

بررسی اثر مکمل سازی کلسیم، ویتامین «د»، بورون و افزایش دریافت فلوراید بر خواص مکانیکی

و هورمونهای متابولیکی استخوان در موش صحرایی

* منصور بابائی، ** دکتر قادر غنی‌زاده، * دکتر محمدرضا نقی‌ئی، ** دکتر گیتی ترکمان، **** محمود مفید، ***** دکتر مهدی هدایتی، * پیمان درویشی، * یوسف ابراهیم پور
«دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)»، «دانشگاه تربیت مدرس»، «دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی»

خلاصه

پیش‌زمینه: تغذیه کافی و مناسب نقش مهمی در قدرت و سلامت استخوان‌ها دارند. در کنار اجزای اصلی معدنی استخوان نظیر کلسیم، فسفر و ویتامین «د»، سایر مواد مغذی مثل بورون و فلوراید نیز تأثیرگذار هستند. هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تأثیر مواد مطرح بر خواص مکانیکی بافت‌های استخوانی و هورمون‌های متابولیکی استخوان در موش صحرایی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۳۴ موش نر ویستار به ۵ گروه: «کنترل» (گروه ۱: ۸ موش)؛ «فلوراید» (گروه ۲: ۷ موش)، «فلوراید، بورون» (گروه ۳: ۷ موش)، «فلوراید، کلسیم، ویتامین د» (گروه ۴: ۵ موش)، و «فلوراید، بورون، کلسیم، ویتامین د» (گروه ۵: ۷ موش) تقسیم شدند. بورون به مقدار ۱/۲۳ میلی‌گرم، کلسیم و ویتامین «د» ۲۱۰ میلی‌گرم ۵۵ واحد و فلوراید ۰/۷ میلی‌گرم به ازای هر موش روزانه به مدت ۸ هفته به آب آشامیدنی اضافه شد. سپس نمونه‌های استخوانی و خون بطنی جمع‌آوری شد. تغییر در خواص مکانیکی فمور و مهره پنجم کمر بررسی گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد ترکیب فلوراید و بورون مناسب‌ترین تأثیر را بر خواص مکانیکی و هورمون‌های مرتبط با متابولیسم استخوان داشت. تجویز فلوراید و بورون آثار مثبت بیشتری به‌ویژه بر روی سفتی و استحکام استخوان حتی در مقایسه با مصرف کلسیم و ویتامین «د» به‌جای گذاشت.

نتیجه‌گیری: در درمان مشکلات تراکم استخوان در انسان، استفاده همزمان از فلوراید و بورون می‌تواند نقش داشته باشد و مطالعات حیوانی بیشتری را برای تعیین نقش درمانی و عوارض آنها طلب می‌کند.

واژه‌های کلیدی: بورون، کلسیم، فلوراید، ویتامین «د»، استخوان و استخوان‌ها

دریافت مقاله: ۸ ماه قبل از چاپ؛ مراحل اصلاح و بازنگری: ۲ بار؛ پذیرش مقاله: ۱/۵ ماه قبل از چاپ

The Effect of Supplementation of Ca, Vit D, Boron and Increased Fluoride Intake on Mechanical Properties of Bone and Metabolic Hormones in Rat

*Mansoor Babaei, MSc; **Ghader Ghanizadeh, PhD; *Mohammad Reza Naghii, PhD; ***Giti Torkaman, PhD;
****Mohamood Mofid, MSc; *****Mehdi Hedayati, PhD; *Peyman Darwishi, MSc; *Yusef Ebrahimipoor, MSc

Abstract

Background: Optimal nutrition plays a role in formation and maintenance of bone. Besides major components of mineralization such as Ca, P and Vitamin D, other nutrients like Boron and Fluoride have also beneficial role. In this study, we are reporting the effect of these elements on metabolic hormones and biomechanical parameters of bone in rat.

Methods: 34 male wistar rats were divided into five groups: Control diet, Fluoride, Fluoride+Boron, Fluoride+ Ca+D, and Fluoride+B+Ca+D. Boron equal to 1.23 mg, Ca and Vit D 210 mg-55 IU and F, 0.7 mg/rat/day was added to their drinking water for 8 weeks. The serum level of the above elements was analyzed. The change in mechanical properties of femur and fifth vertebral body were also tested.

Results: The addition of F+B intake revealed significant effects on bone mechanical changes properties and bone metabolic hormones. These findings suggested that combined intake of the above two elements had beneficial effect on bone stiffness and breaking strength compared with Ca+Vit D supplementation.

Conclusion: Dealing with health problems related to the skeletal system in humans, this paper justifies further investigation into the role of Boron and Fluoride in bone mass and strength.

Keywords: Boron; Calcium; Fluoride; Vitamin D; Bone and Bones

Received: 8 months before printing; Accepted: 1.5 months before printing

*Nutritionist, Nutrition Department, Faculty of Health, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, IRAN.

**Environmental health specialist, Environmental health Dep, Faculty of Health, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, IRAN.

***Physical therapist, Physiotherapy Department, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modarres University, Tehran, IRAN.

****Anatomist, Anatomy Department, Faculty of Health, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, IRAN.

*****Biochemist, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, IRAN.

Corresponding author: Mohammad Reza Naghii, PhD

Nutrition Department, Faculty of Health, Baqiyatallah University of Medical Sciences, No 53, South Brazil St, Tehran, Iran.

E-mail: naghiimr@yahoo.com

مقدمه

مشکلات استخوانی نظیر شکستگی، استئومالاسی و پوکی استخوان از شایع‌ترین اختلالات متابولیسم استخوان و مواد معدنی هستند که در ۲۲-۱۳٪ مردان و ۵۰-۴۰٪ زنان در طی ۵۰ سال زندگی دیده می‌شود^(۱). عدم تعادل در تنظیم دو فرآیند بازسازی استخوان و جذب و تشکیل استخوان منجر به بیماری‌های متابولیک استخوان مثل پوکی استخوان می‌شود. در میان عوامل متعدد، تغذیه کافی و مناسب نقش مهمی در پیشگیری و درمان دارد و موجب حفظ قدرت و سلامت استخوان‌ها می‌شود و برای دستیابی به یک استخوان سالم و مقاوم نیاز به یک رژیم غذایی متعادل می‌باشد^(۲). با وجود آنکه از کلسیم، فسفر و ویتامین «د» به‌عنوان اجزای اصلی مینرالیزاسیون استخوان نام برده می‌شود اما مواد مغذی دیگری مثل بورون نیز به‌عنوان یک ماده مغذی اساسی می‌تواند کاربرد این مواد را تحت تأثیر قرار دهد و از عملکرد کلسیم، منیزیم و ویتامین «د» حمایت کند^(۳). کمبود بورون در رژیم غذایی باعث مهار شدن تشکیل استخوان در حیوان شده است^(۴). کارآزمایی‌های انجام شده با افزودن مکمل یا محدود کردن دریافت بورون در انسان نشان داده است که این عنصر در متابولیسم استخوان نقش دارد و به‌عنوان یک عنصر با نقش فیزیولوژیک در تغذیه حیوانی و انسانی، خواص مکانیکی استخوانی و درصد خاکستر آن را افزایش می‌دهد و می‌تواند به‌عنوان یک ماده مغذی اساسی برای حیوانات و انسان محسوب شود. غذاها با منشأ گیاهی نظیر خشکبار، میوه‌های خشک، بقولات، سبزی‌ها و میوه‌های تازه منابع اصلی این عنصر هستند و با توجه به‌اینکه هنوز به‌عنوان یک عنصر ضروری برای انسان تعیین نگردیده است لذا توصیه‌ای در قبال دریافت رژیمی روزانه آن ارائه نشده و حد بالای مصرف آن ۲۰ میلی‌گرم در روز در نظر گرفته شده است. نتایج مطالعات نشان می‌دهند دریافت روزانه انسان در دامنه ۳-۱ میلی‌گرم در روز قرار دارد که با دریافت منابع غنی و سرشار غذاهای گیاهی تأمین می‌شود^(۵).

فلوئور از عناصر اساسی و مورد نیاز بدن انسان می‌باشد و مصرف دوز مناسب برای سلامت استخوان‌ها مفید و کاهش یا

افزایش مصرف آن باعث بروز ضایعاتی در قسمت‌های مختلف بدن از جمله سیستم استخوان‌بندی می‌شود^(۶). در گزارش‌های محدودی از بورون به‌عنوان یک آنتی‌دوت در مقابل فلوروزیس یا عنصر تنظیم‌کننده جذب و تعادل دوز بالای فلوئوراید یاد شده است^(۷،۸،۹). شایان ذکر است که در بررسی‌های پیشین نتایج عمده کارهای تجربی در ارتباط با نقش عناصر فوق و بعضاً همراه با عملکرد ویتامین «د» به‌صورت موردی یا ترکیبی گزارش شده است و سابقه‌ای از تجویز همزمان آنها همراه با بورون و فلوئوراید وجود ندارد. لذا، هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تأثیر مواد مغذی مطرح فوق در ارتباط با افزایش دریافت فلوئوراید بر خواص مکانیکی بافت‌های استخوانی و بر هورمون‌های متابولیکی استخوان در موش صحرائی بود. در این بررسی تأثیر مکمل‌سازی کلسیم، بورون و ویتامین «د»، همزمان با افزایش دریافت فلوئوراید بر مقاومت مکانیکی شامل سفتی استخوان، حداکثر استحکام، انرژی جذب شده تا نقطه حداکثر استحکام و تغییر شکل تا نقطه حداکثر استحکام در استخوان‌های ران یا فمور و پنجمین مهره کمری یا لومبار و همچنین بر غلظت هورمون‌های متابولیکی موثر نظیر تستوسترون، تستوسترون آزاد، استرادیول، کلسی‌تونین، پاراتیروئید، ویتامین «د» و آلکالین فسفاتاز سرم مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی-مداخله‌ای، ۳۴ سر موش نر ویستار در دامنه وزنی یکسان تهیه شد. حیوانات به‌طور تصادفی در آزمایشگاه پس از توزین اولیه در قفس‌های پلی‌کربنات، در دمای ثابت اتاق (۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد) و سیکل خاموش-روشن نور ۱۲:۱۲ ساعت به مدت یک هفته به‌عنوان دوران سازگاری قرار گرفتند و در مرحله تجربی به مدت ۲ ماه ضمن دسترسی به آب و غذای آزاد و کافی به ۵ گروه تقسیم شدند: گروه ۱ (کنترل، ۸ موش)، گروه ۲ (فلوراید، ۷ موش)، گروه ۳ (فلوراید، بورون، ۷ موش)، گروه ۴ (فلوراید، کلسیم و ویتامین «د»، ۵ موش)، و گروه ۵ (فلوراید، بورون، کلسیم و ویتامین «د»، ۷ موش). لازم به ذکر است که در مطالعات حیوانی متعدد تأثیر کلسیم و ویتامین «د» به‌طور جامع و کامل بررسی شده است و هدف از

فاقد هرگونه تغییری می‌باشند. خواص مکانیکی نمونه‌های فمور با تست خمش سه نقطه‌ای⁵ و خواص مکانیکی پنجمین مهره کمری با انجام تست فشاری⁶ بررسی شدند.

متغیرهای سفتی استخوان، حداکثر استحکام، انرژی جذب شده تا نقطه حداکثر استحکام، تغییر شکل تا نقطه حداکثر استحکام در استخوان‌های بررسی شدند.

پس از جمع‌آوری داده‌ها، شاخص‌های آماری با استفاده از آمار توصیفی و تحلیل داده‌ها با آزمون پارامتری تحلیل واریانس یکطرفه⁷ و آزمون «ال اس دی»⁸ انجام شد. برای انجام محاسبات آماری از نرم‌افزار PASW Statistics استفاده گردید. سطح معناداری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

جدول ۱ میانگین و انحراف معیار فراسنج‌های بیومکانیکی شامل سفتی استخوان، حداکثر استحکام، انرژی جذب شده تا نقطه حداکثر استحکام و تغییر شکل تا نقطه حداکثر استحکام را در استخوان‌های فمور و مهره پنجم کمری در گروه‌های کنترل و آزمایشی نشان می‌دهد.

استخوان فمور:

از نظر سفتی استخوان فمور، بین گروه کنترل و تمامی گروه‌های آزمایشی تفاوت آماری معنی‌دار وجود داشت و سفتی در گروه‌های آزمایشی بیشتر بود ($p=0/02$). مقایسه بین گروه‌های آزمایشی نشان داد بین گروه‌های ۳ با ۲ و ۵ تفاوت آماری معنی‌داری وجود داشت (گروه >2 ؛ گروه ۳، $p=0/02$ ؛ گروه <5 ؛ گروه ۲، $p=0/01$).

از نظر حداکثر استحکام، بین گروه کنترل و گروه ۳ تفاوت آماری معنی‌دار وجود داشت و سفتی در گروه کنترل کمتر بود ($p=0/03$).

از نظر انرژی جذب شده تا نقطه حداکثر استحکام بین گروه‌ها تفاوت آماری معنی‌دار مشاهده نشد.

از نظر تغییر شکل تا نقطه حداکثر استحکام بین دو گروه ۲ و ۵ تفاوت آماری معنی‌دار مشاهده شد و تغییر شکل در گروه ۲ کمتر بود ($p=0/02$).

تقسیم‌بندی گروه‌ها به صورت فوق عمدتاً به منظور تبیین بیشتر نقش بورون و فلوراید بود.

دوز روزانه بورون به صورت اسید بوریک (۱/۲۳ میلی‌گرم)، کلسیم و ویتامین «د» به صورت پودر کلسیم - ویتامین «د» (۲۱۰ میلی‌گرم، ۵۵ واحد) و فلوراید به صورت پودر فلوراید سدیم (۰/۷ میلی‌گرم) به ازای هر موش در روز به آب آشامیدنی آنها اضافه شد. پس از اتمام ۸ هفته مداخله و مکمل‌سازی، مرحله خون‌گیری با رعایت ۱۲ ساعت ناشتا برای آنالیز هورمون‌های مورد مطالعه و کاربرد برای مطالعه طراحی شده دیگری در زمینه عوامل خطر قلبی عروقی انجام گرفت. پس از بیهوشی و باز کردن قفسه سینه مقدار ۱۰ سی‌سی خون بطنی جمع‌آوری شد که محل مناسبی برای جمع‌آوری حداکثر حجم خون موجود در موش است.

با جداسازی پلاسما سطوح فراسنج‌های خونی شامل کلسیم، ویتامین «د»، پاراتورمون، کلسی‌تونین، آلکالین فسفاتاز، استرادیول، تستوسترون و تستوسترون آزاد در آزمایشگاه مرکز غدد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی اندازه‌گیری شد.

متغیرهای استرادیول، تستوسترون، تستوسترون آزاد، پاراتورمون و کلسی‌تونین به روش ELISA¹؛ ویتامین «د» به روش EIA²؛ آلکالین فسفاتاز با «تست فتومتریک جنبشی»³؛ و غلظت کلسیم سرم با روش «اسپکترومتری با جذب اتمی»⁴ اندازه‌گیری شدند.

آزمون‌های مکانیکی با دستگاه Zwick materials testing-machine Z 2.5, Germany در آزمایشگاه بیومکانیک بافت گروه فیزیوتراپی دانشگاه تربیت مدرس تهران انجام شد.

برای مطالعه خواص مکانیکی استخوان نیز استخوان‌های فمور و پنجمین مهره کمری موش‌ها جدا شد. پس از برداشتن و پاکسازی بافت‌های نرم، نمونه‌ها در محلول سالین ۰/۹٪ در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تا زمان ارزیابی معادل سه روز بعد نگهداری شدند. شایان ذکر است که استخوان‌ها در شرایط فوق

5. The three-point bending test
6. The axial compression test
7. One way ANOVA
8. LSD

1. Enzyme-linked immunosorbent assay
2. Enzyme immunoassay
3. Kinetic photometric test
4. Atomic Absorption Spectrophotometry

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار فراسنج‌های خواص بیومکانیکی در استخوان‌های فمور و پنجمین مهره کمری در ۵ گروه

گروه‌ها						متغیرها
گروه ۵	گروه ۴	گروه ۳	گروه ۲	گروه ۱	استخوان	
گروه ۵ فلوراید، بورون، کلسیم، ویتامین «د»	گروه ۴ فلوراید، کلسیم، ویتامین «د»	گروه ۳ فلوراید، بورون	گروه ۲ فلوراید	گروه ۱ کنترل	فمور	سفتی استخوان (N/mm)
۹۲±۱۳	۱۰۸±۲۰	***۱۱۶±۲۳	**۹۸±۵	*۶۹/۴±۱۱	مهره ۵ کمری	
۳۴۹±۸۸	۳۲۲±۹۴	۳۴۱±۱۹	۳۲۰±۶۱	۳۳۲±۹۸	فمور	حداکثر استحکام (N)
۷۹±۵	۸۰±۱۰	۸۶±۱۱	۸۰±۱۳	**۷۱±۸	مهره ۵ کمری	
۲۹۰±۲۰	۲۵۵±۲۴	۲۹۱±۱۲	***۳۰۲±۵۰	۲۵۶±۳۹	فمور	انرژی جذب شده تا نقطه حداکثر استحکام (N/mm)
۵۰±۱۰	۳۸±۷	۴۵±۱۰	۴۵±۱۳	۴۷±۱۲	مهره ۵ کمری	
۲۳۸±۶۹	۱۸۵±۷۴	۲۳۲±۱۲۲	۱۵۷±۱۸	۱۹۷±۶۴	فمور	تغییر شکل تا نقطه حداکثر استحکام (mm)
۲/۰۷±۰/۳۲	۱/۷۳±۰/۰۳	۱/۹۰±۰/۱۴	***۱/۷±۰/۲۵	۱/۹±۰/۴۸	مهره ۵ کمری	
۲/۴۶±۰/۲۳	***۲/۰۶±۰/۲۶	۲/۱۸±۰/۲۰	***۲/۱۷±۰/۳۰	****۱/۸۳±۰/۲۷		

* ارتباط معنی دار با گروه‌های ۲، ۳، ۴، ۵؛ ** ارتباط معنی دار با گروه ۳؛ *** ارتباط معنی دار با گروه ۵؛ **** ارتباط معنی دار با گروه‌های ۱، ۴؛ ***** ارتباط معنی دار با گروه‌های ۲، ۳، ۴، ۵

یافته‌ها نشان دادند از نظر غلظت کلسیم سرم بین گروه ۲ و ۳ تفاوت معنی داری وجود داشت و غلظت سرم گروه ۳ افزایش داشت ($p=۰/۰۱$).

از نظر کاهش غلظت کلسیم سرم بین گروه ۴ با گروه‌های ۱، ۳ و ۵ تفاوت آماری معنی دار وجود داشت ($p=۰/۰۱$). از نظر افزایش غلظت تستوسترون سرم تفاوت بین گروه‌های ۱ و ۵ معنی دار بود ($p=۰/۰۳$).

همچنین از نظر افزایش غلظت استرادیول سرم بین گروه کنترل و سایر گروه‌ها تفاوت معنی دار وجود داشت و در گروه کنترل کمتر از سایر گروه‌ها بود ($p=۰/۰۳$).

استخوان مهره کمری:

حداکثر استحکام استخوان‌های مهره پنجم کمری گروه ۲ بالاتر از سایر گروه‌ها بود و بین این گروه با گروه‌های ۱ (کنترل) و ۴ تفاوت آماری معنی دار وجود داشت ($p=۰/۰۲$). از نظر انرژی جذب شده تا نقطه حداکثر استحکام برای پنجمین مهره کمری تفاوت معنی دار آماری بین گروه‌ها مشاهده نشد. از نظر تغییر شکل تا نقطه حداکثر استحکام در پنجمین مهره کمری بین گروه کنترل و گروه‌های ۲ و ۳ و ۵ تفاوت معنی داری وجود داشت (به ترتیب: $p=۰/۰۴$ ، $p=۰/۰۲$ ، $p=۰/۰۲$) و تغییر شکل در گروه کنترل کمتر از سایر گروه‌ها بود. همچنین بین گروه ۵ و گروه‌های ۲ و ۴ تفاوت آماری معنی دار بود (گروه >۲ گروه ۵، $p=۰/۰۳$ ؛ گروه <۴ گروه ۵، $p=۰/۰۲$).

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار هورمون‌های متابولیکی در ۵ گروه

گروه‌ها						متغیرها
گروه ۵	گروه ۴	گروه ۳	گروه ۲	گروه ۱	کنترل	
فلوراید، بورون، کلسیم، ویتامین «د»	فلوراید، کلسیم، ویتامین «د»	فلوراید، بورون	فلوراید	کنترل		کلسیم (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)
۴/۹۰±۰/۳۰	**۴/۳۴±۰/۳۹	۴/۹۴±۰/۲۵	*۴/۶۱±۰/۲۷	۴/۸۳±۰/۳۰		ویتامین «د» (nmol/L)
۹۶±۱۹	۱۰۱±۱۳	۹۶±۱۷	۹۳±۲۱	۹۱±۱۹		آلکالین فسفاتاز (U/L)
۲۳۶±۴۳	۲۰۷±۳۱	۲۱۰±۲۴	۲۲۹±۲۷	۲۱۵±۱۹		کلسی تونین (pg/ml)
۸۲±۱۲	۷۱±۱۰	۷۷±۹	۷۳±۸	۸۰±۱۱		پاراتورمون (pg/ml)
۳۳±۸	۳۷±۶	۳۴±۵	۳۵±۶	۳۶±۹		تستوسترون (pg/ml)
۲/۶۳±۱	۲/۶۰±۰/۶۶	۲/۰۲±۰/۶۷	۲/۰۲±۰/۸۴	***۱/۸۵±۰/۴۰		تستوسترون آزاد (pg/ml)
۰/۵۲±۰/۱۴	۰/۵۸±۰/۲۸	۰/۵۵±۰/۱۴	۰/۵۳±۰/۲۵	۰/۴۴±۰/۱۹		استرادیول (pg/ml)
۹/۷۰±۱/۰۶	۹/۹۲±۰/۸۹	۹/۶۸±۰/۹۴	۹/۹۱±۱/۶۷	****۸/۳۵±۱/۳۲		

* ارتباط معنی دار با گروه ۳؛ ** ارتباط معنی دار با گروه‌های ۱، ۳، ۴، ۵؛ *** ارتباط معنی دار با گروه ۵؛ **** ارتباط معنی دار با گروه‌های ۲، ۳، ۴، ۵

بحث

در مطالعات انسانی، اندازه‌گیری تراکم استخوان یک شاخص رایج رشد، تکامل و ویژگی‌های بیومکانیکی استخوان است. انجام فعالیت جسمی توأم با تحمل وزن، وضعیت تراکم استخوان را بهبود می‌بخشد^(۱۰). جذب یا احتباس عناصر و مواد مغذی و در نهایت مینرالیزاسیون استخوان نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است^(۱۱). برای بررسی رشد استخوان در انسان مطالعات عمدتاً به پرتونگاری‌های غیرتهاجمی (اما پرخطر) یا ارزیابی مارکرهای استخوانی محدود می‌شوند، درحالی که می‌توان با استفاده از مدل‌های حیوانی و انجام تست‌های مستقیم بیومکانیکی انعکاس بهتری از خواص مکانیکی استخوان در مقایسه با اندازه‌گیری‌های تراکم استخوانی به دست آورد^(۱۲). غالباً از تست‌های استحکام شکنندگی استخوان^۱ و خاکستر استخوان^۲ به عنوان معیارهایی برای ارزیابی ارزش مکمل‌های غذایی گوناگون، به ویژه عناصر استفاده می‌شود.

یافته‌ها نشان می‌دهند تقویت سفتی در استخوان فمور در نتیجه تجویز مواد مغذی در همه گروه‌ها روند افزایشی داشته است که این افزایش با حضور فلوراید در همه گروه‌های آزمایشی (گروه‌های ۲ تا ۵) و به ویژه در گروه ۳ (فلوراید، بورون) به صورت بارزتری مشاهده گردید. در ارتباط با حداکثر استحکام استخوان فمور نیز یک روند افزایشی مشابه دیده می‌شود که این افزایش مجدداً در گروه ۳ از نظر آماری معنی‌دار بود. حداکثر استحکام استخوان در پنجمین مهره کمری نیز در گروه فلوراید و فلوراید با بورون افزایش داشت که اختلاف بین گروه فلوراید با گروه‌های کنترل و ۴ معنی‌دار بود. این بدان معنی است که مصرف کلسیم و ویتامین «د» افزایش استحکام حاصل از مصرف فلوراید را مهار کرده و این اثر مهارکنندگی مجدداً در حضور بورون در گروه ۵ (فلوراید، بورون، کلسیم و ویتامین «د») خنثی شده است. در مورد انرژی جذب شده تا نقطه حداکثر استحکام علی‌رغم مشاهده افزایش در گروه ۳ و ۵ در حضور فلوراید و بورون در استخوان مهره کمری از نظر آماری اختلاف معنی‌دار دیده نشد.

نتایج پژوهش‌ها نشان داده است بورون عنصری است که در تغذیه حیوانی و انسانی نقش فیزیولوژیک دارد و خواص مکانیکی و درصد خاکستر استخوان با این عنصر افزایش می‌یابد. همچنین این حقیقت به‌خوبی پذیرفته شده است که کلسیم بخشی از ترکیب اصلی ساختمانی استخوان سالم است. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد مصرف بورون بر متابولیسم استخوان و خاکستر آن موثر است و گزارش شده مصرف این مکمل همراه با کلسیم و فسفر اثرات بهتری به دنبال دارد و باعث کاهش دفع کلسیم و فسفر در ادرار می‌شود^(۱۳).

در موش نر، مکمل‌سازی بورون تغییری در استحکام تی‌بیا و فمور در تست خمش نشان نداد، اما استفاده از مکمل بورون به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم مقاومت مهره‌ها را نسبت به نیروی فشار و خردکنندگی افزایش داد^(۱۴). به علاوه، مکمل‌سازی ۱۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم رژیم غذایی باعث افزایش حداکثر استرس برشی فیولا شد^(۱۵) و رژیم غذایی پایه مکمل‌سازی شده با ۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم باعث افزایش معیارهای استحکام درونی و بیرونی استخوان فمور گردید^(۱۶). در مطالعه دیگر با افزایش مکمل تغذیه‌ای بورون به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم، مقاومت مکانیکی استخوان موش در طی شکستگی بالا رفت و حتی مقاومت ستون‌مهره‌ها به نیروی وارده (خرد کننده) به میزان ۱۰٪ افزایش یافت و مشخص شد که اثر بورون بر استخوان با تحت تأثیر قراردادن نقش و عمل هورمون‌ها، و با افزایش غلظت کلسیم، فسفر و منیزیم در بافت استخوان می‌باشد^(۱۷).

طبق گزارش‌ها، تجویز بورون تعادل منفی کلسیم و فسفر، هیپوکالسمی و هیپرپاراتیروئیدیسم ثانویه همراه با فلونوروزیس در خرگوش‌ها را اصلاح کرد و ضخیم شدن قشری درشت‌نی ناشی از فلوراید را کاهش داد یا مهار کرد^(۱۸،۱۹). فلوراید به‌عنوان یک عنصر کمیاب در استخوان اثر مفیدی بر تشکیل این بافت دارد^(۲۰) و توصیه می‌شود تا دریافت آن در محدوده ۰/۵ تا ۰/۶۵ میلی‌گرم در لیتر قرار گیرد تا از بروز اثرات توکسیک و فلوروزیس پیشگیری شود^(۲۱). گزارش شده است که مصرف مقادیر کافی و لازم آن از پوسیدگی دندان پیشگیری می‌کند، تشکیل لایه مینای دندان را مساعد می‌سازد و مانع بروز کمبودها در مینرالیزاسیون استخوان می‌شود^(۲۲).

استروئیدی پلازما در موش و انسان نیز گزارش شده است^(۲۶،۲۷،۲۸) و به نظر می‌رسد این عنصر برای سنتز ویتامین «د» مورد نیاز می‌باشد^(۲۹). عقیده بر این است که مکمل سازی بهینه بورون، هیدروکسیلاسیون کاتابولیک آنزیمی را تنظیم می‌کند. باتوجه به این یافته‌ها این عنصر می‌تواند برای متابولیسم بهینه کلسیم و در پیشگیری از ایجاد ضایعه استخوانی نقش مفیدی داشته باشد^(۳۰) و در بعضی از نارسایی‌ها با علت ناشناخته نظیر پوکی استخوان که متابولیسم و عناصر اصلی دچار اختلال است نقش داشته باشد^(۳۱،۳۲) و از طریق افزایش سنتز کورتیکواستروئیدها بر استوآرتريت هم تاثیر بگذارد^(۳۳،۳۴).

باتوجه به نتایج گزارش‌های موجود مبنی بر تأثیر منفی مصرف مقدار زیاد فلوراید بر سیستم آندوکراین جنسی و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گوناها در موش نر^(۳۵،۳۶،۳۷) و انسان^(۳۸) که منجر به کاهش هورمون تستوسترون و تستوسترون آزاد می‌شود، یافته‌های مطالعه فعلی نشان داد که مصرف یک دوز متعادل روزانه ۰/۷ میلی‌گرم فلوراید نه تنها اثر سو بر تولید هورمون‌های جنسی نگذاشته، بلکه عامل افزایش این هورمون‌ها بوده که نقش مهمی در حفظ سلامت و متابولیسم بافت استخوان ایفا می‌کنند. به نظر می‌رسد افزایش ناشی از مصرف فلوراید برای اولین بار گزارش می‌شود که نیاز به بررسی و تایید در مطالعات دیگر دارد.

در نهایت، بورون به‌عنوان یک عنصر مکمل از عملکرد کلسیم و منیزیم و ویتامین «د» حمایت می‌کند و براساس نتایج حاصل همراه با فلوراید اثربخشی بیشتری دارد. لذا بر دریافت منابع بورون جهت استحکام و مقاومت بیشتر استخوان تاکید می‌شود. همچنین ضرورت بر انجام مطالعات پژوهشی با تاکید بر کارآزمایی‌ها بر روی این عنصر به ویژه همراه با فلوراید در درمان شکستگی‌ها و بیماری‌های استخوانی نظیر پوکی استخوان توصیه می‌گردد.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد ترکیب فلوراید و بورون مناسب‌ترین تأثیر را بر خواص مکانیکی استخوان و هورمون‌های مرتبط با متابولیسم استخوان می‌گذارد و با توجه به دوزهای مصرفی برای موش صحرائی در این مطالعه می‌توان کارآزمایی‌های بیشتری را با به‌کارگیری همزمان این دو عنصر طراحی کرد.

نتایج مطالعه «اینو»^۱ و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که یون فلوراید ازدیاد استئوبلاست را افزایش می‌دهد و از فعالیت سلول‌های استئوکلاست ممانعت می‌کند^(۲۰). تأثیر فلوراید سدیم بر افزایش سرعت ترمیم شکستگی به تسریع در فرآیند کوندروژنیز در ناحیه استخوانی پرفیوژ ناکامل، استئوژنیز شامل تشکیل موقت کالوس^۲ و مینرالیزاسیون استخوان جدید و به‌علاوه مدل‌گیری به استخوان لاملار بالغ^۳ نسبت داده می‌شود^(۳۳).

یافته‌های به‌دست آمده در گروه ۳ (فلوراید، بورون) نشان می‌دهد که تجویز این دو عنصر آثار مثبت و هم‌افزایی بیشتری به‌ویژه بر روی سفتی و استحکام استخوان حتی در مقایسه با مصرف کلسیم و ویتامین «د» (مقایسه بین گروه ۳ با گروه‌های ۴ و ۵) به‌جای گذاشته است.

در مورد هورمون‌های درگیر با متابولیسم استخوان هیچ‌گونه تغییرات معنی‌داری در غلظت آلکالین فسفاتاز، کلسی‌تونین و پاراتورمون مشاهده نشد. به‌عبارت دیگر هیچ‌گونه تغییر مخدوش یا ایجاد کننده اختلال ناخواسته مشاهده نشد.

غلظت تستوسترون در همه گروه‌ها بالاتر از گروه کنترل بود و فقط اختلاف افزایش گروه ۵ با گروه کنترل معنی‌دار بود. در همه گروه‌ها میزان غلظت تستوسترون آزاد بالاتر از گروه کنترل بود (۳۱/۸-۱/۱۸/۲) ولی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد؛ در صورتی‌که افزایش میزان غلظت استرادیول در همه گروه‌ها با گروه کنترل معنی‌دار بود. موارد فوق نشان داد این عناصر تأثیر بسیار خوبی در بالا بردن هورمون‌های جنسی دارند و هورمون‌های جنسی دارای نقش بسیار مهمی در کیفیت استخوان هستند. نقش مفید مواد مغذی مورد مطالعه در بالا بردن کیفیت استخوان را می‌توان به تأثیر مثبت آنها در بالا بردن غلظت هورمون‌های جنسی نسبت داد. این هورمون‌ها نقش بسیار مثبت در رشد، حفظ تعادل، افزایش مقاومت و سلامت استخوان دارند^(۲۴).

نتایج مطالعه‌های اخیر از این فرضیه حمایت می‌کند که بورون نقش بیولوژیک مهمی در حیوانات دارد و با اثرگذاری بر مکانیسم‌های بیوشیمیایی و هماتولوژیکی، متابولیسم عناصر را تحت تأثیر قرار می‌دهد^(۲۵). در این رابطه، افزایش معنی‌دار غلظت هورمون‌های

1. Inoue
2. Temporary callus formation
3. Mature lamellar bone

References

1. **Johnell O, Kanis J.** Epidemiology of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int.* 2005;16 Suppl 2:S3-7.
2. **Grgurevic A, Gledovic Z, Vujasinovic-Stupar N.** Factors associated with postmenopausal osteoporosis: a case-control study of Belgrade women. *Women Health.* 2010;50(5):475-90.
3. **Nielsen, F.H., Stoecker, B.J., Penland, J.G.** Boron as a dietary factor for bone microarchitecture and central nervous system function. In: Fangsen Xu, Heiner E. Goldback, Patrick H. Brown, Richard W. Bell, Toru Fujiwars, Curtiss D. Hunt, Sabine Goldberg, Lei Shi, editors. *Advances in Plant and Animal Boron Nutrition. Boron 2005*, September 10-13, 2005, Wuhan, China. p. 255-268.
4. **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(7):677-82.
5. **Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Overview and methods.** In: *Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc.* Washington, DC: National Academy Press; 2001:44-59.
6. **Dhar V, Bhatnagar M.** Physiology and toxicity of fluoride. *Indian J Dent Res.* 2009;20(3):350-5.
7. **Franke J, Runge H, Bech R, Wiedner W, Kramer W, Kochmann W, Hennig A, Ludke H, Seffner W, Teubner W, Franke M, Moritz W, Barthold L, Geinitz D.** Boron as an antidote to fluorosis? Part I. Studies on the skeletal system. *Fluoride.* 1985;18:187-97.
8. **Bharti VK, Gupta M, Lall D.** Effect of boron as an antidote on dry matter intake, nutrient utilization and fluorine balance in buffalo (*Bubalus bubalis*) exposed to high fluoride ration. *Biol Trace Elem Res.* 2008;126 Suppl 1:S31-43.
9. **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(2):111-6.
10. **Lehtonen-Veromaa M, Möttönen T, Svedström E, Hakola P, Heinonen OJ, Viikari J.** Physical activity and bone mineral acquisition in peripubertal girls. *Scand J Med Sci Sports.* 2000;10(4):236-43.
11. **Bunout D, Barrera G, Leiva L, Gattas V, de la Maza MP, Haschke F, Steenhout P, Klassen P, Hager C, Offord E, Hirsch S.** Effect of a nutritional supplementation on bone health in Chilean elderly subjects with femoral osteoporosis. *J Am Coll Nutr.* 2006;25(3):170-7.
12. **Huang TH, Lin SC, Chang FL, Hsieh SS, Liu SH, Yang RS.** Effects of different exercise modes on mineralization, structure, and biomechanical properties of growing bone. *J Appl Physiol.* 2003;95(1):300-7.
13. **Naghii MR, Torkaman G, Mofid M.** Effects of boron and calcium supplementation on mechanical properties of bone in rats. *Biofactors.* 2006;28(3-4):195-201.
14. **Chapin RE, Ku WW, Kenney MA, McCoy H, Gladen B, Wine RN, Wilson R, Elwell MR.** The effects of dietary boron on bone strength in rats. *Fundam Appl Toxicol.* 1997;35(2):205-15.
15. **Armstrong TA, Spears JW.** Effect of dietary boron on growth performance, calcium and phosphorus metabolism, and bone mechanical properties in growing barrows. *J Anim Sci.* 2001;79(12):3120-7.
16. **Armstrong TA, Flowers WL, Spears JW, Nielsent FH.** Long-term effects of boron supplementation on reproductive characteristics and bone mechanical properties in gilts. *J Anim Sci.* 2002;80(1):154-61.
17. **Nielsen FH.** Dietary fat composition modifies the effect of boron on bone characteristics and plasma lipids in rats. *Biofactors.* 2004;20(3):161-71.
18. **Elsair J, Merad R, Denine R, Reggabi M, Alamir B, Benali S, Azzouz M, Khelfat K.** Boron as a preventive antidote in acute and sub acute fluoride intoxication in rabbits: its action on fluoride and calcium-phosphorus metabolism. *Fluoride.* 1980;13:129-38.
19. **Elsair J, Merad R, Denine R, Reggabi M, Benali S, Hamrouj HM, Azzouz M, Khalfat K, Tabet Aoul M, Nauer J.** Action of boron upon fluorosis: An experimental study. *Fluoride.* 1982;15:75-8.
20. **Inoue M, Nagatsuka H, Tsujigiwa H, Inoue M, LeGeros RZ, Yamamoto T, Nagai N.** In vivo effect of fluoride-substituted apatite on rat bone. *Dent Mater J.* 2005;24(3):398-402.
21. **Viswanathan G, Jaswanth A, Gopalakrishnan S, Siva Ilango S, Aditya G.** Determining the optimal fluoride concentration in drinking water for fluoride endemic regions in South India. *Sci Total Environ.* 2009;407(20):5298-307.
22. **Jha SK, Mishra VK, Sharma DK, Damodaran T.** Fluoride in the environment and its metabolism in humans. *Rev Environ Contam Toxicol.* 2011;211:121-42.
23. **Bialecki P.** Evaluation of the repair process in mechanically injured rat bone stimulated by sodium fluoride with non-toxic doses. *Ann Acad Med Stetin.* 1999;45:195-209. Polish.
24. **Woo J, Kwok T, Leung JC, Ohlsson C, Vandenput L, Leung PC.** Sex steroids and bone health in older Chinese men. *Osteoporos Int.* 2011.
25. **Kurtoğlu F, Kurtoğlu V, Celik I, Keçeci T, Nizamlioglu M.** Effects of dietary boron supplementation on some biochemical parameters, peripheral blood lymphocytes, splenic plasma cells and bone characteristics of broiler chicks given diets with adequate or inadequate cholecalciferol (vitamin D3) content. *Br Poult Sci.* 2005;46(1):87-96.
26. **Nielsen FH, Hunt CD, Mullen LM, Hunt JR.** Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women. *FASEB J.* 1987;1(5):394-7.
27. **Lee IP, Sherins RJ, Dixon RL.** Evidence for induction of germinal aplasia in male rats by environmental exposure to boron. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1978;45(2):577-90.
28. **Naghii MR, Samman S.** The effect of boron supplementation on its urinary excretion and selected cardiovascular risk factors in healthy male subjects. *Biol Trace Elem Res.* 1997;56(3):273-86.

- 29. Naghii MR, Samman S.** The effect of boron on plasma testosterone and plasma lipids in rats. *Nutr Res.* 1997;17(3):523-31.
- 30. Nielsen FH, Shuler TR.** Studies of the interaction between boron and calcium, and its modification by magnesium and potassium, in rats. Effects on growth, blood variables, and bone mineral composition. *Biol Trace Elem Res.* 1992;35(3):225-37.
- 31. Devirian TA, Volpe SL.** The physiological effects of dietary boron. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2003;43(2):219-31.
- 32. Nielsen FH, Penland JG.** Boron supplementation of perimenopausal women affects boron metabolism and indices associated with macromineral metabolism, hormonal status and immune function. *J Trace Elem Exp Med.* 1999;12(3):251-61.
- 33. Travers RL, Rennie GC, Newnham RE.** Boron and arthritis: the results of a double-blind pilot study. *J Nutr Med.* 1990;1:127-32.

- 34. Newnham RE.** Essentiality of boron for healthy bones and joints. *Environ Health Perspect.* 1994;102 Suppl 7:83-5.
- 35. Sarkar SD, Maiti R, Ghosh D.** Management of fluoride induced testicular disorders by calcium and vitamin-E co-administration in the albino rat. *Reprod Toxicol.* 2006; 22 (4):606-12.
- 36. Ma X, Cheng X, Li F, Guo J.** Experimental research on endocrine disturbing effect of fluorin on hypothalamus-hypophysis-testis axis in male rats. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2008;37(6):733-5. Chinese.
- 37. Hao P, Ma X, Cheng X, Ba Y, Zhu J, Cui L.** Effect of fluoride on human hypothalamus-hypophysis-testis axis hormones. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2010;39(1):53-5. Chinese.
- 38. Ortiz-Pérez D, Rodríguez-Martínez M, Martínez F, Borja-Aburto VH, Castelo J, Grimaldo JI, de la Cruz E, Carrizales L, Díaz-Barriga F.** Fluoride-induced disruption of reproductive hormones in men. *Environ Res.* 2003;93(1):20-30.