

تاثیر مکمل روی بر چگالی توده استخوانی زنان یائسه مبتلا به پوکی استخوان: کارآزمایی بالینی تصادفی دو سو کور

مهر انگیز ابراهیمی مقانی: مرکز تحقیقات علوم تغذیه، گروه تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط

E-mail: ebrahimim@hotmail.com

مرجان مهدوی روشن: دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
علی اصغر ابراهیمی: گروه روماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۷/۱/۲۴، پذیرش: ۸۸/۷/۹

چکیده

زمینه و هدف: بالا رفتن سن و سالمندی عامل مهمی در کاهش توده استخوانی و به دنبال آن پوکی استخوان می باشد. کاهش توده استخوانی ممکن است به دلیل کاهش تشکیل استخوان و افزایش تجزیه استخوانی باشد. عنصر روی به عنوان یک ریز مغذی ضروری اثرات تحریکی و مثبت بر فعالیت استئوبلاستها، تشکیل استخوان، مهار فعالیت استئوکلاستها و بازجذب استخوان در شرایط آزمایشگاهی دارد. لذا مطالعه حاضر با هدف تعیین تاثیر مکمل روی بر چگالی توده استخوان طراحی گردید.

روش بررسی: این پژوهش به روش کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور بر روی ۳۲ زن یائسه مبتلا به پوکی استخوان مراجعه کننده به کلینیک شیخ الرئیس شهر تبریز انجام شد. افراد به طور تصادفی به ۲ گروه تقسیم شدند. گروه مداخله (N=۱۴): دریافت روزانه یک عدد کپسول ۲۲۰ میلی گرمی سولفات روی حاوی ۵۰ میلی گرم روی، گروه دارونما (N=۱۹): دریافت روزانه دارو نما به مدت ۹۰ روز دریافت کردند. اطلاعات فردی و پزشکی افراد با استفاده از پرسشنامه و دریافت غذایی با استفاده از ۳ روز یادآمد ۲۴ ساعته در شروع و پایان مطالعه تعیین شد. چگالی توده استخوانی با روش X-ray absorptiometry در ابتدا و انتهای مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: میانگین سنی جامعه مورد مطالعه ۵۷/۹۶ سال و میانگین سن یائسگی زنان مبتلا به پوکی استخوان ۴۸/۶۱ سال برآورد شد. تفاوت معنی داری از نظر سن، شاخصهای تن سنجی سطح، تحصیلات و دریافت مواد مغذی مخصوصا روی، بین گروهها وجود نداشت. تغییر در میانگین دریافت مواد مغذی در طول مطالعه نیز معنی دار نبود. میانگین دریافت روی از رژیم غذایی در این گروه از افراد به طور معنی داری پایین تر از مقادیر توصیه شده غذایی بود. بررسی و مقایسه چگالی توده استخوانی در دو گروه نشان داد که در گروه مداخله پس از ۹۰ روز مکمل یاری چگالی توده استخوانی ۵/۱۵٪ و در گروه دارونما ۲/۸٪ بهبود یافته بود گرچه این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود (P=۰/۰۸).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده احتمال وجود اثرات مثبت مکمل یاری با روی بر چگالی توده استخوانی در زنان یائسه می باشد و انجام مطالعات بیشتر در حجم نمونه بیشتر پیشنهاد می گردد.

کلید واژه ها: مکمل روی، چگالی توده استخوانی، پوکی استخوان، یائسگی، دریافت غذایی روی.

مقدمه

تجزیه استخوان باشد (۱). مطالعات نشان داده اند که مردان و زنان از اواسط زندگی سالانه حدود ۰/۳-۰/۵ درصد توده استخوانی خود را از دست می دهند و این در حالی است که زنان از شروع

بالا رفتن سن و سالمندی عامل مهمی در کاهش توده استخوانی و به دنبال آن پوکی استخوان می باشد (۱). کاهش توده استخوانی ممکن است به دلیل کاهش تشکیل استخوان و افزایش

افراد با رضایت شخصی و آگاهی از روند تحقیق در مطالعه شرکت کردند و به آنان این اطمینان داده شد که در صورت عدم تمایل به ادامه تحقیق می‌توانند از مطالعه خارج شوند. پس از اخذ رضایت نامه کتبی برای هر فرد پرسشنامه عمومی و پزشکی (شامل بررسی سن یائسگی، تعداد فرزندان، سابقه قبلی شکستگی، سابقه بیماری یا مصرف داروی خاص) و پرسشنامه یادآمد غذای سه روزه (۲ روز معمول و ۱ روز تعطیل) تکمیل گردید. سپس میزان متوسط مصرف روزانه انرژی، درشت مغذیها، روی، کلسیم و ویتامین D با استفاده از نرم افزار Nutrition III تعیین گردید و چگالی توده استخوانی (BMD) افراد در ۲ نقطه بدن شامل L2-L4 ستون فقرات و ران با استفاده از روش X-ray absorptiometry (با خطای کمتر از ۰/۵٪ و دقت اندازه‌گیری ۰/۱٪) اندازه‌گیری شد. شاخص پوکی استخوان بر مبنای $T-Score \geq -2/5$ در نظر گرفته شد. برای جمع‌آوری اطلاعات تن سنجی قد و وزن افراد مورد مطالعه از ترازوی اهرمی Seca با دقت ۰/۱ کیلوگرم متصل به قدسنج مدرج با دقت ۰/۱ سانتی‌متر استفاده شد و نهایتاً BMI برآورد گردید.

سپس بیماران به طور تصادفی به دو گروه مداخله و دارونما تقسیم شدند. به افراد گروه مداخله به مدت ۹۰ روز، روزانه ۱ عدد کپسول ۲۲۰ میلی گرمی سولفات روی حاوی ۵۰ میلی گرم روی و به گروه دارونما روزانه ۱ عدد پلاسبو حاوی نشاسته گندم که از نظر اندازه و رنگ مشابه کپسول سولفات روی بود داده شد. نوع دارویی که بیماران جهت درمان بیماری خود دریافت می‌کردند بین دو گروه مداخله و دارونما مشابه و یکسان بود و کلیه بیماران شرکت‌کننده در مطالعه فقط داروی آلدرونات و مکمل کلسیم مصرف می‌کردند. پس از ۹۰ روز مجدداً چگالی توده استخوانی، تغذیه ای و تن سنجی افراد اندازه‌گیری گردید. مصرف مکمل توسط بیماران در طول مدت مطالعه به طور منظم از طریق تلفن پیگیری می‌شد.

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام گرفت. کلیه متغیرهای کمی پس از بررسی توزیع داده‌ها به صورت میانگین و خطای استاندارد و متغیرهای کیفی به صورت تعداد و درصد بیان گردید. برای نشان دادن معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها با مقادیر مرجع از One ample t-test، مقایسه میانگین متغیرهای کمی در دو گروه از Independent t-test و برای بررسی ارتباط بین متغیرها از ضریب همبستگی Pearson استفاده شد. به منظور بررسی تاثیر مکمل یاری از تست آماری Paired sample t-test استفاده شد. سطح معنی‌دار از نظر آماری $P < 0/05$ تعریف گردید.

یائسگی تا ۷ سال بعد آن سالانه ۵-۳ درصد دچار کاهش توده استخوانی می‌شوند (۲) که آنها را بیش از سایر افراد در معرض پوکی استخوان و شکستگی ناشی از آن قرار می‌دهد. به طور کلی پوکی استخوان به عنوان یک بیماری شایع در زنان یائسه گزارش شده است (۳). برآورد شده است که ۲۵ میلیون زن در دنیا مبتلا به پوکی استخوان هستند (۴).

عوامل تغذیه‌ای و دارویی ممکن است از کاهش توده استخوانی ناشی از افزایش سن جلوگیری کنند. با این وجود ترکیبات شیمیایی موجود در غذاها که بر متابولیسم استخوان تاثیر گذار باشند به طور کامل شناخته شده نیستند (۵). مشخص شده است که عنصر روی به عنوان یک ریز مغذی ضروری اثرات تحریکی و مثبت بر فعالیت استئوبلاستها، تشکیل استخوان، مهار اثر استئوکلاستها و بازجذب استخوان در شرایط آزمایشگاه دارد (۷و۸). سطح پایین روی سرم و افزایش دفع ادراری روی در افراد دچار پوکی استخوان (۹و۱۰) و نیز ارتباط معکوس بین تغییر در چگالی توده استخوانی و دفع ادراری روی گزارش شده است (۱۱). روی نقش مهمی در رشد و تحریک بازسازی استخوان دارد (۱۲). کمبود روی باعث کاهش رشد استخوان و کاهش تراکم استخوانی می‌شود (۱۳و۱۴). مطالعات حیوانی نشان داده‌اند که مصرف خوراکی حاوی روی می‌تواند از کاهش توده استخوانی در حیوانات مبتلا به پوکی استخوان جلوگیری کند (۱۵) اما مطالعات انسانی انجام گرفته در این زمینه بسیار محدود می‌باشند. برآورد شده است که تقریباً نیمی از مردم جهان عدم کفایت روی از رژیم غذایی را دارا می‌باشند (۱۶).

با توجه به نقش مهم و مثبت روی بر توده استخوانی و شیوع بالای پوکی استخوان در زنان یائسه از یک سو نبود مطالعات کافی در زمینه بررسی تاثیر مکمل روی بر چگالی توده استخوانی در نمونه‌های انسانی از سوی دیگر مطالعه حاضر با هدف تعیین تاثیر مکمل روی بر چگالی توده استخوانی در زنان یائسه مبتلا به پوکی استخوان ورت گرفت.

مواد و روشها

پژوهش حاضر به روش کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور بر روی ۳۲ زن یائسه دچار پوکی استخوان، مراجعه کننده به کلینیک شیخ الرئیس شهر تبریز انجام گرفت. این مطالعه در کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به تایید رسید. انتخاب نمونه‌ها به روش تصادفی ساده در طول مدت ۶ ماه انجام شد. تمام بیماران توسط روماتولوژیست معاینه شدند و در صورت داشتن شرایط زیر وارد مطالعه شدند: جنس مونث، سن بالای ۴۵ سال و یائسه با نمایه توده بدن (BMI) مساوی یا کمتر از $29/9 \text{ Kg/M}^2$. افراد مورد مطالعه در صورت ابتلا به یکی از بیماریهای زیر از مطالعه کنار گذاشته شدند: استئوآرتریت، دیابت، کم‌خونی و اختلالات غدد آندوکراین، مصرف مکملهای غذایی.

یافته ها

میانگین سنی جامعه مورد مطالعه ۵۷/۹۶ سال و میانگین سن یائسگی زنان مبتلا به پوکی استخوان ۴۸/۶۱ سال بود. کلیه بیماران مورد مطالعه به مدت ۶ ماه تا ۱ سال قبل از شروع مطالعه پوکی استخوان در آنها تشخیص داده شده بود و تحت درمان بودند. مشخصات پایه افراد مورد مطالعه در جدول شماره ۱ و اطلاعات تن سنجی افراد در جدول شماره ۲ ارائه شده است. بین دو گروه مداخله و دارونما از نظر میانگین سن، وزن، قد، BMI، سطح تحصیلات و سابقه قبلی شکستگی تفاوت معنی داری مشاهده نشد. اطلاعات تغذیه ای افراد مورد مطالعه در جدول شماره ۳ ارائه شده است. میانگین دریافت انرژی، درشت مغذیها، روی، کلسیم و ویتامین D در ابتدای مطالعه بین دو گروه تفاوت معنی داری نداشت و در طول مدت مداخله نیز تغییر معنی داری نکرده بود. این مساله احتمال تاثیر مداخله ای عوامل تن سنجی و دریافت غذایی را بر نتیجه مطالعه رد می کند.

میانگین دریافت روی از رژیم غذایی در دو گروه مداخله و دارونما به ترتیب ۳ و ۳/۸ میلی گرم در روز برآورد شد که به طور معنی داری ($P < 0/05$) پایین تر از مقادیر توصیه شده غذایی (RDA^2 برای زنان روزانه ۸ میلی گرم). ۹۵٪ زنان مورد مطالعه دریافت روی غذایی پایین تر از مقادیر توصیه شده داشتند.

مقایسه اطلاعات مربوط به چگالی توده استخوانی قبل و بعد از مداخله نشان داد که در ابتدا هیچ تفاوت معنی دار آماری بین دو گروه وجود نداشت ($P = 0/05$) و ۹۰ روز مکمل یاری با کپسول ۲۲۰ میلی گرمی سولفات روی باعث ۵/۱۵ درصد بهبودی در چگالی توده استخوانی در زنان یائسه مبتلا به پوکی استخوان شد. در گروه دارونما میزان بهبودی در چگالی توده استخوانی ۲/۸ درصد محاسبه گردید. T-score در گروه مداخله، قبل و پس از مداخله به ترتیب $-3/53$ و $-2/93$ و در گروه دارونما، قبل و پس از مداخله به ترتیب $-2/98$ و $-2/71$ برآورد گردید. مقایسه میزان بهبودی در دو گروه مداخله و دارونما نشان داد که نسبت بهبودی در گروه مداخله بیش از گروه دارونما بود ولی این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود ($P = 0/08$) (نمودار شماره ۱).

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که دریافت غذایی روی در زنان یائسه مبتلا به پوکی استخوان پایین تر از مقادیر توصیه شده غذایی می باشد و ۹۰ روز مکمل یاری با کپسول سولفات روی تا حدودی باعث افزایش چگالی توده استخوانی در این گروه از بیماران می شود هرچند این افزایش در مقایسه با گروه دارونما از نظر آماری با اختلاف ناچیزی غیر معنی دار بود.

طبق بررسیهای انجام گرفته هیچ مطالعه مشابهی در این زمینه در ایران انجام نگرفته است و مطالعات انجام گرفته در سایر کشورها نیز بیشتر محدود به مطالعات حیوانی می باشند.

Heather و همکاران اثر کمبود روی را در تکامل استخوان در موشهای در حال رشد مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که کمبود روی اثر منفی بر تکامل استخوان دارد و موشهای با دریافت پایین تر روی دارای چگالی توده استخوانی کمتر از سایر گروهها بودند، همچنین سطح روی و فسفر استخوان آنها پایین تر از گروهی بود که رژیم غنی از روی داشتند (۱۷). Gonzalez و همکاران نیز درمان با روی به مدت ۵ هفته را باعث افزایش معنی دار سطح استونید در استخوان گزارش داده اند (۱۸).

استخوان یکی از بزرگترین ذخایر روی بدن می باشد و ۳۰٪ روی بدن در ساختمان استخوان ذخیره شده است. چندین آنزیم و هورمون وابسته به روی در متابولیسم استخوان موثر می باشند که از جمله می توان کلاژنازها و فسفاتازها را نام برد (۱۹). مطالعات حیوانی نشان داده اند که کمبود روی باعث کاهش رشد استخوان و کاهش حجم استخوان می شود (۲۰). در مطالعه Yamauchi و همکاران مصرف سولفات روی به مدت ۷ روز باعث افزایش قابل توجه محتوای کلسیم، آلکالین فسفاتاز و DNA در استخوان فمور موشها گردید (۲۱).

کمبود روی محتوای هورمون پاراتیروئید و کلسیتونین را در جریان خون کاهش می دهد و باعث کاهش کلسیم و نقص در معدنی شدن استخوان می گردد (۲۲). تجویز مکمل روی از طریق افزایش روی در استخوان می تواند کمبود کلسیم را بر طرف کرده و باعث افزایش محتوای کلسیم استخوان شود که خود نقش مستقیم در معدنی شدن استخوان و جلوگیری از کاهش توده استخوانی دارد (۲۳). مکانیسم سلولی که در ارتباط با عملکرد روی بر ساخت استخوانی مطرح کرد، تحریک تمایز سلولهای استئوبلاست (۲۴) و مهار تشکیل سلولهای استئوکلاست می باشد (۲۵). Kitajima و همکاران نیز نشان دادند که مکمل روی باعث افزایش اثر استروژن بر استخوان می شود. استروژن دارای آثار آنابولیک بر استخوان است و در حضور استروژن جذب کلسیم توسط استخوان افزایش می یابد (۲۶).

مطالعات حیوانی نشان داده اند که چگالی توده استخوانی از طریق تجویز مکمل روی افزایش می یابد که این افزایش ممکن است در نتیجه افزایش ترکیبات استخوان از جمله کلسیم، روی و پروتئین در اثر تجویز روی باشد (۲۷ و ۱۸).

جدول شماره ۱: مشخصات بیماران قبل از شروع مطالعه

P*	گروه دارونما	گروه مداخله	متغیر
	(N=19)	(N=14)	
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	
۰/۲	۵۶/۶۴ ± ۱/۲۵	۵۹/۵ ± ۱/۸۹	سن (سال)
۰/۶	۴۸/۷۶ ± ۰/۴۴	۴۸/۴۵ ± ۰/۵۹	سن یائسگی (سال)
۰/۰۱	۴/۲ ± ۰/۳۴	۲/۹ ± ۰/۳۶	تعداد فرزندان
۰/۰۸	-	٪۱۳/۶	سابقه شکستگی
۰/۰۷	-	٪۱۸/۲	سطح تحصیلات
	٪۸	٪۱۸/۲	دانشگاهی
	٪۱۲	٪۱۸/۲	دیپلم
	٪۳۶	٪۴۵/۵	زیر دیپلم
	٪۴۴	٪۱۸/۲	بی سواد

Independent sample t-test* مجذور کای

جدول شماره ۲: میانگین و انحراف معیار اندازه های تن سنجی

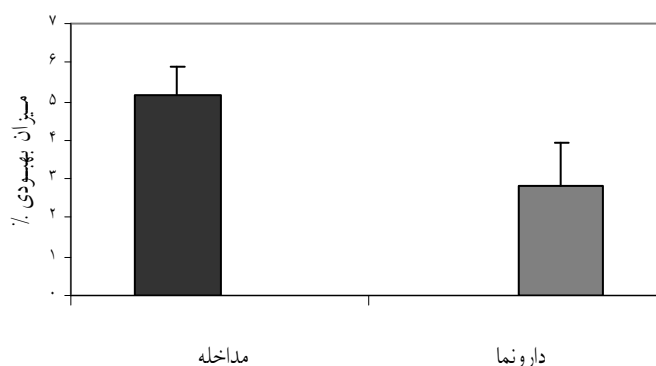
P*	دارونما (N=19)		P*	مداخله (N=14)		متغیر
	قبل مداخله	بعد مداخله		قبل مداخله	بعد مداخله	
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$		$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	
۰/۰۹	۶۷/۷۲ ± ۱/۵۵	۶۷/۳۴ ± ۱/۶۵	۰/۰۷	۶۸/۷۷ ± ۱/۵۵	۶۸/۲۷ ± ۱/۵۶	وزن (کیلوگرم)
۰/۰۲	۱۵۷/۸۰ ± ۱/۱۲	۱۵۷/۷۹ ± ۱/۰	۰/۰۹	۱۵۵/۵۶ ± ۱/۲۱	۱۵۵/۷۷ ± ۱/۱۰	قد (سانتی متر)
۰/۰۲	۲۷/۱۷ ± ۰/۵۳	۲۷/۰۱ ± ۰/۵۶	۰/۰۹	۲۷/۳ ± ۰/۵۵	۲۸/۱۴ ± ۰/۵۸	BMI (کیلوگرم به متر مربع)

Paired t-test *

جدول شماره ۳: میانگین و انحراف معیار دریافت انرژی و مواد مغذی

P*	دارونما (N=19)		P*	مداخله (N=14)		متغیر
	قبل مداخله	بعد مداخله		قبل مداخله	بعد مداخله	
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$		$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	
۰/۳	۱۹۲۳ ± ۶۰/۸۶	۱۸۶۲ ± ۱۳/۸۸	۰/۱۴	۱۹۹۵ ± ۴۴/۱۲۱	۱۹۰۷ ± ۲۳/۱۲۲	انرژی (کیلوکالری)
۰/۱۲	۶/۵۳ ± ۹۷/۳	۱/۵۴ ± ۳/۹۶	۰/۱۲	۰/۵۶ ± ۴/۷	۷/۵۴ ± ۴۶/۴	پروتئین (گرم)
۰/۲۴	۶/۲۲۷ ± ۹۳/۱۴	۶/۲۳۹ ± ۸۳/۱۱	۰/۴۰	۶/۲۱۷ ± ۸۳/۱۲	۲/۲۲۵ ± ۳۸/۱۷	کربوهیدرات (گرم)
۰/۰۷	۹۰/۳ ± ۳/۳۲	۹۱/۰ ± ۳/۳۶	۰/۳۰	۹۰/۱ ± ۵/۱۳	۸۹/۰ ± ۹۳/۵	چربی (گرم)
۰/۴۰	۳/۸۴ ± ۰/۲۹	۳/۸۷ ± ۰/۳۱	۰/۱۲	۳/۶۴ ± ۰/۲۴	۳/۰۸ ± ۰/۲۶	روی (میلی گرم)
۰/۲۰	۷۴۸/۷۲ ± ۵۹/۱	۶۸۳/۴۸ ± ۵۴/۹	۰/۴۷	۶۹۸/۰۴ ± ۵۹/۳	۷۱۳/۴ ± ۶۰/۴	کلسیم (میلی گرم)
۰/۹۰	۸۷/۹۳ ± ۱۵/۷۱	۸۵/۸۴ ± ۱۳/۸۴	۰/۷۸	۸۲/۴۵ ± ۱۱/۲۵	۸۱/۷۸ ± ۱۲/۱۲	ویتامین D (واحدین المللی)

Paired t-test *



نمودار شماره ۱: میزان بهبودی (میانگین ± SD) در چگالی توده استخوانی بعد از ۹۰ روز مداخله در گروههای مورد مطالعه

نتیجه گیری

را پیشنهاد می‌کند، لذا انجام مطالعات بیشتر در این زمینه برای اطمینان از آثار مثبت مکمل روی پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

از مرکز تحقیقات علوم تغذیه دانشگاه علوم پزشکی تبریز به دلیل حمایت مالی از طرح حاضر و نیز کلیه بیمارانی که در این مطالعه شرکت کردند، نهایت سپاس و تشکر را دارد. این طرح پس از تصویب در کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به شماره نامه ۵/۴/۳۲۲۵ مورخ ۸۵/۴/۳۱ به اجرا درآمد.

بطور کلی مطالعه حاضر به عنوان اولین مطالعه انسانی انجام گرفته بر روی زنان یائسه مبتلا به پوکی استخوان نشان داد که مکمل یاری با روی به نظر می‌رسد در جلوگیری از کاهش توده استخوانی، افزایش توده استخوانی در این گروه از بیماران نقش موثری داشته باشد. از آنجایی که زنان مورد مطالعه دچار کمبود دریافت غذایی روی بودند اهمیت مصرف مکمل روی در این گروه از افراد مشخص تر می‌شود و شاید یک دلیل عدم معنی دار بودن نتیجه مطالعه حاضر، وجود کمبود روی در این گروه از افراد باشد که نیاز به دریافت مقادیر بیشتر روی در مدت زمان طولانی تر

References:

1. Uchiyama S, Hashimoto K. Synergistic effect of B-cryptoxantin and zinc sulfate on the bone component. *Bilo Pharm Bull* 2005; **11**: 2142-2145.
2. Zhang X, Honglan L, Zheng W. Prospective cohort study of soy food consumption and risk of bone fracture among postmenopausal women. *Am Med Associat* 2005; **17**: 12.
3. Cauley J, Robbins J. Women's health initiative investigators. Effect of estrogen plus progestin on risk of fracture and bone mineral density. *JAMA* 2003; **290**: 1729-1738.
4. Melton LJ. The Prevalence of Osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1998; **12**: 1769.
5. Migraine GA, Gagliardi L. Diet, nutrition and bone health. *Clin Ter* 2005; **156**: 47-56.
6. Campton JM, Maricie MJ. Osteoporosis in Men. *Am Fam Physician* 2003; **67**: 1521-1526.
7. Yamaguchi M. Role of zinc in bone formation and bone resorption. *J Trace Elm Exp Med* 1998; **11**: 119-135.
8. Moonga BS, Dempster DW. Zinc is a potent inhibitor of osteoclastic bone resorption in vitro. *J Bone Miner Res* 1995; **10**: 453-457.
9. Relea P, Ripoll E. Zinc biochemical markers of nutrition and osteoporosis. *Age Ageing* 1999; **24**: 303-307.
10. Herzberg M, Lusky A, Blonder J. The effect of estrogen replacement therapy on zinc in serum and urine. *Obstet Gynecol* 1999; **87**: 1035-1040.
11. Herzberg M, Lusky A. The effect of estrogen replacement therapy on zinc in serum and urine. *Obstet Gynecol* 1996; **86**: 1035-1040.
12. Miggiano GA, Gagliardi L. Diet, nutrition and bone health. *Clin Ter* 2005; **156**: 47-56.
13. Atik Os. Zinc and senile osteoporosis. *J Am Geriatr Soc* 1989; **31**: 790-791.
14. Freudenheim J, Smith E. Relationships between usual nutrient intake and bone mineral content of women 35-65 years of age. *Am J Clin Nutr* 1986; **44**: 863-876.
15. Garish A, Yamaguchi M. Stimulatory effect of zinc acexamate administration on fracture healing of the femoral-diaphyseal tissues in rats. *Gen Pharmaco* 1999; **32**(4): 463-469.
16. Wuehler S, Peerson J. Estimation of the global prevalence of zinc deficiency using national food balance data. *FASEB J* 2000; **4**: 510.
17. Heather J, Hope A. Zinc deficient rats have more limited bone recovery during repletion than diet restricted rats. *Exp Biol Med* 2004; **229**: 303-311.
18. Gonzalez-Reamers E, Duran-castellan MC, Martin-Oliver R. Effect of zinc supplementation on ethanol-mediated bone alterations. *Food and chem Tox* 2005; **43**: 1497-1505.
19. Zhou J, Canar M. Bone zinc is poorly released in young growing rats fed marginally zinc restricted diet. *J Nutr* 1995; **123**: 1383-1388.
20. Barnes GL, Kostenuik PJ, Gerstein, feld LC. Growth factor regulation of fracture repair. *J Bone Miner Res* 1999; **14**: 1805-1815.
21. Yamaguchi M, Uchiyama S. Oral administration in combination with zinc enhances B-cryptoxantin-induced anabolic effects on bone components in the femoral tissues of rats in vivo. *Biol Pharm* 2006; **29**: 371-374.
22. Zang YH, Cheng YY. Effects of zinc deficiency on bone mineralization and its mechanism in rats. *Zhaong Fang Yi Xue Zh* 2003; **37**: 121-124.
23. Oner G, Bala R. Effect of zinc deficiency on serum somatomedin levels and skeletal growth in young rats. *Endocrinology* 1960; **144**: 1860-1863.
24. Hashizume M. Effect of B-alanyl-L- histidinato zinc on differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cell: increases in alkaline phosphates activity and protein concentration. *Mol Cell Biochem* 1994; **131**: 19-24.
25. Kishi S, Segawa Y. Inhibitory effect of zinc compounds on osteoclast-like cell formation in mouse marrow cultures. *Biochem Pharmac* 1995; **45**: 1225-1230.
26. Kitajima T, Yamaguchi M. Effect of estrogen on bone metabolism in tissue culture: Enhancement of the steroid effect by zinc. *Res Exp Med* 1995; **191**: 145-154.
27. Garish A, Yamaguchi M. Stimulatory effect of zinc acexamate administration on fracture healing of the femoral-diaphyseal tissues in rats. *Gen Pharmaco* 1999; **32**(4): 463-469.