

## بررسی اثر مصرف توام ویتامین E و عنصر روی بر سطح سرمی هورمون‌های کلسی‌تونین، استروژن، پروژسترون و کلسیم در موش‌های اواریکتومی شده

علیرضا شمس<sup>۱</sup>، حسین جوراب بافان<sup>۲</sup>، محمدرضا دارابی<sup>۳</sup>، فاطمه حاج منوچهری<sup>۴</sup>، امیر حاجی عباس ضرابی<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> استادیار آناتومی، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی البرز، کرج، ایران  
<sup>۲</sup> کارشناس اتاق عمل، گروه اتاق عمل، بیمارستان بوعلی سینا قزوین، دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی قزوین، قزوین، ایران  
<sup>۳</sup> دانشیار آناتومی، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی اراک، اراک، ایران  
<sup>۴</sup> استادیار، متخصص پاتولوژی گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی قزوین، قزوین، ایران  
<sup>۵</sup> کارشناس اتاق عمل بیمارستان شهید رجایی قزوین، دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی قزوین، قزوین، ایران

نشانی نویسنده مسؤول: علی رضا شمس استادیار، Ph.D آناتومی گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی البرز کرج، جاده، باغستان، خیابان اشتراکی

E-mail: alirezashams2014@gmail.com

وصول: ۹۳/۹/۲۴، اصلاح: ۹۳/۱۱/۷، پذیرش: ۹۳/۱۲/۱۵

### چکیده

**زمینه و هدف:** استئوپروز یک بیماری تخریب‌کننده استخوان و یکی از مشکلات عمده‌ی افراد در سنین بالای ۵۰ سال می‌باشد که هزینه‌های زیاد و به دنبال آن عوارض جسمی و روانی را بر جامعه تحمیل می‌کند. آنتی‌اکسیدان‌ها و بعضی املاح معدنی به خصوص عناصر نایاب مانند روی بر درمان بعضی از بیماری‌ها و احتمالاً پوکی استخوان می‌تواند تاثیر مثبت داشته باشد. مطالعه‌ی حاضر تلاش دارد تا تاثیر مصرف توام مکمل ویتامین E و عنصر روی بر روی پارامترهای درمان پوکی استخوان را بررسی کند.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه‌ی تجربی، ۳۹ سر موش ویستار ماده‌ی بالغ در محدوده‌ی وزنی ۲۰۰-۱۸۰ گرم انتخاب شد. از این تعداد، ۷ سر به عنوان گروه کنترل انتخاب شده و بقیه تحت عمل اواریکتومی قرار گرفتند و به ۳ گروه آزمایشی شامل: گروه درمانی ویتامین E با دوز 200IU روزانه (n=9)، گروه درمان با عنصر روی با دوز 227mg/lit (n=8) و گروه درمانی روی + ویتامین E (n=8) و یک گروه sham با عمل اواریکتومی بدون درمان (n=7) تقسیم شدند. پس از یک ماه درمان، میزان هورمون‌های کلسی‌تونین، استروژن و پروژسترون و مواد معدنی روی و کلسیم در نمونه‌ی خون آنها، سنجیده و مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** مقدار هورمون کلسی‌تونین در سرم خون گروه تیمار شده با روی و گروه ویتامین E + روی نسبت به گروه کنترل و sham اختلاف معناداری را نشان داد. مقدار استروژن و پروژسترون در تمام گروه‌ها نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری داشت، اما میزان کلسیم در گروه‌های تجربی کاهش معناداری را نشان نداد. میزان روی نیز در گروه‌های درمان نسبت به گروه کنترل اختلاف معناداری داشت، ولی تنها در گروه sham با یک افزایش در سطح سرمی خون بروز کرد.

**نتیجه‌گیری:** استفاده از روش‌های درمانی جدید شامل استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها مانند ویتامین E همراه با روی، می‌تواند در جلوگیری از کاهش توده‌ی استخوانی و درمان بیماری استئوپروز موثر باشد.

**واژه‌های کلیدی:** پوکی استخوان، ویتامین E، عنصر روی، کلسی‌تونین، درمان، اواریکتومی.

## مقدمه

استئوپروز یا پوکی استخوان، شایع‌ترین اختلال متابولیک استخوان و مواد معدنی می باشد که حدود ۴۰ درصد زنان بالای ۵۰ سال را مبتلا می‌کند. استئوپروز به عنوان یک بیماری اسکلتی پیشرونده است که با کاهش توده‌ی استخوان و تخریب ساختار میکروسکوپی بافت استخوان شناخته می‌شود که در نتیجه، موجب افزایش سستی و شکستگی استخوان می‌گردد (۱).

شکستگی‌های استخوان ناشی از پوکی منجر به عوارضی مثل کمردرد، کاهش قد، کیفوز، کاهش حجم قفسه‌ی سینه، یبوست، درد شکم، نفخ و اتساع شکم و کاهش اشتها می‌شود. به علاوه می‌توان به مشکلات روحی - روانی مانند افسردگی به علت ازدست‌دادن توانایی انجام کارهای شخصی و احساس سرباری نیز اشاره کرد (۲).

بالانس طبیعی بین تشکیل و جذب استخوان را به عنوان بازسازی یا remodeling می‌شناسند. بازسازی، یک روند مداوم است که موجب نگه‌داری توده‌ی استخوانی می‌شود. در پوکی استخوان، توده‌ی استخوانی کاهش یافته و نسبت جذب به تشکیل استخوان افزایش می‌یابد. این تفاوت در منوپوز تشدید و طولانی می‌شود (۳).

علت بروز پوکی استخوان، مولتی فاکتوریال است که می‌توان به عواملی مانند سن، وراثت، نژاد، میزان دریافت کلسیم، فعالیت بدنی، سیگار، الکل و میزان هورمون‌ها به ویژه استروئیدهای جنسی، رژیم غذایی، سطوح سرمی ویتامین D، تعداد حاملگی و شیردهی را در زنان که در شروع و پیشرفت بیماری موثر است، اشاره کرد (۴). پوکی استخوان بیشتر در خانم‌ها دیده می‌شود، ولی در آقایان هم تعداد مبتلایان کم نیست و با این تفاوت که در سنین بالاتر بروز می‌کند (۵).

بر اساس برآورد WHO تا سال ۲۰۵۰، حدود ۵۳۰ میلیون نفر زن و مرد بالای ۶۵ سال در آسیا زندگی می‌کنند. به همین علت، استئوپروز به صورت یکی از مهمترین معضلات بهداشتی این جوامع درمی‌آید. در این

بیماران، شکستگی‌های لگن در ۲۵٪ موارد در طی سال اول منجر به مرگ می‌شود و در ۵۰٪ موارد نیز هرگز توانایی قبل از شکستگی حاصل نخواهد شد. لذا اهمیت پیشگیری یا به تاخیر انداختن ایجاد پوکی استخوان بیش از پیش روشن می‌گردد.

معمولا جهت درمان پوکی استخوان ناشی از افزایش سن از ترکیبات کلسیم به میزان ۱۲۰۰ میلی‌گرم در روز و نیز انواع داروهای هورمونی استروژنی استفاده می‌گردد که این داروها خود دارای عوارض ناخوشایندی هستند. برای درمان این بیماری از استروژن‌های مخصوص مثل رالوکسی فن نیز استفاده می‌شود. راه دیگر درمان استفاده از کلسیم و ویتامین D3 به صورت مکمل است (۶).

به نظر می‌رسد که آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند بر میزان رسوب کلسیم در استخوان تاثیر داشته باشند. همچنین نقش روی بر افزایش تراکم استخوان و افزایش هورمون استروژن در برخی مقالات گزارش شده است. ویتامین E یکی از ویتامین‌های محلول در چربی است و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قادر به تجزیه اکسیدان هاست. این ویتامین، توانایی زیادی در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و مهار روندهای استرس اکسیداتیو دارد. مصرف آن باعث رسوب کلسیم در استخوانها و کند شدن روند پیری سلولها می‌شود (۷). ویتامین E مقاومت LDL را در برابر تخریب - های اکسیداتیو افزایش می‌دهد. برخی نتایج نشان می‌دهد که کمبود روی در مواد غذایی، باعث بروز پوکی استخوان می‌گردد (۸ و ۲).

از طرفی دیگر، درمان‌هایی که در حال حاضر انجام می‌گیرد، مثل تجویز کلسیم و ویتامین D3 می‌تواند موجب عوارض جانبی مثل تشکیل سنگ کلیه، عوارض کبدی و گرفتگی رگ‌ها، اختلالات گوارشی، ترومبو آمبولی سیاهرگی، گرگرفتگی، استفراغ، اسهال، مشکلات کرونری، ازوفازیت، سکت، هایپرپلازی اندومتر و سرطان سینه گردد. بنابراین بروز این علائم و عوارض در درمان‌های

روتین، اهمیت پرداختن به مطالعاتی جهت یافتن راهی بهتر برای درمان استئوپروز را روشن می‌کند.

بررسی نتایج درمانی ویتامین E و روی بر روی مدل حیوانی پوکی استخوان، می‌تواند روش‌های درمانی جدیدی علاوه بر روش‌های رایج مانند هورمون درمانی و یا تجویز کلسیم پیشنهاد نماید. در این مطالعه آثار مصرف توام ویتامین E و عنصر روی بر درمان پوکی استخوان مورد بررسی قرار گرفت تا راهی بهتر برای درمان استئوپروز مورد پژوهش قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

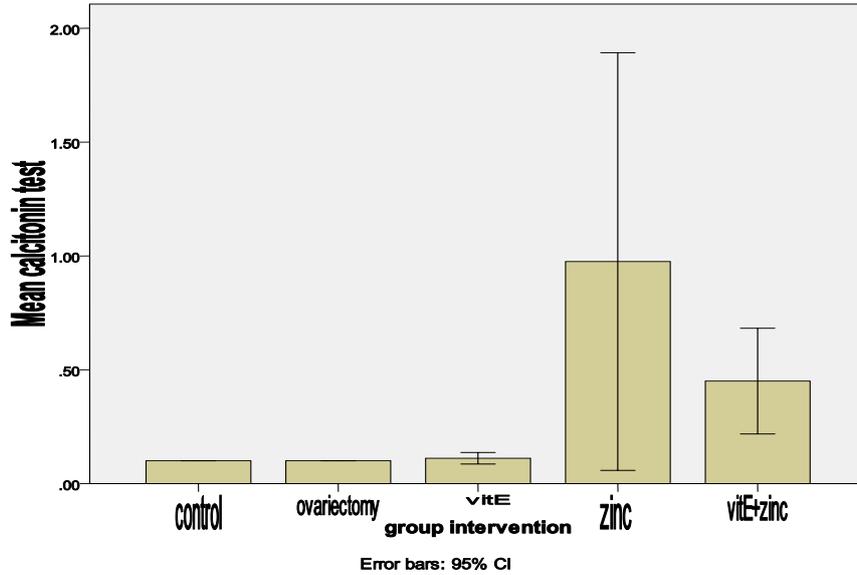
در این مطالعه‌ی توصیفی - تحلیلی که در سال ۱۳۹۲ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد، تعداد ۳۹۲ سر موش صحرایی ماده‌ی بالغ نژاد ویستار با محدوده‌ی وزنی  $180-200$  g از انستیتوپاستور ایران خریداری شدند. به‌منظور یکسان سازی، حیوانات در شرایط آزمایشگاهی  $22^{\circ}$  درجه‌ی سانتی گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی و رطوبت نسبی  $40\%$  تا  $60\%$  در قفس‌های حیوانات پلکسی گلاس نگهداری شدند. حیوانات به دو گروه درمانی کنترل ( $n=7$ ) و آزمایشی با انجام عمل اواریکتومی تقسیم شدند. گروه‌های آزمایشی شامل گروه sham ( $n=7$ )، درمان با Zn ( $n=8$ )، درمان با ویتامین E ( $n=9$ ) و درمان توام Zn و ویتامین E ( $n=8$ ) تقسیم شدند. گروه‌های آزمایشی با رعایت ضوابط اخلاقی و با تزریق داخل صفاقی گزایلازین با دوز  $5\text{mg/kg}$  و کتامین با دوز  $40\text{ mg/kg}$  به نسبت  $1/8$  ترکیب شدند. سپس حیوانات بیهوش شده و تحت عمل جراحی اواریکتومی قرار گرفتند. در این عمل، هر دو تخمدان برداشته شد تا مدل طبیعی پوکی استخوان فراهم شود. دوز درمانی گروه‌های آزمایشی شامل  $227\text{mg/lit}$  سولفات روی (محصول شرکت مرک آلمان) به صورت محلول در آب و ویتامین E به میزان  $200\text{IU}$  (محصول کشور کانادا)، روزانه به صورت خوراکی بودند. ۱۳ هفته پس از

درمان حیوانات تمام گروه‌ها با دوز بالای کلروفورم توسط استنشاق دچار بیهوشی عمیق و سپس کشته شدند. نمونه‌های خون جهت بررسی سطح سرمی هورمون کلسی-تونین، استروژن، پروژسترون، کلسیم و روی تهیه گردید. این نمونه‌ها از قلب موش‌ها، گرفته و جهت ارزیابی پارامترهای مورد نظر به آزمایشگاه ارسال شد. اطلاعات با استفاده از آزمون ANOVA و Tukey test در برنامه‌ی SPSS-Version 19 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و نتایج با سطح اطمینان ۵ درصد ( $P\text{-value}\leq 0.05$ ) مورد پذیرش قرار گرفت. برای اطمینان بیشتر از آزمون ناپارامتری Kruskal-Wallis نیز استفاده شد.

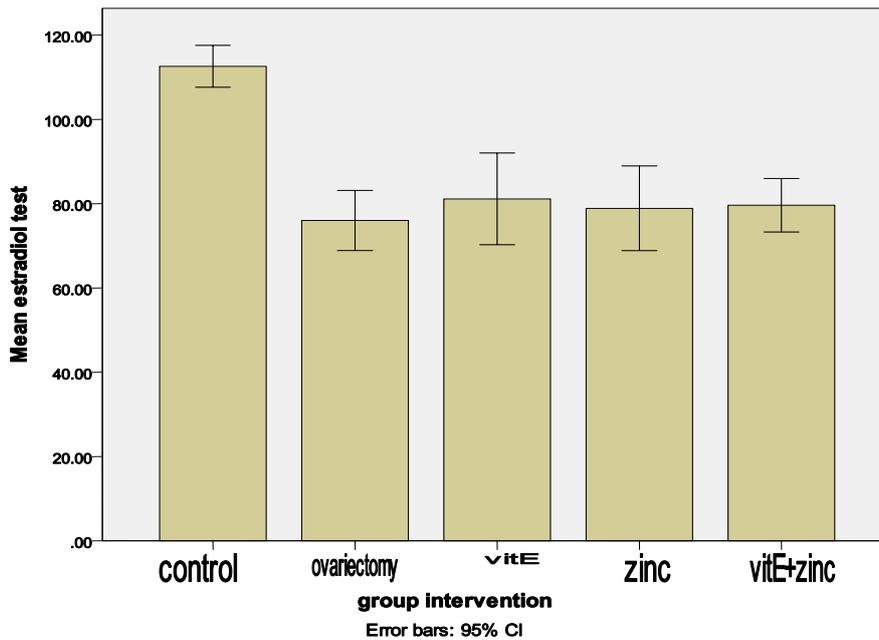
## یافته‌ها

در طی مدت درمان گروه‌های آزمایشی، حیوانات رات ماده اواریکتومی شده به مدت ۹۰ روز میزان سطح سرمی کلسی‌تونین در گروه‌های مختلف آزمایشی و کنترل مورد بررسی قرار گرفتند بدین صورت که میانگین سطح سرمی هورمون کلسی‌تونین ( $0.3538 \pm 0.09729$ ) در گروه آزمایشی درمان با Zn و گروه آزمایشی درمان با ویتامین E + Zn نسبت به گروه کنترل اختلاف معناداری را نشان داد ( $P\leq 0.000$ ). همچنین سطح سرمی هورمون کلسی-تونین در گروه درمانی با Zn و گروه آزمایشی درمان با Zn همراه با ویتامین E نسبت به گروه sham نیز اختلاف معنادار نشان داد ( $P\leq 0.001$ ). میانگین میزان کلسی‌تونین در گروه درمانی با روی بسیار بالاتر از گروه‌های دیگر بود (نمودار ۱).

میانگین میزان هورمون استروژن ( $16.30851 \pm 85.0769$ ) در تمام گروه‌های آزمایشی درمانی نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری داشت ( $P\leq 0.002$ ). هرچند که میزان استروژن در گروه ویتامین E بیشتر از بقیه‌ی گروه‌هاست و میزان کاهش استروژن در گروه درمانی با عنصر روی بیشتر بود (نمودار ۲). به علت انجام عمل واریکتومی و نبود تخمدان برای تولید



نمودار ۱: میزان هورمون کلسی‌تونین در گروه‌های کنترل و آزمایشی است. میزان هورمون کلسی‌تونین در سرم خون گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل در گروه درمانی با Zn افزایش معناداری را نشان می‌دهد ( $P \leq 0.000$ )



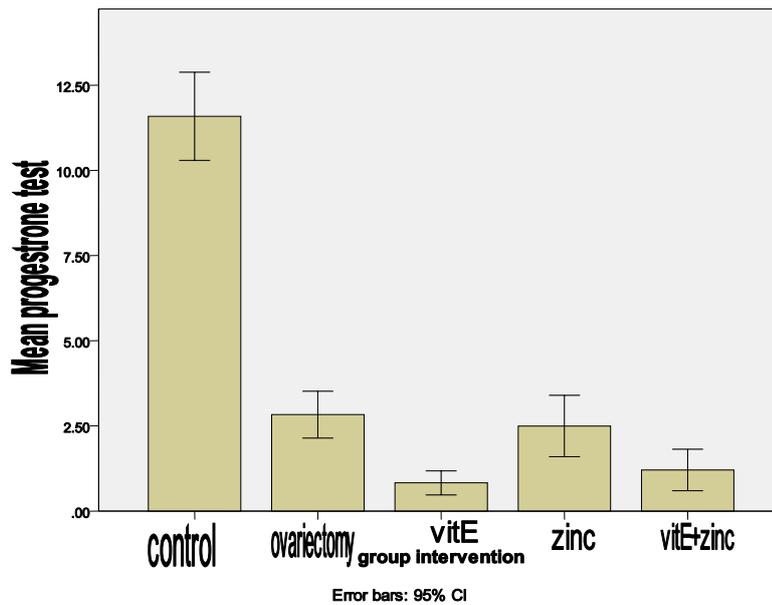
نمودار ۲: میزان هورمون استروژن در گروه‌های کنترل و آزمایشی است. سطح هورمون استروژن در خون تمامی گروه‌های آزمایشی اواریکتومی شده نسبت به گروه کنترل بدون اواریکتومی کاهش معناداری با در صد دقت بالای ( $P \leq 0.002$ ) را نشان داد.

و روی نیز در تمام گروه‌ها نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری نشان داد ( $P \leq 0.000$ ) که این کاهش در گروه تیمار شده با ویتامین E بیشتر بود و در گروه روی، کمترین مقدار کاهش مشاهده شد (نمودار ۳).

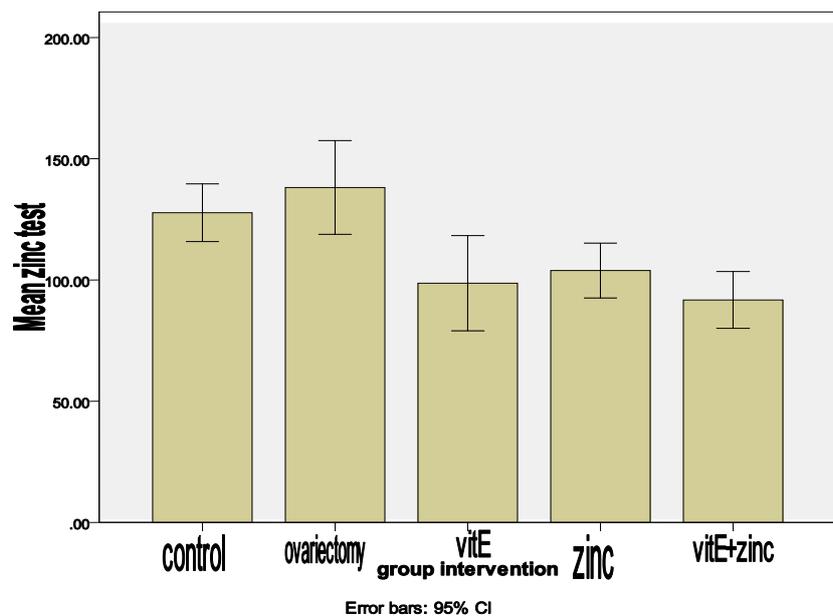
میانگین میزان سطح سرمی عنصر روی حیوانات گروه کنترل و آزمایشی تحت درمان با ویتامین E

دوباره‌ی هورمون استروژن میزان سطح سرمی هورمون استروژن برای گروه‌های درمانی با ویتامین E و یا درمان با عنصر Zn و یا درمان همزمان با هر دو افزایش نیافت.

همچنین میزان میانگین هورمون پروژسترون حیوانات گروه کنترل و آزمایشی تحت درمان با ویتامین E



نمودار ۳: میزان هورمون پروژسترون در گروه‌های کنترل و آزمایش است. میانگین سطح سرمی پروژسترون در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری را نشان داد ( $P \leq 0.000$ )



نمودار ۴: میزان عنصر روی در گروه‌های کنترل و آزمایش است. میانگین میزان سطح سرمی عنصر روی در گروه درمانی با Zn نسبت به سایر گروه‌های درمانی بیشتر است. ( $P \leq 0.001$ )

میانگین مقدار کلسیم ( $9/4769 \pm 0.42517$ ) در سرم خون تهیه شده در گروه‌های مختلف اختلاف معناداری را نشان نداد ( $P \leq 0.344$ ). تنهادر گروه تیمار شده با ویتامین E یک افزایش مختصر دیده شد. در گروه تیمار شده با ویتامین E + روی نیز سطح سرمی کلسیم کاهش مختصری را نشان داد.

sham اختلاف معناداری را نشان نداد ( $P \leq 0.305$ ). همچنین سطح سرمی روی در گروه‌های درمانی نسبت به هم نیز اختلاف معناداری را نشان نداد، ولی در گروه کنترل نسبت به گروه‌های درمانی اختلاف معناداری را نشان داد (به- ترتیب گروه درمانی  $vit E = 0.013$  و  $Zn = 0.003$  و  $0.001$ ). ( $vit E + Zn =$  نمودار ۴).

در نتایج به دست آمده، مشاهده می شود که سطح سرمی هورمون کلسی تونین در گروه تیمار شده با روی بیشترین مقدار را داشت. همچنین سطح سرمی هورمون استروژن در تمام گروه های درمانی مقداری بهبود یافت.

## بحث

بر اساس تحقیق به عمل آمده، به نظر می رسد که روی و ویتامین E می توانند باعث حفظ ساختار استخوان در بیماران مبتلا به پوکی استخوان شوند و یا حداقل روند تخریب و آسیب بافتی را به تاخیر بیندازند.

در تحقیق حاضر هورمون کلسی تونین در سرم خون حیوانات درمانی و همچنین مقدار کلسی تونین در گروه های دریافت کننده ی روی و ویتامین E، افزایش یافت. یعنی درمان با روی و ویتامین E موجب افزایش سطح هورمون کلسی تونین در سرم خون و درمان پوکی استخوان شده است که با نتایج رادیولوژیک مورد تایید می باشد.

در تایید یافته های تحقیق حاضر نیز Yi-JieKuo و همکاران اثر افزایشی کلسی تونین و (SDCP) sintered dicalcium pyrophosphate را در افزایش تشکیل استخوان و افزایش حجم استخوان در موشهای اواریکتومی شده، نشان دادند (۹). نتایج آماری مورد بررسی در میزان کلسی تونین در گروه های آزمایشی تحقیق حاضر نشان می دهد که اثرات درمانی حیوانات به ویژه در گروه روی چشمگیر و معنادار می باشد. هرچند که در گروه درمانی هم زمان روی و ویتامین E هم نتایج معنادار می باشد. به نظر می رسد که اثرات روی به تنهایی نتایج بهتری نسبت به درمان توام داشته باشد اگرچه موثرتر بودن این درمان نسبت به درمان توام مشخص نیست.

نتایج Stratford و همکاران نیز نشان داد که هورمون PTH متصل شده به کلاژن (PTH-CBD) عاملی آنابولیک برای درمان استئوپروز ناشی از یائسگی است (۱۰). همسو با نتایج تحقیق حاضر Corina و همکاران نیز

بیان داشتند که تراکم معدنی استخوان بدون در نظر گرفتن وزن بدن در زنان یائسه کمتر از زنان قبل از یائسگی است و استرادیول و استروژن به طور مثبت با توده استخوانی در زنان قبل از یائسگی مرتبط است (۱۱). R.Hamdy و همکارش نشان دادند که کلسی تونین با مهار فعالیت استئوکلاست ها و افزایش دفع کلیوی کلسیم تحلیل استخوان را کاهش می دهد (۱۲). اظهارات این محققان نتایج تحقیق حاضر را تایید می کند.

نتایج فاکتورهای موثر در سرم خون گروه درمانی ویتامین E نقش مثبت درمانی ویتامین E را در کاهش میزان پوکی استخوان و افزایش میزان هورمون کلسی تونین و نیز به عنوان یک شاخص در کاهش میزان استئوپروز در حیوانات نشان داد. Sharlina و همکاران نیز مکمل آلفا توکوفرول را برای بهبود در درمان شکستگی در موش های استئوپروتیک مورد استفاده قرار دادند، اما متوجه شدند که در بازسازی استخوان تاثیری ندارد (۱۳). Maggio و همکاران میزان ویتامین های A، E، C، و فعالیت آنزیمی سوپراکسید دسموتاز و گلوکوتاتیون پراکسیداز در پلاسما ی خون زنان مبتلا به پوکی استخوان را مطالعه کردند و نشان دادند که میزان آنتی اکسیدان ها در پلاسما ی خون آنها کاهش یافت. یعنی میزان دفاع آنتی اکسیدانی در زنان مبتلا به پوکی استخوان تغییر می یابد (۱۴). به نظر می رسد در پژوهش حاضر نیز عنصر روی و ویتامین E به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل کرده و از این طریق بر متابولیسم استخوان و در نهایت در حفظ ساختار استخوان تاحدودی تاثیر گذار هستند. در مطالعه ی SAbdul-Majeed و همکاران مشخص شد که درمان ترکیبی دلتا توکوترینول با لوواستاتین اثر مثبت و سینرژیستیک در بهبود تراکم استخوان در بیماران استئوپروزی دارد (۱۵) که مشابه یافته های تحقیق حاضر می باشد. زیرا آنان نیز از مشتقات ویتامین E در درمان پوکی استفاده کرده اند. در تحقیقات مشابه دیگر، هنگامی که توکوترینول و  $\alpha$  توکوفرول در موش ها استفاده شد از بالا رفتن سطح استئوکلسین و میزان

اینتر لوکین ۶۱ و جلوگیری شد که مصادف با آن تغییرات استئوپروتیک نیز مهار گردید (۱۶).

مکانیزم عمل روند تحلیل استخوان را به صورت ذیل می توان شرح داد که مقدار زیادی مولکول های اکسیژن فعال Reactive oxygen species (ROS) آزاد می شود و کمبود هورمون استروژن میزان ROS را افزایش می دهد. از طرفی میزان آنتی اکسیدان ها نیز در خون این موش ها کاهش یافته و بنابراین افزودن ویتامین E می تواند برای متابولیسم طبیعی و حفظ ساختار طبیعی استخوان مفید باشد (۱۷).

یکی دیگر از متغیرهای مورد بررسی در تحقیق حاضر، میزان روی در گروه های درمانی بود. در مطالعه ای ممقانی نشان داده شد که احتمال وجود اثرات مثبت مکمل یاری با روی بر چگالی توده ای استخوان در زنان یائسه وجود دارد (۱۸). در مطالعه ای مهدوی روشن و همکاران نیز مشخص گردید که در زنان یائسه مبتلا به پوکی استخوان که تحت درمان با روی قرار گرفته بودند، میانگین غلظت سرمی روی به طور معناداری بالاتر بود در حالی که سطوح سرمی کلسیم بدون تغییر بود که نتایج آن همسو با نتایج تحقیق حاضر است (۱۹). در بررسی محمدحسن افتخاری و همکاران نشان داده شد که مکمل یاری منیزیم نتوانست تغییری در مارکرهای سرمی ساخت استخوان (آلکالین فسفاتاز و استئوکلسین) و ترمیم شکستگی داشته باشد، ولی باین حال این افزایش اگرچه معنادار نبود، اما باعث افزایش در سطح سرمی آنها شد (۲۰). در مطالعه ای Li و همکاران نیز نشان داده شد که در موش های اواریکتومی شده که در فمور آنها از ایمپلنت های تیتانیومی پوشش داده شده با روی استفاده شده بود، در مقایسه با ایمپلنت های تیتانیومی بعد از ۱۲ هفته میزان مواد معدنی اطراف ایمپلنت استخوانی، بهبود و نسبت استخوان به سطح افزایش یافته بود. از طرفی توده ای استخوانی بیشتری در اطراف ایمپلنت پوشش داده شده با روی نسبت به ایمپلنت هیدروکسی آپاتیت تشکیل شده بود.

آزمایش های بیو مکانیکال نیز حکایت از افزایش مقاومت ایمپلنت های پوشش داده شده با روی در پیوند استخوانی داشت (۲۱). کمبود روی محتوای هورمون پاراتیروئید و کلسی تونین را در جریان خون کاهش می دهد و باعث کاهش کلسیم و نقص در معدنی شدن استخوان می گردد (۲۲). در تحقیق حاضر نیز نتایج ما افزایش قابل ملاحظه و معنادار میزان هورمون کلسیتونین را در سرم حیوانات درمانی با روی نشان داد. مکانیسم سلولی که در ارتباط با عملکرد روی بر ساختار استخوانی مطرح می شود، تحریک تمایز سلول های استئوبلاست و مهار تشکیل سلول های استئوکلاست می باشد. استروژن دارای آثار آنابولیک بر استخوان است و در حضور استروژن جذب کلسیم توسط استخوان افزایش می یابد. همسو با نتایج تحقیق حاضر و در تایید اثر استروژن بر تراکم معدنی استخوان، Lee و همکاران در مطالعه ای نشان دادند که رالوکسیفن تراکم معدنی استخوان را در مهره ها و گردن فمور زنان تحت درمان با رالوکسیفن افزایش داده و خطر شکستگی مهره ها را کاهش می دهد (۲۳). نتایج Benghuzzi و همکاران نیز نشان داد که استروژن قادر است اثر کاهش در قدرت استخوان را، وارونه و کیفیت استخوان را مشابه گروه کنترل برقرار کند (۲۴). تغییرات استخوانی ناشی از کاهش سطح استروژن، مبادلات گرمایی اطراف استئوسیت ها در استخوان اسفنجی را تغییر می دهد و یک تفاوت عملکردی در جریان آب میان بافتی اطراف استئوسیت ها ایجاد می کند. تغییرات جریان مایع میان بافتی اطراف استئوسیت ها به احتمال زیاد با تفاوت سطح مواد معدنی ماتریکس و نانوساختارها ارتباط دارد که به تازگی در لاکونار - کانالیکولار موش های دارای سطح کم استروژن نشان داده شده است که خود می تواند بر انتقال مکانیکی بار در استئوسیت ها تاثیر بگذارد (۲۵). مطالعات Abdul و همکاران ثابت کرد که اینترلوکین ۱۷ به طور مستقیم افتراق و تشخیص استئوکلاست ها را تحریک می کند و این اثر در Bone Marrow cells (BMCs) با پیش

بودند، نتیجه گرفتند که طبیعی بودن کلسیم سرم با وجود دریافت پایین از رژیم غذایی، احتمالاً از طریق مکانیسم‌های هموستاز بدن قابل توجیه است (۳۱). کاهش کلسیم سرم حتی برای کوتاه‌مدت برای بدن قابل تحمل نمی‌باشد و موجب نتایج شدید، سریع و مخرب مانند اختلال در دیواره‌ی سلولی سلول‌ها می‌گردد (۳۲).

به نظر می‌رسد که مصرف روی و ویتامین E در موش‌های اواریکتومی شده تا حدودی از تخریب بافت استخوان که در اثر پوکی استخوان در این موش‌ها ایجاد می‌شود، جلوگیری می‌کند. در این پژوهش بررسی فاکتورهای خونی تا حدودی بیانگر این مطلب است. روی و ویتامین E به نهایی نمی‌توانند برای درمان پوکی استخوان به کار روند. چون اثرات ترمیمی مستقیمی در ساختار استخوان ندارند. بنابراین شاید استفاده از روی و ویتامین E همراه با روش‌های درمانی دیگر مانند استفاده از مکمل‌های کلسیم و ویتامین D بتواند در درمان پوکی استخوان مفید باشد.

### تشکر و قدردانی

یافته‌های این پژوهش حاصل انجام طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی قزوین و همکاری معاونت محترم پژوهشی دانشگاه می‌باشد. بدین وسیله از ایشان به خاطر همکاری صمیمانه در اجرای این پروژه تشکر و قدردانی می‌گردد.

درمانی با استروژن E2 معکوس می‌شود. در استئوبلاست‌ها، اینترلوکین ۱۷، معدنی‌شدن ماتریکس استخوان و تولید سایتوکاین‌های تولیدکننده‌ی استئوکلاست‌ها را مهار می‌کند و این اثر توسط E2 آنتاگونیسم می‌شود (۲۶) نشان داده شده که اینترلوکین ۱۷ یک محرک قوی استئوکلاست است. درمان اینترلوکین ۱۷ به افزایش تولید سایتوکاین تولیدکننده‌ی استئوکلاست مثل TNF $\alpha$  و اینترلوکین ۶ منجر می‌شود و همچنین استروژن (E2)، OPG استئوبلاستی را، افزایش و بیان ژن RANKL را کاهش می‌دهد (۲۶ و ۲۷). استئوکلاست‌ها با ایجاد محیط اسیدی باعث تخریب سلول‌های استخوانی و آزاد شدن عناصر موجود در استخوان از جمله کلسیم و فسفر به فضای بین سلولی و در نهایت افزایش این یون‌ها در خون می‌شوند (۲۸)، ولی در گروه‌های تجربی که با روی و ویتامین E تیمار شده بودند، میزان این دو عنصر در سرم که ناشی از آزاد شدن آنها از بافت استخوانی و در نتیجه پوکی است، زیاد افزایش نداشت که خود، نشان‌دهنده‌ی اثر درمانی این دو عنصر است. میانگین غلظت روی سرم در موش‌های تحت درمان همانند سایر مطالعات مشابه بر روی انسان و یا حیوان به طور معناداری کمتر از گروه کنترل و محدوده‌ی طبیعی است (۲۹ و ۳۰).

میانگین غلظت سرمی کلسیم در جامعه در محدوده‌ی طبیعی قرار داشت و تغییر چندانی مشاهده نشد که این یافته مشابه نتایج محققان دیگر است که در مطالعاتی که روی افراد دچار پوکی استخوان انجام داده-

### References

1. McIlwain H, Bruce DF. The Osteoporosis cure reverse the crippling effects with new treatments. Shafiee forugh . Tehran: Ebadifar , 2003.
2. Smeltzer, Suzann C. Brunner & Suddarth's textbook of medical \_ surgical nursing. 10<sup>th</sup>ed. Sami P. Tehran :Boshra; 2004.
3. Huang H, Kim HJ, Chang EJ, Lee ZH, Hwang SJ, Kim HM, Lee Y, Kim HH. IL-17 stimulates the proliferation and differentiation of human mesenchymal stem cells: implications for bone remodeling. Cell Death Differ. 2009; 16(10): 1332-43.
4. Heaney RP. Calcium, dairy products and osteoporosis. J Am Coll Nutr. 2000; 19(2 Suppl): 83S-99.
5. Welch RM, Graham RD. Agriculture : the real nexus for Enhancing bio available micronutrients in food crops. J Trace Elem Med Biol. 2005; 18(4): 299-307.
6. Nordin BE, Need AG, Morris HA, O'Loughlin PD, Horowitz M. Effect of age on calcium absorption in

- postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2004; 80(4):998-1002.
7. Zhao Y, Monahan FJ, McNulty BA, Gibney MJ, Gibney ER. Effect of vitamin E intake from food and supplement sources on plasma alpha- and gamma tocopherol concentration in a healthy Irish adult population. *Br J Nutr.* 2014; 112(9): 1575-85.
  8. Zang YH, Cheng YY, Hong Y, Wang DL, Li ST. Effects of zinc deficiency on bone mineralization and its mechanism in rats. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 2003; 37(2): 121-4.
  9. Yi-Jie Kuo, Fon-Yih Tsuang, Jui-Sheng Sun, Chi-Hung Lin, Chia-Hsien Chen, Jia-Ying Li, et al. Calcitonin Inhibits SDCP-Induced Osteoclast Apoptosis and Increases Its Efficacy in a Rat Model of Osteoporosis. *Plos One.* 2012; 1-11.
  10. Stratford R Jr, Vu C Sakon J, Katikaneni R, Gensure R, Ponnappakkam T. Pharmacokinetics in Rats of a Long-Acting Human Parathyroid Hormone-Collagen Binding Domain Peptide Construct. *J Pharm Sci.* 2014; 103(2): 768-75.
  11. Corina M, Vulpoi, Branisteanu D. Relationship between bone mineral density, weight, and estrogen levels in pre and postmenopausal women. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi.* 2012; 116(4): 946-50.
  12. Hamdy RC, Daley DN. Oral calcitonin. *Int J Women's Health.* 2012; 4: 471-9.
  13. Mohamad S, Shuid AN, Mohamed N, Fadzilah FM, Mokhtar S A, Abdullah S, et al. The effects of alpha-tocopherol supplementation on fracture healing in a postmenopausal osteoporotic rat model. *Clinics.* 2012;67(9):1077-85.
  14. Maggio D, Barabani M, Pierandrei M, Polidori MC, Catani M, Mecocci P, et al. Marked decrease in plasma antioxidants in aged osteoporotic women: results of cross sectional study. *J Clin Endocrinol Method.* 2003; 88(4): 1523-7.
  15. Abdul-Majeed S, Mohamed N, Soelaiman IN. Effects of Tocotrienol and Lovastatin Combination on Osteoblast and Osteoclast Activity in Estrogen-Deficient Osteoporosis. *Evid-Based Compl Alt.* 2012.
  16. Muhammad N, Luke DA, Shuid AN, Mohamed N, Soelaiman IN. Tocotrienol supplementation in postmenopausal osteoporosis: evidence from a laboratory study. *Clinics.* 2013;68(10):1338-43.
  17. Bai XC, Lu D, Liu AL, Zhang ZM, Li XM, Zou ZP, et al. Reactive oxygen species stimulates receptor activator of NF – K $\beta$  ligand expression in osteoblast. *J Bio Chem.* 2005; 280(17): 17497-506.
  18. Ebrahimi-Mameghani M, Mahdavi Roshan M, Ebrahimi A. Effect of Zinc Supplementation on Bone Mineral Density in Osteoporotic Postmenopausal Women: A Double blind RCT. *Med J Tabriz Univ Med Sci.* 2010; ( 4): 7-11. [Persian]
  19. Mahdaviroshan M, Golzarand M, Taramsari MR, Mahdaviroshan M. Effect of zinc supplementation on serum zinc and calcium levels in postmenopausal osteoporotic women in Tabriz, Islamic Republic of Iran. *East Mediterr Health J.* 2013;19 (3): 271-5.
  20. Eftekhari MH, Hassanzadeh Rostami Z, Emami MJ, Tabatabaee HR. The Impact of Magnesium Supplementation on Serum Alkaline Phosphatase, Osteocalcin and Fracture Healing in Women with Bone Fracture. *J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci.* 2013; 21(5): 632-40. [Persian]
  21. Li X, Li Y, Peng S, Ye B, Lin W, Hu J. Effect of zinc ions on improving implant fixation in osteoporotic bone. *Connect Tissue Res.* 2013; 54(4-5): 290-6.
  22. Zhang YH, Cheng YY, Hong Y, Wang DL, Li ST. Effects of zinc deficiency on bone mineralization and its mechanism in rats. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 2003; 37(2): 121-4.
  23. Lee WL, Cheng MH, Tarng DC, Yang WC, Lee FK, Wang PH. The benefits of estrogen or selective estrogen receptor modulator on kidney and its related disease-chronic kidney disease-mineral and bone disorder: osteoporosis. *J Chin Med Assoc.* 2013; 76(7): 365-71.
  24. Benghuzzi H, Wilson G, White J, Cason Z, Mohamed A, Cameron JA, et al. The effects of sustained delivery of estrogen and demineralized bone matrix proteins on bone in ovariectomized female rats - *biomed 2013. Biomed Sci Instrum.* 2013; 49:85-93.
  25. Ciani C, Sharma D, Doty SB, Fritton SP. Ovariectomy enhances mechanical load-induced solute transport around osteocytes in rat cancellous bone. *Bone.* 2014; 59: 229-34.
  26. Tyagi AM, Srivastava K, Mansoori MN, Trivedi R, Chattopadhyay N, Singh D. Estrogen Deficiency Induces the Differentiation of IL-17 Secreting Th17 Cells: A New Candidate in the Pathogenesis of Osteoporosis. *PLoS ONE.* 2012;7(9):e44552.
  27. Yago T1, Nanke Y, Ichikawa N, Kobashigawa T, Mogi M, Kamatani N, et al. IL-17 induces osteoclastogenesis from human monocytes alone in the absence of osteoblasts, which is potently inhibited by anti-TNF-alpha antibody: a novel mechanism of osteoclastogenesis by IL-17. *J Cell Biochem.* 2009; 108(4): 947-55.
  28. Troen BR. Molecular mechanisms underlying osteoclast formation and activation. *Exp Gerontol.* 2003; 38(6): 605-14.
  29. Sadighi A, Roshan MM, Moradi A, Ostadrahimi A. The effect of zinc supplementation on serum zinc,

- alkalin phosphatase activity and fracture healing of bones. *Sudi Med J.* 2008; 29(9): 1276-9.
30. Mahdavi roshan M, Ebrahimi-mamaghani M, Ebrahimi AA, Ghaemmaghami J. Nutritional and Biochemical factors of zinc and calcium in postmenopausal women with osteoporosis in Tabriz . *J Kermanshah Univ Med Sci.* 2008;12(3): 296-307. [Persian]
  31. Kuo YJ, Tsuang FY, Sun JS, Lin CH, Chen CH, Li JY, et al. Calcitonin Inhibits SDCP-Induced Osteoclast Apoptosis and Increases It's Efficacy in a Rat Model of Osteoporosis. *Plos One.* 2012; 7 (7): 1-11.
  32. García-Pérez MA, Moreno-Mercer J, Tarín JJ, Cano A. Bone Turnover markers and PTH levels in surgical versus natural menopause. *Calcif Tissue Int.* 2004; 74(2): 143-9.

# An Evaluation of Co-treatment of Vitamin E & Zinc on Serum Levels of Calcitonin, Estrogen, Progesterone and Calcium in Ovariectomized Rats

**Alireza Shams.,**

Ph.D. in Anatomy, Assistant Professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, University of Medical Sciences and Health Services, Alborz, Karaj, Iran.

**Hossein Jourab Bafan.,**

Operating Room Expert, Qazvin University of Medical Sciences and Health Services, Qazvin, Iran

**Mohammad Reza Darabi.,**

Ph.D. in Anatomy, Associated Professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences and Health Services, Arak, Iran.

**Fatemeh Hajmanouchehri.,**

Assistant Professor of Pathology, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences and Health Services, Qazvin, Iran.

**Amir Hjiabbas Zarabi.,**

Operating Room Expert, Shahid Rajai University of Medical Sciences and Health Services of Qazvin, Qazvin, Iran

Received:15/12/2014, Revised:27/01/2015, Accepted:06/03/2015

---

## Corresponding Author:

Alireza Shams,  
University of Medical Sciences  
and Health Services, Alborz,  
Karaj, Iran.  
E-mail:  
alirezashams2014@gmail.com

## Abstract

**Background:** Osteoporosis, an erosive bone defect, is one of the major problems among adults over fifty which makes high expenses and many body psychotic and also causes lots of social side effects on people. Antioxidants and some minerals especially trace elements like zinc may be useful as treatment for osteoporosis. This study was aimed at evaluating the effects of co-treatment of vitamin E and zinc on bone healing parameters.

**Materials & Methods:** 39 female Vistar rats with weight range of 180-200 gram were studied. 7 rats were selected as control group and others were ovariectomized and divided to 3 experimental groups: treated with Vit. E daily 200 IU / kg (n=9), treated with zinc daily 22 mg/ lit(n=8) , treated with Vit. E & Zinc(n=9) and finally 8 rat as sham group. After 1 month levels of Calcitonin, Estrogen, Progesterone, Zinc and Calcium in blood samples were measured and evaluated.

**Results:** Calcitonin levels in blood serum in groups treated with Zinc and Vit. E & Zinc were significant comparing to sham & control groups. Estrogen and Progesterone levels decreased in all experimental groups comparing to control group and occurred changes were significant but Calcium levels in these groups did not show any difference comparing to control and sham groups. Zinc level in serum of all treated groups was altered significantly comparing to control group, although some increased in sham group but not significant.

**Conclusion:** Our result showed using new treatment methods like Vit. E with zinc could prevent bone loss as the serum index measured changes in treatment of osteoporosis.

**Keywords:** osteoporosis, Zinc, Vit. E, calcitonin, Osteoporosis, ovariectomy