



### Acute toxicity of ethanol and protective role of boric acid in rat kidney tissue

Aleyna ÇALIŞKAN<sup>1</sup>, Tuğçe Gül GÜNEY<sup>\*1</sup>, Fatih KAR<sup>2</sup>, Ayşe ÇAKIR GÜNDOĞDU<sup>3</sup>, Cansu ÖZBAYER<sup>1</sup>  
ORCID: 0000-0002-2435-188X; 0000-0003-3033-0222; 0000-0001-8356-9806; 0000-0002-2466-9417; 0000-0002-1120-1874

<sup>1</sup>Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Bölümü, 43100, Kütahya, Türkiye

<sup>2</sup>Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, 43100, Kütahya, Türkiye

<sup>3</sup>Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Bölümü, 43100, Kütahya, Türkiye

#### Abstract

In this study, the potential protective effect of boric acid in the process of inducing oxidative stress on kidney tissue due to acute alcohol toxicity was evaluated by biochemical and histological examination methods. In the study, 250-300 gr. *Wistar albino* female rats aged 3-4 months, matched in weight, age and weight, were used. 28 female rats were used, seven animals in each group: control, ethanol, boric acid (BA) and ethanol + BA. Renal tissue samples were taken for histology and biochemistry. Kidney damage was assessed using hematoxylin and eosin (H&E) staining. At the same time, total antioxidant level (TAS), total oxidant level (TOS) and oxidative stress index (OSI) were measured to evaluate oxidative stress as biochemical markers. While TOS and OSI levels were significantly lower in the BA group compared to the ethanol group ( $p<0.05$ ), no statistically significant change was observed in the TAS level. In the ethanol-treated group, deterioration in tubule morphology occurred as a result of epithelial cells spilling into the lumen in H&E staining. In the boric acid administered group, the structure of the renal cortex was observed to be normal, similar to the control group. In the boric acid+ethanol group, dilatation was observed to be less than in the ethanol administered group with normal renal tubules. As acute ethanol toxicity increases, lipid peroxidation and oxidative stress increase. BA administration has been observed to reduce acute ethanol toxicity oxidative stress-induced kidney damage, as demonstrated by both biochemical parameters and histological results.

**Key words:** Boric acid, Acute ethanol consumption, Kidney, Oxidative stress

----- \* -----

### Sıçan böbrek dokusunda etanolün akut toksisitesi ve borik asitin koruyucu rolü

#### Özet

Bu çalışmada, akut alkol toksisitesine bağlı olarak böbrek dokusu üzerinde oksidatif stresin indüklenmesi ile geçen süreçte borik asidin potansiyel koruyucu etkisinin olup olamayacağı biyokimyasal ve histolojik inceleme yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Akut etanol toksisitesi arttıkça lipid peroksidasyonu ve oksidatif stresi arttırmaktadır. Çalışmada 250-300 gr. ağırlığında, yaşça ve ağırlıkça eşleşen 3-4 aylık *Wistar albino* cinsi dişi sıçanlar kullanılmıştır. Her grupta yedi hayvan olacak şekilde 28 dişi sıçan kullanıldı: kontrol, etanol, borik asit (BA) ve etanol + BA. Histoloji ve biyokimya için böbrek dokusu örnekleri alındı. Böbrek hasarı, hematoksilen ve eozin (H&E) boyaması kullanılarak değerlendirildi. Aynı zamanda, biyokimyasal belirteçler olarak oksidatif stresi değerlendirmek için total antioksidan seviyesi (TAS), total oksidan seviyesi (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) ölçüldü. BA grubunda TOS ve OSI seviyeleri etanol grubuna göre anlamlı olarak düşerken ( $p<0.05$ ), TAS seviyesinde istatistiksel olarak bir değişiklik gözlemlenmedi. Etanol uygulanan grupta, H&E boyamasında epitel hücrelerin lümene dökülmesi sonucu tübül morfolojisinde bozulma meydana geldi. Borik asit uygulanan grupta ise böbrek korteksinin yapısı kontrol grubuna benzer şekilde normal olarak gözlemlendi. Borik asit+etanol grubunda ise renal tübüllerin normal yapıda olduğu etanol

uygulanan gruba göre dilatasyonun daha az olduğu gözlemlendi. BA uygulaması, hem biyokimyasal parametreler hem de histolojik sonuçlarla gösterildiği gibi, akut etanol toksisitesi oksidatif stres indüklü böbrek hasarını azalttığı gözlemlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Borik asit, Akut etanol toksisitesi, Böbrek, Oksidatif stres

## 1. Giriş

Etanol (etil alkol), hem sistemik hem de merkezi sinir sistemi için toksik özelliklere sahip, yaygın olarak tüketilen bir organik çözücüdür [1]. Etanol toksisitesi ile ilgili çalışmaların süresi, 24 saat veya daha kısa bir süreyi kapsar ise akut toksisite, bir ay veya daha uzun süreyi kapsar ise kronik toksisite olarak adlandırılır [2]. Toksik özellikleri, akut doz aşımından sonra veya uzun süreli kronik tüketimden sonra ifade edilebilir [1]. Yapılan çalışmalar, etanol metabolizmasının aşırı miktarda serbest radikal oluşumuna yol açtığını ortaya koymaktadır [3]. Aerobik koşullarda, tüm biyolojik sistemler, ya dahili olarak ya da yan ürünler olarak üretilen oksidatif strese (OS) maruz kalır. Bu serbest radikallerin büyük çoğunluğu esas olarak oksijen radikalleri ve diğer reaktif oksijen türleridir (ROS) [4].

İyi bilinen ROS türleri; süperoksit iyonu ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikalidir ( $OH^{\bullet}$ ) [5]. Akut etanol toksisitesi, ROS oluşumu ile ilişkilendirilmiştir[1]. Hipotezimize göre, antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik özellikleri bilinen bor ve bor türevlerinin uygun dozlarda kullanıldığında toksik hasara karşı koruyucu etki sağlayabilir. Fizyolojik koşullarda üretilen ROS, hücre dışı savunma mekanizmaları tarafından tamamen inaktive edilir. Bu, normalde prooksidan (veya oksidan) ve antioksidan savunma sistemleri arasında bir denge olduğu anlamına gelir. Belirli patolojik ve toksik koşullarda, artan ROS üretimi ve/veya antioksidan savunma sisteminin tükenmesi, ROS aktivitesinin ve OS'nin artmasına neden olarak doku hasarına neden olur. Bu süreçlerde, böbrekte dahil olmak üzere çeşitli sistemik hastalıkların patogeneğinde yer almıştır. Hipertansiyon, diabetes mellitus, metabolik sendrom ve hiperkolesterolemi gibi çeşitli sistemik hastalıklar; enfeksiyon; antibiyotikler, radyoterapötik ve kemoterapötik ajanlar; çevresel toksinler, özellikle kurşun ve cıva gibi ağır metaller, radyasyon, sigara gibi zararlı kimyasallar ve ayrıca alkol tüketimi böbrek OS'sini indükler [6].

Etanol ve metabolitleri idrarla atılır ve idrardaki içeriği kan ve karaciğerden daha fazladır. Kronik alkol uygulaması renal tübül geri emilimini ve böbrek fonksiyonunu azaltır. Renal tübüllerin fonksiyonel anormallikleri, membran bileşiminde ve lipid peroksidasyonunda (LPO) etanolün neden olduğu değişikliklerle ilişkilendirilebilir [7]. Serbest radikallerin aracılık ettiği LPO, hücre zarı yıkımının ve hücre hasarının birincil mekanizması olarak kabul edilir. Ortaya çıkan oksidatif stres, artan LPO'nun, protein ve DNA gibi diğer önemli hücre bileşenlerinin yapı ve işlevindeki değişikliklerin bir nedenidir [5]. Böbrek, renal lipidlerin bileşimindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin bolluğu nedeniyle ROS'un neden olduğu hasara karşı oldukça hassas bir organdır [7]. Sonuç olarak, aşırı ROS üretimi ile membran ve enzim fonksiyonu zarar görebilir[8].  $O_2^{\bullet-}$ ,  $H_2O_2$  ve  $OH^{\bullet}$  gibi oksidanlara karşı koymak için hücreler, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) dahil olmak üzere çeşitli antioksidan enzimlere sahiptir [5]. Bu antioksidanlar ROS'u detoksifiye eder [8].

Bir diğer antioksidan aktiviteye sahip olan borik asit (BA), metabolik olayları desteklemek için bitkiler, insanlar ve hayvanlar için gerekli bir eser elementtir [9, 10]. BA monobaziktir ancak proton verici değildir. Bunun yerine, sudan bir hidroksil iyonu alan ve bir proton salan bir Lewis asidi gibi davranır. S adenoil metiyonin (SAM) ve oksitlenmiş nikotinamid adenin dinükleotid (NAD<sup>+</sup>) için yüksek afiniteye sahiptir. BA, hidroksil grubu içeren glikolipidler, glikoproteinler ve fosfoinosititler ile kompleksler oluşturur. Bor ağızdan alındığında kan dolaşımına hızlı ve eksiksiz bir şekilde girer. İdrarla atılım oranı ~%100'dür [11, 12].

Bu çalışmanın amacı akut alkol toksisitesine bağlı olarak böbrek dokusu üzerinde oksidatif stresin indüklenme ile geçen süreçte borik asidin potansiyel koruyucu etkisinin olup olamayacağını araştırmaktır.

## 2. Materyal ve yöntem

### 2.1. Araştırma Yeri ve Laboratuvar Hayvanları

Çalışmada 250-300 gr. ağırlığında, yaşça ve ağırlıkça eşleşen 3-4 aylık *Wistar albino* cinsi dişi sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi (KSBÜ) Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Uygulama Birimi (DEHYUB)'nden sağlandı ve burada deney öncesi ve süresince serbest yem ve su ile beslenerek barındırıldı.(Karar No:2021.06.01)

Sıçanlar, geleneksel laboratuvar hayvanı bakım koşulları (kontrollü sıcaklık ( $21 \pm 2$  °C), nem (%  $50 \pm 5$ ), hava değişimi (döngü), polikarbonat kafeslerde (kafes başına 3–4 sıçan), 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde barındırıldı.

Tüm deneysel işlemler sıçanların sirkadyan ritmine (12 saat aydınlık: 12 saat karanlık) uygun olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Sıçanlar, dört deneysel gruba ayrıldı ve her grupta yedi hayvan olacak şekilde düzenlendi:

**Grup 1: Kontrol Grubu**

Bu grupta bulunan sıçanlara herhangi bir işlem uygulanmadı. Bu sıçanlar deney süresince serbest yem ve su ile beslendi ve deney süresi sonunda ketamin ve ksilazin anestezisi altında sakrifiye edildi (n=7).

**Grup 2: Etanol Grubu**

Tek doz 1ml %75 etanol bir gavaj kanülü kullanılarak oral yolla verildi. Etanol uygulamasından 1 saat sonra sıçanlar ketamin ve ksilazin anestezisi altında sakrifiye edildi (n=7).

**Grup 3: Borik Asit Grubu**

Bu grupta bulunan sıçanlara oral yolla 100 mg kg<sup>-1</sup> dozunda borik asit verildi ve 30 dakika deney süresi sonunda ketamin ve ksilazin anestezisi altında sakrifiye edildi (n=7).

**Grup 4: Etanol + Borik Asit Grubu**

Bu grupta bulunan sıçanlara 100 mg kg<sup>-1</sup> dozunda borik asit ve 30 dakika sonra tek doz 1ml %75 etanol bir gavaj kanülü kullanılarak oral yolla verildi. Etanol uygulamasından 1 saat sonra sıçanlar ketamin ve ksilazin anestezisi altında sakrifiye edildi (n=7).

**Borik Asit Uygulanması ve Uygulama Biçimi**

100 mg kg<sup>-1</sup> Borik asit 1 ml suda çözülerek gavaj yoluyla uygulandı [13].

**2.2. Deneylerin Sonlandırılması**

Deneysel sürenin bitiminde sıçanlar yüksek doz anestezi (90 mg kg<sup>-1</sup> ketamine ve 5 mg kg<sup>-1</sup> ksilazin) altında diseksiyon gerçekleştirildi ve intrakardiyak olarak kalpten bütün kanın alınması (eksanguinasyon) ile yaşamları sonlandırılarak böbrek dokusu alındı.

**2.3. Histolojik İnceleme**

Histolojik incelemeler KSBU Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Histoloji ve Embriyoloji A.D. Laboratuvarında bulunan etüv ve doku takip ekipmanları ile yapıldı ve aşağıdaki yöntemler takip edildi. Mikroskopik değerlendirmede KUYAM laboratuvarında bulunan Nikon Eclipse 80i ışık mikroskop kullanıldı.

**2.3.1 Hematoksilen-eozin boyama yöntemi**

Sıçanların beyin örnekleri, ışık mikroskopik düzeyde histolojik incelemelerinin yapılabilmesi için %10'luk formalin fiksatifine alınarak 48 saat süre ile fiksasyonları sağlandı. Fiksasyonları sağlanan örnekler fiksatifin çökmesini engellemek amacıyla 3-4 saat çeşme suyunda yıkandı. Çeşme suyuyla yıkanan doku parçaları daha sonra sırasıyla kademeli olarak %70'lik, %80'lik, %90'lık ve %96'lık alkol serilerinde 45'er dakika bekletilerek dehidratasyonları sağlandı. Dehidratasyonlarının ardından örnekler şeffaflandırılmak üzere 2 kez 20'şer dakika ksilolde bekletildi. Örneklerin şeffaflaşmalarının ardından etüv içinde 65C'de eritilmiş parafinlere alınarak 60 dakika süreyle üç ayrı parafinde bekletildi. Parafinize edilen dokular ayrı ayrı parafin içeren kasetlere gömülerek bloklandı ve kesit alınmaya hazır duruma getirildi. Parafin bloklardan kesitlerin alınmasında kullanılacak mikrotom bıçağı buzdolabında soğutulularak, mikrotom aracılığı ile her bir örnekten 5'er mikrometre kalınlığında doku kesitleri alındı. Kesitlerin 45C'de su banyosunda açılmaları sağlanarak temiz lamalar üzerine alınmasından sonra etüv içinde 1 saat süre ile bekletilmeleri sağlandı. Preparatlar 1'er saat süre ile iki ayrı ksilolde tutulup deparafinizasyonları sağlandıktan sonra boyama aşamasına geçildi. Kesitlerin boyanmasında Hematoksilen-Eosin ikili boyası kullanıldı. Deparafinizasyonu yapılmış olan doku kesitleri 5'er dakika süreyle %96, %90, %80, %70'lik alkollerde ve distile suda bekletildi. Kesitler Hematoksilen ile 2 dakika ve Eosin ile 10 dakika boyandı. Çeşme suyu ile fazla boyası alınan kesitler hızla alkol serilerinden geçirilip dehidratasyonları sağlandı. Dokular iki ayrı ksilolde 30'ar dakika tutularak şeffaflaştırıldı. Şeffaflaşan dokular daha sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapıldı ve beyin örneklerini içeren tüm preparatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğrafları çekildi.

**2.4. Biyokimyasal Analizler**

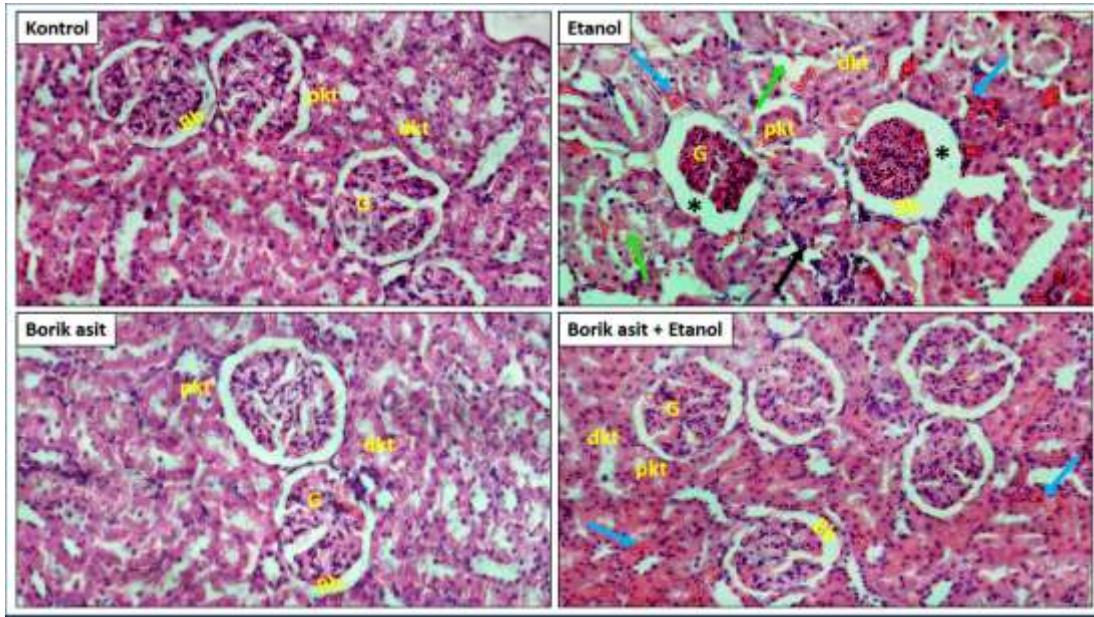
Tüm gruplardan elde edilen böbrek dokuları yaklaşık 0.1 g tartılarak soğuk PBS solüsyonunda homojenize edildi. Dokuların parçalanmasında zirkonyum boncuk kullanıldı. Daha sonra homojenat 5000 rpm x5 dakika boyunca santrifüj edildi. Süpernatant kısmından etanol kaynaklı toksisitenin oluşturduğu oksidatif stres hasarını göstermek için ticari olarak kullanılan ELISA kitleriyle (RelAssay Total Oxidant Status (TOS), RelAssay Total Antioxidant Status (TAS)) analizler gerçekleştirildi. TOS ölçüm sonuçları 530nm ve TAS ölçüm sonuçları 660nm dalga boyuna ayarlanmış termomultiscan mikroplate okuyucudan elde edildi. TAS ve TOS sonuçları sırasıyla mmol Trolox Equiv/L ve µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equiv./L olarak ifade edildi.

## 2.5. İstatistiksel analiz

Tüm deneysel işlemler sonrasında ölçülen parametrelerden elde edilen datalar GraphPadPrism 7 istatistik programı kullanılarak analiz edilmiştir. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak sunulmuştur. Normal olarak dağıtılan veriler, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak değerlendirilmiş ve çoklu karşılaştırmalar Tukey post-hoc testi ile analiz edilmiştir. \* $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## 3. Bulgular

Kontrol grubu Hematoksilen-Eozin boyamalarında, böbrek korteksinde renal korpuskül glomerüler kapiller ve Bowman kapsülü ile normal yapısında izlendi. Bowman boşluğu ve tek katlı yassı epitel yapısı ile Bowman kapsülünün paryetal yaprağı normal morfolojik özellik sergiliyordu. Böbrek cisimciği çevresinde nefrona ait proksimal tübüller eozinofilik yapısı ile, distal tübüller ise daha zayıf boyanmış özellikleri ile belirgindi. Peritübüler kapillerler olağan görünümünde idi. Borik asit uygulanan gruptaki sıçanlarda, kontrol grubuna benzer şekilde böbrek korteksi normal yapıdaydı. Etanol uygulanan grupta glomerüler büzülme ve buna bağlı olarak Bowman boşluğundaki genişleme bu grubun en dikkat çekici özelliği idi. Epitelyal hücrelerin lümen içerisine dökümleri sonucu proksimal ve distal tübüllerin yapısında bozulmalar meydana geldiği görüldü. Peritübüler kapillerlerde yoğun ve yaygın dilatasyon, bu grubun diğer bir belirgin bulgusuydu. Ayrıca bu gruba ait bazı dokularda inflamatuvar hücre infiltrasyonuna rastlandı. Borik asit + etanol grubunda ise böbrek korteksi kontrol ve borik asit grubuna benzer bir histolojik yapı sergiledi. Renal korpuskül ve tübüller normal yapıdaydı. Peritübüler kapillerlerde dilatasyon görüldü fakat yalnızca etanol uygulanan gruba kıyasla daha azdı. (Şekil 1).

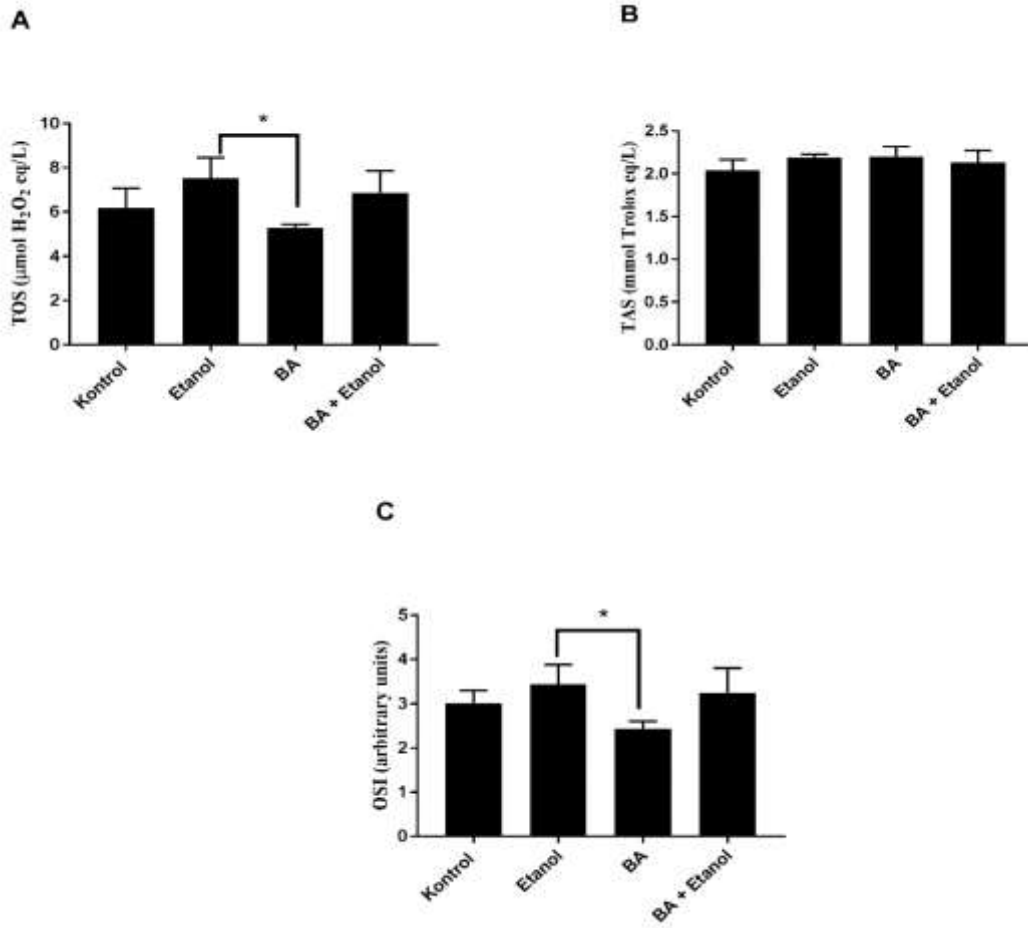


Şekil 1. Böbrek dokusuna ait Hematoksilen-Eozin boyama görüntüleri. Kontrol ve borik asit grubunda böbrek korteksinin normal histolojik yapısı izleniyor. Etanol uygulanan grupta glomerüllerin büzülmesine bağlı olarak Bowman boşluğunda genişleme (\*), tübül yapısında bozulma (yeşil ok), peritübüler kapillerlerde dilatasyon (mavi ok) ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu (siyah ok) görülüyor. Borik asit+ etanol grubunda normal yapıdaki renal korpusküller ve tübüllerin yanında peritübüler kapiller dilatasyonu izleniyor. G: glomerül; Bb: Bowman boşluğu; pkt: proksimal kıvrıntılı tübül; dkt: distal kıvrıntılı tübül. Hematoksilen-Eozin, x200

Akut toksisitenin neden olduğu oksidatif stresin total durumunu göstermek için gerçekleştirilen analizlerde; etanol grubu için TOS seviyesi ( $7.52 \pm 0.93$ ), kontrol ( $6.17 \pm 0.89$ ) ve BA+Etanol ( $6.87 \pm 0.97$ ) gruplarına kıyasla daha yüksekti. Borik asit uygulamasıyla TOS seviyesi, etanol grubuna göre anlamlı olarak yaklaşık %30 civarında azaldı ( $p < 0.05$ ) (Şekil 2A).

Kontrol ( $2.04 \pm 0.12$ ), Etanol ( $2.18 \pm 0.03$ ), BA ( $2.19 \pm 0.11$ ) ve BA+Etanol ( $2.13 \pm 0.13$ ) grupları için TAS seviyeleri benzerdi. İstatistiksel olarak bu gruplardaki TAS seviyeleri anlamlı değildi (Şekil 2B).

Etanol grubu için OSI düzeyi ( $3.43 \pm 0.44$ ), kontrol ( $3.01 \pm 0.28$ ) ve BA+Etanol ( $3.23 \pm 0.56$ ) gruplara göre daha yüksekti. BA'nın ( $2.42 \pm 0.17$ ), etanol toksisitesinin neden olduğu oksidatif stresi istatistiksel olarak azalttığı tespit edildi ( $p < 0.05$ ) (Şekil 2C).



Şekil 2. Akut etanol toksisitesinin neden olduğu böbrek hasarında oksidan-antioksidan durum: A) total oksidan seviyeleri (TOS), B) total antioksidan seviyeleri (TAS), C) oksidatif stres indeksi (OSI). Tüm veriler ortalama  $\pm$  SD olarak ifade edildi ve tek yönlü ANOVA kullanılarak analiz edildi \* $p < 0.05$

#### 4. Sonuçlar ve Tartışma

Etanol böbrek üzerinde hem doğrudan hem de dolaylı etkiler gösterebilir. Doğrudan etki, etanolün neden olduğu artan membran akışkanlığı nedeniyle hücre içeriğinin hücreler arası alana difüzyonuyla sonuçlanır [8, 14]. Etanol böbrek tübüllerine zarar verir; etanolün kronik kullanımı böbreklerde oksidatif strese neden olur. Oksidatif stresin neden olduğu lipid oksidasyonu nedeniyle hücre zarlarında bozulma meydana gelir [15]. Ortaya çıkan oksidatif stres, artan LPO, protein ve DNA gibi diğer önemli hücresel bileşenlerin yapı ve işlevindeki değişikliklerin bir nedenidir [5]. Oksidatif ve oksidatif olmayan metabolizma, alkolün dolaylı etkileri ile ilişkilidir. Oksidatif etanol metabolizmasının bir yan ürünü olarak üretilen asetaldehit, mitokondri ve restoratif enzimleri bozan protein eklentileri oluşturur ve ROS oluşumuna neden olur [16]. Oksidatif stres, hücresel düzeyde oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengesizliği ifade eder [17].  $O_2^{\bullet-}$ ,  $H_2O_2$  ve  $OH$  gibi oksidanlara karşı koymak için hücreler, SOD, GPx ve CAT dahil olmak üzere çeşitli antioksidan enzimlere sahiptir [5]. Bu antioksidanlar ROS'u detoksifiye eder [8]. Gösterilen çalışmalarda etanolün oksidatif stresi indüklediği araştırma sonuçlarımızda paralellik göstermiştir.

Bor (B), metal olmayan bir elementtir ve vücuda alındıktan sonra sindirilmesi borik asit halindedir. Borik asit, hidroksil grupları sayesinde biyomoleküller ile etkileşebilmektedir [22]. BA, insan ve hayvanlarda metabolizma için gereklidir [18]. Kemirgenlerde kısa süreli ( $\leq 1$  ay)  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  BA takviyesinin toksik yan etki oluşturmadığı bildirilmiştir.  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  BA'nın oksidatif hasarı azalttığı tespit edilmiştir [8, 9, 19]. Bu nedenle araştırmamızda bu doz seçilmiştir. BA'nın oksidatif hasara karşı koruyucu mekanizması tam olarak anlaşılmasından dolayı; sinyal yolları üzerinde araştırmalar devam etmektedir [20].

Kronik etanol maruziyeti oksidatif strese neden olur, çünkü hücre içi antioksidan savunma sistemi artan ROS'u dengelemek için yetersizdir. Dulger ve arkadaşları (2020), çalışmalarında bu bulgulara uyumlu olarak, kronik etanol

tüketiminin MDA, TOS ve OSI düzeylerini arttırdığı göstermiştir. [21]. Yaptığımız çalışmada, akut olarak etanol tüketiminde böbrek dokusunda TOS düzeyi anlamlı olarak arttığından, etanolün oksidatif stresi indüklediğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda BA dozları TOS ve OSI düzeyini düşürürken TAS düzeyinde anlamlı olarak bir bulgu elde edilememiştir. BA, TOS ve OSI seviyesini düşürdüğü için, sıçanlarda oksidatif stresi ve etanolün neden olduğu hasarı azaltmada BA'nın etkili olduğu tahmin edilmektedir. Etanol uygulanan grupta H&E boyamasında, yaygın dilatasyon ve epitel hücrelerin lümenine dökülmesi sonucu tübül morfolojisinde bozulmalar meydana geldiği görüldü. Latchoumycandane ve ark. etanol alımının lipid oksidasyonunu artırdığını, lökosit infiltrasyonunu indüklediğini ve böbrek tübül epitelyumuna ve işlevine zarar verdiğini bildirdi [15]. Bu tür hasarların hepsini etanol grubunda gözlemledik. BA uygulanan grupta ise kontrol grubuna benzer şekilde böbrek korteksinin morfolojisinin kontrol grubuna benzer şekilde normal olduğu gözlemlendi. BA+Etanol grubunda ise renal korpuskül ve tübüllerin normal yapısında olduğunu, etanol uygulanan gruba göre dilatasyonun daha az olduğunu gözlemledik.

Borik asit'in, hem biyokimyasal parametreler hem de histolojik sonuçlarla gösterildiği gibi, akut etanol tüketiminde oksidatif stres indüklü böbrek hasarını azalttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, Borik asidin böbrek ve diğer organlar üzerinde olan etkisi üzerine yapılacak ileri çalışmalara ışık tutacaktır.

### Teşekkür

Bu çalışma, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından "FBA-2021-88" kodlu proje ile desteklenmiştir.

### KAYNAKLAR

- [1] Bondy, S. C. (1992). Ethanol toxicity and oxidative stress. *Toxicology letters*, 63(3), 231-241.
- [2] French, S. W. (1971). Acute and chronic toxicity of alcohol. In *The biology of alcoholism* (pp. 437-511). Springer, Boston, MA.
- [3] Scott, R. B., Reddy, K. S., Husain, K., Schlorff, E. C., Rybak, L. P., & Somani, S. M. (2000). Dose response of ethanol on antioxidant defense system of liver, lung, and kidney in rat. *Pathophysiology*, 7(1), 25-32.
- [4] Bashan, N., Kovsan, J., Kachko, I., Ovadia, H., & Rudich, A. (2009). Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species. *Physiological reviews*.
- [5] Sivapiriya, V., & Venkatraman, S. (2006). Effects of dimethoate (O, O-dimethyl S-methyl carbamoyl methyl phosphorodithioate) and ethanol in antioxidant status of liver and kidney of experimental mice. *Pesticide biochemistry and physiology*, 85(2), 115-121.
- [6] Ozbek, E. (2012). Induction of oxidative stress in kidney. *International journal of nephrology*, 2012.
- [7] Rodrigo, R., & Rivera, G. (2002). Renal damage mediated by oxidative stress: a hypothesis of protective effects of red wine. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(3), 409-422.
- [8] Sogut, I., Oglakci, A., Kartkaya, K., Ol, K. K., Sogut, M. S., Kanbak, G., & Inal, M. E. (2015). Effect of boric acid on oxidative stress in rats with fetal alcohol syndrome. *Experimental and therapeutic medicine*, 9(3), 1023-1027.
- [9] Ince, S., Kucukkurt, I., Cigerci, I. H., Fidan, A. F., & Eryavuz, A. (2010). The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 24(3), 161-164.
- [10] Ince, S., Keles, H., Erdogan, M., Hazman, O., & Kucukkurt, I. (2012). Protective effect of boric acid against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. *Drug and chemical toxicology*, 35(3), 285-292.
- [11] Nielsen, F. H. (2008). Is boron nutritionally relevant?. *Nutrition reviews*, 66(4), 183-191.
- [12] Kar, F., Hacıoğlu, C., Özkoç, M., Üstünışık, N., Bütün, A., Uslu, S., & Kanbak, G. (2018). The new perspective neuroprotective effect of boric acid against ethanol-induced oxidative damage on synaptosome. *Journal of Applied Biological Sciences*, 12(2), 28-33.
- [13] Al-Shabanah, O. A., Al-Harbi, M. M., Al-Bekairi, A. M., Raza, M., & Qureshi, S. (2002). A study of boric acid pretreatment on the protection of gastric mucosa against toxic damage in wistar albino rats. *Arab Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 11-26.
- [14] Niemelä, O. (2001). Distribution of ethanol-induced protein adducts in vivo: relationship to tissue injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(12), 1533-1538.
- [15] Latchoumycandane, C., Nagy, L. E., & McIntyre, T. M. (2014). Chronic ethanol ingestion induces oxidative kidney injury through taurine-inhibitable inflammation. *Free Radical Biology and Medicine*, 69, 403-416.
- [16] Sogut, I., & Kanbak, G. (2010). In vitro effects of ethanol with aspirin on rat brain synaptosomes: the potential protective role of betaine. *International Journal of Neuroscience*, 120(12), 774-783.
- [17] Sies, H. (1986). Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 25(12), 1058-1071.

- [18] Kucukkurt, I., Ince, S., Demirel, H. H., Turkmen, R., Akbel, E., & Celik, Y. (2015). The Effects of Boron on Arsenic- Induced Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Male and Female Rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 29(12), 564-571.
- [19] Sogut, I., Paltun, S. O., Tuncdemir, M., Ersoz, M., & Hurdag, C. (2018). The antioxidant and antiapoptotic effect of boric acid on hepatotoxicity in chronic alcohol-fed rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 96(4), 404-411.
- [20] Hunt, C. D. (2012). Dietary boron: progress in establishing essential roles in human physiology. *Journal of trace elements in medicine and biology*, 26(2-3), 157-160.
- [21] Cikler-Dulger, E., & Sogut, I. (2020). Investigation of the protective effects of boric acid on ethanol induced kidney injury. *Biotechnic & Histochemistry*, 95(3), 186-193.
- [22] Hacıoğlu, C., Kar, F., Şenturk, H. (2018). Renalkemi/reperfüzyona yönelik olarak karşı borik asitlere yönelik uygulamalar ve lipit profiline yönelik olarak uygulanır. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma* , 11 (2), 76-81.