



BOR DERGISI

JOURNAL OF BORON

<https://dergipark.org.tr/boron>



Siçanlarda borik asit, kalsiyum fruktoborat ve potasyum bor sitratın kemik sağlığı ve sistemik inflamatuvar belirteçler üzerine etkisi

Sevgi Karabulut Uzunçakmak ^{1,*}

¹Bayburt Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Bayburt, 69000, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Makale Geçmişi:

İlk gönderi 8 Temmuz 2022

Kabul 12 Şubat 2023

Online 31 Mart 2023

Araştırma Makalesi

DOI: 10.30728/boron.1142574

Anahtar kelimeler:

Borik asit

Kalsiyum fruktoborat

Osteokalsin

Osteopontin

Potasyum bor sitrat

ÖZET

Bu çalışmanın amacı bor çeşitlerinin kemik sağlığı üzerine etkilerini incelemektir. Bu amaçla, yirmi dört adet wistar sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar kontrol grubu ve bor çeşitlerini uygulandığı gruplar olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Üç gruba üç hafta boyunca oral olarak gavaj ile 3 mg/kg borik asit (BA), kalsiyum fruktoborat (CaFB) ve potasyum bor sitrat (KBCi) verilmiştir. Hayvanların serum ve kemik dokularında TNF- α , IL-1 β , total antioksidan seviyesi (TAS), total oksidan seviyesi (TOS), osteopontin ve osteokalsin düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. Kontrol grubu ve bor bileşiklerinin uygulandığı sıçan gruplarından elde edilen serum örneklerinde ve kemik dokularında TNF- α , IL-1 β ve TOS düzeyleri ve serum osteopontin ve osteokalsin seviyeleri için gruplar arası anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). Serum TAS seviyesi, kontrol grubu ve BA, CaFB ve KBCi uygulanan gruplar karşılaştırıldığında bor bileşiklerinin uygulandığı gruplarda anlamlı bir yükselme göstermiştir ($p<0,0001$). Kemik TAS düzeyi de bor çeşitlerinin uygulandığı gruplarda nispeten yüksek bulunmuştur ($p=0,0005$). Kemik doku osteopontin ve osteokalsin değerleri BA, CaFB, KBCi uygulanmasıyla artmıştır ($p<0,0001$). BA, CaFB ve KBCi'nin kemik sağlığı üzerine etkileri bu çalışmayla ilk kez karşılaştırılmıştır. Bu çalışma, kemik sağlığını geliştirmek, kemik hastalıklarının önlenmesini sağlamak ya da çeşitli etkenlerle artan stres ile baş edebilmek için BA, CaFB ve KBCi gibi bor çeşitlerinin ilerleyen zamanlarda daha yaygın kullanılabilmesi adına gerçekleştirilecek daha kapsamlı çalışmalar için bir ön çalışma olarak umut vericidir.

Effect of boric acid, calcium fructoborate and potassium boron citrate on bone health and systemic inflammatory markers in rats

ARTICLE INFO

Article History:

Received July 8, 2022

Accepted February 12, 2023

Available online March 31, 2023

Research Article

DOI: 10.30728/boron.1142574

Keywords:

Boric acid

Calcium fructoborate

Osteocalcin

Osteopontin

Potassium boron citrate

ABSTRACT

The aim of this study was to examine the effects of boron compounds on bone health. For this purpose, twenty-four Wistar rats were used. The animals were divided into four groups the control group and the groups to which boron varieties were administered. Three groups were given 3 mg/kg boric acid (BA), calcium fructoborate (CaFB), and potassium boron citrate (KBCi) orally by gavage for three weeks. TNF- α , IL-1 β , total antioxidant level (TAS), total oxidant level (TOS), osteopontin, and osteocalcin levels were measured in serum and bone tissues of animals by ELISA method. There was no significant difference between the groups for TNF- α , IL-1 β and TOS levels, and serum osteopontin and osteocalcin levels in the serum samples and bone tissues obtained from the control group and rat groups to which boron compounds were administered ($p>0,05$). When the serum TAS level was compared to the control group and BA, CaFB, and KBCi applied groups, it showed a significant increase in the groups to which boron compounds were administered ($p<0,0001$). Bone TAS level was also found to be relatively high in the groups treated with boron varieties ($p=0,0005$). Bone tissue osteopontin and osteocalcin values increased with the application of BA, CaFB, and KBCi ($p<0,0001$). The effects of BA, CaFB, and KBCi on bone health have been compared in this study. This study is promising as a preliminary study for more comprehensive studies to be carried out in order to use boron compounds such as BA, CaFB, and KBCi more widely in the future in order to improve bone health, and prevent bone diseases or cope with increased stress due to various factors.

1. Giriş (Introduction)

Bor, doğada bulunan eser elementlerden biridir. Bor, doğada boraks, borik asit, kolemanit, üleksit ve borat formlarında bulunur. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından kabul edilen günlük bor alımı havadan 0,44

μg , içilen sudan 0,2-0,6 mg ve beslenme ile 1,2 mg'dır [1]. Türkiye'deki bor zengini bölgelerde günlük bor alımı 6,77 mg olarak tespit edilmiştir [2].

Bor, kemik metabolizmasında birden fazla sürecin içerisinde bulunmaktadır. Kemik metabolizmasında

*Corresponding author: skarabulut@bayburt.edu.tr

etkili rollere sahip olan kalsiyum, magnezyum ve D vitamini ile etkileşime girmektedir [3]. Bor, kemik hücre proliferasyonunu, sağ kalımı, mRNA ekspresyonunu ve mineralizasyonu arttırarak kemik sağlığını korumaktadır [4]. Bor, kalsiyumun kemik, eklem ve kırıkta geçişini sağlaması sebebiyle artrit tedavisini etkili bir şekilde gerçekleştirmektedir. Ayrıca, testosteron ve östrojen gibi çeşitli hormonları da etkileyebilmektedir [3].

Bor alan artritlik bireylerde, kişisel kısıtlı hareket ölçümlerinde, ağrı kesici ihtiyacı ve eklem şişmesi gibi durumlar için önemli ilerlemeler bildirilmiştir [5]. Bor, çeşitli immün yollar aracılığıyla anti-inflamatuvar aktör olarak rol oynamakta ve immün cevap oluşturmaktadır. Bor, lökositler tarafından üretilen serin proteazları inhibe edebilir, lökotrien üretimini baskılayabilir, oksidatif stresi azaltabilir, hücre aktivitesini ve antikor konsantrasyonunu düzenleyebilir [6]. Yapılan çalışmalar düşük doz diyet bor alımının oluşabilecek enfeksiyonlarda koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermiştir [7].

Borik asit (BA, H_3BO_3), borun en yaygın formudur [8] ve reaktif oksijen türlerinin üretimini inhibe edebildiği için vücudu oksidatif streten koruyucu role sahiptir [9]. BA, bor nitür, bor fosfat ve bor sitrat ve boraks gibi birçok bor bileşiğinin hazırlanmasında kullanılır [10]. Kalsiyum fruktoborat (CaFB, $Ca[(C_6H_{10}O_6)_2B]2 \cdot 4H_2O$), *in vitro* çalışmalarda da gösterildiği gibi bir süperoksit anyon temizleyici ve anti-inflamatuvar ajandır [5]. CaFB kalsiyum metabolizmasını, kemik ve yumuşak dokuların büyümesini ve gelişimini, antikor ve kolajen oluşumunu olumlu yönde etkilemektedir [6]. Borun kendisi kemik hücre proliferasyonunu indüklemekte [4] ve kalsiyumun kemik ve kırıkta geçişini sağlamaktadır [3]. Kalsiyum ile bileşik oluşturması ise onun bu rolünü desteklemektedir. Diz artritinden muzdarip bireylerde CaFB alımının hastaların durumunu iyileştirdiği görülmüştür [7]. CaFB osteoporoz tedavisinde destekleyici bir tedavi olarak ve osteoporozun önlenmesinde ise takviye edici gıda olarak önerilmektedir [8]. Potasyum sitrat, kemik yoğunluğunu olumlu yönde etkileyen bir moleküldür ve yapılan çalışmalarda kemik mineral yoğunluğunu arttırdığı ve kemik kaybı belirteçlerini azalttığı gösterilmiştir [9, 10]. Bor sitrat kullanılan bir çalışmada ise bor sitratın sitokin üretimini azalttığı ve ayrıca klinik ve biyokimyasal parametreleri desteklediği gösterilmiştir [11].

Görüldüğü üzere bor bileşiklerinin kemik sağlığı üzerindeki etkileri literatürdeki pek çok çalışma tarafından defalarca vurgulanmıştır. BA, oksidatif stresi azaltıp kemik sağlığını desteklediği için bu çalışma için seçilmiştir [12, 13]. CaFB ile ilgili olarak literatürde bulunan çalışmalar onun kemik sağlığı üzerine olumlu etkilerini göstermektedir [7]. CaFB'in kalsiyum içermesi, onun kemik sağlığına olan etkisini desteklemektedir. KBCi ile ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Fakat içeriğinde bulunan potasyumun kemik sağlığını olumlu yönde etkilediği

de literatürde görülmektedir [9, 10]. Borun kendisinin ya da bor bileşiklerinin kemik sağlığı üzerindeki etkileri bilinmesine rağmen hangi bor bileşiğinin kemik sağlığı ve oksidatif stres belirteçleri üzerinde daha etkili olduğu net değildir.

Literatür taramaları ışığında bor bileşiklerinin kemik sağlığını olumlu yönde etkileyeceği, kemik belirteçlerini arttıracığı ve oksidatif stres belirteçlerini azaltacağı öngörülmektedir. Bu çalışmada bor bileşiklerinin içeriklerine göre kemik sağlığı parametreleri üzerinde farklı düzeyde etki gösterecekleri düşünülerek BA, CaFB ve KBCi seçilmiştir. Bu çalışma için 24 adet erkek wistar sıçan kullanılmıştır. Hayvanlara herhangi bir model uygulaması yapılmamıştır. Böylece sağlıklı bireylerin gıda takviyesi olarak kullanabildiği bor türlerinin kemik sağlığını herhangi bir hastalık olmaksızın nasıl etkileyebileceği gözlemlenmiştir.

2. Malzemeler ve Yöntemler (Materials and Methods)

2.1. Hayvanlar (Animals)

24 adet 175-250 g ağırlığa sahip erkek wistar albino sıçan Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) laboratuvarlarından temin edilmiştir. Hayvanlar rastgele 4 gruba ayrılmıştır. Laboratuvarında, oda sıcaklığında (25 ± 3 °C), sabit nemli ortamda (55 ± 5 %), gece gündüz periyodunda 3 hafta [14, 15] boyunca standart ticari sıçan besini (Bayramoğlu Yem, Erzurum, Türkiye) ile beslenmişlerdir. Besin ve suya ulaşım konusunda herhangi bir kısıtlama yapılmamıştır. Bu süre zarfında kontrol grubuna ek herhangi bir takviye verilmez iken 2. gruba, 3. gruba ve 4. gruba günlük 3mg/kg [16] olacak şekilde BA, CaFB ve KBCi oral olarak gavaj ile verilmiştir. BA, CaFB ve KBCi Türkiye Enerji, Nükleer ve Maden Araştırma Kurumu (TENMAK)'tan temin edilmiştir. 3 bor çeşidi de 1 ml distile suda çözülmüştür. Hayvan ağırlıkları tartıldıktan sonra hayvan kilogram başına 3 mg olacak şekilde çözüldürülerek bor çeşitlerinin miktarı hesaplanmıştır. 1 ml distile su içerisinde belirlenen miktarlarda bor çeşitleri çözülmüştür. Çalışma için gerekli etik izin (protokol no:2022-7/111) Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'ndan (HADYEK) alınmıştır.

- Grup I (Kontrol): Bu gruptaki sıçanlara normal beslemenin dışında herhangi bir şey verilmemiştir.
- Grup II (BA): 3 hafta boyunca normal beslenmeye ek olarak 3 mg/kg BA verilmiştir.
- Grup III (CaFB): 3 hafta boyunca normal beslenmeye ek olarak 3 mg/kg CaFB verilmiştir.
- Grup IV (KBCi): 3 hafta boyunca normal beslenmeye ek olarak 3 mg/kg KBCi verilmiştir.

2.2. Örneklerin Hazırlanması (Preparation of Samples)

Bor çeşitlerinin uygulama sürecinin sonunda tüm hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Hayvanlara ait kan ve femur örnekleri alınmıştır. Kan örnekleri serum elde etmek için 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Elde

edilen serum örnekleri bir sonraki analiz için -80°C 'de saklanmıştır. Femur örnekleri kemik dışındaki çevresel dokulardan temizlendikten sonra homojenizasyon aşamasına kadar -80°C 'de muhafaza edilmiştir. 100 mg femur örnekleri sıvı azot ile parçalandıktan sonra PBS ile TissueLyser II (Qiagen, Almanya) cihazında homojenize edilmesinin ardından 5000 g'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant ile, ilgili moleküller ELISA yöntemi ile ölçülmüştür.

2.3. ELISA (ELISA)

Kan ve femur dokularından elde edilen serum ve süpernatant örnekleri ELISA için oda sıcaklığına getirilmiştir. İlgili protein ölçümleri BT-LAB'a (Wuhan, Çin) ait ELISA kitleri ile gerçekleştirilmiştir. Tüm kitler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirilmiştir. Serum ve süpernatantlarda tümör nekroz faktör (TNF)- α (E0764Ra), interlökin (IL)-1 β (E0119Ra), osteopontin (E0273Ra), osteokalsin (E0270Ra), total oksidan seviyesi (TOS)(E1512Ra), ve total antioksidan seviyesi (TAS)(E1710Ra) üretici firma talimatlarına uygun olarak ölçülmüştür. Ölçümler 450 nm'de Epoch Spectrophotometer System and Take3 Plate (BioTek, ABD) cihazında gerçekleştirilmiştir.

2.4. İstatiksel Analiz (Statistical Analysis)

Çalışmaya ait veriler için istatistiksel analiz GraphPad Prism (Version 5) ile yapılmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılılan verilerde gruplar arası farklılık için One-Way ANOVA kullanılırken Tukey testi post-hoc testi olarak kullanılmıştır. Normal dağılmayan verilerde gruplar arası farklılık Kruskal-Wallis ile değerlendirilmiş ve Dunn Testi post-hoc testi olarak kullanılmıştır. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

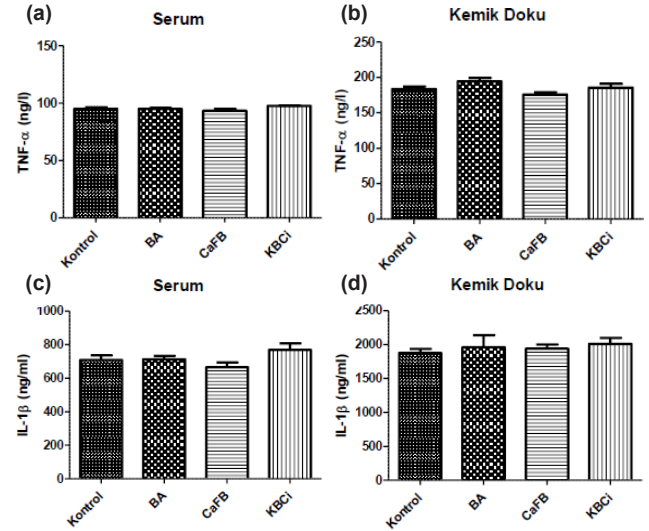
3. Sonuçlar ve Tartışma (Results and Discussion)

3.1. Sonuçlar (Results)

3.1.1. Serum ve kemik dokuda TNF- α ve IL-1 β seviyeleri (TNF- α ve IL-1 β levels of serum and bone tissue)

Hayvanlara ait femur ve kandan elde edilen serum örneklerinde IL-1 β ve TNF- α düzeyleri ölçülmüştür. Kontrol grubu ve BA, CaFB, KBCi uygulanan hayvan grupları için ilgili değerler Şekil 1'de özetlenmiştir. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında BA, CaFB, KBCi verilen gruplarda kontrol grubuna nispeten serum IL-1 β düzeyleri BA uygulanan grupta değişmezken CaFB uygulanan grupta %6 oranında azalmış, KBCi uygulanan grupta ise %8 oranında artmıştır ($p > 0,05$). Kemik IL-1 β seviyesi ise BA, CaFB, KBCi uygulanan gruplarda kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %5, %3, %7 seviyelerinde yükselmiştir ($p > 0,05$). Serum TNF- α değerleri kontrol grubu ile kıyaslandığında BA grubunda değişmemiştir, CaFB grubunda %2'lik bir azalma, KBCi grubunda ise %3'lük bir artış göstermiştir ($p > 0,05$). Kemik TNF- α seviyeleri de BA, CaFB ve

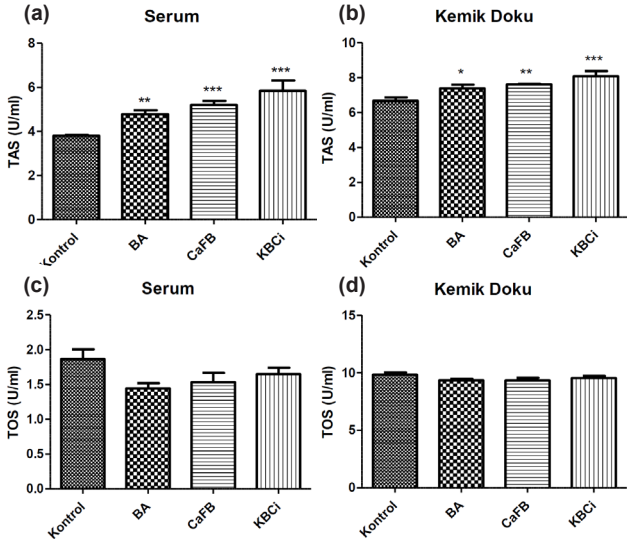
KBCi uygulamaları sonrasında anlamlı bir farklılık göstermemekle birlikte sırasıyla gruplarda %6'lık artış, %4'lük azalış ve %1'lik bir artış gözlemlenmiştir ($p > 0,05$). BA, CaFB ve KBCi serum ve kemik dokuda IL-1 β ve TNF- α seviyelerini farklı düzeyde etkilemiş olsa da anlamlı bir değişikliğe sebep olmamıştır ($p > 0,05$).



Şekil 1. Bor çeşitlerinin kemik dokusu ve serum IL-1 β ve TNF- α seviyeleri üzerine etkileri A) Serum TNF- α seviyesi, B) Kemik dokusu TNF- α seviyesi, C) Serum IL-1 β seviyesi, D) Kemik dokusu IL-1 β seviyesi. (Effects of boron derivatives on bone tissue and serum IL-1 β and TNF- α levels A) Serum TNF- α level, B) Bone tissue TNF- α level, C) Serum IL-1 β level, D) Bone tissue IL-1 β level.).

3.1.2. Serum ve kemik dokuda TAS ve TOS değerleri (Total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS) in serum and bone tissue)

Kontrol grubunda, BA, CaFB ve KBCi uygulanan gruplarda hem kemik dokuda hem de serumda TAS ve TOS değerleri ölçülmüştür. Gruplara ait TAS ve TOS değerleri Şekil 2'de gösterilmiştir. Şekil 2a'da görüldüğü gibi serum TAS değerleri gruplar arasında farklılık göstermiştir ($p < 0,0001$). BA, CaFB ve KBCi uygulanan gruplarda kontrol grubuna nispeten serum TAS değerlerinin sırasıyla %10, %14, %21 oranında yükseldiği görülmüştür. Gruplar arasında en yüksek değer KBCi uygulanan grupta görülmüştür. Şekil 2b'de gösterildiği üzere kemik TAS değerleri de gruplar arasında anlamlı düzeyde farklı ölçülmüştür ($p = 0,0005$). Kemik TAS değerleri kontrol grubuna nispeten BA, CaFB ve KBCi uygulanan gruplarda sırasıyla %26, %37, %54'lük bir artış göstermiştir. KBCi, kemik dokuda TAS değerini en çok yükselten bor çeşidi olarak tespit edilmiştir ($p < 0,0001$). Şekil 2c ve Şekil 2d'de özetlenen TOS değerleri incelendiğinde kontrol grubuna nispeten BA, CaFB ve KBCi uygulanan gruplarda serumda sırasıyla %23, %18, %12, kemik dokuda ise sırasıyla %5, %5 ve %3'lük bir azalma görülmüştür ($p > 0,05$).

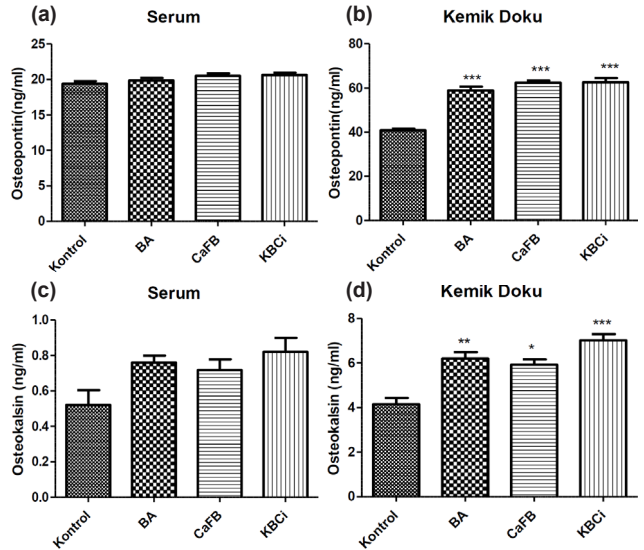


Şekil 2. Serum ve kemik doku TAS ve TOS seviyeleri. *Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı seviyede fark oluşturmaktadır (* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$). a) Serum TAS değeri, b) Kemik doku TAS değeri, c) Serum TOS değeri, d) Kemik doku TOS değeri (Serum and bone tissue TAS and TOS levels. *It creates a significant difference compared to the control group (* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$). a) Serum TAS value, b) Bone tissue TAS value, c) Serum TOS value, d) Bone tissue TOS value).

3.1.3. Serum ve kemik dokuda osteopontin ve osteokalsin seviyeleri (Osteopontin and osteocalcin levels of serum and bone tissues)

Osteopontin ve osteokalsin kemik doku ile doğrudan ilişkili biyobelirteçlerdir. Bor çeşitlerinin serum ve kemik dokuda osteopontin ve osteokalsin üzerine etkileri Şekil 3'te gösterilmiştir. Serum osteopontin değerleri kontrol grubuna nispeten BA uygulandığında %2, CaFB uygulandığında %6, KBCi uygulandığında %6 oranında yükselme eğilimi göstermiş olsada, bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kemik osteopontin değerleri ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık göstermiştir ($p < 0,0001$). Kemik osteopontin değerleri incelendiğinde BA, CaFB ve KBCi uygulanan gruplarda kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %44, %53 ve %53 oranında yükselmiştir. Özellikle KBCi'nin kemik dokuda diğer bor çeşitlerine nispeten daha yüksek bir etki gösterdiği görülmektedir.

Serum osteokalsin değerleri BA uygulanan grupta %46, CaFB uygulanan grupta %37, KBCi uygulanan grupta %57 düzeyinde yükselme eğilimi göstermiş olsa bile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kemik osteokalsin değerlerinde ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p < 0,0001$). Kemik osteokalsin seviyeleri kontrol grubuna nispeten BA, CaFB ve KBCi uygulanan gruplarda sırasıyla %49, %43, %69 oranında artmıştır. Özellikle BA ve KBCi uygulaması kemik osteokalsin düzeyini CaFB'a nispeten daha fazla yükseltmiştir. KBCi, hem osteopontin hem de osteokalsin değerlerini en çok yükselten bor çeşidi olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3. Serum ve kemik doku osteopontin ve osteokalsin değerleri, *Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı seviyede fark oluşturmaktadır (* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$). a) Serum osteopontin seviyesi, b) Kemik doku osteopontin seviyesi, c) Serum osteokalsin seviyesi, d) Kemik doku osteokalsin seviyesi (Serum and bone tissue osteopontin and osteocalcin values. *Compared to the control group, there is a significant difference (* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$). a) Serum osteopontin level, b) Bone tissue osteopontin level, c) Serum osteocalcin level, d) Bone tissue osteocalcin level).

3.2. Tartışma (Discussion)

Epidemiyolojik çalışmalara göre günlük 3 mg altında bor alımı insan sağlığı için faydalı bulunmuştur [17]. Günlük maruz kalınan bor miktarı yaşanan bölgeye göre değişmektedir. Bor, hücresel ya da sistemik olarak birçok sürecin içerisinde rol alabilmekte ve metabolik değişikliklere yön verebilmektedir. İnflamatuvar cevaplarda, oksidatif strese ve kemik sağlığı üzerinde rol oynayabilen borun etkisi henüz netleştirilebilmiş değildir. Kemikteki bor konsantrasyonu, kemik metabolizması, mineralizasyonu ve rejenerasyonu için uygun olabilecek tüketilen element miktarına bağlıdır [18]. Borun eksikliği hayvanlarda büyüme geriliğine ve anormal kemik gelişimine neden olmaktadır [3]. Uygun kemik gelişimi için belli dozlarda bor alınması gerekmektedir [4]. Bu çalışma ile sıçanlarda günlük oral olarak verilen bor çeşitlerinin sitokin değerleri, antioksidan ve oksidan seviyeleri ve kemik belirteçleri olan osteopontin ve osteokalsin seviyeleri üzerinde bir etkiye sahip olup olmadığı ve farklı bor çeşitlerinin etkinlik düzeyleri incelenmiştir.

Güzel ve ark. yaptıkları çalışmada, histopatolojik ve mikrobiyolojik analizler kullanarak, lokal ya da sistemik BA uygulamalarının kemik hastalıklarının iyileşmesini olumlu yönde etkilediğini göstermiştir [19]. Osteomiyelit modelinde artan TNF- α ve IL-6 seviyelerinin, uygulanan lokal ve oral BA uygulamasıyla da azaldığı gözlemlenmiştir [19]. Başaran ve ark., yaptıkları çalışmada bora doğal yollarla maruz kalan bireylerin serumlarında oksidatif stres ve inflamasyon parametrelerini araştırmışlardır. Superoksit dismutaz

(SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GR) enzim aktiviteleri, malondialdehit (MDA), GSH, 8-hydroxy-2'-deoxy-guanosine (8-OH-dG) seviyeleri, IL-1ra, IL-6, IL-8, nükleer faktör kappa B (NF- κ B) seviyeleri incelenmiştir. Bireyler, kanlarındaki BA miktarlarına göre düşük, orta ve yüksek olarak gruplandırılmışlardır. Gruplar arasında oksidatif stres ve inflamasyon açısından anlamlı bir farklılığa rastlanmadığı rapor edilmiştir [20]. Naghii ve ark. yaptıkları çalışmada sağlıklı bireylere bir günlük ve haftalık takviye edici besin olarak verilen borun (sodyum tetra borat) IL-6, TNF- α ve yüksek duyarlı CRP (hsCRP) seviyelerini düşürdüğünü gözlemlemişlerdir [21]. Acaroz ve ark. yaptıkları çalışmada akrilamid verilen sıçanlarda yükselen TNF- α , IL-1 β ve oksidatif stresin farklı dozlarda uygulanan BA ile azaldığı gözlemlenmiştir [22]. Jin ve ark. sıçanlarda içme suyuna ekledikleri farklı dozlardaki borun sıçan timusunda sitokin ekspresyonunu, antioksidan fonksiyonunu nasıl değiştirdiğini gözlemlemişlerdir. Uygulanan 10 ve 20 mg/L (1,5 ve 3 mg/kg) borun IL-1 β , IFN- γ , IL-4 seviyelerini, GSH-Px içeriğini, SOD ve total antioksidan aktivite (T-OAC) değerlerini doza bağımlı olarak arttırdığını, MDA içeriğini, TNF- α seviyesini de yine doza bağımlı olarak düşürdüğünü göstermişlerdir. Uygulanan dozlar arasında 3 mg/kg'lık dozun 1,5 mg/kg'lık doza nispeten ve diğer uygulanan dozlara nispeten sitokin ekspresyonunda, oksidatif stres belirteçlerinde daha etkili değişimlere sebep olduğu görülmüştür [16]. Bu çalışmada farklı doz miktarları değil çalışmanın amacına uygun olarak sabit bir doz uygulaması yapılmıştır. Serum ve kemik dokuda TNF- α ve IL-1 β , TAS ve TOS değerleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar serum ve kemik TNF- α ve IL-1 β değerlerinde görülen azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını göstermiştir. Hastalık modellerinde daha belirgin bir etkiye sahip olan bor bileşiklerinin sağlıklı hayvanlarda TNF- α ve IL-1 β açısından anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı görülmüştür. Sitokinler bir bağışıklık uyarısına tepki olarak *de novo* üretilirler, depolanmazlar, kısa zaman aralıklarında hareket ederler. Bu çalışmada herhangi bir hastalık modeli oluşturulmadığı için kontrol grubuna nispeten bu pro-inflamatuvar sitokinlerde bor uygulanan gruplarda anlamlı bir değişiklik oluşmamıştır. Serum ve kemik dokuda bor uygulanan gruplarda TAS değerleri anlamlı düzeyde farklılık göstermiştir. Bor çeşitlerinin TAS üzerindeki yükseltici etkisi herhangi bir hastalık varlığında ya da yokluğunda antioksidan molekülerinin yapımını desteklediğini göstermesi adına kıymetlidir. Serum ve kemik dokuda TOS seviyelerinin değişmemesi bor çeşitlerinin oksidan üretimini desteklemediğini ya da sebep olmadığını göstermesi de güvenli bir şekilde kullanılabileceğine dair bir işarettir.

Bor bileşikleri, kemik oluşum hızını artırarak ve kemik yıkımını azaltarak kemiğin gücünü ve sertliğini artırır. Bor eksikliği, kemik oluşumunu ve kemik kütlelerinin korunmasını olumsuz etkiler ve osteoporozun nedenlerinden biri olarak kabul edilir [8]. Kolajenimsi

olmayan proteinler, kemik hücre dışı matriksinin integral bileşenleridir ve çoklu rollere sahiptirler. Osteokalsin ve osteopontin majör kolajenimsi olmayan proteinlerdendir ve kemik üzerinde biyolojik ve mekanik fonksiyonlara sahiptir [23]. Osteokalsin, osteoblastlar tarafından üretilir ve kemik yapımının hassas bir belirteçidir. Osteokalsin, kemik hücre dışı matriksi ile kombine haldedir ve az bir miktarı kan dolaşımına karışır [24]. Osteopontin, kemiğin yeniden modellenmesinde rol alır ve kemik rezorbsiyonunu stimüle eder [25, 26]. Hakkı ve ark. yaptıkları çalışmada BA uygulanan MC3T3-E1 hücrelerinde artan osteoblastik aktivitenin göstergesi olarak osteopontin ve osteokalsin ekspresyonlarındaki artışı göstermişlerdir [4]. Hücrelere uygulanan 0,1, 1, 10 ve 100 ng/ml BA, kemiklere özgü protein ekspresyonlarını da arttırmıştır [4]. Boyacıoğlu ve ark., doğal yollarla bora maruz kalan postmenopozal kadınlar ile yaptıkları çalışmada bora maruz kalan kadınların serumlarında osteokalsin düzeyini bora maruz kalmayan kontrol grubuna nispeten daha yüksek bulmuştur [27]. Normal seviyenin üzerinde alınan bor, toksik etkilere sahip olsa da kemik mineral kompozisyonunu olumsuz yönde etkilememektedir. Örneğin, diyetle 500mg/kg bor (ortoborik asit) ile beslenen sıçanlarda kilo kaybı, femur magnezyum ve çinko düzeylerinde azalma olsa da femur kalsiyum ve fosfor düzeylerinde ve tibia kemik yoğunluğunda anlamlı değişiklik tespit edilmemiştir [28]. Zhu ve ark., Afrika deve kuşu yavruları ile yaptıkları çalışmada hayvanların günlük içme sularına farklı dozlarda BA ekleyip kemik oluşumu üzerine etkilerini incelemişlerdir. 40-160 mg/l uygulanan borun kemik gelişimini arttırdığı ve kemik belirteçlerinin ekspresyonunu değiştirdiğini göstermişlerdir. Ayrıca 80 mg/l den daha yüksek doz uygulamalarının osteokalsin düzeyini düşürdüğü görülmüştür [29]. Liu ve ark., dökülmüş süt dişlerinden elde ettikleri kök hücrelere uyguladıkları bor bileşiklerinin (magnezyum borat, çinko borat ve borik asit) osteoblastik farklılaşmayı arttırdığını ve farklılaşan hücrelerde osteopontin, osteokalsin ve çeşitli kemik proteinlerinin varlığını göstermişlerdir [30]. Ying ve ark., kemik iliği stromal hücrelerine uyguladıkları borun hücre farklılaşması üzerine etkilerini incelediklerinde 10 ve 100 ng/ml uygulanan BA'nın osteokalsin ve çeşitli kemik ilişkili proteinlerin ekspresyonunu arttırdığını göstermişlerdir [31]. Bu çalışmada, günlük 3 mg/kg olarak uygulanan BA, CaFB ve KBCi'nin kemik osteopontin ve osteokalsin düzeylerini anlamlı bir şekilde yükselttiği gözlemlenmiştir. Özellikle KBCi kemik belirteçlerini diğer bor uygulanan gruplara nispeten daha fazla yükseltmiştir.

4. Sonuçlar (Conclusions)

Bor, insan vücudunda çok sayıda mekanizmanın bir parçası olarak rol oynamakta ve özellikle belli dozlarda faydalı etkiler göstermektedir. Bu çalışmada bor bileşiklerinin sitokinler, oksidatif stres belirteçleri ve kemik sağlığı belirteçleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın hipotezi borun ya da bor bileşiklerinin

sitokin üretimini, oksidatif stresi ve kemik sağlığını farklı düzeylerde etkilemeleri olarak kurulmuştur. Çalışma sonucunda ise sitokin düzeylerinin bor bileşiklerinin uygulanmasıyla değişmediği, CaFB ve KBCi'ın ise BA'e nispeten oksidatif stres ve kemik sağlığı belirteçlerini farklı düzeylerde etkilediği görülmüştür. Çalışmada proinflatuar sitokinleri indükleyici herhangi bir ajan kullanılmamıştır ve dolayısıyla bor bileşiklerinin proinflatuar sitokinler üzerinde anlamlı bir farklılık oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Bu durum borun, stresin hücreler üzerindeki olumsuz etkilerini kısıtlamak adına takviye edici gıda olarak kullanmasını da anlamlı kılmaktadır. CaFB ve KBCi'ın BA'ten daha etkin bir şekilde TAS düzeyini yükseltmesi bor bileşiklerinin içeriğinin de oksidatif stres parametreleri üzerinde farklı düzeylerde etkili olabileceğini göstermiştir. Çalışmanın sonucunda CaFB ve KBCi'ın kemik belirteçlerini BA'e nispeten daha fazla yükselttiği gözlemlenmiştir. KBCi ile ilgili daha önce yapılmış çalışma olmaması bu molekülün etkilerinin ortaya çıkarılması açısından çalışmanın güçlü yanını ortaya koymaktadır. Bu çalışmada bor bileşikleri uygulanan hayvanlara ait serum ve kemik dokularda elementel bor düzeyinin ölçülmemiş olması bu çalışmanın bir kısıtlılığı olarak görülmektedir. Bu çalışma, BA, CaFB ve KBCi'ın etkilerini belli parametreler aracılığıyla kıyaslayan öncü bir çalışmadır ve farklı bor bileşiklerinin kemik sağlığı üzerinde farklı derecelerde etkinlik gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Kaynaklar (References)

- [1] World Health Organization & International Programme on Chemical Safety. (1998). *Boron*. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42046>.
- [2] Boyacioglu, O., S., Korkmaz, M., Kahraman, E., Yildirim, H., Bora, S., Ataman, O. Y. (2017). Biological effects of tolerable level chronic boron intake on transcription factors. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 39, 30-35.
- [3] Devirian, T. A., & Volpe, S. L. (2003). The physiological effects of dietary boron. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(2), 219-231.
- [4] Hakki, S. S., Bozkurt, B. S., & Hakki, E. E. (2010). Boron regulates mineralized tissue-associated proteins in osteoblasts (MC3T3-E1). *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 24(4), 243-250.
- [5] Hunter, J. M., Nemzer, B. V., Rangavajla, N., Bitá, A., Rogoveanu, O. C., Neamtu, J., ... & Mogoşanu, G. D. (2019). The fructoborates: Part of a family of naturally occurring sugar-borate complexes-biochemistry, physiology, and impact on human health: A review. *Biological Trace Element Research*, 188(1), 11-25.
- [6] Donoiu, I., Militaru, C., Obleagă, O., Hunter, J. M., Neamtu, J., Biță, A., ... & Rogoveanu, O.C. (2018). Effects of boron-containing compounds on cardiovascular disease risk factors-A review. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 50,47-56.
- [7] Reyes-Izquierdo, T., Nemzer, B., Gonzalez, A. E., Zhou, Q., Argumedo, R., Shu, C., & Pietrzowski, Z. B. (2012). Short-term intake of calcium fructoborate improves WOMAC and McGill scores and beneficially modulates biomarkers associated with knee osteoarthritis: A pilot clinical double-blinded placebo-controlled study. *American Journal of Biomedical Science*, 4(2),111-122.
- [8] Miljkovic, D., Scorei, R. I., Cimpoiaşu, V. M., Scorei, I. D. (2009). Calcium fructoborate: plant-based dietary boron for human nutrition. *Journal of Dietary Supplements*, 6(3), 211-226.
- [9] Jehle, S., Hulter, H. N., & Krapf, R. (2013). Effect of potassium citrate on bone density, microarchitecture, and fracture risk in healthy older adults without osteoporosis: A randomized controlled trial. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(1), 207-217.
- [10] Granchi, D., Caudarella, R., Ripamonti, C., Spinnato, P., Bazzocchi, A., Massa, A., & Baldini, N. (2018). Potassium citrate supplementation decreases the biochemical markers of bone loss in a group of osteopenic women: The results of a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Nutrients*, 10(9), 1293.
- [11] Akbari, N., Ostadrahimi, A., Tutunchi, H., Pourmoradian, S., Farrin, N., Najafipour, F., ... & Mobasseri, M. (2022). Possible therapeutic effects of boron citrate and oleoylethanolamide supplementation in patients with COVID-19: A pilot randomized, double-blind, clinical trial. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 71, 126945.
- [12] Ince, S., Kucukkurt, I., Demirel, H. H., Acaroz, D. A., Akbel, E., & Cigerci, I. H. (2014). Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats. *Chemosphere*, 108, 197-204.
- [13] Shalehin, N., Hosoya, A., Takebe, H., Hasan, M. R., & Irie, K. (2020). Boric acid inhibits alveolar bone loss in rat experimental periodontitis through diminished bone resorption and enhanced osteoblast formation. *Journal of Dental Sciences*,15(4), 437-444.
- [14] Gorustovich, A. A., Steimetz, T., Nielsen, F. H., Guglielmotti, M. B. (2008). Histomorphometric study of alveolar bone healing in rats fed a boron-deficient diet. *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*, 291(4), 441-447.
- [15] Al-Hamed, F. S., Abu-Nada, L., Rodan, R., Sarrigiannidis, S., Ramirez-Garcialuna, J. L., Moussa, H., ... & Tamimi, F. (2021). Differences in platelet-rich plasma composition influence bone healing. *Journal of Clinical Periodontology*, 48(2), 1613-1623.
- [16] Jin, E., Ren, M., Liu, W., Liang, S., Hu, Q., Gu, Y., & Li S. (2017). Effect of boron on thymic cytokine expression, hormone secretion, antioxidant functions, cell proliferation, and apoptosis potential via the extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 signaling pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(51), 11280-11291.
- [17] Nielsen, F. H. (2014). Update on human health effects of boron. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(4), 383-387.
- [18] Chapin, R. E., Ku, W. W., Kenney, M. A., & McCoy, H. (1998). The effects of dietary boric acid on bone strength in rats. *Biological Trace Element Research*, 66(1), 395-399.
- [19] Güzel, Y., Golge, U. H., Goksel, F., Vural, A., Akcay, M.,

- Elmas, S., ... & Unver, A. (2016). The efficacy of boric acid used to treat experimental osteomyelitis caused by methicillin-resistant staphylococcus aureus: an in vivo study. *Biological Trace Element Research*, 173(2), 384-389.
- [20] Başaran, N., Duydu, Y., Bacanlı, M., Anlar, H. G., Aydın Dilsiz, S., Üstündağ, A., ... & Bolt, H. M. (2020). Evaluation of oxidative stress and immune parameters of boron exposed males and females. *Food and Chemical Toxicology*, 142, 111488.
- [21] Naghii, M. R., Mofid, M., Asgari, A. R., Hedayati, M., Daneshpour, M. S. (2011). Comparative effects of daily and weekly boron supplementation on plasma steroid hormones and proinflammatory cytokines. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 25(1), 54-58.
- [22] Acaroz, U., Ince, S., Arslan-Acaroz, D., Gurler, Z., Kucukkurt, I., Demirel, H.H., ... & Zhu, K. (2018). The ameliorative effects of boron against acrylamide-induced oxidative stress, inflammatory response, and metabolic changes in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 118, 745-752.
- [23] Olszta, M. J., Cheng, X., Jee, S. S., Kumar, R., Kim .Y., Kaufman, M. J., ... & Gower L. B. (2007). Bone structure and formation: A new perspective. *Materials Science & Engineering R: Reports*, 58(3-5), 77-116.
- [24] Oh, S. B., Lee, W. Y, Nam, H. K, Rhie, Y. J., & Lee, K. H. (2019). Serum osteocalcin levels in overweight children. *Annals of Pediatric Endocrinology & Metabolism*, 24(2), 104-107.
- [25] El-Tawab, S. S., Saba, E. K. A., Elweshahi, H. M. T., & Ashry, M. H. (2016). Knowledge of osteoporosis among women in Alexandria (Egypt): A community based survey. *The Egyptian Rheumatologist*, 38(3), 22-231.
- [26] De Fusco, C., Messina, A., Monda, V., Viggiano, V., Moscatelli, F., Valenzano, A., ... & Messina, G. (2017). Osteopontin: Relation between adipose tissue and bone homeostasis. *Stem Cells International*, 2017, 1-6.
- [27] Boyacioglu, O., Orenay-Boyacioglu, S., Yildirim, H., & Korkmaz, M. (2018). Boron intake, osteocalcin polymorphism and serum level in postmenopausal osteoporosis. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 48, 52-56.
- [28] Seaborn, C. D., Nielsen, F. H. (1994). Boron and silicon: Effects on growth, plasma lipids, urinary cyclic amp and bone and brain mineral composition of male rats. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 13(6), 941-947.
- [29] Zhu, D., Ansari, A.R., Xiao, K., Wang, W., Wang, L., Qiu, W., ... & Peng, K. (2021). Boron supplementation promotes osteogenesis of tibia by regulating the bone morphogenetic protein-2 expression in african ostrich chicks. *Biological Trace Element Research*, 199(4), 1544-1555.
- [30] Liu, Y. J., Su, W. T., Chen, P. -H. (2018). Magnesium and zinc borate enhance osteoblastic differentiation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth in vitro. *Journal of Biomaterials Applications*, 32(6), 765-774.
- [31] Ying, X., Cheng, S., Wang, W., Lin, Z., Chen, Q., Zhang, W., Kou, D., ... & Lu C. Z. (2011). Effect of boron on osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells. *Biological Trace Element Research*, 144(1-3), 306-315.