

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI



RATLARDA FARKLI BOR DOZLARININ HAM BESİN
MADDELERİNİN SİNDİRİLME DERECESESİ VE
TAŞIYICILARI ÜZERİNE ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BÜŞRA AĞZİKÜÇÜK

2021

ONAY SAYFASI

.....

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof.Dr. Kazim ŞAHİN

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Kazim ŞAHİN _____

Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

BÜŞRA AĞZİKÜÇÜK

Tarih

İmza

Prof. Dr. Kazım ŞAHİN

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı

ELAZIĞ

TEŞEKKÜR

Tez çalışmasının planlanması, yürütülmesi ve gerçekleştirilmesinde değerli bilgilerini benimle paylaşan, sonuçların değerlendirilmesi ve yazım aşamasında bana büyük katkı sağlayan kıymetli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Kazım ŞAHİN'e teşekkür ederim. Tezimde kullandığım sodyum perborat tetrahidratı sağlayan Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendisliği Bölüm Başkanı Prof. Fikrettin Şahin'e teşekkür ederim. Bu tez çalışması esnasında desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN'e, Doç. Dr. Cemal G. ORHAN'a, Prof. Dr. İbrahim ÖZERCAN'a, Doç. Dr. Mehmet TUZCU'ya ve Dr. Öğr. Üyesi Füsün ERTEN'e katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca, projedeki yardımlarından dolayı doktora öğrencisi Beşir ER'e, Arş. Gör. Emre ŞAHİN'e, Arş. Gör. Bayram AKOĞLAN'a ve yüksek lisans öğrencisi Ramazan ÖZMEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Yüksek Lisans Tez çalışmasını (VF.19.17) destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Projeler (FÜBAP) Birimine teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca maddi manevi desteklerini, sevgisini ve yardımını esirgemeyen canım aileme teşekkürlerimi sunarım.

Büşra AĞZIKÜÇÜK

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI.....	ii
ETİK BEYAN.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	iv
TABLO LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
1. ÖZET	xi
2. ABSTRACT	xiii
3. GİRİŞ	1
3.1. Bor.....	6
3.1.1. Fiziksel Özellikleri	6
3.1.2. Kimyasal Özellikleri	8
3.1.3. Kaynakları	8
3.2. Emilimi ve Atılımı	9
3.2.1. Emilimi.....	9
3.2.2. Atılımı	11
3.3. Toksik Etkileri.....	12
3.4. Hayvan Beslemede Borun Kullanımı	14
3.4.1. Fonksiyonları	14
3.4.1.1. Embriyonik Gelişim Üzerine Etkisi	16
3.4.1.2. Kemik Gelişimi Üzerine Etkisi	17
3.4.1.3. Beyin Aktivitesi Üzerine Etkisi	19
3.4.1.4. Karaciğer Fonksiyonları Üzerine Etkisi.....	20
3.4.1.5. Oksidatif Stres Üzerine Etkisi	21
3.4.1.6. Hormon Aktiviteleri Üzerine Etkisi	23
3.4.1.7. İmmun Sistem Üzerine Etkisi	23
3.4.1.8. Büyüme Performansı Üzerine Etkisi.....	25
3.4.1.9. Et Kalitesi Üzerine Etkisi.....	25
3.5. Amaç	27
4. GEREÇ VE YÖNTEM	28

4.1. Hayvan Materyali.....	28
4.2. Yem Materyali ve Araştırma Grupları	28
4.3. Laboratuvar Analizleri	31
4.3.1. Besin Maddelerinin Sindirilme Derecelerinin Belirlenmesi	31
4.3.2. Rasyon Bor Düzeyinin Belirlenmesi.....	32
4.3.3. Bağırsak Histomorfolojisi	32
4.3.4. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) Analizi.....	33
4.4. İstatistiksel Analizler.....	35
5. BULGULAR	36
6. TARTIŞMA	46
7. KAYNAKÇALAR.....	51
8. ÖZGEÇMİŞ.....	62

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Fiziksel özellikleri.....	7
Tablo 2. Kimyasal özellikleri	8
Tablo 3. Bazı yiyeceklerdeki bor miktarı	9
Tablo 4. İnsanlarda organ veya sıvıların normal bor konsantrasyonu.....	11
Tablo 5. Borun farklı türlerdeki toksik etkileri	13
Tablo 6. Ratlara verilen diyetin bileşimi ve besin madde içeriği	30
Tablo 7. Deneme düzeni.....	31
Tablo 8. RT-PCR aşamasında kullanılan kullanın ileri ve geri primer sekansları.	35

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Borun hayvanlardaki fonksiyonları	16
Şekil 2. Sodyum perborat tetrahidrat'ın (SPT) yem tüketimi (A) ve canlı ağırlık (B) üzerine etkisi.	36
Şekil 3. Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) Kuru Madde (KM, panel A), Organik Madde (OM, panel B), Ham Protein (HP, panel C), Ham Yağ (HY, Panel D) ve Ham Kül (HK, Panel E) üzerine etkisi.....	38
Şekil 4. Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) bağırsak histolojik görünümü üzerine etkisi. 38	
Şekil 5. Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) villus uzunluğu (A) ve kript derinliği (B) üzerine etkisi.	39
Şekil 6. Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) jejunum (A) ve ileumdaki (B) PepT1 ekspresyonu üzerine etkileri.....	40
Şekil 7. Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) jejunum (A) ve ileumdaki (B) SGLT1 ekspresyonu üzerine etkileri.....	41
Şekil 8. Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) jejunum (A) ve ileumdaki (B) Glut1 ekspresyonu üzerine etkileri.....	42
Şekil 9. Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) jejunum (A) ve ileumdaki (B) Glut2 ekspresyonu üzerine etkileri.....	43
Şekil 10. Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) jejunum (A) ve ileumdaki (B) Glut5 ekspresyonu üzerine etkileri.....	43
Şekil 11. Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) jejunum (A) ve ileumdaki (B) FATP1 ekspresyonu üzerine etkileri.	44
Şekil 12. Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) jejunum (A) ve ileumdaki (B) FATP4 ekspresyonu üzerine etkileri.....	45

KISALTMALAR LİSTESİ

B	: Bor
SPT	: Sodyum perborat tetrahidrat
RT-PCR	: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
NaBC1	: Sodyum-bor ortak taşıyıcısı
EAAT3	: Eksikatör aminoasit taşıyıcısı 3
PepT1	: Peptit taşıyıcı 1
SGLT1	: Sodyum bağımlı glikoz taşıyıcı 1
GLUT5	: Glikoz taşıyıcısı 5
GLUT2	: Glikoz taşıyıcısı 2
FATP	: Yağ asidi taşıyıcı proteinleri
FABPs	: Yağ asidi bağlayıcı proteinler
L-FABP	: Karaciğer yağ asidi bağlayıcı proteini
LDL	: Lipoprotein
TG	: Trigliseritler
Ca	: Kalsiyum
Mg	: Magnezyum
P	: Fosfor
ALT	: Aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
BDNF	: Beyinden türetilen nörotrofik faktör
NEFA	: Esterleşmemiş yağ asidi
BHBA	: β -hidroksibütirik asit
GSH	: Glutatyon
ROT	: Reaktif oksijen türleri
OP	: Organofosfat
SOD	: Süperoksit dismutaz

TAA	: Total antioksidan aktivite
LPO	: Lipit peroksit
GPx	: Glutasyon peroksidaz
Cu	: Bakır
Zn	: Çinko
Mn	: Manganez
T3	: Triiyodotironin
T4	: Tirosin
SAM-e	: S-Adenosyl-L-metionin
IFN-γ	: İnterferongamma
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü
FPD	: Ayak tabanı dermatit
HSD	: Hidroksisteroit dehidrogenaz
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotidi
KM	: Kuru madde
OM	: Organik madde
HP	: Ham protein
HY	: Ham yağ
HK	: Ham kül
CA	: Canlı ağırlık

1. ÖZET

Esansiyel bir iz element olan borun (B) hormon metabolizmasında, kemik gelişiminde, antioksidan savunma sisteminde, yara iyileşmesinde, enerji metabolizmasında ve immün sistemde önemli rolleri bulunmaktadır. Son yıllarda, araştırmalarda kullanılan bor bileşiklerinin başında borik asit, sodyum borat, potasyum borat ve çinko borat gelmektedir. Bu çalışma, ratlarda sodyum perborat tetrahidratın (SPT) ham besin maddelerinin sindirilme derecesi ve besin madde taşıyıcılarının ekspresyonu üzerindeki etkilerini belirlemek amacı ile yürütüldü. Çalışmada toplam 40 adet erkek Wistar albino rat kullanılmış ve ratlar 4 gruba ayrılmıştır: i) Kontrol, ii) SPT 0.5 (0.5 mg elemental B/kg), iii) SPT 1 (1 mg elemental B/kg), iv) SPT 2 (2 mg elemental B/kg). Deneme 4 hafta sürdü. Çalışma sonunda dışkı ve bağırsak örnekleri toplandı. Kuru madde, ham protein, ham yağ, ham kül ve organik maddelerinin sindirilme dereceleri belirlendi. Ardından Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi aracılığıyla jejunum ve duodenumdaki peptit taşıyıcı 1 (PepT1), sodyum bağımlı glikoz taşıyıcı 1 (SGLT1), glikoz taşıyıcısı 1 (GLUT1), glikoz taşıyıcısı 2 (GLUT2), glikoz taşıyıcısı 5 (GLUT5) ve yağ asidi taşıyıcı proteinleri 1 (FATP1) proteinlerinin mRNA ekspresyon seviyeleri tespit edildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, farklı SPT dozlarının ham besin madde sindirilme derecesi üzerine etki etmediği belirlendi ($p>0.05$). Ayrıca, SPT'nin PepT1, SGLT1, GLUT1, GLUT2, GLUT5 ve FATP1 ekspresyon seviyeleri üzerine bir etkisi tespit edilmedi ($p>0.05$). Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan SPT formundaki borun farklı dozlarının ratlarda besin madde sindirilme derecelerine ve ince bağırsak PepT1, SGLT1, GLUT1, GLUT2, GLUT5

ve FATP1 ekspresyon seviyeleri üzerine anlamlı bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bor, sodyum perborat tetrahidrat, sindirim, besin madde taşıyıcıları.



2. ABSTRACT

THE EFFECTS OF DIFFERENT BORON DOSES ON DIGESTION DEGREE AND CARRIERS OF RAW NUTRITIONAL MATERIALS IN RATS

Boron (B), an essential trace element, has an important role in hormone metabolism, bone development, antioxidant defense system, wound healing, energy metabolism and immune system. Boric acid, sodium borate, potassium borate and zinc borate are the leading boron compounds used in research in recent years. This study was carried out to determine the effects of sodium perborate tetrahydrate (SPT) on the nutrient digestibility and expression of nutrient transporters (PepT1, SGLT1, GLUT1, GLUT2, GLUT5, FATP1) in rats. A total of 40 Wistar albino rats were divided into 4 groups: i) Control ii) SPT 0.5 (0.5 mg elemental boron (B) / kg), iii) SPT 1 (1 mg elemental B/ kg), iv) SPT 2 (2 mg elemental B / kg). The trial lasted 4 weeks. At the end of the study, digestibility of dry matter, crude protein, crude oil, crude ash and organic matter were determined. Then, the mRNA expression levels of peptide carrier 1 (PepT1), sodium dependent glucose transporter 1 (SGLT1), glucose transporter 1 (GLUT1), glucose transporter 2 (GLUT2), glucose transporter 5 (GLUT5) and fatty acid carrier proteins 1 (FATP1) in the small intestine were determined using the Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) method. When compared with the control group, it was determined that different SPT doses did not affect the nutrient digestibility ($p>0.05$). In addition, no effect of SPT on PepT1, SGLT1, GLUT1, GLUT2, GLUT5 and FATP1 expression levels was determined ($p>0.05$). In conclusion, it was reported that different boron doses in SPT form used in this study did not have

a significant effect on nutrient digestibility and small intestine expression levels of PepT1, SGLT1, GLUT1, GLUT2, GLUT5 and FATP1 in rats.

Keywords: Boron, sodium perborate tetrahydrate, digestibility, nutrient transporters.



3. GİRİŞ

Periyodik tabloda beşinci sırada yer alan bor, toprak ve suda yaygın olarak bulunmaktadır. Başta Türkiye ve Batı Amerika olmak üzere Brezilya, Rusya ve Çin gibi ülkeler dünyanın geri kalanından daha fazla bor rezervine sahiptirler. Karmaşık bir kimyaya sahip olan bor, doğada elemental formda değil boratlar şeklinde bulunmaktadır (1, 2). Kimyasal olarak bir iz mineral olan bor diğer elementlerle birleşerek 230'a yakın bileşik meydana getirebilmektedir (3). Bitkisel gıdalar iyi birer bor kaynağı olmakla birlikte ananas, çilek ve narenciye haricindeki meyvelerin çoğu bor bakımından zengindir. Yapraklı bitkiler, kuru meyveler ve fındıklar yüksek miktarlarda bor içerirler (1, 4).

Bor, insan ve hayvan sağlığının korunmasında ve beslenme ile ilgili bozukluklarının önlenmesinde rol oynamaktadır. Borun uygun dozda kullanımı embriyonik gelişime, kemik metabolizmasına, bağışıklık sistemine, hormonal aktiviteye, karaciğer fonksiyonlarına, beyin aktivitesine, yara iyileşmesine ve farklı kanser türleri üzerine olumlu yönde etkiler yapmaktadır (1, 5). Ayrıca glikoz, aminoasit, trigliserit ve makromineraler gibi birçok biyolojik bileşiğin metabolizmasında ve bu bileşiklerin dokulardaki fonksiyonları üzerinde etkili olabilmektedir.

Bor geleneksel sağlık hizmetlerinde kullanılmasının yanı sıra; tarımsal, endüstriyel ve kozmetik kullanımlarda geniş çapta uygulanmaktadır (6). Ayrıca, yaşam döngüsünün tamamlanması için de gerekli olduğu düşünülmektedir (7). Borun besinlerdeki miktarına bağlı olarak, insan ve hayvan sağlığını olumlu yönde etkileyen birçok farklı etkiye sahip olduğuna dair önemli sonuçlar elde edilmiştir

(6). Bor, vücudun farklı dokularında üretilen inflamatuvar ve oksidatif stresin etkilerini azaltarak, artrit, kanser, osteoporoz gibi kronik hastalıkların önlenmesinde etkili olabilir (6).

Hayvanlara ve insanlara verilen inorganik borat bileşikleri borik asite çevrildikten sonra mukozal yüzeylerden neredeyse tamamen emilirler. Bu borat bileşiklerinin %90'ından fazlası borik asit şeklinde vücuttan atılırlar (7-9). Gastrointestinal sistemden pasif olarak emilen bor hızlı bir şekilde vücut sıvılarına ve yumuşak dokulara dağıldıktan sonra hücre içerisine sodyum-bor ortak taşıyıcısı (NaBC1) vasıtasıyla spesifik olarak girmektedir (10). Plazmada bulunan bor kısa süre içerisinde başlıca idrar yoluyla atılırken sadece %2'lik kısmı dışkı ile atılabilmektedir. Borun hızlı bir şekilde idrarla atılmasından dolayı idrardaki bor seviyesi diyetle alınan bor miktarının belirleyicisi olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, bu homeostatik kontrol mekanizması diyetle alınan yüksek miktardaki borun plazmadaki bor seviyesini arttırmasını önlemektedir. Dolayısı ile dokulardaki bor seviyesi çoğunlukla sabit bir seviyede kalmaktadır (9, 11).

Gastrointestinal mukozanın yüzeyi, iç ve dış ortamı birbirinden ayırarak zararlı maddelerin bağırsaktan geçişini engelleyen hücreler arası birleşme noktalarına sahip epitel hücreleri ile kaplıdır. Bu epitel hücreler besin maddelerinin ve elektrolitlerin emilimlerinden de sorumludurlar. Besin maddelerinin epitelden geçişleri ile su ve iyonların emilerek kana geçmeleri bağırsak lümeni ve mukoza arasındaki aktif (taşıyıcılar) ve pasif (diffüzyon) taşınmanın sonucunda oluşmaktadır (12). Bu fizyolojik durum bağırsak yangısı, villus atrofi, kript hiperplazisi ve azalmış fırça kenar aktivitesi gibi morfolojik ve fizyolojik değişiklikler sonucu dengesiz hale gelebilmektedir (13). Hayvanlarda diyetle yapılan bor katkıları

ham besin maddelerinin sindirimini (kuru madde, ham protein, ham yağ) arttırabilmektedir (14). Bunun yanında bağırsak epitel hücrelerinin proliferasyonunu tetiklemekte (15), villuslarının gelişimini iyileştirmekte ve besin maddelerinin emilim seviyelerini daha iyi seviyelere çıkarabilmektedir (16).

Bağırsaklardaki besin madde alımı epitel hücrelerinin fırça kenarlarında ya da bazolateral membranlarında yer alan taşıyıcı proteinler aracılığı ile gerçekleşmektedir. Amino asit, peptit ve monosakkarit taşıyıcıları, çözünen taşıyıcı (SLC) gen ailesinin üyeleridirler (17). Fırça kenarda yer alan eksikatör aminoasit taşıyıcısı 3 (EAAT3, SLC1A1) glutamat (bağırsak epitel hücrelerinin ana enerji kaynağıdır) ve aspartatın emilimini sağlarken (18), peptit taşıyıcı 1 (PepT1, SLC15A1), amino asitlerin –di ve –tri peptit şeklinde topluca taşınmasından sorumludur (19). Sodyum bağımlı glikoz taşıyıcı 1 (SGLT1, SLC5A1) glikozun, glikoz taşıyıcısı 5 (GLUT5, SLC2A5) ise fruktozun taşınmasında görev almaktadır (20). Epitel hücrelerinin bazolateral membranında yer alan glikoz taşıyıcısı 2 (GLUT2, SLC2A2) glikoz, galaktoz, früktoz, mannoz ve glukozaminlerin hücre dışından kana taşınmasını sağlarken (21), GLUT1 (SLC2A1) glukozun taşınmasını gerçekleştirmektedir (22). Trigliseritler bağırsakta ilk olarak monoasitglicerollere ve sonrasında da serbest yağ asitlerine dönüşerek enterositlerin apikal membranından emilirler. Yağ asidi taşıyıcı proteinleri (FATP) uzun zincirli yağ asitlerinin enterositlere girmesini sağlamaktadırlar. FATP4 (SLC27A4) ve FATP1 (SLC27A1) enterositler için başlıca yağ asidi taşıyıcılarıdır (23, 24). Yağ asidi translokaz (CD36/FAT) enterositlerin fırça kenarlarında bulunmaktadır ve yağ asitlerinin hücre içerisine alınmasında önemlidir (24). Hücre içinde bulunan yağ asidi bağlayıcı proteinler (FABPs) yağ asitlerini hücre içerisinde gerekli yerlere

taşırlar. Bağırsak epitel hücrelerinde başlıca bağırsak yağ asidi bağlayıcı proteini (I-FABP, FABP2) ve karaciğer yağ asidi bağlayıcı proteini (L-FABP, FABP1) olmak üzere farklı FABP'ler bulunmaktadır (25).

Sodyum perborat tetrahidrat (SPT), formülü $\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ olan beyaz, kokusuz ve suda çözünen bir bor bileşiğidir (26). SPT, fizyolojik koşullar altında borik asit ve hidrojen peroksit'e parçalanmaktadır. SPT, yüksek dozlarda kullanıldığı zaman gastrointestinal sistem mukozalarında iritasyona sebep verirken düşük dozlarda kullanımının bir yan etkisi bulunmamaktadır (27, 28). Yapılan literatür taramalarında SPT'nin ham besin madde sindirilme derecesine ve besin madde taşıyıcıları üzerine etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

SGLT1 (SLC5A1) esas olarak, bağırsak lümeninden diyet D-glikozu ve D-galaktozu emdiği ince bağırsaktaki olgun enterositlerin fırça kenar zarında ifade edilir (29, 30). SLC2A1 geni tarafından kodlanan GLUT1, saflaştırılan (31, 32) ve klonlanan (33, 34) ilk zar taşıyıcılarından ve muhtemelen tüm membran taşıma sistemleri arasında en kapsamlı olarak çalışılanlardan biridir. GLUT1, 492 amino asit kalıntısından oluşur ve N45'te tek bir N-bağlantılı glikosilasyon bölgesine sahiptir (34). Proteinin bilinen başka bir translasyon sonrası modifikasyonu yoktur. 12 transmembran segmentli ve sitoplazmik N ve C terminalli bir topoloji, hidrofobiklik analizi ve biyokimyasal çalışmalarla desteklenir (34-36).

GLUT2, hepatositlerin başlıca glikoz taşıyıcısıdır. Aynı zamanda bağırsak emici hücreler, böbreğin proksimal kıvrımlı tübülünü oluşturan hücreler, pankreas beta hücreleri (37) ve beyin yapısında ve astrositlerde dağılmış az sayıda nöron (38, 39) ve üçüncü ventrikülün tabanını kaplayan özel hücreler olan tanyositler

tarafından da ifade edilir (40). Hepatositlerde GLUT2, sırasıyla tokluk ve açlık durumlarında glikoz alımında ve salınmasında rol oynar. GLUT5, tanımlanacak GLUT proteinlerinden ilkidir ve SLC2A5 geni başlangıçta insan ince bağırsağından klonlanmıştır (41). Fruktoz için yüksek bir özgüllüğü vardır (42). Birincil işlevlerinden biri, ince bağırsağın apikal zarı boyunca diyetle alınan fruktoz alımına aracılık etmektedir (43).

PepT1 ve PepT2 oligopeptid taşıyıcıları anyonik ve katyonik peptidlerin yanı sıra çeşitli peptid benzeri ilaçlar (örneğin, sefadroksil, enalapril, valasiklovir) dahil olmak üzere geniş bir dipeptid ve tripeptid yelpazesinin protonla birleştirilmiş aktif taşınmasına aracılık eder (44).

3.1. Bor

3.1.1. Fiziksel Özellikleri

Yer kabuğunda miktar (3 mg/kg) bakımından 51. yaygın element olarak bulunan bor, boratlar ve borosilikatlar halinde yer alır. Amorf toz halindeki bor elementinin rengi koyu kahverengi ve çok gevrek iken, monoklinik kristal halindeki bor ise sert yapılı ve sarımsı kahverengi renktedir (45). Ergime noktası yaklaşık 2300 °C'dir. Borun fiziksel özellikleri Tablo 1'de verilmiştir (46).

Tablo 1: Fiziksel özellikleri (46)

Atom kütlesi	10.811 (g/mol)
Kaynama noktası	3 727 (°C)
Termal genleşme katsayısı	8.3 $\mu\text{m}/(\text{m.K})$, (0 °C' de)
Elektriksel iletkenlik	1.0 E-12 $\mu\text{S}/\text{cm}$
Isıl iletkenlik	0.274 W/cm.K
Yoğunluğu	2.34 g/cm ³ , (25 °C'de)
Görünüşü	Sarı-Kahverengi ametal kristal
Elastik modülü	Kütle: 320/GPa
Atomizasyon entalpisi	573.2 kJ/mol, (25 °C'de)
Füzyon entalpisi	22.18 kJ/mol
Buharlaşma entalpisi	480 kJ/mol
Sertliği	Mohs: 9.3 Vickers: 49 000 MN.m-2
Buharlaşma ısısı	489.7 kJ/mol
Ergime noktası	2075 °C
Molar hacmi	4.68 cm ³ /mol
Fiziksel durumu	Katı, (20 °C ve 1 atm'de)
Spesifik ısısı	1.02 J/g.K
Buhar basıncı	0.348 Pa (300 °C'de)

3.1.2. Kimyasal Özellikleri

Bor elementinin kimyasal özellikleri morfolojisine ve tane büyüklüğüne göre değişmektedir (45). 1 μm 'den daha düşük boyuttaki amorf bor rahatlıkla ve yüksek hızda reaksiyona girebilir fakat kristalin bor kolayca reaksiyon göstermez. Bor ile su reaksiyona girerek borik asit ve bazı diğer yan ürünleri oluşturur (45). Mineral asitleri ile reaksiyonu sonucunda da ana ürün olarak borik asit oluşur (47). Borun kimyasal özellikleri Tablo 2' de verilmiştir.

Tablo 2: Kimyasal özellikleri (48)

Elektrokimyasal eşdeğer:	0.1344 g/amp-hr
Elektronegativite	2.04 Pauling
Füzyon ısısı	50.2 kJ/mol
Değerlik elektron potansiyeli	190 eV

3.1.3. Kaynakları

Deniz suyunda ortalama 0.5-9.6 mg/lt bor bulunur. Tatlı sudaki bor miktarı 0.01 ile 1.5 mg/lt arasında değişmektedir. Bor kaynakları genellikle bitki kökenlidir. Çoğunlukla, ananas ve narenciye dışındaki meyvelerde bor konsantrasyonu zengindir. Ayrıca yapraklı bitkiler, kuru meyveler ve kuruyemişler yüksek miktarda bor içerirler. Tablo 3'de bazı yiyeceklerdeki bor miktarı verilmiştir (1).

Tablo 3: Bazı yiyeceklerdeki bor miktarı (1)

Kaynak	Bor içeriği / 100 g	Kaynak	Bor içeriği / 100 g
Badem	2.82	Üzüm	2.72
Elma	2.73	Fındık	2.77
Kayısı	2.11	Bal	0.72
Avokado	1.66	Mercimek	0.74
Muz	2.06	Süt	0.23
Fasulye	1.56	Soğan	0.20
Ekmek	0.48	Portakal	0.25
Brokoli	2.19	Şeftali	0.52
Havuç	1.39	Yer Fıstığı	1.92
Kaju fıstığı	1.15	Fıstık	1.80
Ketçap	1.39	Armut	0.32
Kereviz	2.47	Patates	0.18
Peynir	0.19	Kuru erik	1.18
Kiraz	1.47	Kuru üzüm	4.51
Nohut	0.71	Soya unu	2.80
Hurma	1.08	Domates	2.72
Yumurta	0.37	Ceviz	1.63
Un	0.28	Buğday	2.41

3.2. Emilimi ve Atılımı

3.2.1. Emilimi

Çeşitli farmakokinetik çalışmalar sonucunda borun gastrointestinal bölgeden genellikle borik asit olarak hızlı ve tamamına yakını (>90) emildiği bildirilmiştir (49). Culver ve ark. (50) insanlar üzerinde yapmış olduğu çalışmada 3.3 – 18 mg/m³ boraksa maruz kalmış bireylerde, borun solunum yoluyla organizma içerisine alındığını ortaya koymuşlardır. Yapılan çalışmalar sonucunda borun deri

(hasar görmemiş) yoluyla insan ve hayvanlarda emiliminin olmadığı bildirilmiştir (51). Borun hayvansal dokularda dağılımını belirlemek amacıyla yapılmış çok sayıda çalışma olmasına rağmen insanlardaki dağılımı konusunda sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (52). Yiyecek ve içeceklerle alınan borun insan dokularında ve vücut sıvılarında bulunduğu bilinmektedir. Bor kemik dokularında birikim yapabilmesine rağmen kas, kalp, akciğer ve bağırsak daha az miktarda bor içermektedir (53). İnsanlarda organ veya sıvıların normal bor konsantrasyonu Tablo 4' de verilmiştir (54).

Boratlar düşük konsantrasyonlarda, emilimleri sırasında mukozal yüzeylerde ve fizyolojik pH derecesinde borik aside dönüştürülür. Borik asidin farklı biyolojik moleküller ile kompleksler oluşturabileceği rapor edilmiştir (53). Bu konuda gerçekleştirilmiş olan deneysel çalışmalar borik asidin hidroksil, amino ve tiyol gruplarına karşı ilgisini ortaya koymuştur (55).

Tablo 4: İnsanlarda organ veya sıvıların normal bor konsantrasyonu (54)

Doku	Bor Konsantrasyonu
Beyin	0.87 $\mu\text{g/g}^a$
Kalp	0.59 $\mu\text{g/g}^a$
Böbrek	1.27 $\mu\text{g/g}^a$
Karaciğer	2.25 $\mu\text{g/g}^a$
Pankreas	0.51 $\mu\text{g/g}^a$
Dalak	3.95 $\mu\text{g/g}^a$
Kemik	1.60 $\mu\text{g/g}^b$
Saç	1.05 $\mu\text{g/g}^b$
Tırnak	15 $\mu\text{g/g}^b$
Serebrospinal sıvı	1.15 $\mu\text{g/g}^b$
Sinovyal sıvı	30 $\mu\text{g/g}^b$
Tükrük	4.4 $\mu\text{g/g}^b$

^a Kuru Ağırlık, ^b Yaş Ağırlık

3.2.2. Atılımı

İnsanlarda borun günlük olarak yeterli düzeyde alabileceği miktar henüz belirlenememiştir. Fakat hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda insanlar için ihtiyaç duyulabilecek düzeyin en az 0.5 mg/gün olabileceği düşünülmektedir (56). Günümüzde The Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine (ABD) tarafından 18 yaş üstü yetişkin insanlarda bor için tolere edilebilir en yüksek düzeyin 20 mg/gün olduğu bildirilmektedir (57). İnsan vücudundaki bor düzeyi 3–20 mg/kg düzeyinde olup kemiklerde, tırnaklarda, parmaklarda ve saçta yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda kan, serum ve idrar gibi vücut sıvılarında bor düzeyi sırasıyla 0.06, 0.02 ve 0.75 ppm olarak belirlenmiştir. Bor bileşiklerinin vücuttan atılımlarının insanlar ve hayvanlarda benzer oldukları bildirilmektedir (58). Organizma içerisine alınış yoluna bağlı

olmaksızın, borun atılımı başlıca glomerular filtrasyon yoluyla olup, bu yol farelerde insanlara oranla 3-4 kat daha hızlı, organizma içerisinde alınmış olan borun %90'dan fazlasının ilk 24 saat içerisinde idrar yoluyla atıldığı rapor edilmiştir (9).

3.3. Toksik Etkileri

Diyet ve suya ilave edilen sodyum borat ve borik asidin yüksek düzeyde toksisiteye neden olduğu bilinmektedir. Deri yanmasına neden olmamakla birlikte, gözlerde tahrişe neden olmaktadır. Bor bileşikleri bazı türlerde belirlenen yüksek dozlarda öldürücüdür, fakat kanserojen değildir (59, 60). Tablo 5'de borun farklı türlerde toksik etkileri verilmiştir (1).

Tablo 5: Borun farklı türlerdeki toksik etkileri (1)

Türler	Doz (mg/kg)	Yan etkileri
Fare	79	Gelişimsel sorunlar
	13.3	Fetüs vücut büyüklüğünün azalması
	25	Gelişimsel sorunlar
	26	Sperm inhibisyonu
Rat	50	Germinal aplazi
	52	Testis atrofi
	58.5	Testis atrofi, testis ağırlığında azalma, Tiroid/beyin ağırlığında artma
Tavşan	43.8	Fetal deformiteler
Köpek	29.0	Beyin yapısı bozukluğu
Devekuşu	320–640 mg / L	Kemiğe olumsuz etkisi
		Dalak yapısal değişiklikler/toksisite
	400 mg / L	Testis atrofi
	640 mg / L	Artmış intestinal apoptoz

Japon bildiricilerinde yapılan bir çalışmada, yüksek miktarda bor takviyesinin hayvanlarda canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanmayı azalttığı ve karkastaki yağ miktarını ise arttırdığı tespit edilmiştir (61). Kabu ve ark. (62) en sık kullanılan bor bileşiği boraksın, histolojik ve klinik olarak farklı karın içi organları üzerindeki etkilerini değerlendirmek için yürüttükleri bir çalışmada, LD50 dozu (5000 mg/kg/gün) gavaj yoluyla uygulamışlardır. Sonuç olarak, boraksın böbrek, kalın bağırsak, karaciğer ve mide de düşük dozlarda histolojik değişikliklere neden olmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, yüksek boraks dozu uygulandığında; ödem, inflamasyon ve neovaskülarizasyon gözlenmiş ve klinik olarak altı rattan ikisi 5 saat içinde ölmüştür (62). Bu çalışma sonucunda yüksek dozlarda boraks alımının, ani ölüme neden olabileceği ve uzun süreler boyunca yüksek doz alımının

inflatuar barğırsak hastalıklarına yol açabileceğı öne sürölmüştür (62). Bor elementinin germ hücre kaybı, seminifer tüböl atrofisi ve spermiasyon gibi inhibisyonlar dahil olmak üzere köpek, fare ve ratların üreme sistemleri üzerine olumsuz etkileri gözlemlenmiştir (63). Bunun yanında, farelerde üreme veriminin azalması ve lezyonların oluştuğı gözlenmiştir (64). Ku ve ark. (65) ratlara 63 gün boyunca oral olarak 0, 26, 38, 52 ve 68 mg kg/gün bor uygulamışlar ve 52 ve 68 mg dozların testis atrofisine neden olduğunu bulmuşlardır. Aynı zamanda testiste 52-68 mg bor miktarının sperm üretimini azalttığını bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada, düşük bor dozlarının üreme üzerindeki bu olumsuz etkileri tersine çevirebileceğini göstermişlerdir (65). Bu bulgulardan sonra aynı araştırmacılar testisleri *in vitro* olarak 11.9 µg bor/g ile maruz bırakmışlardır ve borun yüksek dozda germ hücrelerinin olgunlaşmasını ve üretimini olumsuz yönde etkilediğini tespit etmişlerdir (66).

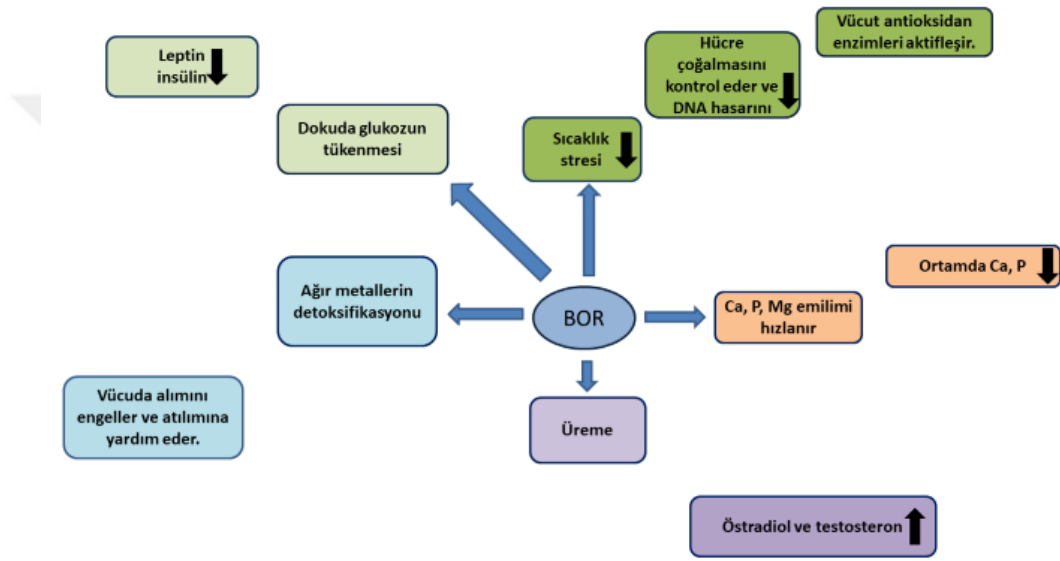
3.4. Hayvan Beslemede Borun Kullanımı

3.4.1. Fonksiyonları

Bor elementi genel olarak, embriyonik gelişime, kemik metabolizmasına, bağışıklık sistemine, hormonal aktiviteye, karaciğer fonksiyonlarına, beyin aktivitesine, yara iyileşmesine ve farklı kanser türleri üzerine olumlu yönde etkiler yapmaktadır (1, 5). Borun biyolojik fonksiyonları Şekil 1’de gösterilmiştir (67, 68). Kabu ve ark. (69), borun (30 g/gün) süt sığırlarının peripartum dönemde serum metabolitleri (Ca, P, Mg) üzerindeki etkilerini gösteren bir çalışmada, serum Ca ve Mg seviyelerinin bor takviyesi ile arttığını, ancak fosforun bor takviyesi ile değişmediğini ortaya koymuşlardır. Aynı yazarlar, bu çalışmada kullanılan sodyum

boratın süt sgrclğnda yavrulama döneminde metabolik dengeyi korumak, hipokalsemi ve hipomagnezemi gibi metabolik hastalıkları engellemek için uygun olabileceğini bildirmişlerdir (69). Yapılan bazı çalışmalarda da, ratlarda borun plazma Ca, P ve Mg seviyelerini iyileştirdiğı tespit edilmiştir (70, 71). Hall ve ark. (72) tarafından yapılan bir çalışmada, ratlara bor verilmesi sonucu, serum düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), trigliseritler (TG) ve total kolesterol (TC) seviyeleri dşmştr. Bu azalma LDL'nin karaciğer ve aort hücrelerine yapışmasını ve bağlanmasını önlemiştir. Bu olgunun, ateroskleroz hastaları için, kolesterolün dokulardan uzaklaştırılmasına ve lipit birikiminde bir azalmaya yol açabileceğı tespit edilmiştir (72). Naghii ve Samman (73) tarafından yapılan çalışmada, 2 mg/gün dozunda 2 hafta boyunca ratlara borik asit verilmesinin, toplam kolesterol ve lipoprotein düzeylerini azalttığı bildirilmiştir. Başka bir çalışmada da, eti piliçlerde diyetle borik asit formunda bor ilavesinin, serum alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), kreatin kinaz, gama-glutamilttransferaz, laktat dehidrojenaz enzim aktivitelerini olumlu yönde etkilemiştir (74). Yine aynı çalışmada Ca, P, Mg, LDL, HDL, TC, toplam protein, toplam bilirubin, albümin, globulin, glikoz ve kreatinin metabolit aktivitesini de olumlu yönde etkilendiğini göstermiştir (74). Diğer bir çalışmada da, borun diyabetik ratlarda insülin ve lipaz aktivitelerini arttırdığı ve glikoz ve LDL seviyelerini ise azalttığı tespit edilmiştir (75). Süt ineklerinde yapılan bir çalışmada, borun doğum sonrası β -hidroksibütirat, valin, çoklu doymamış yağ asidi, propiyonat, sitrat, kolin, izobtirat, kolesterol ve yağ asitlerini içeren metabolitleri düzenleyerek negatif enerji dengesinin azaltılmasında ve doğum sonrası ineklerin sağlık durumunun arttırılmasında uygun olduğu bildirilmiştir (76). Bu sonuçlar, glikoz konsantrasyonlarının doğum öncesi

dönemde daha yüksek olduğunu ve doğum sonrası β -hidroksibütirik asit ve glukagon serum seviyelerinin takviye edilmemiş bor grubunda daha yüksek olduğunu göstermiştir (76). Simental ineklerde yapılan diğer bir çalışmada ise sodyum borat uygulamasından sonra kandaki toplam kolesterol, trigliserit, HDL, LDL, glikoz, insülin ve esterleşmemiş yağ asitlerinin konsantrasyonlarının azaldığı tespit edilmiştir (77).



Şekil 1: Borun hayvanlardaki fonksiyonları

3.4.1.1. Embriyonik Gelişim Üzerine Etkisi

Borun hayvanlarda ya da insanlarda birçok biyolojik ve fizyolojik süreç için faydalı veya çok önemli olduğu tespit edilmiştir (7). Mikroorganizmalarda bor eksikliği, çoğalmanın duracağı şekilde gelişmeye ve büyüme veya proliferasyonun olgunlaşmasına engel olur (78). Borun, bitki ve hayvanların gelişimlerinin ilk aşamalarında yeterli miktarlarda alınması önemlidir (79). Fort ve ark. (80) borun, omurgalılarda embriyonik proliferasyonu ve gelişimini desteklediği, *Xenopus*

laevis'teki bağırsak ve nekrotik yumurtaların anormal gelişme oranının artmasına neden olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, borun zebra balığının (*Danio rerio*) büyümesinin ilk aşamalarında kritik bir öneme sahip olduğu bildirilmiştir (81). Bor çeşitli enzimatik sistemlerde metabolik bir regülatör olarak rol oynar (79).

İnce ve ark. (82) borun fetal gelişimde NANOG, HEX ve OCT-3/4 genlerinin mRNA ekspresyonu üzerindeki *in vivo* etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada, bor verilen gruplarda, NANOG, HEX ve OCT-3/4 gen ekspresyonlarının ve protein seviyelerinin artan bor miktarlarında yüksek oranlarda olduğu ve bor miktarının az olduğu grupta ise bu seviyelerin baskılandığı veya yeterince aktif olmadığı görülmüştür (82). Bu durumun borun, metabolizmayı düzenlemesinin farmakolojik etkilerinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Bu nedenle, bu bulgular borun gebeliğin başlangıcında yer alan erken embriyonik genleri düzenlemek için dikkate değer bir işlevi olduğunu ortaya koymuştur (82). Dolayısıyla hayvandaki düşük bor dozu, embriyonik gelişimin erken aşamalarında olumsuz etkileri olduğu gibi, hamileliğin başlangıcını ve embriyonik oluşumunu düzenleyen bazı genlerin regülasyonunu da olumsuz etkilemiştir (82).

3.4.1.2. Kemik Gelişimi Üzerine Etkisi

Kemikteki borun konsantrasyonu, kemik metabolizması, mineralizasyon ve rejenerasyon için uygun olabilecek şekilde tüketilen element miktarına bağlıdır (83). Hayvanlarda bor yetersizliği, büyümenin bozulmasına ve anormal kemik gelişmesine yol açar (84). Bor eksikliği olan ratların kemik hacminde azalma meydana gelebilmektedir. Ayrıca, bor eksikliği femur kuvvetinin azalmasına neden olabilir (6). Bu eksiklik mineral değişikliklerle ilişkilidir ve borun osteoblast

aktivitesinde kemik büyümesini ve korunmasını desteklemekte rol oynadığını düşündürür (85). Daha önce yapılan çalışmalarda, borun kemiklerdeki çeşitli metabolik aktiviteleri etkilediği belirlenmiştir. Örneğin, kemik metabolizmasında önemli rol oynayan Ca, Mg ve vitamin D ile etkileşime girer (84, 86). Ca ve Mg homeostazıyla olan bu sinerjik ilişki, D vitamin yetersizliği bulunan civcivlerde kemik anormalliklerine neden olabilir (87). Yeme ilave edilen bor, D vitamini eksikliğinde Ca ve P emilimini artırır ve femur Mg seviyesini yükseltir (88). Ca ve Mg homeostazı arasındaki bu sinerjik bağlantı kemik mukavemetini artırır. Bunun bir sonucu olarak, osteoblastik hücre aktivitesini Ca akışı ile hızlandırır (89). Yaş artışı trabeküler kemikte kemik zayıflığına neden olabilir ve bor, Ca ve Mg seviyesinin etkili bir şekilde çalıştığını doğrulayarak bu bozulmanın azaltılmasında rol oynar (89, 90). Bazı araştırmacılar, hayvanlarda ve insanlarda uygun kemik gelişimi için yalnızca optimal miktarda bor önermektedir (91, 92). Düşük miktarda bor kaynağı osteoblastların farklılaşmasını ve çoğalmasını hızlandırır (83). Bor, kemik morfogenetik proteinlerin seviyesini artırır ve yetersizliği osteoporoza neden olabilir (93). Histopatolojik ve mikrobiyolojik değerlendirme, borik asidin lokal veya sistematik uygulamasının kemik bozukluklarının tedavisinde etkili olduğunu göstermiştir (94). Deneysel bir çalışma, borun femur kül içeriğini arttırmada yardımcı olduğunu belirtmişlerdir (6).

Cheng ve ark. (92) devekuşu civcivlerinde, borun tibia üzerindeki etkilerini incelemek için içme suyuna 0, 0.1, 0.2 ve 0.4 g/L bor ilave etmişler, kemik mineral yoğunluğu, tibial uzunluk, kül içeriği, ağırlık, çevre ve kortikal kemiğin kalınlığı gibi çeşitli parametreleri incelemişlerdir. Çoğu parametre arasında anlamlı bir artış olduğu ve 0.2 g/L'nin kemik kuvvetini arttırmada etkili bir doz olduğu gösterilmiştir

(92). Yapılan başka bir çalışmada ise, 42 günlük etlik piliçlerin tibialarındaki kemik külü ve Ca seviyeleri, borun rasyona ilavesi ile önemli ölçüde etkilenmemiştir (95). Uygun bor takviyesi kemik için gerekli olan leptini etkilediğinden kemik gücünde belirgin iyileşmeye neden olmuştur (92, 96). Erkek domuz rasyonlarına ilave edilen borun (5-15 mg bor/kg yem), kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, kemikteki lipiti düşürdüğü görülmüştür (97). Buna göre, kemik metabolizması ve serum lipid metabolitleri üzerindeki fizyolojik bor seviyeleri, hayvanlarda borun biyolojik işlevleri için gerekli ihtiyaçlarından biridir.

Hayvan ve insan beslenmesinde borun kemik üzerindeki etkilerinin araştırılması ile ilgili araştırmalarda, borun kolekalsiferol bakımından yetersiz olan civcivlerde bacak anormalliklerini kısmen düzeltebildiği görülmüştür. Diyabetik hayvanlara yapılan bor takviyesinin kemik mukavemetini, kortikal ve trabeküler kemiğin mikroyapısını geliştirdiği bildirilmiştir (86). Bor, kemik morfogenetik proteinlerin derecesini artırır ve yetersizliği osteoporoza neden olabilir (93). Yapılan başka bir çalışmada ise, rasyona ilave edilen borun, 42 günlük etlik piliçlerin tibialarındaki kemik külü ve Ca seviyelerinin önemli ölçüde etkilenmediği bildirilmiştir (95).

3.4.1.3. Beyin Aktivitesi Üzerine Etkisi

Borun eksikliğinin merkezi sinir sistemi üzerinde beyin elektriksel aktivitesinde bir düşüşe neden olabileceği bildirilmiştir (98, 99). Kontrollü beslenme koşulları altında 63 gün boyunca yaklaşık 0.25 mg bor içeren bir diyet ile beslenen tavşanlarda, bor takviyesi (3 mg/gün), elektroensefalogramı daha düşük frekanslarda daha az aktivite eğilimi ve daha yüksek frekanslarda daha yüksek

aktivite gösterdiği belirlenmiştir (100). Bu arada bor ilavesi, psikomotor becerilerinde iyileşme, daha az uyuşukluk, kısa süreli hafıza iyileştirme, zihinsel uyanıklık ve yaşlı bireylerde daha fazla dikkat gösterilmesine yol açmıştır. Benzer etkiler ratlarda da gözlenmiştir. Yüksek frekans aktivitesindeki azalmalar, bor yetmezliği olan deneklerde hafıza bozukluğu ile ilişkilendirilmiştir (101, 102). Ayrıca, bor eksikliği olan ratlar yeterli miktarda bor almış olan ratlara göre daha az aktif olmuştur. Tang ve ark. (103) yaptıkları çalışmada, suya borik asit takviyesinin devekuşu civciv nöron gelişimi üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir. Özellikle 160 mg/L'de uygun borik asit takviyesinin, beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF) ekspresyonunu teşvik ettiğini ve hücre apoptosisini azaltarak devekuşu civcivlerinin beyin gelişimini destekleyebileceğini göstermiştir. Aksine, özellikle 640 mg /L'deki yüksek doz borik asit takviyesi, BDNF ekspresyonunu inhibe ettiğini ve hücre apoptozunu artırarak devekuşu civciv beyninin nöron yapısına zarar verdiğini bildirmişlerdir (103).

3.4.1.4. Karaciğer Fonksiyonları Üzerine Etkisi

Yapılan çalışmalarda, borun karaciğer sağlığını desteklemede rolü olduğu belirlenmiştir. Örneğin, 5-40 ppm bor tüketen ratlarda, düşük ALT düzeyi belirlenmiştir (104). Bhasker ve ark. (105) yaptıkları çalışmada, ratların diyetine bor ilavesinin, serum TG, HDL ve ALT seviyelerini düşürdüğünü tespit etmişlerdir.

Küçükkurt ve ark. (106) ratların diyetine borik asit ilave edilmesinin serumdaki esterleşmemiş yağ asitlerinin (NEFA) ve β -hidroksibütirik asidin seviyelerini (BHBA) etkilenmediğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte Kabu ve ark. (107) süt ineklerinde rasyona bor ilavesinin sayısız hematolojik indeks üzerinde

geçici etkilere sahip olduğunu ve rasyona ilave edilen borun plazma lipit konsantrasyonlarını azalttığını tespit etmişlerdir. Avusturya Simental ineklerinde yapılan diğer bir çalışmada (101), boraks takviyesinin toplam HDL ve ürik asit seviyelerini azalttığı bildirilmiştir.

3.4.1.5. Oksidatif Stres Üzerine Etkisi

Bor takviyesinin, oksidanları nötralize eden glutatyon (GSH) rezervlerini artırarak oksidatif stresi azalttığı düşünülmektedir (108). Ayrıca, bor takviyesi glutatyon seviyelerini yükseltir ve böylece malathionun toksik etkilerine karşı koruyucu etki sağlar (109). Yenidoğan nekrotizan enterokolit rat modelinde, bor takviyesi GSH rezervlerinin azalmasını önlemek için antioksidan seviyesini arttırmıştır (110). Borun hücre içi reaktif oksijen türleri (ROT) ve Ca^{+2} iyonlarının seviyelerini azaltarak antioksidan kapasitesinin arttırdığı düşünülmektedir (111, 112). Bunun yanı sıra, hepatosit hasarının biyokimyasal aktivitesi ve hepatosellüler karsinomada oksidatif stres de bor indüksiyonuyla tersine çevrilebilir (104).

Organofosfat (OP) bileşikler oksidatif strese neden olur (113). OP bileşikler, özellikle ROT üretiminde, çok sayıda hücre zarı bileşenine zarar vererek toksik etkiler yaratmıştır (114). Son yıllarda yapılan çalışmalarla ratlara uygulanan OP böcek ilacına karşı, 20 mg/kg/gün dozunda verilen borun etkili olduğu belirtilmiştir. Borun verilmesi OP kaynaklı oksidatif stres ve enzim aktivitesinin tersine dönmesine neden olmuştur (109). Ayrıca, borun antioksidan savunma mekanizmasının gelişimini ve farelerde farklı vücut organlarının onarımını sağladığı gözlemlenmiştir (109). Ratlarda endotoksin ile indüklenen oksidatif stres bor uygulamasıyla tersine çevrilmiştir. Kemirgen modelindeki sonuçlar, 40 mg/L

borun, dalakların antioksidan kapasitesini artırabileceğini ve dalak doku yapısını iyileştirebileceğini göstermiştir (115).

Bhasker ve ark. (105) yaptıkları bir çalışmada, borun diyetle ilave edilmesinin, ratlarda Süperoksit dismutaz (SOD) enziminin gen ekspresyonunu modüle edebileceğini ve SOD aktivitesinde bir artış eğilimi olduğunu bulmuşlardır. Anterior sonuçlara benzer şekilde, diyetin yanı sıra bor da eritrositik SOD, total antioksidan aktivite (TAA) açısından önemli artışlara neden olmuştur (116). Bu bulguların tersine, borun (4 mg/kg) oral uygulamasıyla ratlarda kandaki TAA, eritrositler ve karaciğer dokusunun SOD aktivitesi etkilenmemiştir (117).

Borun, DNA hasarını hafifletmesi antioksidan (82) ve hücre koruyucu aktivitelerine bağlanabilir (109). Coban ve ark. (109) borun antioksidan etkilerinin, antioksidan savunma sistemini artırma, DNA hasarını önleme ve ayrıca diyabetik ratlarda hücre çoğalmasını koruma yeteneklerinden kaynaklanabileceğini göstermiştir. Daha önce yapılan bir diğer çalışmada, boraks ve / veya borik asidin (100 mg /kg B) diyetle ilave edilmesinin antioksidan enzimleri arttırdığı, oksidatif stresi ve DNA hasarını azalttığı belirlenmiştir (118).

Bhasker ve ark. (105) yaptığı çalışmada, bor desteğinin, diyet Ca kısıtlaması ile indüklenen abiyotik stresli olan/olmayan ratların bağışıklık ve antioksidan durumları üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Normal Ca diyetlerinde boraks (5, 10, 20 ve 40ppm) takviyesinin, ayak tabanı kalınlığını ve serum toplam antioksidan aktivitesini, hem Cu-Zn SOD'un (SOD1) hem de Mn-SOD (SOD2) mRNA hepatik ekspresyon seviyelerini önemli ölçüde arttırdığını tespit etmişlerdir.

3.4.1.6. Hormon Aktiviteleri Üzerine Etkisi

Yapılan birçok çalışma ile borun, insülin, testosteron, östrojen, progesteron, triiyodotironin (T3) ve tiroksin (T4) dâhil olmak üzere bazı hormonların işlevleri üzerinde faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir (97). Adiposit hücreleri tarafından salgılanan ve merkezi sinir sistemini vücut yağ rezervleri hakkında bilgilendiren bir hormon olan leptin, hem yem alımını hem de enerji durumunu düzenlediği gibi üremede de potansiyel bir rol oynadığı belirtilmiştir (119, 120). Akut yüzme egzersizi ve ovarektomi, ratlarda leptin konsantrasyonunda kayda değer bir düşüşe ve laktat seviyelerinde bir artışa neden olur. Yüzme egzersizi tarafından indüklenen dolaşımdaki laktat seviyelerindeki bu artış bor uygulamasıyla (2 mg/kg/gün) engellenmiştir (121). Domuzların diyetlerine katılan bor (5 mg bor/kg yem) serum T3 ve T4 seviyelerini düşürmüştür. Bu bulguların da, adipoz dokuda depolanan glikozun azalmasına bağlı olabileceği belirtilmiştir. Bakken ve Hunt (122), 0.2 veya 2 mg bor/kg dozunda borun Mg veya D vitamini ile birlikte verilmesinin plazma insülin seviyesini düşürdüğünü ve ratlarda pankreas insülin salınımını azalttığını bildirmişlerdir. Borun bu biyolojik etkileri, plazma glikoz düzeyini sürdürmek için gereken insülin miktarının orta düzeyde salınmasına yardımcı olabilir (122). Borun, bazı steroid hormonlarının salınımını arttırdığı da belirlenmiştir (1). Bor takviyeli bir diyet ile beslenmede progesteron, kadınların oositlerinde germinal vezikül parçalanmasını başarıyla indüklemiştir (123).

3.4.1.7. İmmun Sistem Üzerine Etkisi

Diyet ile bor alımının, T hücrelerinin proliferasyonunu ve doğal öldürücü hücre fonksiyonunun arttırılmasını içeren belirgin immünostimülan etkilere sahip olduğu

öne sürülmüştür (1). Öte yandan, serin proteazlar ve bor arasında yakın bir ilişki olduğu da bildirilmiştir (7). Serin proteazlar ana proteolitik enzimler olarak kabul edilir ve normal iltihaplanma süreçlerinde düzenleyici işlevlerin yanı sıra, yapısal proteinlere sahiptirler (124). Serin proteazlarda bor atomunun normal substrat hidrolizi sırasında yapılan tetrahedral eklentiye taklit eden bir tetrahedral bor eklentisinin (geçiş durumu analogu) oluşturulmasını kısıtladığı varsayılmaktadır (125).

Diyetteki Ca sınırlamasıyla, ratlarda humoral immün yanıtta (126) ve yüksek oranda süt veren ineklerde, metabolik bozuklukların insidansında önemli ölçüde azalma kaydedilmiştir (107). Borun diyetlere ilave edilmesi, yüksek fizyolojik talep durumunda serum Ca düzeylerini artırarak süt ineklerinde peripartum metabolik bozuklukları önler (107). Borun diyet ile alımının, çeşitli hücrelerde T hücrelerinin proliferasyonunu ve doğal öldürücü hücre fonksiyonunun artırılmasını içeren belirgin immünoestimulan etkilere sahip olduğu öne sürülmüştür (1).

Devekuşu içme suyuna 80 mg/L düzeyinde katılan borik asitin, Foxn1 ekspresyonunu destekleyerek timus büyümesi ve gelişimini olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (127). Bilindiği gibi, dalak ve timus, omurgalılardaki immün sistemin önemli üyeleridir. Dalak, antikorlar üretir ve aktif olarak immün yanıtı ile ilgilidir. Timus, T lenfositlerin üretilmesi ile gelişimini destekler ve hücrel bağışıklığa yardımcı olur. Piliçlerin içme suyuna ilave edilen bor takviyesi (100 mg/L), immün organların (dalak ve timus) gelişimi ve mikro yapısı üzerinde olumlu bir etki göstermiştir (128).

3.4.1.8. Büyüme Performansı Üzerine Etkisi

Bor, hücre zarını güçlendirmedeki rolünden dolayı büyüme için gereklidir (105). Canlılar için gerekli olan bor miktarı türden türe değişir (106, 107) ve vücuttaki düşük bor seviyesi büyümeyi inhibe edebilir (113). Bor eksikliği gelişmenin gerilemesine neden olduğundan, vücut büyümesi ve gelişimi için uygun konsantrasyonda mevcut olmalıdır. Yapılan bir çalışmada, içme suyuna 160 mg/L bor ilave edilen devekuşu civcivlerinin son vücut ağırlığında artış tespit edilmiştir (115). Fassani ve ark. (95), rasyona 30, 60, 90 ve 120 mg/kg bor ilavesinin etlik piliçlerde, 21–42 günlükken vücut ağırlığında doğrusal büyümelere neden olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada, 30 mg/kg bor ilave edilen rasyon ile beslenen piliçlerde, kontrole kıyasla 140 g daha az yem tüketimi, daha iyi yemden yararlanma ve daha az ölüm görülmüştür (95). Benzer şekilde bor eksikliği olan diyetle bor ilavesi ile domuzlarda yem tüketimi ve büyüme hızında artış tespit edilmiştir (95, 129). Etlik piliçlerde rasyona eklenen borik asit pH ve NH₃ uçuculuğunu azaltarak altlık kalitesini arttırmıştır. Fassani ve ark. (95) 1-21 günlük yaştaki etlik piliç yemlerine 5 ppm bor ilavesiyle hayvanların canlı ağırlıklarında ve yem tüketiminde artış tespit etmişlerdir. Ancak, diyetlerdeki bor seviyesi arttıkça canlı ağırlık artışı azaldığı gözlemlenmiştir.

3.4.1.9. Et Kalitesi Üzerine Etkisi

Et kalitesinin en önemli göstergeleri pH, kül içeriği ve et rengidir (111, 130). Etin pH'sı kas dokusundaki laktik asit içeriğine bağlıdır ve kesimden sonra başlıca laktik asit üreticisi ise glikolizdir. Kas pH'sı ve glikojen seviyeleri arasında yakın bir ilişki vardır (110, 112). Etin pH değerindeki değişiklik, kalitesini önemli ölçüde

etkiler ve kesimden önce kas glikojen depolarındaki değişikliklerin doğrudan bir sonucudur (104, 112). Yüksek pH'ya sahip olan etlerin daha fazla su tutma kapasitesine ve daha düşük nem kaybı seviyelerine sahip oldukları bildirilmiştir (111). Bor, oksidoredüktazların yardımıyla, spesifik metabolik yollarla ilişkili süreçlerin kontrolünde temel bir rol oynar (82). Oksidoredüktazların enzim aktivitesini teşvik etmesi için piridin gerekir. Bor, geçiş durumu analogları yaparak veya önemli glikoliz substratları olan nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD) veya flavin adenin dinükleotidi için rekabet ederek bu enzimlerin aktivitesini tersine çevirir. Bor, NAD'ye etki ederek glikolitik yolu inhibe eder, böylece kasın laktik asit içeriğini azaltır ve etin pH değerini etkiler (82, 131).

Kasın kül içeriği, etin içindeki mineralleri ve eser elementleri temsil ettiği için önemli bir indekstir (132). Bor, Ca, Mg, P, Mo ve gibi minerallerin metabolizmasını düzenler (6). Etçi piliçlerin içme suyuna ilave edilen borun aynı zamanda etteki Fe ve Zn seviyelerini de arttığı belirlenmiştir (6). Bu nedenle, bor takviyesi etteki kül içeriğini modüle eder (106).

Bor takviyesi ayrıca serin proteazların aktivitesini de inhibe eder. Serin proteazlar, prekürsör proteinlerin aktivasyonu ile çeşitli fizyolojik süreçlerde rol oynayan en bol proteolitik enzim gruplarından birini içerir (116). Devekuşlarının içme sularına farklı dozlarda bor ilave edilmesi ile yapılan bir çalışmada, borun devekuşu etinin fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır (106). Etin fiziksel özellikleri (pH, damlama ve pişirme kaybı) bor ilavesi ile önemli bir sonuç göstermiştir. Pişirme ve damlama kaybının azaldığı, ancak et renginin bor ilavesiyle önemsiz olduğunu belirlenmiştir. Etin kimyasal özelliklerinin (nem, yağ,

protein, kül ve kolesterol seviyeleri) sonuçları, bor ile işlem görmemiş gruplara kıyasla anlamlı bulunmuştur (106).

3.5. Amaç

Son bulgular, yeterli bor miktarının sağlık açısından önemli olduğunu göstermektedirler. Hayvanlarda ve insanlarda gerçekleştirilen deneysel bor uygulamaları bu elementin bağışıklıkta, antioksidatif fonksiyonda, büyümede ve embriyonik gelişimde pozitif yönde belirgin etkiler meydana getirebildiği sonucuna varmışlardır (1). Bunlara ilave olarak beyin fonksiyonu, karaciğer gelişimi, osteoporoz, kanser tedavisi ve yara iyileşmesini de kolaylaştırabilir. Tersine, yüksek dozlarda verilen bor toksik etkiler gösterebilir. Bu nedenle ticari ölçekte bor kullanımı hala sınırlıdır (1). Bor beslenme ile ilgili bozukluklarının önlenmesinde etkili olabilmektedir (123). Organik maddelerle ve diğer minerallerle bileşik oluşturma eğiliminde olan bor, biyolojik sistemlerde özel bir etki mekanizmasına sahiptir (1). Borun bu özelliği besin maddelerinin sindirimi, Emilimi ve atılımı üzerinde düzenleyici fonksiyonlarının olabileceğini desteklemektedir.

Dünyadaki bor rezervlerinin %70'inden fazlasına sahip olan Türkiye'de bu minerale ilgili yapılan bilimsel çalışmalar güncelliğini korumaktadır. Ancak SPT formundaki bor kaynağının besin maddelerin sindirilme derecesi ve ince bağırsak besin madde taşıyıcıları üzerine etkisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, ratlarda farklı SPT dozlarının, ham besin madde sindirilme dereceleri (KM, HP, HY, HK ve OM), ince bağırsak histopatolojisi ve ince bağırsaktaki besin madde taşıyıcıları (PepT1, SGLT1, GLUT1, GLUT2, GLUT5, FATP1, FATP4) üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Hayvan Materyali

Çalışmada, 40 adet Wistar albino rat (yaş: 8 hafta, ağırlık: 200 ± 20 g) kullanıldı. Çalışma kontrollü bir ortamda, 12:12 saat aydınlık-karanlık döngüsü 22°C 'de yürütüldü ve hayvanlara rat yemi ve su *ad libitum* verildi. Çalışma, Bingöl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 09.05.2019 tarih ve 2019/04 04/01 sayılı kararı ile onaylandı. Hayvanların ortama adaptasyonlarını sağlamak amacıyla çalışma başlamadan önce iki hafta boyunca bazal rasyonla beslenmeleri sağlandı.

4.2. Yem Materyali ve Araştırma Grupları

Çalışmada, Wistar albino ratlar her grupta 10 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. i) Kontrol Grubu; ratlar standart diyet ile beslendi (Tablo 6). ii) SPT 0.5 Grubu; ratlara SPT kaynaklı 0.5 mg elemental B/kg gavaj yolu ile verildi ve ratlar standart diyet ile beslendi, iii) SPT 1 Grubu; ratlara SPT kaynaklı 1 mg elemental B/kg gavaj yolu ile verildi ve ratlar standart diyet ile beslendi, iv) SPT 2 Grubu, ratlara SPT kaynaklı 2 mg elemental B/kg gavaj yolu ile verildi ve ratlar standart diyet ile beslendi. SPT oral (gavaj) yolla verildi. Kontrol grubuna plasebo olarak eşit miktarda su verildi. Deneme 4 hafta sürdü. Standart rasyon kilogram başına 5.7 mg bor içerdi.

Deneme sonunda hayvanlar kesilerek bağırsak örnekleri alındı, temizlendi ve yıkandı. Patolog tarafından bölümlendirildi ve histopatoloji için %10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde ve moleküler analizler için ise alınan bağırsak

örnekleri -80°C derin dondurucuda (Hettich, Almanya) kilitli poşetler içerisinde saklandı.



Tablo 6: Ratlara verilen rasyonun bileşimi ve besin madde içeriği

Diyet Bileşenleri	%
Mısır	22.00
Buğday	15.00
Soya Küspesi, %48 HP	15.10
Ayçiçeği küspesi, %30 HP	15.00
Buğday kepeği	9.00
Melas	9.00
Kireç taşı	2.00
Tuz	0.80
DL-Metiyonin	0.80
Dikalsiyum fosfat	1.00
Vitamin ve mineral premiksi ¹	0.30
Besin Madde İçeriği (%)	
Ham protein	24.12
Ham yağ	2.43
Ham selüloz	7.09
Ham kül	8.25
Ca	1.28
P	0.85
B, mg/kg	5.70
Metabolik enerji (kkal/kg) ²	3095

¹ Premiksin mineral ve vitamin içeriği (mg/kg):, 1.8 mg Vitamin A; 0.025 mg Vitamin D; 12.5 mg Vitamin E; 1.1 mg Vitamin K3; 4.4 mg Riboflavin; 1.1 mg Tiyamin; 2.2 mg Vitamin B6; 35 mg Niyasin; 10 mg Vitamin B5; 0.02 mg Vitamin B12; 0.55 mg Folik Asit; 0.1 mg d-Biyotin. 40 mg Manganez (MnO); 12.5 mg Demir (FeSO₄); 25 mg Çinko (ZnO); 3.5 mg Bakır (CuSO₄); 0.3 mg İyot (KI); 0.15 mg Selenyum (Na₂SeO₃) ; 175 mg kolin klorit (C₅H₁₄ClNO)

²Metabolik enerji(kkal/kg) NRC verilerine göre hesaplanmıştır (NRC, 1995).

Tablo 7: Deneme düzeni (n=10)

Gruplar	SPT	Veriliş yolu	Verilme sıklığı	Süresi
Kontrol	-	Gavaj	Her gün	1 ay
SPT 0.5	0.50 mg B/kg	Gavaj	Her gün	1 ay
SPT 1	1.00 mg B/kg	Gavaj	Her gün	1 ay
SPT 2	2.00 mg B/kg	Gavaj	Her gün	1 ay

SPT: Sodyum Perborat Tetrahidrat

4.3. Laboratuvar Analizleri

Laboratuvar analizleri Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Yem Analizi ve Moleküler Analiz laboratuvarlarında yapıldı.

4.3.1. Besin Maddelerinin Sindirilme Derecelerinin Belirlenmesi

Ham besin maddelerinin sindirilme derecesinin belirlenmesi amacıyla indikatör yöntemi kullanıldı. Lignin indikatör olarak kullanıldı. Denemenin son 7 gününde tüm hayvanlar ferdi kafeslere alındı. Günlük toplanan dışkı ham besin maddelerinin tespiti amacıyla 60 °C’de 36-48 saat kurutulup öğütülerek analize hazır hale getirildi. Dışkılar ve beraberinde alınan diyet örneklerinin kuru madde (KM), ham protein (HP), ham yağ (HY) ve ham kül (HK) analizleri üç tekrarlı olarak Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında faaliyet gösteren yem analiz laboratuvarında yapıldı. Araştırmada hayvanlara verilen ve artan yemler ile toplanan dışkılarda kuru madde, ham protein (#988.05), ham yağ (#932.06) ve ham kül düzeyleri (#936.07)

AOAC'ye göre belirlendi (134). Yem ve dışkı örneklerinin asit deterjanda çözünmeyen lignin (ADL) analizi, Van Soest 'e göre yapıldı (135).Ham besin maddelerinin sindirilme derecesinin hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanıldı.

$$100-[100 \times (\text{Diyetteki \% lignin} / \text{dışkıdaki \% lignin}) \times (\text{dışkıdaki \% besin maddesi} / \text{diyetteki \% besin maddesi})]$$

4.3.2. Rasyon Bor Düzeyinin Belirlenmesi

Diyetlerdeki bor düzeylerini ölçmek için Bergroff (Eningen, Almanya) marka mikrodalga sindirim sistemi ve Perkin-Elmer (Analyst 800, Norwalk, Amerika) markalı atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS) cihazı kullanıldı. 300 mg miktarda tartılan standart rat diyeti teflon sindirim tüplerine konulduktan sonra üzerine 8 ml hacminde nitrik asit (%65) eklenerek mikrodalga fırının içerisine yerleştirildi ve üç aşamalı sindirme işlemi başlatıldı [Aşama I (130 °C, 8 dk, %80 güç), Aşama II (155 °C, 5 dk, %80 güç) ve Aşama III (170 °C, 12 dk, %80 güç)]. Elde edilen çözelti deiyonize su ile 10 mL'lik hacme kadar seyreltilti. AAS'de bor seviyeleri ölçmek için alev sisteminde Perkin-Elmer marka (Lumina, Katalog: N3050108) lamba kullanıldı. Kalibrasyon 1.000 mg/L konsantrasyonlu bor standart solüsyonu (Merck, Katalog No: 119500) kullanılarak hazırlanan 0.5, 1.0, 2, 4, 8 ve 10.0 µg/L konsantrasyonlu solüsyonlar ile yapıldı. Her örnek iki kere analiz edildi.

4.3.3. Bağırsak Histomorfolojisi

SPT'nin bağırsak histomorfolojisi üzerine etkisini belirlemek amacı ile %10' luk formaldehit solüsyonunda tespit edilen ince bağırsaklar Fırat Üniversitesi

Tıp Fakóltesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında 48 saatlik tespit işlemini takiben, değışik derecelerde (%70, 80, 90, 100) alkol, ksilol ve parafin serisi içeren işlemlerden geçirildi. Parafinle bloklanan ince bağırsaklar mikrotom ile 5 mikrometre (µm) kalınlığında kesilerek Hematoksilen-Eosin (H.E.) ile boyandı. Boyanan dokular ışık mikroskopunda kontrol edildi. İnce bağırsaklarda villus uzunluğu villusun üst kısmından lamina propriyaya kadar alınarak ölçüldü. Kript derinliği ile tunika mukoza ve tunika muskularisin kalınlıkları belirlendi.

4.3.4. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) Analizi

İnce bağırsağın jejunum ve ileum PepT1, SGLT1, GLUT1, GLUT2, GLUT5, FATP1 ve FATP4 genlerinin mRNA ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi için gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) metodu kullanıldı. İlk olarak jejunum doku parçalayıcı (Qiagen, Venlo, Hollanda) ile homojenize edildi ve ardından RNA ekstraksiyon cihazında (Qiagen, QIAcube) ticari bir kit ile total RNA ekstraksiyonu yapıldı. Elde edilen RNA'nın miktarı ve kalitesi Maestro-Nano marka nano ölçer spektrofotometre (Maestrogen Inc., Las Vegas, NV) ile hesaplandı. Daha sonra RNA'dan cDNA elde etmek için ticari bir kit kullanıldı ve hedef proteinlerin genlerinin ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi için RT-PCR aşaması gerçekleştirildi. RT-PCR aşaması Rotor-Gene Q makinasında (Qiagen, Hilden, Almanya) belirli oranlarda kullanılarak 10 µl'lik hacime tamamlanan primer (Tablo 8), SYBR Green Master Mix, cDNA ve RNA free su ile karışımı ile oluşturuldu. Genlerin relatif ekspresyon seviyeleri iç kontrol olarak kullanılan gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz (GAPDH) genine göre hesaplandı. Her PCR üç

kere tekrarlandı ve ortalama eşik döngüsü (C_t) değerleri istatistiksel analizler için kullanıldı.



Tablo 8: RT-PCR aşamasında kullanılan ileri ve geri primer sekansları

Gen	İleri primer (5'→3')	Ters primer (5'→3')	Erişim Numarası
PepT1	GTATGTTCTGTTCGC CTCCTTG	GGTGAATGCTGGACT TGGTATG	D50664.1 (133)
SGLT1	TTGTGGAGGACAGT GGTGAA	AAAATAGGCGTGGCA GAAGA	NM_01303 3.2 (136)
GLUT1	GCCTGAGACCAGTT GAAAGCAC	CTGCTTAGGTAAAGT TACAGGAG	NM_13882 7.2 (137)
GLUT2	CTGGGTCTGCAATTT CATCA	CGTAAGGCCCGAGGA AGT	NM_01287 9.2 (138)
GLUT5	GAGCTTTGGGGACG TCGGAATCTT	CGGGTAGCAGGTGGG AGGTCAT	D13871 (139)
FATP1	TCTGCGGCGCTTCGA TGGCTAT	TTGTGGGGGTCTGCA ATGGC	NM_05358 0.2 (140)
FATP4	CTTGGGCAACTTTGA CAGCC	AGGACAGGATGCGGC TATTG	NM_00110 0706.1 (141)
GAPDH	TGATGACATCAAGA AGGTGGTGAAG	TCCTTGGAGGCCATG TGGGCCAT	AF106860. 2 (142)

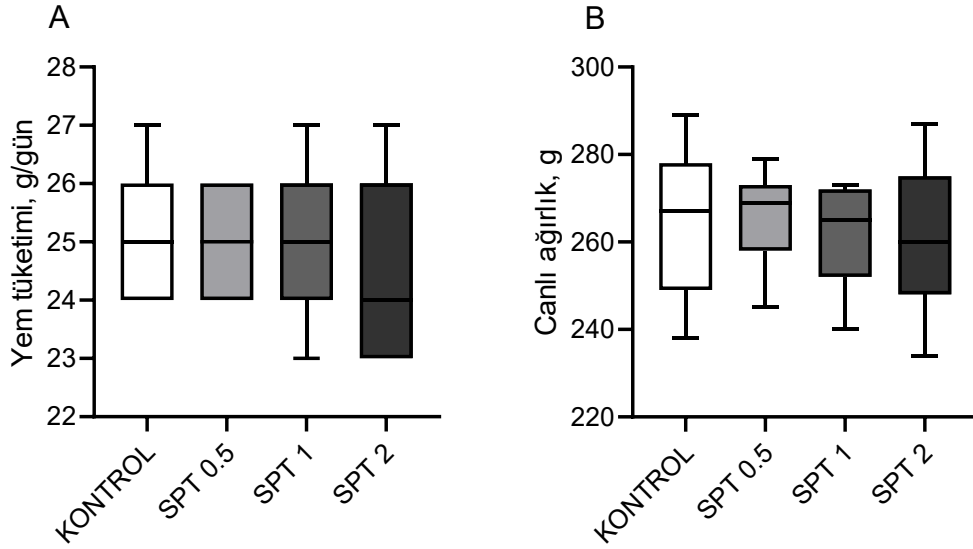
PepT1: peptit taşıyıcı 1, SGLT1: sodyum bağımlı glikoz taşıyıcı 1, GLUT: glikoz taşıyıcısı, FATP: yağ asidi taşıyıcı proteinleri, GAPDH: gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz

4.4. İstatistiksel Analizler

Veriler gruplar arasındaki farklılıkları ortaya koymak için Fırat Üniversitesine ait lisanslı IBM SPSS (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: Amerika) programı yardımıyla tek yönlü-ANOVA prosedürü kullanılarak analiz edildi. Grup içi farklılıklar da Tukey's *post hoc* testi ile belirlendi. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

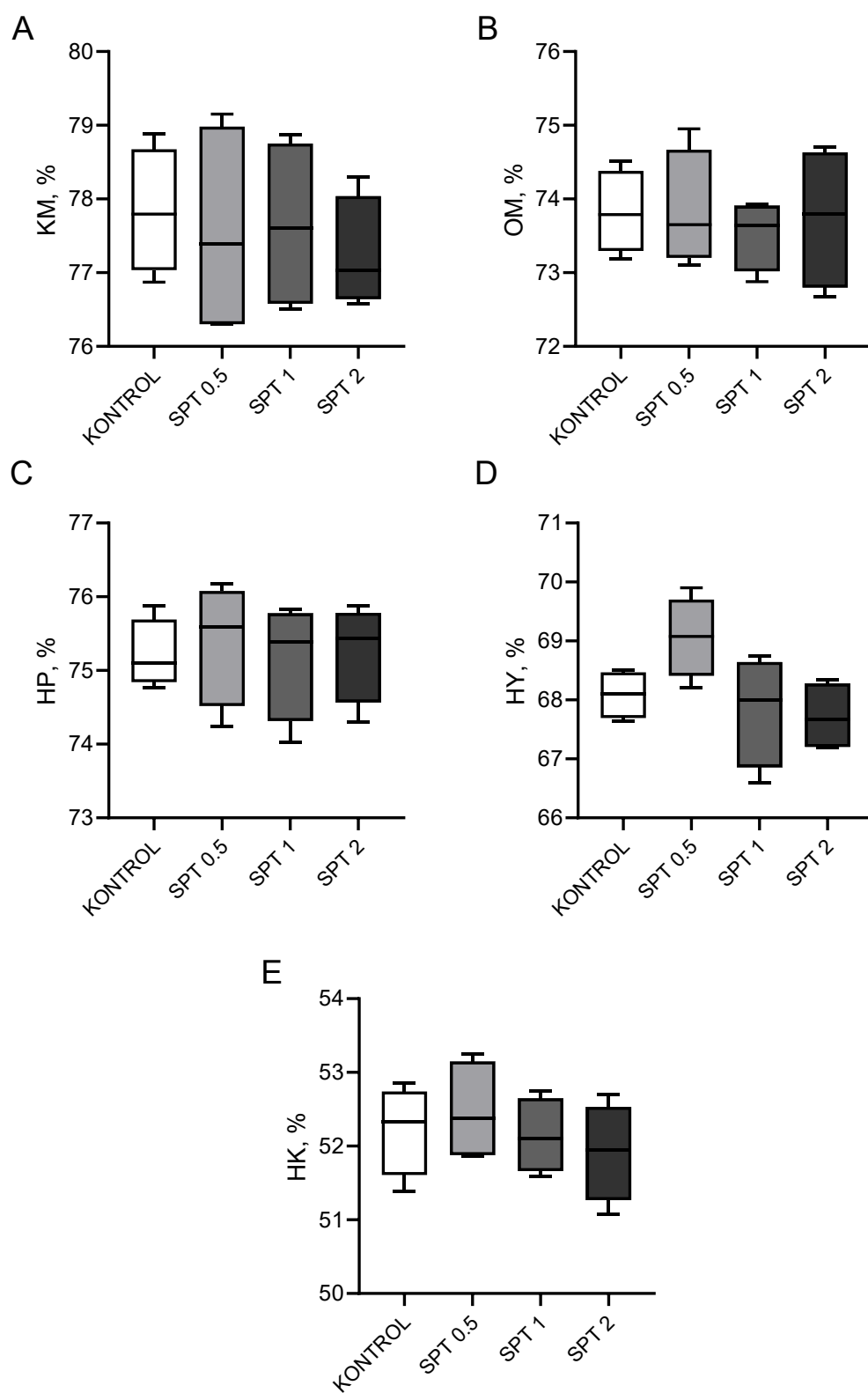
5. BULGULAR

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SPT'nin farklı dozlarının (0.5, 1.0 ve 2.0 mgB /kg) ratlarda yem tüketimi (Şekil 2A) ve canlı ağırlık (Şekil 2B) üzerine bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).

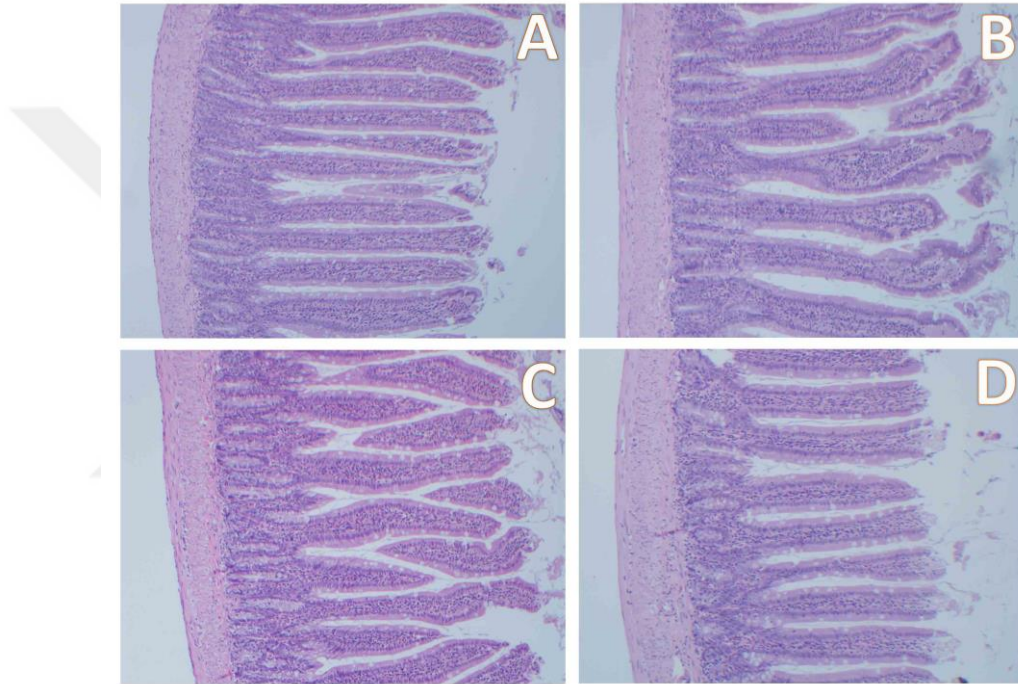


Şekil 2: Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) yem tüketimi (A) ve canlı ağırlık (B) üzerine etkisi. SPT 0.5: 0.50 mg elemental B/kg CA, SPT 1: 1 mg elemental B/kg CA; SPT 2: 2 mg elemental B/kg CA. Box Whisker grafiği ortanca değer ile alt ve üst değerleri göstermektedir.

Şekil 3'te görüleceği üzere, ratlarda farklı SPT dozlarının KM (Şekil 3A), OM (Şekil 3B), HP (Şekil 3C), HY (Şekil 3D) ve HK (Şekil 3E) sindirilme derecelerini etkilemediği tespit edilmiştir ($p>0.05$).



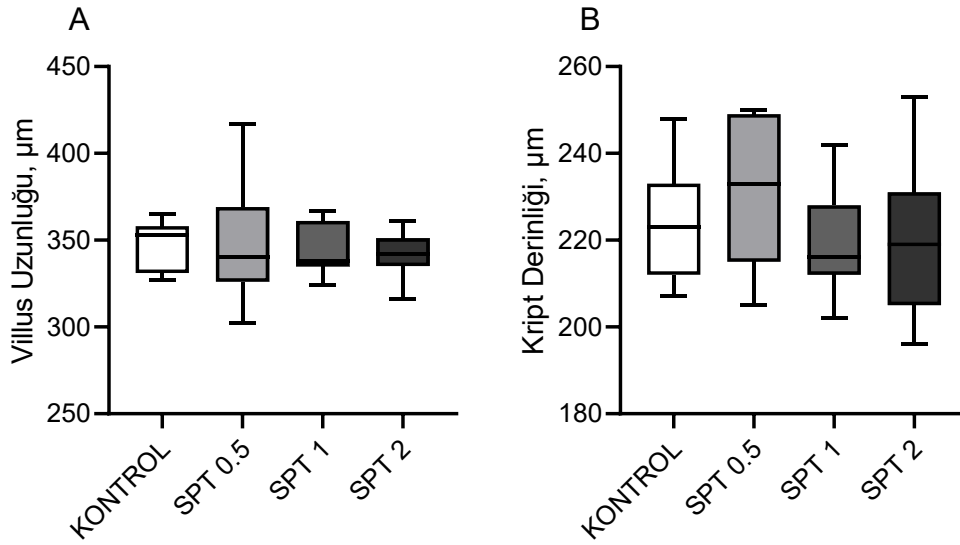
Şekil 3: Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) kuru madde (KM, panel A), organik madde (OM, panel B), ham protein (HP, panel C), ham yağ (HY, Panel D) ve ham kül (HK, Panel E) üzerine etkisi. SPT 0.5: 0.50 mg elemental B/kg CA, SPT 1: 1 mg elemental B/kg CA; SPT 2: 2 mg elemental B/kg CA. Box Whisker grafiği ortalanca değer ile alt ve üst değerleri göstermektedir.



Şekil 4: Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) bağırsak histolojik görünümü üzerine etkisi. A: Kontrol B: Sodyum perborat tetrahidrat (SPT 0.5): 0.5 mg elemental B/kg CA, C: Sodyum perborat tetrahidrat (SPT 1): 1 mg elemental B/kg CA; D: Sodyum perborat tetrahidrat (SPT 2): 2 mg elemental B/kg CA

Şekil 4’de görüleceği üzere, ratlarda, borun farklı dozlarda (0.5, 1.0 ve 2.0 mg B /kg) bor tüketiminin, histopatolojik değerlendirmede, bağırsakların normal

bir görünüm gösterdiği tespit edilmiştir. Diğer bir ifade ile herhangi bir patolojik bulguya rastlanılmamıştır.

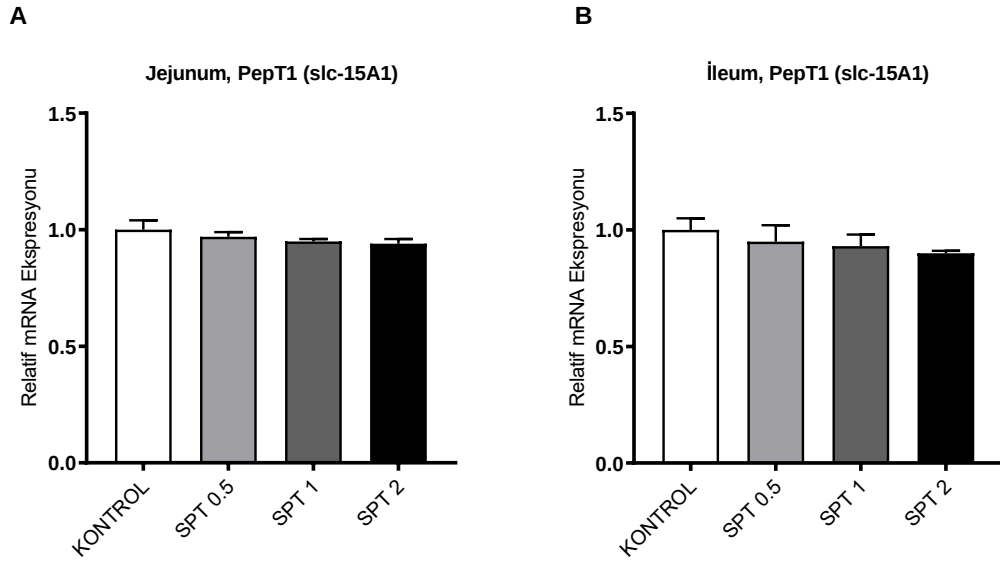


Şekil 5: Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) villus uzunluğu (A) ve kript derinliği (B) üzerine etkisi. Box Whisker grafiği ortanca değer ile alt ve üst değerleri göstermektedir.

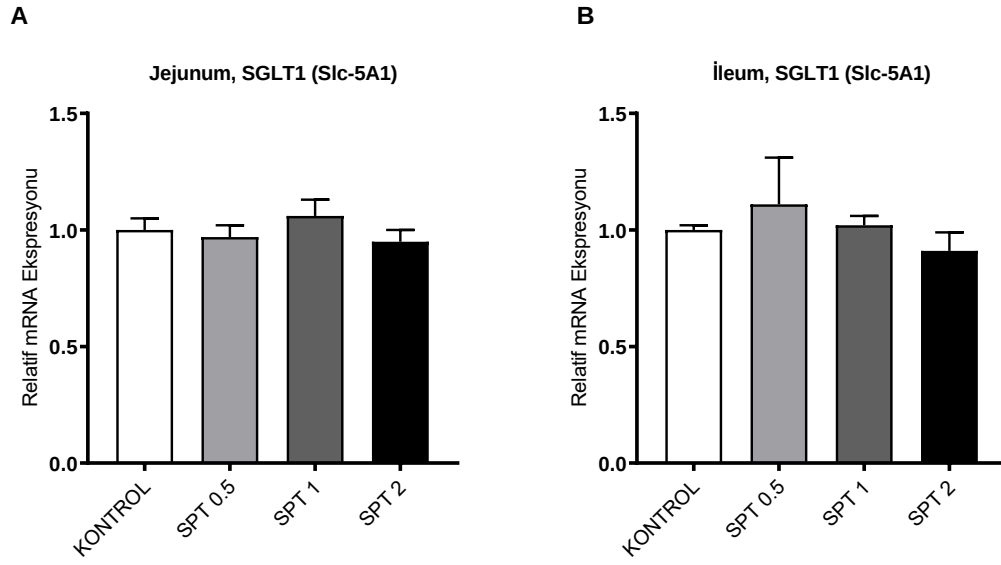
Gruplar karşılaştırıldığında SPT'nin hiçbir dozunun ratların ince bağırsaklarında villus uzunluğu (Şekil 5A) ve kript derinliği (Şekil 5B) üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).

Ratlarda, farklı dozlarda (0.5, 1.0 ve 2.0 mgB /kg) bor takviyesinin ince bağırsak jejunum PepT1 (Şekil 6A), SGLT1 (Şekil 7A), GLUT1 (Şekil 8A), GLUT2 (Şekil 9A), GLUT5 (Şekil 10A), FATP1 (Şekil 11A) ve FATP4 (Şekil 12A) genlerinin mRNA ekspresyon seviyelerini etkilemediği belirlenmiştir

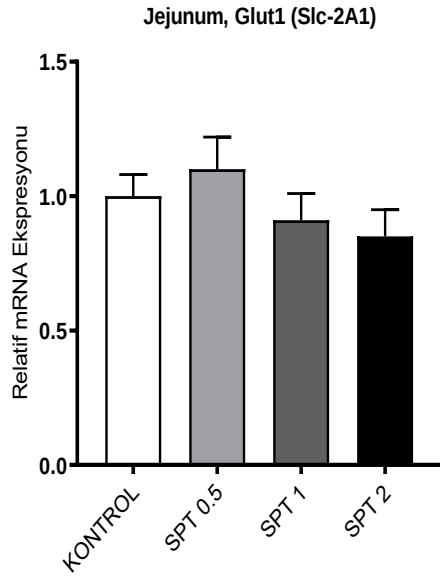
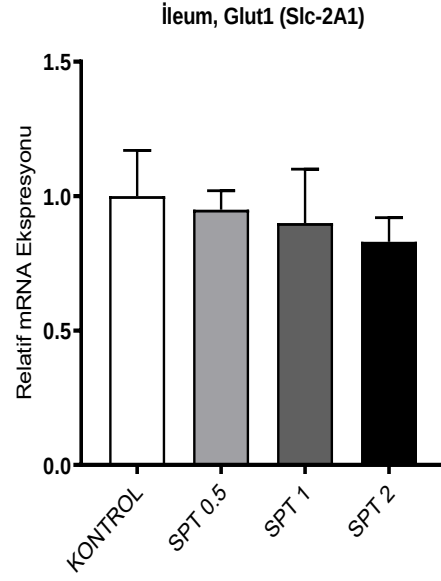
($p>0.05$). Benzer şekilde, ileum PepT1 (Şekil 6B), SGLT1 (Şekil 7B), GLUT1 (Şekil 8B), GLUT2 (Şekil 9B), GLUT5 (Şekil 10B), FATP1 (Şekil 11B) ve FATP4 (Şekil 12B) genlerinin mRNA ekspresyon seviyeleri arasında da SPT doz uygulamalarına bağlı olarak bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).



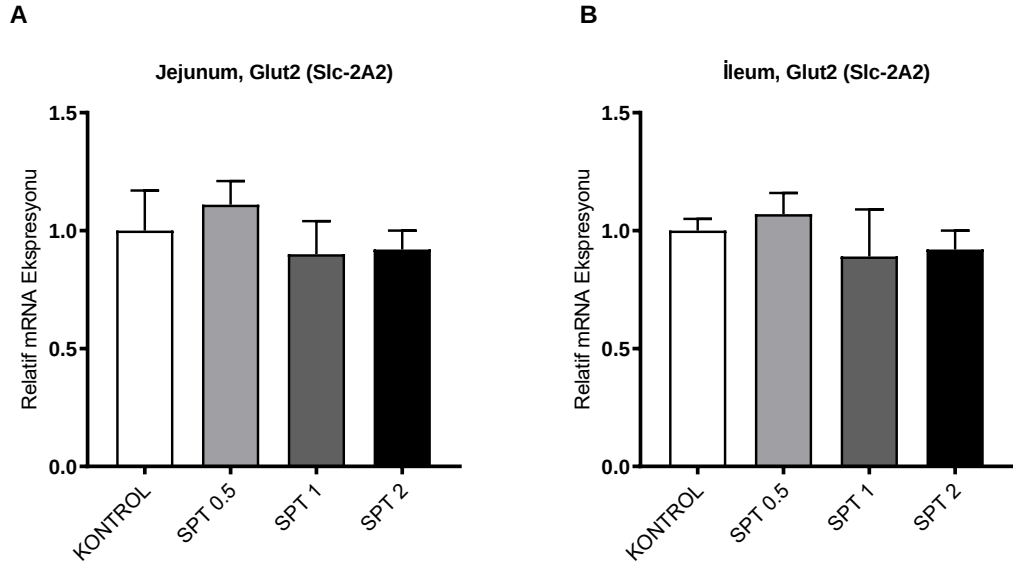
Şekil 6: Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) jejunum (A) ve ileumdaki (B) PePT1 ekspresyonu üzerine etkileri. mRNA ekspresyonları kontrolün katı olarak verilmektedir. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur.



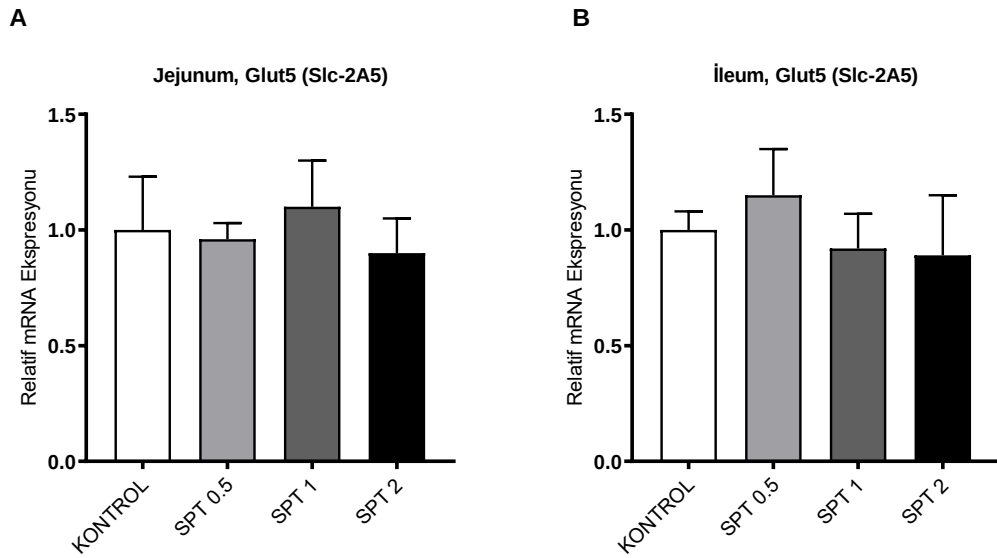
Şekil 7: Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) jejunum (A) ve ileumdaki (B) SGLT1 ekspresyonu üzerine etkileri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur.

A**B**

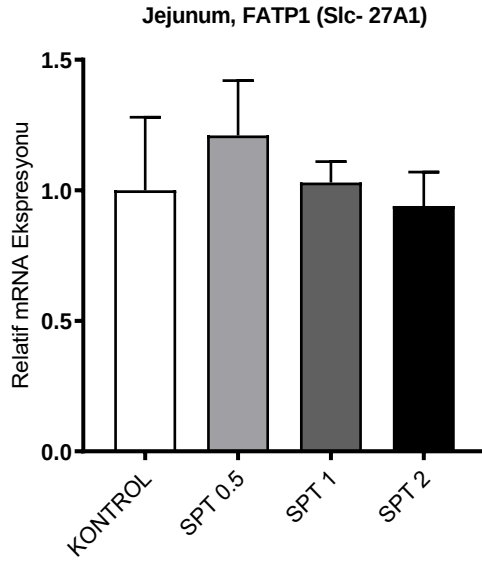
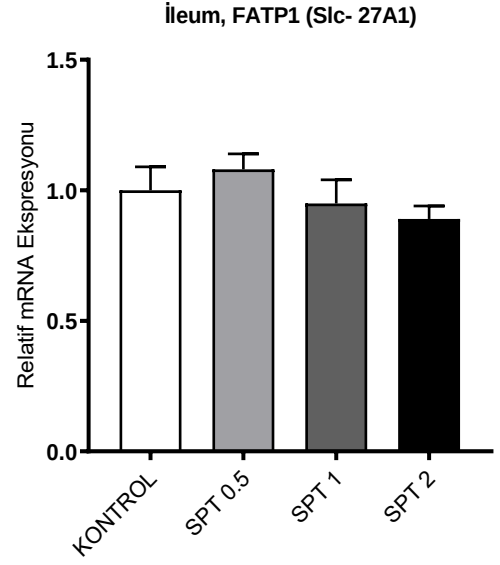
Şekil 8: Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) jejunum (A) ve ileumdaki (B) Glut1 ekspresyonu üzerine etkileri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur.



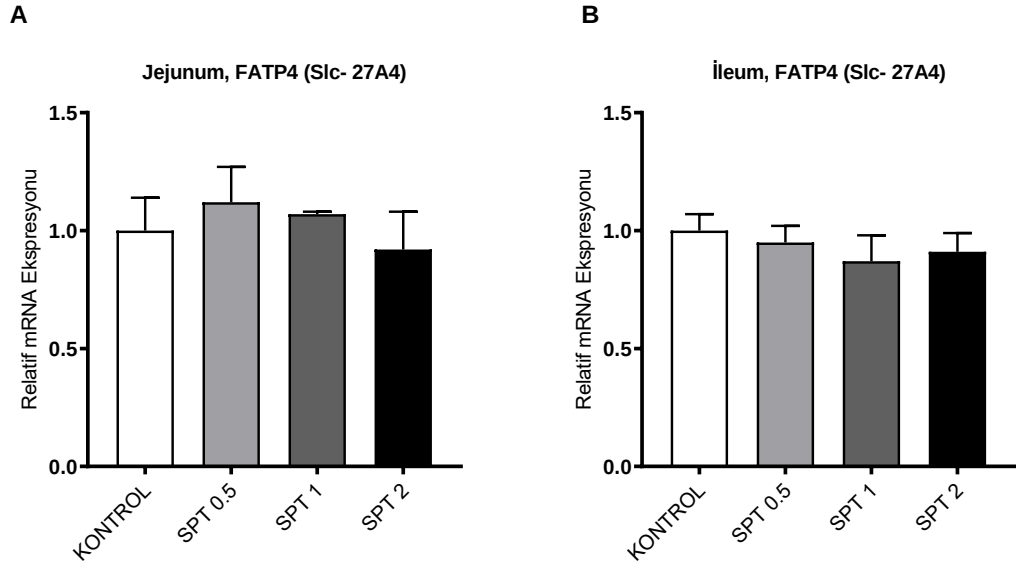
Şekil 9: Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) jejunum (A) ve ileumdaki (B) Glut2 ekspresyonu üzerine etkileri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur.



Şekil 10: Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) jejunum (A) ve ileumdaki (B) Glut5 ekspresyonu üzerine etkileri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur.

A**B**

Şekil 11: Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) jejunum (A) ve ileumdaki (B) FATP1 ekspresyonu üzerine etkileri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur.



Şekil 12: Sodyum perborat tetrahidratın (SPT) jejunum (A) ve ileumdaki (B) FATP4 ekspresyonu üzerine etkileri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur.

6. TARTIŞMA

Bu çalışmada, ratlara farklı dozlarda SPT formunda verilen borun, canlı ağırlık, yem tüketimi, ham besin madde sindirilme derecesi, besin madde taşıyıcılarının (PepT1, SGLT1, GLUT1, GLUT2, GLUT5, FATP1 ve FATP4) ekspresyonları ve histopatolojik değişimler üzerine etkileri incelenmiştir. SPT formunda verilen borun canlı ağırlık, yem tüketimi, ham besin madde sindirilme derecesi, besin madde taşıyıcılarının mRNA ekspresyonları ve bağırsakta histolojik değişimler üzerine negatif veya pozitif herhangi bir etkisi tespit edilmemiştir. Bu da SPT'nin borik asit ve hidrojen peroksite parçalanmasından ve deneme süresinin kısa olmasından kaynaklanabilir. Ancak, daha önce sodyum borat gibi farklı bor kaynakları ile yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda borun performans, ham besin maddelerinin sindirilme derecelerini arttırdığı ve patojen mikroorganizmaların bağırsakta kolonize olmasını engelleyerek bağırsak homeostazisini sağladığı tespit edilmiştir (14, 143, 144). Ancak, yapılan literatür taramalarında SPT'nin ham besin madde sindirilme dereceleri ve besin madde taşıyıcıları üzerindeki etkisini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmadığı için bu verilerin önceki literatürlerle karşılaştırılması yapılması mümkün olmamıştır. Fizyolojik koşullar altında borik asit ve hidrojen peroksite parçalanan SPT'nin, yüksek dozlarda kullanıldığı zaman gastrointestinal sistem mukozalarında hasara neden olduğu, düşük dozlarda kullanımının ise bir yan etkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir (27, 28). Bu çalışmada kullanılan 0.5, 1.0, 2.0 mg B/kg dozlarının hem pozitif hem de negatif bir etkisi tespit edilmemiştir. Farklı bor formları ile yapılan bir çalışmada, rasyona sodyum borat ilavesinin kuru madde, ham protein ve ham yağ sindirimi ile bunlara bağlı olarak büyüme performansını arttırdığı bildirilmiştir (14). Ayrıca, bor

bağırsak epitel hücrelerinin proliferasyonunu arttırarak (15) villuslarının gelişimini sağlayabilir (16). Hernandez-Patlan ve ark. (143) *Salmonella enteritidis* ile deneysel olarak enfekte edilen broyler yemlerine kattıkları %0.1 oranındaki borik asidin intestinal yangıyı azalttığını ve bağırsak bütünlüğünü koruduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen bulguların aksine, Liu ve ark. (144) tarafından yapılan başka bir çalışmada da, ratların içme suyuna katılan 40 mg/L ve 80 mg/L dozundaki borik asidin duodenum villus uzunluğunu, kript derinliğini, goblet hücre sayısını ve intraperiferel lenfosit sayısı arttırdığını daha yüksek dozlardaki borik asidin ise (320 mg/L ve 640 mg/L) tam tersi bir etki gösterdiği rapor edilmiştir.

Diyete ilave edilen bor (30 ve 60 ppm), Ca ve P bakımından eksik diyetlerle beslenen piliçlerde civcivlerinde kilo alımını artırabilir (50). Ca bakımından yeterli ve yetersiz diyetlerle beslenen ratlarda, bor takviyesi (5-20 ppm) bağırsak absorpsiyonunu iyileştirmiştir (69). Kalsiyumun lümen konsantrasyonunu artırması, dolaylı olarak gastrin salınması veya doğrudan parietal hücre aktivasyonu yoluyla gastrik asit salgılanmasına neden olur (145). Bu, sindirim sürecini destekler ve bor takviyesi yapılan ratlarda besinlerin sindirilebilirliğinin daha yüksek olmasını sağlayabilir (70).

Çeşitli çalışmalar, D vitamini eksikliği olan piliçlerin borla maruz kaldıklarında plazma glikoz seviyelerinin arttığını göstermiştir (146, 147). Ayrıca, D vitamini eksikliği olan civcivler, daha yüksek plazma piruvat ve TG konsantrasyonları gösterir. Bununla birlikte, borun diyete ilavesi bu etkileri hafifletmiştir (148). Ratlarda bor eksikliği, D vitamini eksikliğine ve nihayetinde plazma piruvatına ve plazma TG konsantrasyonlarında azalmaya yol açar (148).

Ancak diyetin yeterli miktarda bor içerdiği durumlarda, böyle bir etki bildirilmemiştir (148, 149). Yapılan bir diğer çalışmada, borun büyüme için gerekli olduğu ve Mg eksikliğinin bor metabolizmasında stres kaynağı olabileceği bildirilmiştir (150). Bor takviyesi civcivlerde Mg eksikliği nedeniyle oluşan anormallik seviyesini düşürmüştür. Bor takviyesi, sonuçta kalsifikasyon ve diğer komplikasyonların inhibisyonuna yol açan Ca ve Mg plazma konsantrasyonunu da arttırmıştır (106).

Rasyona bor (30 ppm) ilavesi, yüksek protein/enerji ile beslenen tavşanların karaciğer ve böbreklerinde dejeneratif değişiklikleri önlemiştir (107). Diğer bir çalışmada da, borun Ca, Mg ve P emilimini arttırdığı ve böylece bu minerallerin atılım miktarını azalttığı bildirilmiştir. Bor, Ca metabolizmasında zorunlu gibi görünmektedir ve sonuç olarak osteoporoz insidansında önemli bir rol oynamaktadır (151). Ayrıca bor kalsifikasyonu ve diğer engellerin baskılanmasına neden olan Ca ve Mg seviyelerini artırır (153). Borun bu özelliğinin bir sonucu olarak süt veren ineklerde hipokalsemi (süt humması), hipomagnezemi ve yağlı karaciğeri tedavi etmek ve bu hastalıklardan korunmak için kullanılması önerilmiştir (152).

Kuzularda yapılan bir çalışmada da, diyetin Ca eksikliğinin büyüme oranının azalmasına, immün yanıtın baskılanmasına, böbrek/karaciğer dokularında oksidatif strese neden olduğu, ancak bu diyete borun ilave edilmesi, organ morfolojisi üzerindeki iyileştirilmiş etkilerin yanı sıra normal fonksiyonları da sağladığı bildirilmiştir (114). Yapılan başka bir çalışmada, piliç yemlerine bor ilavesi ile Ca ve P eksikliği azalmış ve büyüme artmıştır (111). Ayrıca, aşırı K (potasyum) eksikliği olan ratların diyetlerine bor takviyesi yapılırken, vücut yağının korunması

ve karaciğerde glikojen birikiminin artması ile destekleyici bir etki ortaya çıkmıştır (154). Vücuttaki yüksek F alımı, vücutta ALP aktivitesi ve P düzeyinde bir iyileşmeye neden olurken, Ca seviyelerinde düşüşe neden olarak ciddi komplikasyonlara yol açmaktadır (49). Bununla birlikte bor desteği, florür toksisitesine karşı serum mineral profili üzerinde pozitif bir etkiye neden olmuştur (155). Son zamanlarda, bor takviyesinin akut kadmiyum toksisitesinin tedavisi içinde kullanılabileceği gösterilmiş (156). Borun, kadmiyumun neden olduğu toksisiteyi tersine çevirdiği, karaciğeri ve böbreği ağır hasardan koruduğu bildirilmiştir (156). Bor, hücre zarının cis-hidroksil gruplarının affinitesi nedeniyle, biyolojik sistemleri değiştirebilir ve manganez bağımlı enzimatik reaksiyonlara da müdahale edebilir (154, 157). Ayrıca, bor, iskeletin düzenli gelişimine, kemik sağlığına, Ca, Mg ve D vitamini gibi mineral metabolizmasına olumlu yönde etki eder (157).

SPT'nin diğer perborat formlarına göre daha güvenilir olduğu raporlanmış olmasına rağmen yüksek dozlarda SPT maruziyeti sonrasında gastrointestinal mukozada iritasyon meydana gelmektedir. Ancak düşük dozlardaki maruziyetin bir yan etkisi olduğu bildirilmemiştir (158, 159).

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen veriler, kullanılan SPT dozlarının ratlarda canlı ağırlık, yem tüketimi ve ham besin madde sindirimleri üzerine herhangi bir etkisi tespit edilmemiştir. Aynı şekilde jejunum ve ileumdaki besin madde taşıyıcı genlerin ekspresyon seviyelerinde de herhangi bir değişiklik tespit edilmemiştir. Ancak, istatistiksel olmasa da, SPT I grubunda ham besin maddelerin sindirilme derecelerinde, villus uzunluğunda ve kript derinliğinde, jejunum (GLUT1, GLUT2, FATP1, FATP4) ve ileumdaki (SGLT1, GLUT2, GLUT5) bazı

besin madde taşıyıcı proteinlerin ekspresyonlarında artmaya eğilim gözlenmiştir.

Özetle, SPT'nin biyolojik fonksiyonları ile ilgili detaylı çalışmaların yapılması gerekir.



7. KAYNAKÇALAR

1. Khaliq H, Juming Z, Ke-Mei P. The physiological role of boron on health. *Biol Trace Elem Res* 2018; 186: 31-51.
2. Smith RA, McBroom RB. Boron oxides, boric acid, and borates. 1st Edition, Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 2000.
3. World Health Organization. Environmental health criteria boron 1998; 204: 105-6.
4. Hunt CD, Shuler TR, Mullen LM. Concentration of boron and other elements in human foods and personal-care products. *J Am Diet Assoc* 1991; 91: 558-68.
5. Nielsen FH. Update on human health effects of boron. *J Trace Elem Med Biol* 2014; 28: 383-7.
6. Abdelnour SA, Abd El-Hack ME, Swelum AA, Perillo A, Losacco C. The vital roles of boron in animal health and production: a comprehensive review. *J Trace Elem Med Biol* 2018; 50: 296-304.
7. Hunt CD. Dietary boron: an overview of the evidence for its role in immune function. *J Trace Elem Exp Med* 2003; 16: 291-306.
8. Kabu M, Akosman MS. Biological effects of boron. *Rev Environ Contam Toxicol* 2013; 225: 57-75.
9. Murray FJ. A comparative review of the pharmacokinetics of boric acid in rodents and humans. *Biol Trace Elem Res* 1998; 66: 331-41.
10. Liao SF, Monegue JS, Lindemann MD, Cromwell GL, Matthews JC. Dietary supplementation of boron differentially alters expression of borate transporter (NaBC1) mrna by jejunum and kidney of growing pigs. *Biol Trace Elem Res* 2011; 143: 901-12.
11. Hunt CD. Dietary boron: evidence for essentiality and homeostatic control in humans and animals. In: Xu F, Goldbach HE, Brown PH, Bell RW, Fujiwara T, Hunt CD, Goldberg S, Shi L (Editors). *Advances in plant and animal boron nutrition*. Springer, Dordrecht 2007; 251-267.
12. Salvo RE, Alonso CC, Pardo CC, Casado BM, Vicario M. The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease. *Rev Esp Enferm Dig* 2015; 107: 686-96.
13. Heim G, Walsh AM, Sweeney T, et al. Effect of seaweed-derived laminarin and fucoidan and zinc oxide on gut morphology, nutrient transporters, nutrient digestibility, growth performance and selected microbial populations in weaned pigs. *British J Nutr* 2014; 111: 1577-85.

14. Vijay BT, Gowda N, Krishnamoorthy P, et al. Boron supplementation provides hepato-protective effect and improves performance in Wistar rats fed calcium deficit diet. *Indian J Anim Sci* 2017; 87: 1213-8.
15. Sun P, Luo Y, Wu XT, et al. Effects of supplemental boron on intestinal proliferation and apoptosis in African Ostrich Chicks. *Int J Morphol* 2016; 34.
16. Wang J, Li S, Jin G, et al. Effect of drinking-boron on jejunum development of animal. *Stud Trace Elem Health* 2007; 24: 1-4.
17. Hediger MA, Cl  men  on B, Burrier RE, Bruford EA. The ABCs of membrane transporters in health and disease (SLC series): Introduction. *Mol Asp Med* 2013; 34: 95-107.
18. Kanai Y, Cl  men  on B, Simonin A, et al. The SLC1 high-affinity glutamate and neutral amino acid transporter family. *Mol Asp Med* 2013; 34: 108-20.
19. Smith DE, Cl  men  on B, Hediger MA. Proton-coupled oligopeptide transporter family SLC15: physiological, pharmacological and pathological implications. *Mol Asp Med* 2013; 34: 323-36.
20. Wright EM. Glucose transport families SLC5 and SLC50. *Mol Asp Med* 2013; 34: 183-96.
21. Mueckler M, Thorens B. The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters. *Mol Asp Med* 2013; 34: 121-38.
22. Paiva L, Binsack R, Machado UF. Chronic acarbose-feeding increases GLUT1 protein without changing intestinal glucose absorption function. *European J Pharm* 2002; 434: 197-204.
23. Wu Q, Ortegon AM, Tsang B, et al. FATP1 Is an insulin-sensitive fatty acid transporter involved in diet-induced obesity. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 3455.
24. Cifarelli V, Abumrad NA. Intestinal CD36 and other key proteins of lipid utilization: role in absorption and gut homeostasis. *Compr Physiol* 2011; 8: 493-507.
25. Furuhashi M, Hotamisligil GS. Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets. *Nat Rev Drug Discov* 2008; 7: 489.
26. Chemical book. "Sodium perborate tetrahydrate". https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB0214579.htm. 21.07.2020.
27. HERA. "Risk Assessment of Sodium Perborate mono- and tetrahydrate". <https://www.heraproject.com/files/7-F-04> HERA%20sodium%20perborate%20full%20web%20wd.pdf. 2. 25.07.2020.
28. Hubbard SA, Sullivan FM. Toxicological effects of inorganic boron compounds in animals: a review of the literature. *J Trace Elem Exp Med* 1996; 9: 165-73.

29. Wright EM, Loo DD, Hirayama BA. Biology of human sodium glucose transporters. *Physiol Rev* 2011; 91: 733–794.
30. Wright EM, Sala-Rabanal, M, Loo DDF, Hirayama BA. Physiology of the gastrointestinal tract. In: Johnson LR, Ghishan FK, Kaunitz JD, Merchant JL, Said HM, Wood JD (Editors). Academic Press 2012.
31. Baldwin SA, Lienhard GE. Purification and reconstitution of glucose transporter from human erythrocytes. *Methods Enzymol* 1989; 174: 39–50.
32. Kasahara M, Hinkle PC. Reconstitution and purification of the D-glucose transporter from human erythrocytes. *J Biol Chem* 1977; 252: 7384–7390.
33. Birnbaum MJ, Haspel HC, Rosen OM. Cloning and characterization of a cDNA encoding the rat brain glucose-transporter protein. *Proc Natl Acad Sci* 1986; 83: 16, 5784–5788.
34. Mueckler M, Caruso C, Baldwin SA, et al. Sequence and structure of a human glucose transporter. *Sci* 1985; 229: 4717, 941–945.
35. Blodgett DM, Graybill C, Carruthers A. Analysis of glucose transporter topology and structural dynamics. *J Biol Chem* 2008; 283: 52, 36416–36424.
36. Hresko RC, Kruse M, Strube M, Mueckler M. Topology of the Glut 1 glucose transporter deduced from glycosylation scanning mutagenesis. *J Biol Chem* 1994; 269: 20482–20488.
37. Thorens B, Cheng ZQ, Brown D, Lodish HF. Liver glucose transporter: a basolateral protein in hepatocytes and intestine and kidney cells. *Am J Physiol* 1990; 259: C279–C285.
38. Arluison M, Quignon M, Nguyen P, et al. Distribution and anatomical localization of the glucose transporter 2 (GLUT2) in the adult rat brain an immunohistochemical study. *J Chem Neuroanat* 2004; 28: 3, 117–136.
39. Mounien L, Marty N, Tarussio D, et al. Glut2-dependent glucose-sensing controls thermoregulation by enhancing the leptin sensitivity of NPY and POMC neurons. *FASEB J* 2010; 24: 1747–1758.
40. Garcia MA, Millan C, Balmaceda-Aguilera C, et al. Hypothalamic ependymal-glial cells express the glucose transporter GLUT2, a protein involved in glucose sensing. *J Neurochem* 2003; 86: 709–724.
41. Kayano T, Burant CF, Fukumoto, et al. Human facilitative glucose transporters. Isolation, functional characterization, and gene localization of cDNAs encoding an isoform (GLUT5) expressed in small intestine, kidney, muscle, and adipose tissue and an unusual glucose transporter pseudogene-like sequence (GLUT6). *J Biol Chem* 1990; 265: 13276–13282.
42. Burant CF, Takeda J, Brot LE, Bell GI, Davidson NO. Fructose transporter in human spermatozoa and small intestine is GLUT5. *J Biol Chem* 1992; 267: 14523–14526.

43. Douard V, Ferraris RP. Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. *Am J Physiol Endocr Metab* 2008; 295: E227–E237.
44. Smith DE, Cl  men  on B, Hediger MA. Proton-coupled oligopeptide transporter family SLC15: physiological, pharmacological and pathological implications. *Mol Aspects Med* 2013; 34: 323-36.
45. Tombal TD, Özkan   G. Bor bile  iklerinin özellikleri,   retimi, kullanımı ve n  kleer reakt  r teknolojisinde   nemi. *BORON 1* 2016; 86 – 95.
46. BOREN-Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü. <http://www.boren.gov.tr/tr/bor/bor-elementi>. 16.06.2020.
47. El  i  ek H. Sulu ortamda karbondioksit basıncı altında üleksit cevherinin çözünme kinetiği ve optimizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2012.
48. Yegül EE. Bor zenginleştirme tesislerinde ara ürün tenörlerinin arttırılması için yöntemlerin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.
49. Jansen JA, Schou J, Aggerbeck B. Gastro-intestinal absorption and in vitro release of boric acid from water-emulsifying ointments. *Food Chem Toxicol* 1984; 22: 49-53.
50. Culver BD, Shen PT, Taylor TH, et al. The relationship of blood-and urine-boron to boron exposure in borax-workers and usefulness of urine-boron as an exposure marker. *Environ Health Perspect* 1994; 102: 133-7.
51. Friis-Hansen B, Aggerbeck B, Jansen JA. Unaffected blood boron levels in newborn infants treated with a boric acid ointment. *Food Chem Toxicol* 1982; 20: 451-4.
52. Becking GC, Chen B-H. International Programme on Chemical Safety (IPCS) environmental health criteria on boron human health risk assessment. *Biol Trace Elem Res* 1998; 66: 439-52.
53. Jensen JA, Schou JS, Aggerbeck A. Gastrointestinal absorption and in vitro release of boric acid from water – emulsifying ointments. *Food Chem Toxicol*. 1984; 49-53.
54. Shuler TR, Pootrakul P, Yarnsukon P, Nielsen FH. Effect of thalassemia/hemoglobin E disease on macro, trace, and ultratrace element concentrations in human tissue. 1990; 3: 31.
55. Demirta   A. Bor'un insan beslenmesi ve sa  lı  ı açısından   nemi. *Atat  rk Üniversitesi Ziraat Fak  ltesi Dergisi* 2010; 41: 75-80.
56. Nielsen FH, Shuler TR, Zimmerman TJ, Uthus EO. Dietary magnesium, manganese and boron affect the response of rats to high dietary aluminum. *Magnesium* 1988; 7: 133-147.

57. Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington (DC): National Academies Press (US); 2001.
58. Nielsen FH. Boron--an overlooked element of potential nutritional importance. 1988.
59. World Health Organization. "Boron" 1998.
60. Weinthal E, Parag Y, Vengosh A, Muti A, Kloppmann W. The EU drinking water directive: the boron standard and scientific uncertainty. *Europe Environ* 2005; 15: 1-12.
61. Eren M, Guclu BK, Uyanik F, Karabulut N. The effects of dietary boron supplementation on performance. *J Anim Vet Adv* 2006; 5: 1105-8.
62. Kabu M, Uyarlar C. The effects of borax on milk yield and selected metabolic parameters in Austrian Simmental (Fleckvieh) cows. *Vet Med* 2015; 60: 175-80.
63. Kabu M, Tosun M, Elitok B, Sirri Akosman M. Histological evaluation of the effects of borax obtained from various sources in different rat organs. *Int J Morphol* 2015; 33: 255-261.
64. Fail PA, Chapin RE, Price CJ, Heindel JJ. General, reproductive, developmental, and endocrine toxicity of boronated compounds. *Reprod Toxicol* 1998; 12: 1-18.
65. Ku WW, Chapin RE, Wine RN, Gladen BC. Testicular toxicity of boric acid (BA): relationship of dose to lesion development and recovery in the F344 rat. *Reprod Toxicol* 1993;7 :305-19.
66. Ku WW, Shih LM, Chapin RE. The effects of boric acid (BA) on testicular cells in culture. *Reprod Toxicol* 1993; 7: 321-31.
67. Kabu M, Uyarlar C, Zarczynska K, Milewska W, Sobiech P. The role of boron in animal health. *J Elem* 2015; 20: 2.
68. Bhasker TV, Gowda N, Pal D, Bhat SK, Pattanaik A. Boron profile in common feed stuffs used in tropical livestock systems. *Anim Feed Sci Technol* 2015; 209: 280-5.
69. Kabu M, Birdane FM, Civelek T, Uyarlar C. Affects of boron administration on serum Ca, Mg and P of peripartum cows. *Archives Anim Breeding* 2013; 56: 733-41.
70. Hegsted M, Keenan M, Siver F, Wozniak P. Effect of boron on vitamin D deficient rats. *Biol Trace Elem Res* 1991; 28: 243-55.
71. Dupre JN, Keenan MJ, Hegsted M, Brudevold AM. Effects of dietary boron in rats fed a vitamin D-deficient diet. *Environ Health Perspect* 1994; 102: 55-8.
72. Hall I, Spielvogel B, Griffin T, Docks E, Brotherton R. The effects of boron hypolipidemic agents on LDL and HDL receptor binding and related enzyme activities of rat hepatocytes, aorta cells and human fibroblasts. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. 1989; 65: 297-317.

73. Naghii M, Samman S. The effect of boron on plasma testosterone and plasma lipids in rats. *Nutr Res* 1997; 17: 523-31.
74. Eren M, Uyanik F, Guclu BK, Atasever A. The influence of dietary boron supplementation on performance, some biochemical parameters and organs in broilers. *Asian J Anim Vet Adv* 2012; 7: 1079-89.
75. Cakir S, Eren M, Senturk M, Sarica ZS. The effect of boron on some biochemical parameters in experimental diabetic rats. *Biol Trace Elem Res* 2018; 184: 165-72.
76. Basoglu A, Baspinar N, Tenori L, Vignoli A, Gulersoy E. Effects of boron supplementation on peripartum dairy cows' health. *Biol Trace Elem Res* 2017; 179: 218-25.
77. Kabu M, Civelek T. Effects of propylene glycol, methionine and sodium borate on metabolic profile in dairy cattle during periparturient period. *Revue de Med Vet* 2012; 163: 419.
78. Nielsen FH. The emergence of boron as nutritionally important throughout the life cycle. *Nutr* 2000; 16: 512-4.
79. Behrendt U, Zoglauer K. Boron controls suspensor development in embryogenic cultures of *Larix decidua*. *Physiol Plant* 1996; 97: 321-6.
80. Fort DJ, Stover EL, Strong PL, Murray FJ, Keen CL. Chronic feeding of a low boron diet adversely affects reproduction and development in *Xenopus laevis*. *Nutr J* 1999; 129: 2055-60.
81. Rowe RI, Eckhert CD. Boron is required for zebrafish embryogenesis. *J Exp Biol* 1999; 202: 1649-54.
82. Ince S, Kucukkurt I, Demirel HH, et al. Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats. *Chemosphere* 2014; 108: 197-204.
83. Chapin RE, Ku WW, Kenney MA, McCoy H. The effects of dietary boric acid on bone strength in rats. *Biol Trace Elem Res* 1998; 66: 395-9.
84. Devirian TA, Volpe SL. The physiological effects of dietary boron. 2003; 43: 219-31.
85. Gorustovich AA, Steimetz T, Nielsen FH, Guglielmotti MB. A histomorphometric study of alveolar bone modelling and remodelling in mice fed a boron-deficient diet. *Arch Oral Biol* 2008; 53: 677-82.
86. McCoy H, Kenney MA, Montgomery C, et al. Relation of boron to the composition and mechanical properties of bone. *Environ Health Perspect* 1994; 102: 49-53.
87. Bai Y, Hunt CD. Dietary boron enhances efficacy of cholecalciferol in broiler chicks. *J Trace Elem Exp Med* 1996; 117.
88. Ball RW, Harrass MC, Culver BD. Boron. *Patty's Toxicology* 2001; 885-934.

89. Nielsen FH, Shuler TR. Studies of the interaction between boron and calcium, and its modification by magnesium and potassium, in rats. *Biol Trace Elem Res* 1992; 35: 225-37.
90. Naghii MR, Torkaman G, Mofid M. Effects of boron and calcium supplementation on mechanical properties of bone in rats. *Biofactors* 2006; 28: 195-201.
91. Hakki SS, Bozkurt BS, Hakki EE. Boron regulates mineralized tissue-associated proteins in osteoblasts (MC3T3-E1). *J Trace Elem Med Biol* 2010; 24: 243-50.
92. Cheng J, Peng K, Jin E, et al. Effect of additional boron on tibias of African ostrich chicks. *Biol Trace Elem Res* 2011; 144: 538-49.
93. Scorei RI, Rotaru P. Calcium fructoborate-potential anti-inflammatory agent. *Biol Trace Elem Res* 2011; 143: 1223-38.
94. Güzel Y, Golge UH, Goksel F, et al. The efficacy of boric acid used to treat experimental Osteomyelitis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an in vivo study. *Biol Trace Elem Res* 2016; 173: 384-9.
95. Fassani E, Bertechini A, Brito J, et al. Boron supplementation in broiler diets. *Brazilian J Poult Sci* 2004; 6: 213-7.
96. Akcakus M, Kurtoglu S, Koklu E, Kula M, Koklu S. The relationship between birth weight leptin and bone mineral status in newborn infants. *Neonatology* 2007; 91: 101-6.
97. Armstrong TA, Spears JW, Crenshaw TD, Nielsen FH. Boron supplementation of a semipurified diet for weanling pigs improves feed efficiency and bone strength characteristics and alters plasma lipid metabolites. *J Nutr* 2000; 130: 2575-81.
98. Pizzorno L. Nothing boring about boron. *Integr Med (Encinitas)* 2015; 14: 35-48.
99. Hunt CD, Nielsen FH. Dietary boron affects bone calcification in magnesium and cholecalciferol deficient chicks. *Trace Elem Man and Anim* 1988; 275-6.
100. Baspinar N, Basoglu A, Ozdemir O, et al. Effects of boron compounds in rabbits fed high protein and energy diet: a metabolomic and transcriptomic approach. *Int J Anim Vet Sci* 2015; 9: 570-5.
101. Penland JG. The importance of boron nutrition for brain and psychological function. *Biol Trace Elem Res* 1998; 66: 299-317.
102. Soriano-Ursúa MA, Farfán-García ED, López-Cabrera Y, Querejeta E, Trujillo-Ferrara JG. Boron-containing acids: preliminary evaluation of acute toxicity and access to the brain determined by Raman scattering spectroscopy. *Neurotoxicol* 2014; 40: 8-15.
103. Tang J, Zheng X-t, Xiao K, et al. Effect of boric acid supplementation on the expression of BDNF in African ostrich chick brain. *Biol Trace Elem Res* 2016; 170: 208-15.
104. Zafar H, Ali S. Boron inhibits the proliferating cell nuclear antigen index, molybdenum

- containing proteins and ameliorates oxidative stress in hepatocellular carcinoma. *Arch Biochem Biophys* 2013; 529: 66-74.
105. Bhasker TV, Gowda N, Mondal S, et al. Boron influences immune and antioxidant responses by modulating hepatic superoxide dismutase activity under calcium deficit abiotic stress in Wistar rats. *J Trace Elem Med Biol* 2016; 36: 73-9.
 106. Kucukkurt 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. *Toxicol Ind Health* 2015; 31: 255-60.
 107. Kabu M, Civelek T, Birdane FM. Effects of boron, propylene glycol and methionine administration on some hematological parameters in dairy cattle during periparturient period. *Vet Arh* 2014; 84: 19-29.
 108. Cao J, Jiang L, Zhang X, et al. Boric acid inhibits LPS-induced TNF- α formation through a thiol-dependent mechanism in THP-1 cells. *J Trace Elem Med Biol* 2008; 22: 189-95.
 109. Coban FK, Ince S, Kucukkurt I, Demirel HH, Hazman O. Boron attenuates malathion-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats. *Drug Chem Toxicol* 2015; 38: 391-9.
 110. Yazc S, Aksit H, Korkut O, Sunay B, Çelik T. Effects of boric acid and 2-aminoethoxydiphenyl borate on necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014; 58: 61-7.
 111. Sogut I, Paltun SO, Tuncdemir M, Ersoz M, Hurdag C. The antioxidant and antiapoptotic effect of boric acid on hepatotoxicity in chronic alcohol-fed rats. *Canadian J Physiol Pharmacol* 2018; 96: 404-11.
 112. Sogut I, Oglakci A, Kartkaya K, et al. Effect of boric acid on oxidative stress in rats with fetal alcohol syndrome. *Exp Ther Med* 2015; 9: 1023-7.
 113. El-Demerdash FM, Nasr HM. Antioxidant effect of selenium on lipid peroxidation, hyperlipidemia and biochemical parameters in rats exposed to diazinon. *J Trace Elem Med Biol* 2014; 28: 89-93.
 114. El-Demerdash FM. Lipid peroxidation, oxidative stress and acetylcholinesterase in rat brain exposed to organophosphate and pyrethroid insecticides. *Food Chem Toxicol* 2011; 49: 1346-52.
 115. Hu Q, Li S, Qiao E, et al. Effects of boron on structure and antioxidative activities of spleen in rats. *Biol Trace Elem Res* 2014; 158: 73-80.
 116. Türkez H, Geyikoğlu F, Tatar A, Keleş S, Özkan A. Effects of some boron compounds on peripheral human blood. *Zeitschrift für Naturforschung C* 2007; 62: 889-96.

117. Krishnamoorthy P, Gowda N, Vallesha N, et al. Effect of subchronic fluoride exposure on immune status and histopathology in rats and its amelioration. *Fluoride*. 2015; 48: 123-30.
118. Ince S, Keles H, Erdogan M, Hazman O, Kucukkurt I. Protective effect of boric acid against carbon tetrachloride–induced hepatotoxicity in mice. *Drug Chem Toxicol* 2012; 35: 285-92.
119. Bartha T, Sayed-Ahmed A, Rudas P. Expression of leptin and its receptors in various tissues of ruminants. *Domest Anim Endocrinol* 2005; 29: 193-202.
120. Zieba D-A, Amstalden M, Williams G. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: a comparative review. *Domest anim endocrinol* 2005; 29: 166-85.
121. Yazici Z, Kaya Y, Baltaci AK, Mogulkoc R, Oztekin E. The effects of boron administration on plasma leptin and lactate levels in ovariectomized rats which had acute swimming exercise. *Neuro Endocrinol Lett* 2008; 29: 173-7.
122. Bakken NA, Hunt CD. Dietary boron decreases peak pancreatic in situ insulin release in chicks and plasma insulin concentrations in rats regardless of vitamin D or magnesium status. *J nutr* 2003; 133: 3577-83.
123. Nielsen FH. Update on human health effects of boron. *J Trace Elem Med Biol* 2014; 28: 383-7.
124. Kettner CA, Bone R, Agard DA, Bachovchin WW. Kinetic properties of the binding of. α -lytic protease to peptide boronic acids. *Biochem* 1988; 27: 7682-8.
125. Berry SC, Fink AL, Shenvi AB, Kettner CA. Interaction of peptide boronic acids with elastase: circular dichroism studies. *Proteins* 1988; 4: 205-10.
126. Bitá A, Mogosanu GD, Bejenaru LE, et al. Simultaneous quantitation of boric acid and calcium fructoborate in dietary supplements by HPTLC–densitometry. *Anal Sci* 2017; 33: 743-6.
127. Xiao K, Rahman Ansari A, Khaliq H, et al. Effect of boric acid supplementation of ostrich water on the expression of Foxn1 in thymus. *Histol Histopathol* 2015; 30: 1367-78.
128. Jin E, Gu Y, Wang J, Jin G, Li S. Effect of supplementation of drinking water with different levels of boron on performance and immune organ parameters of broilers. *Italian J Anim Sci* 2014; 13: 3152.
129. Armstrong T, Spears J, Lloyd K. Inflammatory response, growth, and thyroid hormone concentrations are affected by long-term boron supplementation in gilts. *J Anim Sci* 2001; 79: 1549-56.
130. Nielsen FH, Penland JG. Boron deprivation alters rat, and brain mineral composition differently when fish oil instead of safflower oil is the diet fat source. *Nutr Neuroscience* 2006; 9: 105-12.

131. Turkez H, Geyikoglu F, Tatar A, Keles MS, Kaplan I. The effects of some boron compounds against heavy metal toxicity in human blood. *Exp Toxicol Pathol* 2012; 64: 93-101.
132. Sadi G, Konat D. Resveratrol regulates oxidative biomarkers and antioxidant enzymes in the brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Biol* 2016; 54: 1156-63.
133. Liu J, Shi B, Shi K, et al. Ghrelin upregulates PepT1 activity in the small intestine epithelium of rats with sepsis. *Biomed & Pharmacother* 2017; 86: 669-76.
134. Kettner CA, Bone R, Agard DA, Bachovchin WW. Kinetic-properties of the binding of alpha-lytic protease to peptide boronic acids. *Biochem* 1988; 27: 7682–7688.
135. Berry SC, Fink AL, Shenvi AB, Kettner CA. Interaction of peptide boronic acids with elastase–circular-dichroism studies. *Proteins: Struct Funct Bioinform* 1988; 4: 205–210.
136. Manoharan P, Gayam S, Arthur S, et al. Chronic and selective inhibition of basolateral membrane Na-K-ATPase uniquely regulates brush border membrane Na absorption in intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2015; 308: C650-C6.
137. Merriman–Smith R, Donaldson P, Kistler J. Differential expression of facilitative glucose transporters GLUT1 and GLUT3 in the lens. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40 : 3224-30.
138. Tomaz LM, Barbosa MR, Farahnak Z, et al. GLUT2 proteins and PPAR γ transcripts levels are increased in liver of ovariectomized rats: reversal effects of resistance training. *J Exerc Nutr Biochem* 2016; 20: 51.
139. Darakhshan F, Hajdusch E, Kristiansen S, Richter EA, Hundal HS. Biochemical and functional characterization of the GLUT5 fructose transporter in rat skeletal muscle. *J Biochem* 1998; 336: 361-6.
140. Festuccia WT, Blanchard P-G, Richard D, Deshaies Y. Basal adrenergic tone is required for maximal stimulation of rat brown adipose tissue UCP1 expression by chronic PPAR- γ activation. *Am J Physiol-Reg, Integr Comp Physiol* 2010; 299 : R159-R67.
141. Barra NG, VanDuzer TA, Holloway AC, Hardy DB. Maternal nicotine exposure leads to augmented expression of the antioxidant adipose tissue triglyceride lipase long-term in the white adipose of female rat offspring. *Toxicol Sci* 2018; 164: 72-84.
142. Turgut M, Cinar V, Pala R, et al. Biotin and chromium histidinate improve glucose metabolism and proteins expression levels of IRS-1, PPAR- γ , and NF- κ B in exercise-trained rats. *J Int Soc Sports Nutr* 2018; 15: 1-10.
143. Hernandez PD, Solis CB, Adhikari B, et al. Evaluation of the antimicrobial and intestinal integrity properties of boric acid in broiler chickens infected with *Salmonella enteritidis*: proof of concept. *Res Vet Sci* 2019; 123: 7-13.

144. Liu T, Wang C, Wu X et al. Effect of boron on microstructure, immune function, expression of tight junction protein, cell proliferation and apoptosis of duodenum in rats. *Biol Trace Elem Res* 2021; 199 :205-215.
145. Kopic S, Geibel JP. Gastric acid, calcium absorption, and their impact on bone health. *Physiol Rev* 2013; 93: 189–268.
146. Olgun O, Yazgan O, Cufadar Y. Effect of supplementation of different boron and copper levels to layer diets on performance, egg yolk and plasma cholesterol. *J Trace Elem Med Biol* 2013; 27: 132-136.
147. Eren M, Uyanik F, Küçükersan S. The influence of dietary boron supplementation on egg quality and serum calcium, inorganic phosphorus, magnesium levels and alkaline phosphatase activity in laying hens. *Res Vet Sci* 2004; 76: 203–210.
148. Kucukkurt 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. *Toxicol Ind Health* 2015; 31: 255–260.
149. Çınar M, Küçükyılmaz K, Bozkurt M, et al. Effects of dietary boron and phytase supplementation on growth performance and mineral profile of broiler chickens fed on diets adequate or deficient in calcium and phosphorus. *Br Poult Sci* 2015; 56: 576–589.
150. Pizzorno L. Nothing boring about boron. *Integr Med (Encinitas)* 2015; 14: 35–48.
151. Miggiano GA, Gagliardi L. Diet, nutrition and health. *ClinTer* 2005; 156: 47–56.
152. Kabu M, Civelek T. Effects of propylene glycol, methionine and sodium borate on metabolic profile in dairy cattle during periparturient period. *Rev Med Vet* 2012; 163: 419–430.
153. Hunt CD. The biochemical effects of physiologic amounts of dietary boron in animal nutrition models. *Environ Health Perspect* 1994; 102: 35–43.
154. Skinner JT, McHargue JS. Response of rats to boron supplements when fed rations low in potassium. *Am J Physiol-Legacy Content* 1945; 143: 385–390.
155. Bharti VK, Gupta M, Lall D. Ameliorative effects of boron on serum profile in buffalo (*Bubalus bubalis*) fed high fluoride ration. *Trop Anim Health Prod* 2008; 40: 111–116.
156. Yildirim S, Celikezen FC, Oto G, et al. An investigation of protective effects of lithium borate on blood and histopathological parameters in acute cadmium-induced rats. *Biol Trace Elem Res* 2017; 182: 287-294.
157. Armstrong TA, Spears JW, Crenshaw TD, Nielsen FH. Boron supplementation of a semipurified diet for weanling pigs improve feed efficiency and bone strength characteristics and alters plasma lipid metabolites. *J Nutr* 2000; 130: 2575–2581.
158. Hubbard, SA, Sullivan, FM. Toxicological effects of inorganic boron compounds in animals:

A review of the literature. *J Trace Eleme Exp Med* 1996; 9: 165-173.

159. Solbé, John. "Project HERA (Human and Environmental Risk Assessment): An Industry Initiative Anticipating the New EU Chemicals Policy." *Greener Management International*, 2003; 21-32. JSTOR. www.jstor.org/stable/greemanainte. 17.07.2019.

