

Bor sitrat uygulanan ratların serum ve plazmalarında bor tayini

Ömer Faruk Koçak¹, Alptuğ Atıla^{2,*}, Zekai Halıcı³, Mevlüt Albayrak⁴

¹Atatürk Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojileri Bölümü, Erzurum, 25240, Türkiye

²Atatürk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Erzurum, 25240, Türkiye

³Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Erzurum, 25240, Türkiye

⁴Atatürk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Erzurum, 25240, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Makale Geçmişi:

İlk gönderi 24 Şubat 2022

Kabul 3 Mayıs 2022

Online 30 Haziran 2022

Araştırma Makalesi

DOI: 10.30728/boron.1078402

Anahtar kelimeler:

Bor sitrat
ICP-MS
Plazma
Rat
Serum

ÖZET

Bor, hayvan ve insan biyolojisi için çok önemli olan dinamik bir eser elementtir. Bor sitrat, borun metabolizmaya alımındaki en yaygın formlardan biridir. Bu çalışmada oral olarak bor sitrat uygulanan ratların hem plazmalarında hem de serumlarında ICP-MS yöntemi ile bor miktarı tayin edilmiştir. Oral olarak 20 mg/kg bor sitrat uygulanan ratlardan farklı zamanlarda alınan serum ve plazma numunelerindeki bor konsantrasyonları tayin edilerek zamana göre değişim grafiği incelenmiştir. Bor sitrat uygulandıktan 0,25 saat sonra serum ve plazma bor seviyesinin maksimuma ulaştığı ve 6 saat sonra bor seviyesinin normal plazma ve serum seviyesine indiği görülmüştür. Bu çalışmanın bor analizleri ve borun farmakokinetik özellikleri açısından temel teşkil edeceğini düşünmekteyiz.

Boron determination in serum and plasma of rats administered boron citrate

ARTICLE INFO

Article History:

Received February 24, 2022

Accepted May 3, 2022

Available online June 30, 2022

Research Article

DOI: 10.30728/boron.1078402

Keywords:

Boron citrate
ICP-MS
Plasma
Rat
Serum

ABSTRACT

Boron is a dynamic trace element that is very important for animal and human biology. Boron citrate is one of the most common forms of boron uptake into metabolism. In this study, the amount of boron was determined by ICP-MS method in both plasma and serum of rats administered boron citrate orally. Boron concentrations in serum and plasma samples taken at different times from rats administered orally 20 mg/kg boron citrate were determined and the graph of change over time was examined. It was observed that the serum and plasma boron levels reached the maximum 0.25 hours after boron citrate was applied, and the boron level decreased to normal plasma and serum levels after 6 hours. We think that this study will form the basis for boron analysis and pharmacokinetic properties of boron.

1. Giriş (Introduction)

Bor, hayvan ve insan biyolojisi için çok önemli olan dinamik bir eser elementtir. Bor, esas olarak okyanuslarda ve topraklarda inorganik boratlar formunda bulunur ve kendiliğinden birleşen RNA molekülünün önemli bir bileşeni olan ribozu stabilize eder [1]. Borun fizyolojik miktarları, büyüme ve gelişme ile ilgili çeşitli maddelerin metabolizmasını ve tüketimini değiştirebilir [2]. Bu nedenle bor, genellikle deri, beyin, iskelet yapısı, sindirim ve bağışıklık sistemleri dahil olmak üzere çeşitli organları ve vücut sistemlerini etkiler. Bor, omurgalılar-

da benzersiz bağlanma ve yapısal özellikleri için gereklidir [3]. Hayvanlarda yapılan çalışmalarda, borun bu özelliğinin artrit, osteoporoz ve koroner kalp hastalığı gibi belirli koşulları hafifletmeye yardımcı olduğu belirtilmiştir [4,5]. Yapılan çalışmalar incelendiğinde, borun mineral ve steroid hormon metabolizmasını düzenlediği [6], kemik gelişimine katkıda bulunduğu [7-9], antioksidan etki gösterdiği [10], immün sistemi güçlendirdiği, enerji metabolizmasını düzenlediği [11], yara iyileşmesini hızlandırdığı [12], kanser riskini azalttığı [13], zihinsel performansı artırdığı [14], anemiyi

*Corresponding author: alptug@atauni.edu.tr

düzeltiltiği [15] ve kilo alımını azalttığı [16] görülmüştür.

Bor sitrat borun metabolizmaya alımında sodyum borat, bor glisinat ve bor aspartatla birlikte en yaygın formlarındandır. Bor bileşiklerinin hepsi vücuda girdikten sonra vücut sıvılarından pasif difüzyon ile absorbe edilen borik asite dönüşür [17]. Borik asit kendi kendine metabolizmaya dahil olamaz ancak idrardan değişime uğramadan elimine edilir. Aynı zamanda ter, safa ve solunum da borun elimine edilmesine yardımcı olmaktadır. İlave olarak alınan borun fazlasının kemiklerde depolandığı bilinmektedir [18]. Ayrıca kalsiyum, D vitamini ve magnezyum ile etkileşimi nedeniyle farklı organlar için faydalıdır. Bu nedenle boratlar, farklı diyet takviyeleri ve ilaçlarda endüstriyel ölçekte kullanılmaktadır [1,19,20]. Ancak yüksek dozda ki borun, farklı hayvanlarda ve insanlarda hücre hasarını ve toksisiteyi ortaya çıkardığı ve farklı hayvanlarla ilgili daha fazla çalışmanın optimum bor seviyesini belirlemek için gerekli olduğu bildirilmiştir [1].

Yapılan literatür araştırmalarında, organ ve dokularda [21], plazmada [22,23], serumda [24,25] ve idrarda [26,27] bor seviyesinin incelenmesi ile ilgili birkaç çalışmaya rastlanmıştır. Ancak, bu çalışmalarda vücudumuza borun alım formlarından biri olan bor sitrat uygulaması sonucu biyolojik materyallerde bor ölçümüne dayalı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Sonuç olarak; bu çalışmada oral olarak bor sitrat uygulanan ratların hem plazmalarında hem de serumlarında ICP-MS yöntemi ile bor miktarı tayin edilmiş ve oral olarak 20 mg/kg bor sitrat uygulanan ratlardan farklı zamanlarda alınan serum ve plazma numunelerindeki bor konsantrasyonları tayin edilerek zamana göre değişim grafiği incelenmiştir.

2. Malzemeler ve Yöntemler (Materials and Methods)

2.1. Reaktifler ve Kimyasallar (Reagents and Chemicals)

Hidrojen peroksit (%30), hidroklorik asit (%36,5-38,0) ve Nitrik asit (%69,0-70,0) Merck, Almanya'dan temin edilmiştir. Tüm standartları ve numuneleri hazırlamak için bir Millipore Direct-Q-UV su arıtıcısından elde edilen (Millipore) ultra saf su (25°C'de 18.2 MΩ.cm) kullanılmıştır. Argon plazma gazı ve helyum çarpışma gazının saflığı %99,999'dur.

2.2. Deney Hayvanları (Experiment Animals)

Bu çalışmada 200-210 g ağırlığında 60 adet Sprague-Dawley cinsi erkek rat kullanılmıştır. Deneyler, Deney Hayvanları Eğitim ve Araştırma Merkezi Etik Kurulu tarafından onaylanan etik normlara göre gerçekleştirilmiştir (No: 75296309-050.01.04-E.2000163505). Ratlar, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (ATADEM) temin edilmiştir. Doğal bir aydınlık ve karanlık döngüsü altında standart laboratuvar koşullarında tutulmuşlardır. Hayvanlara su

verildi ve normal bir diyetle beslenmişlerdir. Ratlar 10 gruba bölünüp (gruplar ratların kanlarının toplandığı saate göre belirlenmiştir, her bir grup 6 rattan oluşmaktadır, bir grup kontrol (0. saat) grubudur) oral olarak bor sitrat (20 mg/kg) içeren tablet verilmiştir. Ratların kanları 0; 0,25; 0,50; 0,75; 1; 3; 6; 12; 24 ve 48. saatte toplanmıştır. Serum eldesi için jel içeren tüplere, plazma eldesi için Etilendiamin tetraasetik asit'li (EDTA) tüplere aktarılmıştır. 3000 rpm'de 15 dk santrifüj yapıldıktan sonra üst fazlar ICP-MS sistemi ile analiz yapılmaya kadar -80°C'de saklanmıştır.

2.3. Numune Hazırlama (Sample Preparation)

Serum ve plazma örneklerinden 0,5 ml alınarak teflon kaplar içerisine aktarılmıştır. Üzerlerine 9 ml HNO₃ ve 1 ml H₂O₂ çözeltisi ilave edildikten sonra sistemi oluşturan kaplar ve segmentler kapatılarak mikrodalgaya yerleştirildi. 15 dakika 150°C T1 sıcaklığı, 15 dakika 190°C T2 sıcaklığa ayarlı sistemde bozundurma işlemi yapıldı (1800 MW). Bozundurma sonucunda 10 ml olan örnekler 5 ml ultra saf su ilave edilerek seyreltildi. Örnekler 0,45 µm filtre kullanılarak filtrelendi ve cihaza ikinci bir seyreltilme yapılmadan verilerek analiz yapıldı. Her bir analiz 3 farklı ölçümün ortalaması alınarak hesaplandı.

2.4. Enstrümantasyon (Instrumentation)

Çözeltide bulunan elementlerin konsantrasyonlarının belirlenmesinde "İndüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS-Agilent 7800 serisi, Agilent Teknolojileri, Japonya)" kullanıldı. Analize başlamadan önce cihaza, helyum gazı ile 45 dakika süre ile arındırma işlemi yapıldı. Cihaz parametreleri ayarlandıktan sonra cihaz aktifleştirildi (Tablo 1). Daha sonra ayarlama solüsyonu (1µg/L Ce, Co, Li, Mg, Ti, Y) ile cihazın kalibrasyon işlemi gerçekleştirildi. Ayarlama işlemi sonucunda alınan değerler kontrol edilerek cihazda herhangi bir sapmanın olup olmadığı belirlendi. Otomatik örnekleyici ve boru sistemi %2'lik HNO₃ ve ultra saf suyla, sonda kısmı %1'lik HCl çözeltisi ile yıkanarak bir sonraki enjeksiyon için hazır hale getirildi.

Tablo 1. ICP-MS çalışma koşulları (ICP-MS operation conditions).

Parametreler	
Radyo frekans gücü (W)	1200
Örnek alım hızı (mL/dk)	0,40
Ar Plazma gazı akış hızı (L/dk)	15
Ar Yardımcı gaz akış hızı (L/dk)	1
Taşıyıcı gaz akış hızı (L/dk)	1
He akış hızı (mL/dk)	4,3
Düzenleme/seyreltme gazı (L/dk)	1
Nebulizatör pompa hızı (rps)	0,30
Taşıyıcı gaz basıncı (kPa)	1,45
Analiz edilen element	Bor

LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 1,398 ve 4,659 olarak belirlendi. Ölçümlerin hesaplanması için "Mass Hunter 4.2 Workstation Software 7800 ICP-MS Top C.01.02" yazılımı kullanıldı.

3. Sonuçlar ve Tartışma (Results and Discussion)

Bu çalışmada bor sitrat uygulanan ratların hem serumlarında hem de plazmalarında ayrı ayrı bor seviyesi ölçülmüştür. Çalışmada kontrol grubu olarak bor sitrat verilmeyen ratlar kullanılmıştır. Canlılar esansiyel olarak farklı ortamlardan bor aldıkları için serumlarında ve plazmalarında bor tespit edilmiştir (serum, plazma: 97,68 ppb, 187,32 ppb). 0,25; 0,50; 0,75; 1; 3; 6; 12; 24 ve 48. saatte toplanan kanlardan elde edilen hem serumda hem de plazma bor elementine ait miktarlar ppb olarak aşağıdaki tabloda sunulmuştur (Tablo 2).

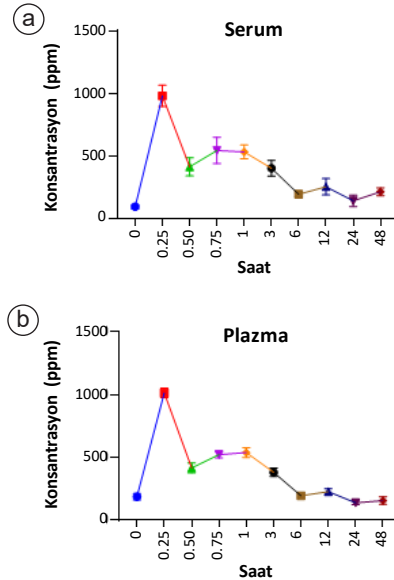
Tablo 2. Bor sitrat uygulanan ratların serum ve plazmalarında borun farmakokinetik dağılımı. (Pharmacokinetic distribution of boron in serum and plasma of rats administered boron citrate).

Saat	Serum (ppm)	Plazma (ppm)
0	97,68 ± 16,73	187,32 ± 25,09
0,25	980,52 ± 85,11	1012,53 ± 38,57
0,50	415,09 ± 71,83	415,94 ± 38,60
0,75	546,11 ± 104,25	521,81 ± 25,92
1	534,91 ± 54,89	537,97 ± 38,64
3	404,36 ± 61,87	381,08 ± 32,85
6	197,12 ± 20,08	193,89 ± 10,21
12	257,42 ± 65,05	227,34 ± 22,07
24	144,69 ± 44,70	138,34 ± 14,12
48	216,54 ± 31,46	155,49 ± 30,07

Burada görüldüğü gibi bor sitrat uygulandıktan sonra 0,25. saatte bor serum ve plazma seviyesi pik yapmış vücuttan atılımı ile zamana bağlı olarak düşmüştür. 6. saatten sonra bor seviyesi kontrol grubunun seviyesine yaklaşmıştır (Şekil 1).

Borun kalsiyum, D vitamini ve bazı minerallerin düzenlenmesinde büyük önemi vardır. Ca ve Mg kayıplarını azaltarak bağ yapısını korur. İn vitro, hayvan ve insan deneyleri, borun belirli konsantrasyonlarda biyoaktif ve faydalı olabilen bir element olduğunu göstermiştir [4,10]. Ancak yüksek dozda ki borun, farklı hayvanlarda ve insanlarda hücre hasarını ve toksisiteyi ortaya çıkardığı ve farklı hayvanlarla ilgili daha fazla çalışmanın optimum bor seviyesini belirlemek için gerekli olduğu bildirilmiştir [1]. Borun bildirilen faydalı etkileri arasında merkezi sinir sistemi fonksiyonunu ve bağışıklık tepkisini güçlendirmek, artritli semptomları ve iltihabı hafifletmek, oksidatif stresi modüle etmek ve hormon hareketini kolaylaştırmak yer alır. Dahası, kemik büyümesi ve bakımı ile ilişkilidir [28]. Borun sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin yanı sıra, vücut sıvılarında artan bor düzeylerinin olumsuz etkilere sahip olabileceği de

belirtilmiştir. Bor, düşük akut toksisite sergiler. Bununla birlikte, tekrarlanan doz çalışmaları, borun hem doğurganlığı hem de gelişimi bozabileceğini göstermiştir; erkek üreme sistemi, sıçan, fare ve köpek gibi bazı hayvan türlerinde toksik etkileri nedeniyle hedef olarak tanımlanmıştır. Bor, Avrupa Kimyasallar Ajansı tarafından üreme için toksik olarak kabul edilmiştir [29]. Bu durum alınan bor miktarı ile serum ve plazma bor konsantrasyonlarının nasıl değiştiğini ortaya koymanın zorunluluğunu göstermektedir.



Şekil 1. Ratların plazma ve serumlarındaki bor konsantrasyonlarının zamana göre değişimi (Time variation of boron concentrations in plasma and serum of rats).

Borun sağlığa olan birçok faydasından dolayı gıda takviyesi olarak alımı oldukça artmıştır. Amerika Gıda Takviyesi Veri Tabanı'na (The Dietary Supplement Label Database) göre; sodyum borat, kalsiyum fruktoborat, bor glisinat şelatları, bor aspartat, bor askorbat ve bor sitrat içeren iki binden fazla farklı gıda takviyesi bulunmaktadır [11].

Bor takviyesi sonrası plazma veya serumda borun farmakokinetik dağılımı ile ilgili birkaç çalışma mevcuttur. Green ve ark. [22] yaptıkları çalışmada erkek vücut geliştiricilerde bor takviyesinin etkisini araştırmışlardır. On erkek vücut geliştiriciye 2,5 mg bor takviyesi, dokuz erkek vücut geliştiriciye 7 hafta boyunca plasebo verilerek incelenmiştir. Bor takviyesi alan on denekten altısının plazma borunda artış olduğunu bulmuşlardır. Bir diğer çalışmada Kan Usuda ve ark. [30] ise oral olarak sodyum tetraborat verilen sıçanların serum ve idrarlarında zamana göre bor dağılımını incelemiştir. Çalışma sonucunda serumda ki maksimum bor miktarına 1,76 saatte ulaşıldığını bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise bor sitrat uygulaması sonucu serumdaki maksimum seviyeye 0,25 saatte ulaşıldığı bulunmuştur. Bu durum bor sitratın, sodyum tetraborata göre oral yoldan alındığında kana daha çabuk geçtiğini göstermektedir. Lee ve ark. [31] doğurganlık, testis

ve epididimal histoloji; testis ve prostatik enzimlerin spesifik aktiviteleri; FSH, LH ve testosteronun plazma konsantrasyonları ile plazma ve testislerin bor içeriği değerlendirilmesi için ratlar 30 ile 60 gün boyunca standart laboratuvar yemine boraks olarak ilave edilen 500, 1000 ve 2000 ppm bor ile beslenmişlerdir. Çalışma sonucunda testis konsantrasyonunun plazmayı aştığı, bunu da tedavi edilen sıçanların testislerinde bor birikiminin hem doz hem de maruziyet süresi ile arttığı bulunmuştur. Bu durum bor uygulamalarında ki doz çalışmalarının önemini göstermektedir. Borun hamilelikle ilişkisi üzerine yapılan bir çalışmada [32] hamile olmayan ve hamile (16. gebelik günü) sıçanlara tek doz 30 mg/kg borik asit sonda ile verilmiş ve 2-3 saat aralıklarla plazma örnekleri alınmıştır. Borun plazma yarı ömrü gebe olmayan ve gebe sıçanlarda sırasıyla $2,9 \pm 0,2$ ve $3,2 \pm 0,3$ saat olarak bulunmuştur. Ayrıca çalışmada hamileliğin borun yarılanma ömrüne etkisi olmadığı belirtilmiştir. Nielsen ve ark. [33] menopoz başlangıcındaki 43 kadına 60 gün boyunca 2,5 mg bor içeren sodyum borat kapsüllerini vermiştir ve bor takviyesi alan kadınların plazmalarında ki bor miktarının önemli derecede arttırdığı sonucuna varmışlardır. Görüldüğü gibi bor takviyesi sonrası plazma veya serumda borun farmakokinetik dağılımı ile ilgili çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Bor mineralinin fazla veya eksik tüketimiyle birlikte insan vücudunda birçok anormallik görülmektedir. Bor kalsiyum metabolizması, kemikler ve bağışıklık sistemi başta olmak üzere beyin gelişimi, hormonal sistem ve gastrointestinal sistemi etkilemektedir. Yetersiz bor alımının kemik sağlığının bozulmasına, osteoporoz riskinin artmasına, beyin fonksiyonlarında bozulmalara ve bağışık cevabının zayıflamasına neden olduğu bilinmektedir [34]. Bu durum borun takviye olarak oral yoldan kullanılabilmesinin önemini göstermektedir. Yaptığımız araştırmalarda, vücudumuza borun alım formlarından biri olan bor sitrat uygulaması sonrası biyolojik materyallerde bor ölçümü ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ayrıca, hem serum hem de plazmada eş zamanlı olarak bor tayininin yapılabilmesi yönünden de çalışmamızın üstün yönleri görülmektedir.

4. Sonuçlar (Conclusions)

Sonuç olarak bu çalışmada oral yoldan bor sitrat uygulanan ratların serum ve plazmalarında bor seviyelerini ICP-MS yöntemi ile ölçüldü. Ayrıca bor sitrat uygulanan ratların serum ve plazmalarındaki bor konsantrasyonlarının zamana göre değişimi incelendi. Bor sitrat uygulandıktan sonra 0,25. saatte serum ve plazma bor seviyesinin maksimuma ulaştığı, 6. saatte sonra bor seviyesinin normal plazma ve serum seviyesine indiği görülmüştür. Çalışmamızın bor temelli olarak üretilecek farmasötik formülasyonların (kapsül, pediatrik şurup, bor temelli dermatolojik krem vb.) canlı sistemlere uygulandıktan sonra biyolojik materyallerde bor analizi ve farmakokinetik çalışmalar açısından temel teşkil edeceğini düşünmekteyiz.

Kaynaklar (References)

- [1] Khaliq, H., Juming, Z., & Ke-Mei, P. (2018) The physiological role of boron on health. *Biological Trace Element Research*, 186(1), 31-51.
- [2] Kot, F.S. (2009) Boron sources, speciation and its potential impact on health. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 8(1), 3-28.
- [3] Briggs, M. (2000). Boron oxides, boric acid, and borates. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 4, 241-294.
- [4] Mogoşanu, G. D., Biţă, A., Bejenaru, L. E., Bejenaru, C., Croitoru, O., Rău, G., ... & Scorei, R. I. (2016). Calcium fructoborate for bone and cardiovascular health. *Biological Trace Element Research*, 172(2), 277-281.
- [5] Armstrong, T. A., Spears, J. W., Crenshaw, T. D., & Nielsen, F. H. (2000). Boron supplementation of a semi-purified diet for weanling pigs improves feed efficiency and bone strength characteristics and alters plasma lipid metabolites. *The Journal of Nutrition*, 130(10), 2575-2581.
- [6] Pizzorno, L. (2015). Nothing boring about boron. *Integrative Medicine: A Clinician's Journal*, 14(4), 35.
- [7] Toker, H., Ozdemir, H., Yuce, H. B., & Goze, F. (2016). The effect of boron on alveolar bone loss in osteoporotic rats. *Journal of Dental Sciences*, 11(3), 331-337.
- [8] Hakki, S. S., Malkoc, S., Dunder, N., Kayis, S. A., Hakki, E. E., Hamurcu, M., ... & Götz, W. (2015). Dietary boron does not affect tooth strength, micro-hardness, and density, but affects tooth mineral composition and alveolar bone mineral density in rabbits fed a high-energy diet. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 29, 208-215.
- [9] 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.
- [10] Coban, F. K., Ince, S., Kucukurt, I., Demirel, H. H., & Hazman, O. (2015). Boron attenuates malathion-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 38(4), 391-399.
- [11] Kuru, R., & Yarat, A. (2017). Bor ve sagligimize olan etkilerine guncel bir bakis [Boron and a current overview of its effects on health]. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 7(3), 107-115.
- [12] Demirci, S., Doğan, A., Karakuş, E., Halıcı, Z., Topçu, A., Demirci, E., & Sahin, F. (2015). Boron and poloxamer (F68 and F127) containing hydrogel formulation for burn wound healing. *Biological Trace Element Research*, 168(1), 169-180.
- [13] Nielsen, F. H. (2014). Update on human health effects of boron. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(4), 383-387.
- [14] Penland, J. G. (1994). Dietary boron, brain function, and cognitive performance. *Environmental Health Perspectives*, 102(suppl 7), 65-72.
- [15] Nielsen, F. H., Mullen, L. M., & Nielsen, E. J. (1991).

- Dietary boron affects blood cell counts and hemoglobin concentrations in humans. *Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 4, 211-223.
- [16] Aysan, E., Sahin, F., Telci, D., Erdem, M., Muslumanoğlu, M., Yardımcı, E., & Bektaşoğlu, H. (2013). Mechanism of body weight reducing effect of oral boric acid intake. *International Journal of Endocrinology*, 2013, 1-5.
- [17] Murray, F. J. (1998). A comparative review of the pharmacokinetics of boric acid in rodents and humans. *Biological Trace Element Research*, 66(1), 331-341.
- [18] Kelly, G. S. (1997). Boron: A review of its nutritional interactions and therapeutic uses. *Alternative Medicine Review*, 2(1), 48-56.
- [19] Volpe, S. L., Taper, L. J., & Meacham, S. (1993). The relationship between boron and magnesium status and bone mineral density in the human: A review. *Magnesium Research*, 6(3), 291-296.
- [20] Ghanizadeh, G., Babaei, M., Naghii, M. R., Mofid, M., Torkaman, G., & Hedayati, M. (2014). The effect of supplementation of calcium, vitamin D, boron, and increased fluoride intake on bone mechanical properties and metabolic hormones in rat. *Toxicology and Industrial Health*, 30(3), 211-217.
- [21] Tsygankova, A. R., Kanygin, V. V., Kasatova, A. I., Zav'yalov, E. L., Gusel'nikova, T. Y., Kichigin, A. I., & Mukhamadiyarov, R. A. (2020). Determination of boron by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy. Biodistribution of ¹⁰B in tumor-bearing mice. *Russian Chemical Bulletin*, 69(3), 601-607.
- [22] Green, N. R., & Ferrando, A. A. (1994). Plasma boron and the effects of boron supplementation in males. *Environmental Health Perspectives*, 102(suppl 7), 73-77.
- [23] Ferrando, A. A., Green, N. R., Barnes, K. W., & Woodward, B. (1993). Microwave digestion preparation and ICP determination of boron in human plasma. *Biological Trace Element Research*, 37(1), 17-25.
- [24] Atila, A., Halici, Z., Cadirci, E., Karakus, E., Palabiyik, S. S., Ay, N., ... & Yilmaz, S. (2016). Study of the boron levels in serum after implantation of different ratios nano-hexagonal boron nitride-hydroxy apatite in rat femurs. *Materials Science and Engineering: C*, 58, 1082-1089.
- [25] Mahmood, N. M. A., Barawi, O. R., & Hussain, S. A. (2016). Relationship between serum concentrations of boron and inflammatory markers, disease duration, and severity of patients with knee osteoarthritis in Sulaimani city. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 6(1), 27-31.
- [26] Korkmaz, M., Şaylı, U., Şaylı, B. S., Bakırdere, S., Titretir, S., Ataman, O. Y., & Keskin, S. (2007). Estimation of human daily boron exposure in a boron-rich area. *British Journal of Nutrition*, 98(3), 571-575.
- [27] Sun, D. H., Ma, R. L., McLeod, C. W., Wang, X. R., & Cox, A. G. (2000). Determination of boron in serum, plasma and urine by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Use of mannitol-ammonia as diluent and for eliminating memory effect. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 15(3), 257-261.
- [28] Nielsen, F. H., & Meacham, S. L. (2011). Growing evidence for human health benefits of boron. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 16(3), 169-180.
- [29] Demircan, B., & Velioglu, Y. S. (2020). Toxicological evaluation of boron compounds taken from food and environment. *Akademik Gıda*, 18(3), 312-322.
- [30] Usuda, K., Kono, K., Orita, Y., Dote, T., Iguchi, K., Nishimura, H., ... & Shirai, Y. (1998). Serum and urinary boron levels in rats after single administration of sodium tetraborate. *Archives of Toxicology*, 72(8), 468-474.
- [31] Lee, I. P., Sherins, R. J., & Dixon, R. L. (1978). Evidence for induction of germinal aplasia in male rats by environmental exposure to boron. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 45(2), 577-590.
- [32] Vaziri, N. D., Oveisi, F., Culver, B. D., Pahl, M. V., Andersen, M. E., Strong, P. L., & Murray, F. J. (2001). The effect of pregnancy on renal clearance of boron in rats given boric acid orally. *Toxicological Sciences*, 60(2), 257-263.
- [33] Nielsen, F. H., & Penland, J. G. (1999). Boron supplementation of peri-menopausal women affects boron metabolism and indices associated with macromineral metabolism, hormonal status and immune function. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 12(3), 251-261.
- [34] Eseceli, H., Aydın, T., & Gönen, B. (2018). The effect of boron on human health and nutrition. *Suleyman Demirel University The Journal of Health Science*, 9(2), 119-122.