağlıklı gebeliğin sürdürülmesinde etkin bir rolünün olduğunu göstermektedir. Nitekim yapılan benzer çalışmalar borun diyetlerde bulunmasının embriyonik gelişimi olumlu yönde etkilediğini göstermektedir [17-19].

Sonuç olarak borun 10 ve 13. günler arasındaki embriyo gelişimindeki *in vivo* etkilerinin ilk kez araştırıldığı bu çalışmada, ratlardaki gebelik boyunca marjinal ve normal miktarda bor verilen gruplarda embriyo gelişiminin sağlıklı olarak şekillendiği tespit edilmiştir.

Teşekkür (Acknowledgement)

Bu çalışma Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü (BOREN) tarafından desteklenmiş olan 2013.Ç0412 (2013-31-065-90-010) nolu projeden özetlenmiştir.

Kaynaklar (References)

- [1] Hunt C. D., Biochemical effects of physiological amounts of dietary boron, *Journal of Trace Element and Experimental Medicine*, 9,185–213, 1996.
- [2] Nielsen F. H., Hunt C. D., Mullen L. M., Hunt J. R., Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women, *Faseb Journal*, 1, 394–7, 1987.
- [3] Turkez H., Geyikoglu F., Tatar A., Keles S., Özkanc A., Effects of some boron compounds on peripheral human blood, *Zeitschrift für Naturforschung*, 62, 889–96, 2007.
- [4] Ince S., Kucukkurt I., Cigerci I. H., Fidan A. F., Eryavuz, A., The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats, *Journal of Trace Element and Experimental Medicine*, 24,161–4, 2010.
- [5] Ince S., Arslan-Acaröz D., An update on health effects of metalloids trace element: Boron, *Aperito Journal of Drug Designing and Pharmacology*, 2, 1, 2015.
- [6] McCoy H., Kenney M. A., Montgomery C., Irwin A., Williams L., Orrell R., Relation of boron to the composition and mechanical properties of bone, *Environmental Health Perspective*, 102, 49-53, 1994.
- [7] Samman S., Naghii M. R., Lyons Wall P. M., Verus A. P., The nutritional and metabolic effects of boron in humans and animals, *Biological Trace Element Research*, 66, 227-235, 1998.
- [8] Küçükkurt I., Akbel E., Karabag F., Ince S., The effects of dietary boron compounds in supplemented diet on hormonal activity and some biochemical parameters in rats, *Toxicology and Industrial Health*, 31, 255-260, 2015.
- [9] Karabag-Coban F., Ince S., Kucukkurt I., Demirel H. H., Hazman O., Boron attenuates malathion-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats, *Drug and Chemical Toxicology*, 38, 391-99, 2015.
- [10] Bourgeois A. C., Scott M. E., Sabally K., Koski K. G., Low dietary boron reduces parasite (nematoda) survival and alters cytokine profiles but the infection modifies liver minerals in mice, *Journal of Nutrition*, 137, 2080-86, 2007.
- [11] Van Maele-Fabry G., Picard J. J., Attenon P., Berthet P., Delhaise F., Govers M. J. A. P., Peters P. W. J., Piersma A. H., Schmid B. P., Stadler J., Verhoef A., Verseil C., Interlaboratory evaluation of three culture media for postimplantation rodent embryos, *Reproductive Toxicology*, 5, 417-26, 1991.
- [12] Nakagawa M., Price R. L., Chintanawonges C., Simpson D. G., Horacek M. J., Borg T. K., Terracio L., Analysis of heart development in cultured rat embryos, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 29, 369-79, 1997.
- [13] Liu J. N., Chan H. M., Kubow S., Oxidative stress status and development of late organogenesis stage rat whole embryos cultured from gestational days 13.5 to 14.5, *Toxicology In Vitro*, 21, 53-62, 2007.
- [14] Kwong W. Y., Wild A. E., Roberts P., Willis A. C., Fleming T. P., Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension, *Development*, 127, 4195-4202, 2000.
- [15] Fazlıoğulları S., Antiemetiklerin rat embriyoları gelişimi üzerine toksik ve teratojen etkilerinin *in vitro* kültür ortamında araştırılması, Doktora tezi, Selçuk Üniversitesi, Anatomi (Tıp) Anatomi Anabilim Dalı, Konya, 2010.
- [16] Uysal İ. İ., Karabulut A. K., Şeker M., Gürbilek M., Klorakinin rat embriyosu gelişimi ve morfolojik yapısı üzerine etkileri ve serbest radikallerin bu etkideki rolü, *Genel Tıp Dergisi*, 14 (3), 83-89, 2004.
- [17] Lanoue L., Taubeneck M. W., Muniz J., Hanna L. A., Strong P. L., Murray F. J., Nielsen F. H., Hunt C. D., Keen C. L., Assessing the effects of low boron diets on embryonic and fetal development in rodents using *in vitro* and *in vivo* model systems, *Biological Trace Element Research*, 66, 271-98, 1998.

- [18] Eckhert, C.D., Boron stimulates embryonic trout growth, *Journal of Nutrition*, 128, 2488-93, 1998.
- [19] Fort D.J., Stover E.L., Strong P.L., Murray F.J., Keen C.L., Chronic feeding of a low boron diet adversely affects reproduction and development in *Xenopus laevis*, *Journal of Nutrition*, 129, 2055-60, 1999.