

**KADAR ZINC SERUM DAN HITUNG MONOSIT DARAH TEPI PENDERITA KUSTA MULTIBASILAR LEBIH RENDAH DARIPADA KUSTA PAUSIBASILAR DI RSUP SANGLAH**

**Putu Kurniawan Dhana, IGN Darma Putra, Made Wardhana**

*Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah, Denpasar*

**ABSTRAK**

Zinc (Zn) diketahui memiliki peranan penting dalam sistem imun. Defisiensi zinc dapat menghambat aktivasi dan produksi sitokin Th1 dan menyebabkan disfungsi imunitas seluler. Keadaan ini juga menyebabkan perubahan limfopoiesis dan hematopoiesis serta apoptosis sel mononuklear darah tepi yang berfungsi sebagai sel fagosit mononuklear. Penelitian ini bertujuan mengetahui kadar zinc serum dan hitung monosit darah tepi penderita kusta yang datang ke poliklinik kulit dan kelamin RSUP Sanglah Denpasar. Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian potong lintang. Pengambilan sampel penelitian diambil secara *consecutive sampling* dengan jumlah sampel sebesar 75 orang. Rerata kadar zinc serum pada penderita kusta multibasilar adalah 5,66 (SB11,74) lebih rendah dibandingkan dengan penderita kusta pausibasilar 19,38 (SB 18,21 dan perbedaan ini secara statistik bermakna dengan  $P < 0,05$ . Rerata hitung monosit pada kelompok kusta multibasilar adalah 7,12 (SB 2,53) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kusta pausibasilar 7,88 (SB 3,08), tetapi secara statistik tidak bermakna dengan  $P > 0,05$ . Analisis regresi logistik menunjukkan pengaruh kadar zinc terhadap kemungkinan terjadinya kusta. Perlu dipertimbangkan koreksi kadar zinc serum pada penderita kusta melalui pendekatan nutrisi atau pemberian suplemen zinc. [MEDICINA. 2012;43:163-8].

**Kata kunci** : rerata kadar zinc serum, monosit, kusta

**ZINC SERUM LEVEL AND PERIPHERAL BLOOD MONOCYTE COUNT OF MULTIBACILAR LEPROSY PATIENT LOWER THAN PAUCIBACILAR LEPROSY IN RSUP SANGLAH**

**Putu Kurniawan Dhana, IGN Darma Putra, Made Wardhana**

*Dermatovenerology Department, Medical School, Udayana University/Sanglah Hospital, Denpasar*

**ABSTRACT**

Zinc has been known to have important role in the immune system. Zinc deficiency can inhibit activation and production cytokine of Th1 and may cause cellular immunity dysfunction. This condition also may cause changes of lymphopoiesis and hematopoiesis also peripheral blood of mononuclear cell as mononuclear fagocyte. The Aim of this study is to know zinc serum status and peripheral blood monocyte count of leprosy patient in Dermato Venerologi polyclinic Sanglah hospital Denpasar. This study use cross sectional design. Sample of study take by consecutive sampling with sample size contains 75 patient. Mean of zinc serum status on multibacillary leprosy patient is 5.66 (SB 11.74) found lower compare to paucibacillary leprosy patient 19.38 (SB 18.21) and statistically significant with  $P < 0.05$ . Mean of peripheral blood monocyte count in multibacillary patient is 7.12 (SB 2.53) lower compare to paucibacillary leprosy patient with 7.88 (SB 3.08), but statistically not significant with  $P > 0.05$ . Binary logistic analysis show the influence of zinc serum status to probability to have leprosy. This study suggest correction of serum zinc level in leprosy patient through nutritional approach or the granting of a supplement of zinc. [MEDICINA. 2012;43:163-8].

**Keywords** : mean zinc serum, monocyte, leprosy

## PENDAHULUAN

Kusta adalah infeksi granulomatosa kronis yang disebabkan oleh *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) terutama mengenai kulit dan sistem saraf tepi.<sup>1</sup> Kusta merupakan penyakit yang dihubungkan dengan stigma sosial yang buruk pada masyarakat. Pengenalan Multidrug therapy (MDT) oleh World Health Organisation (WHO) pada tahun 1982 memberikan hasil pengobatan yang sangat efektif, akan tetapi penyakit ini masih menjadi masalah kesehatan di dunia, termasuk negara berkembang.<sup>2,3</sup>

Spektrum klinis kusta tampaknya berhubungan dengan respon imun host. Gejala klinis kusta merupakan refleksi dari patogenitas penyakitnya yang tergantung pada keseimbangan antara multiplikasi basil dan respon imun seluler host.<sup>4</sup> *Mycobacterium leprae* bersifat obligat intraseluler, sehingga yang berperan dalam menghambat multiplikasinya adalah sistem imunitas seluler.<sup>5,6</sup> Respon imun host yang meningkatkan respon imun seluler Th1 menginduksi respon protektif melawan mikobakteria seperti yang tampak pada kusta pausibasilar, sedangkan respon imun seluler yang rendah dihubungkan dengan perkembangan respon Th2 yang berhubungan dengan kerentanan terjadinya bentuk kusta multibasilar.<sup>7</sup>

Berdasarkan beberapa studi yang bersumber dari percobaan binatang dan pengamatan klinis pada manusia, keadaan nutrisi berperan pada perjalanan dan

perkembangan penyakit kusta dan diantara elemen nutrisi tersebut, zinc merupakan trace element yang paling penting untuk pertumbuhan organ timus dan jaringan limfoid, yang berperan sebagai organ tempat diferensiasi dan maturasi sel-sel yang terlibat dalam imunitas selular. Hingga tahun 1961 telah dipertimbangkan bahwa defisiensi zinc pada manusia dapat menyebabkan berbagai permasalahan klinis yang signifikan.<sup>8</sup> Keadaan ini juga dapat menyebabkan apoptosis mononuklear darah tepi, termasuk monosit yang berperan sebagai fagosit mononuklear dan menurunkan produksi sitokin IFN sehingga fagositosis yang efektif oleh fagosit mononuklear menjadi terganggu dan menyebabkan terjadinya hambatan regulasi intracelluler killing terhadap mikobakteria sehingga multiplikasi basil meningkat seperti yang tampak pada kusta multibasilar dengan jumlah basil tahan asam yang lebih banyak dijumpai, lesi kulit yang diseminata, pembentukan granuloma yang lebih sedikit yang menggambarkan penekanan respon imunitas seluler seperti yang dijumpai pada keadaan defisiensi zinc.<sup>9</sup>

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan studi potong lintang yang dilakukan di poliklinik kulit dan kelamin RSUP Sanglah Denpasar pada bulan Februari–Maret 2012. Subyek dipilih secara consecutive sampling. Data diperoleh melalui kuesioner. Kriteria inklusi adalah penderita kusta dewasa berusia 15-65 tahun, keadaan umum penderita baik,

penderita kusta berdasarkan klasifikasi WHO, bersedia ikut penelitian ini, penderita belum pernah mendapatkan suplemen zinc. Kriteria eksklusi adalah penderita dengan gangguan fungsi hepar dan ginjal, penderita sering mengonsumsi alkohol, penderita mengalami diare kronis, penderita wanita yang hamil dan dalam masa laktasi. Besar sampel dihitung berdasarkan asumsi rerata minimal yang dianggap signifikan adalah 0,05 dengan interval kepercayaan sebesar 95% dan power penelitian sebesar 80%, maka setelah dihitung diperoleh jumlah minimal adalah 64 orang, pada penelitian ini besar sampel dikumpulkan sebanyak 75 orang yang terdiri dari subyek bukan penderita kusta dan subyek penderita kusta berdasarkan klasifikasi WHO. Pada penelitian ini, didapatkan besar sampel adalah sebesar 75 orang yang terdiri dari 47 orang (62,7%) penderita kusta dan 28 orang (37,33%) adalah bukan penderita kusta. Dari 47 penderita kusta, didapatkan distribusi kelompok kusta berdasarkan klasifikasi WHO adalah 40 orang (85,11%) termasuk dalam kelompok kusta multibasilar dan 7 orang (14,89%) termasuk dalam kelompok kusta pausibasilar.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum dan darah penderita kusta yang menjadi sampel penelitian. Pengambilan spesimen dilakukan di Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUP Sanglah Denpasar. Pemeriksaan sampel dan pengukuran kadar zinc dilakukan di Bagian Biologi Molekular FK Unud Denpasar dan pemeriksaan hitung monosit darah tepi dilakukan di

Laboratorium Swasta Prodia.

Persiapan sampel, darah diambil sebanyak 3 cc kemudian dimasukkan ke dalam tabung serum, kemudian disentrifuge 1000 rpm selama 10 menit, serum yang ada diambil dan disimpan dalam freezer dengan suhu  $-80^{\circ}$  hingga dilakukan pemeriksaan. Zinc standar diencerkan menjadi 0.5 mM dengan cara : 10  $\mu$ l zinc standar konsentrasi 100mM + 990  $\mu$ l di H<sub>2</sub>O. Sampel serum

atau plasma harus dilakukan deproteinasi dengan cara : 50  $\mu$ l TCA 7% + 50  $\mu$ l sampel dan kemudian dibaca pada panjang gelombang 560 nm dengan elisa reader. Data dicatat dalam lembar pengumpulan data yang telah disusun, dibuat kurva standar dengan menggunakan grafik regresi linear, pembacaan konsentrasi sampel dihitung melalui standar kurva dengan rumus  $C = Sa/Sv$  (nmol/ $\mu$ l atau

mM) dengan keterangan : Sa = hasil sampel dalam nmol dari perhitungan kurva standar dan Sv = volume sampel yang dimasukkan ke dalam sumur. Untuk perhitungan hitung jenis, monosit darah tepi dilakukan dengan menggunakan metode flowcytometry, metode ini digunakan untuk menganalisis partikel-partikel sel darah, hasil pemeriksaan terlihat pada monitor dan langsung dicetak oleh printer. Data diolah dan dianalisis dengan perangkat lunak komputer maupun secara manual dan disajikan dalam bentuk narasi dan tabel. Dilakukan uji t tidak berpasangan dan analisis regresi untuk mengetahui pengaruh zinc terhadap kemungkinan terjadinya kusta.

## HASIL

Hasil penelitian disajikan pada tabel - tabel berikut ini.

Jumlah subyek adalah sebesar 75 orang yang terdiri dari 47 orang (62,7%) penderita kusta yang berkunjung ke poliklinik dan kelamin RSUP Sanglah dan 28 orang (37,3%) adalah bukan penderita kusta. Dari 75 orang tersebut, didapatkan distribusi jenis kelamin terdiri dari 43 orang (57,3%) adalah laki laki dan 32 orang (42,7%) adalah perempuan. Distribusi umur terbanyak adalah pada kelompok umur 26-36 tahun. Dari pemeriksaan basil tahan asam (BTA) yang dilakukan didapatkan indeks bakteri terbanyak adalah +4 pada 26 orang penderita kusta.

Dari 47 penderita kusta, didapatkan distribusi kelompok kusta berdasarkan klasifikasi WHO adalah 40 orang (85,1%) termasuk dalam kelompok kusta multibasilar dan 7

**Tabel 1.** Karakteristik penderita kusta dan bukan penderita kusta

		Subyek penelitian	
		Bukan kusta (n = 28)	Kusta (n = 47)
Jenis kelamin	Laki - laki	10 (13,33%)	33 (44%)
	Perempuan	18 (24%)	14 (18,66%)
Umur (tahun)	15 - 25	2 (2,67%)	7 (9,33%)
	26 - 36	21 (28%)	13 (17,33%)
	37 - 45	4 (5,33%)	10 (13,34%)
	46 - 55	-	7 (9,33%)
	56 - 65	1 (1,33%)	10 (13,34%)
Indeks bakteri	0	-	7 (14,9%)
	+ 2	-	3 (6,4%)
	+ 3	-	9 (19,1%)
	+ 4	-	26 (55,3%)
	+ 5	-	2 (4,3%)
	Terapi	Belum	-
	Sudah	-	28 (59,6%)

**Tabel 2.** Karakteristik kusta pausibasilar dan multibasilar

		Subyek penelitian	
		Pausibasilar (n = 7)	Multibasilar (n = 40)
Jenis kelamin	Laki - laki	6 (8%)	27 (36%)
	Perempuan	1 (1,33%)	13 (17,33%)
U m u r (tahun)	15-25	1 (1,33%)	6 (8%)
	26-36	3 (4%)	10 (13,33%)
	37-45	2 (2,67%)	8 (10,67%)
	46-55	-	7 (9,33%)
	56-65	1 (1,33%)	9 (12%)
I n d e k s bakteri	0	7 (14,9%)	-
	+2	-	3 (6,4%)
	+3	-	9 (19,1%)
	+4	-	26 (55,3%)
	+5	-	2 (4,3%)
	Terapi	Belum	5 (10,64%)
	Sudah	2 (4,26%)	26 (55,32%)

**Tabel 3.** Analisis bivariat dengan uji t tidak berpasangan rerata kadar zinc dan hitung monosit darah tepi bukan penderita kusta dan penderita kusta

	Subyek penelitian		P (sig)
	Bukan kusta	Kusta	
Rerata kadar zinc	17,52 (SB 14,81)(g/L)	7,70(SB 13,59) (g/L)	0,005
Rerata hitung monosit darah tepi	7,58 (SB 1,70)	7,23 (SB 2,59)	0,530

**Tabel 4.** Analisis bivariat dengan uji t tidak berpasangan rerata kadar zinc dan hitung monosit darah kusta pausibasilar dan multibasilar

	Subyek penelitian		P (sig)
	Pausibasilar	Multibasilar	
Rerata kadar zinc	19,38 (SB 18,21) (gr/L)	5,66 (SB 11,75) (gr/L)	0,012
Rerata hitung monosit darah tepi	7,89 (SB 3,08)	7,12 (SB 2,53)	0,476

**Tabel 5.** Analisis regresi hubungan kadar zinc serum, hitung monosit darah tepi dan kusta

Variabel bebas	Variable dependent			
	Kusta		Hitung monosit darah tepi	
	Koef reg	sig	Koef reg	sig
Kadar zinc	-0,047	P =	0,016	P = 0,392
Hitung monosit darah tepi	0,009*			
	-0,067	P = 0,525		

Keterangan : \* signifikan nilai P < 0,05

orang (14,9%) termasuk dalam kelompok kusta pausibasilar. Distribusi jenis kelamin kelompok kusta adalah 33 orang (70,2%) pria dan 14 orang (29,8%) adalah perempuan. Distribusi umur terbanyak adalah pada kelompok umur 26–36 tahun dan pemeriksaan BTA terbanyak adalah +4 sebanyak 26 orang.

Rerata kadar zinc serum pada kelompok kusta lebih rendah dibandingkan dengan kelompok bukan penderita kusta dengan standard deviasi masing-masing pada kelompok kusta adalah 7,70 (SB 13,59) sedangkan pada kelompok bukan penderita kusta adalah

17,52 (SB 14,81). Setelah dilakukan uji hipotesis secara statistik dengan menggunakan uji t independent 2 kelompok diperoleh perbedaan yang bermakna dalam kadar zinc serum antara kelompok kusta dan bukan penderita kusta dengan nilai P < 0,05.

Rerata kadar zinc serum pada kelompok kusta multibasilar lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kusta pausibasilar. Setelah dilakukan uji hipotesis secara statistik dengan menggunakan uji t independent 2 kelompok diperoleh perbedaan yang bermakna dalam kadar zinc serum antara

kelompok kusta multibasilar dan penderita kusta pausibasilar dengan nilai P < 0,05. Rerata hitung monosit pada kelompok kusta multibasilar lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kusta pausibasilar. Setelah dilakukan uji hipotesis secara statistik dengan menggunakan uji t independent 2 kelompok diperoleh hasil perbedaan yang tidak bermakna antara hitung monosit darah tepi antara kelompok kusta multibasilar dan penderita kusta pausibasilar dengan nilai P > 0,05.

Analisis multivariat dilakukan untuk melihat hubungan antara variabel. Dengan menggunakan regresi logistik, tampak bahwa kadar zinc serum berpengaruh signifikan terhadap kemungkinan terjadinya kusta dengan nilai P 0,009 < 0,05. Hubungan antara hitung monosit darah tepi terhadap kemungkinan terjadinya kusta dilihat dengan menggunakan uji regresi logistik yang menunjukkan bahwa hitung monosit darah tepi tidak berpengaruh signifikan terhadap kemungkinan terjadinya kusta. Hubungan antara kadar zinc serum dengan hitung monosit darah tepi, dilihat dengan menggunakan uji regresi linear sederhana yang menunjukkan bahwa kadar zinc serum tidak berpengaruh signifikan terhadap hitung monosit darah tepi.

## DISKUSI

Secara statistik, penyakit kusta dapat menyerang semua orang dan laki-laki lebih banyak terkena dibandingkan dengan wanita, dengan perbandingan 2:1. kasus kusta tipe BB dan

LL (multibasilar) menjadi lebih sering dijumpai dalam 10 tahun terakhir dan kasusnya lebih sering dijumpai pada pria dibandingkan wanita.<sup>3</sup> Pada penelitian ini, hasil yang diperoleh mendukung hasil studi epidemiologi tersebut, tampak distribusi kasus kusta tipe multibasilar lebih banyak ditemukan sejumlah 40 kasus (53,33%) dibandingkan dengan kusta pausibasilar sejumlah 7 kasus (9,33%). Kasusnya lebih banyak ditemukan pada pria sebanyak 33 orang (44%) dibandingkan wanita sebanyak 19 orang (18,66%). Berdasarkan penelitian epidemiologi ternyata faktor nutrisi dan hygiene berperan dalam perjalanan serta perkembangan penyakit kusta. Pengaruh nutrisi tersebut pada imunitas seluler terutama berhubungan dengan efeknya terhadap timus dan organ limfoid. Diantara elemen nutrisi, zinc adalah elemen yang berperan penting dalam pertumbuhan organ timus dan maturasi serta perkembangan imunitas seluler.<sup>10</sup> Rendahnya kadar zinc pada penderita kusta dapat menyebabkan multiplikasi bakteri *M. leprae* karena menurunnya imunitas seluler yang berperan dalam mengeliminasi mikobakteria.<sup>8</sup> Gangguan metabolisme zinc tersebut dapat menyebabkan penyakit dan perburukan perkembangan penyakit. Pada penyakit kusta, terdapat penurunan secara gradual konsentrasi serum zinc sesuai dengan derajat beratnya spektrum klinis kusta. Pasien kusta yang memiliki spektrum borderline tuberkuloid, borderline lepromatosa dan lepromatous leprosy memiliki nilai serum zinc yang secara signifikan

lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol yang sehat.<sup>11</sup> Imunitas seluler yang berfungsi meningkatkan aksi mikrobicidal dari fagosit untuk mengeliminasi mikroba ditemukan menurun pada penyakit kusta dan dapat mempengaruhi bersihan mikobakterial dan aktivitas mikrobicidal. Pada kusta tipe LL, tampak penurunan kadar zinc dibandingkan dengan kusta tipe TT dan konsentrasi terendah ditemukan pada pasien dengan reaksi ENL, hal ini kemungkinan disebabkan oleh konsumsi zinc tubuh oleh kuman kusta. Defisiensi zinc dapat menjadi salah satu faktor yang terlibat dalam supresi imunitas seluler pada kusta multibasilar.<sup>12,13</sup> Hasil penelitian ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Haase bahwa gangguan metabolisme zinc yang ditandai dengan rendahnya kadar serum zinc tersebut dapat menyebabkan penyakit dan perburukan perkembangan penyakit dan pada penyakit kusta, terdapat penurunan secara gradual konsentrasi serum zinc sesuai dengan derajat beratnya spektrum klinis kusta. Defisiensi zinc juga mempengaruhi imunitas innate dan adaptif. Secara in vivo, aktivitas sel NK, fagositosis makrofag dan netrofil serta jumlah granulosit menurun pada keadaan defisiensi zinc.<sup>14</sup> Keadaan defisiensi zinc dapat menekan sumsum tulang serta prekursor limfosit yang imatur yang menunjukkan bahwa rendahnya kadar zinc tubuh dapat merubah proses hematopoiesis.<sup>15</sup> Pada sumsum tulang, IL 1, IL3, dan IL 6 menginduksi heteromitosis di sumsum tulang. Pada

keadaan defisiensi zinc, selain didapatkan penurunan produksi IFN, sekresi IL 6 juga dilaporkan menurun, sehingga dapat mengganggu induksi heteromitosis di sumsum tulang.<sup>16</sup> Pada penelitian ini, hitung monosit darah tepi tidak berpengaruh signifikan terhadap kemungkinan terjadinya kusta dan kadar serum zinc tidak mempengaruhi jumlah monosit darah tepi. Hal ini dapat disebabkan karena pada keadaan defisiensi zinc, deplesi bermakna terjadi pada sel eythoid dan lymphoid yang menyebabkan gangguan proses erythropoiesis dan limfoid. Sebaliknya, myelopoiesis tidak banyak dipengaruhi, hal ini ditunjukkan dengan adanya ekspansi populasi myeloid di sumsum tulang. Juga diamati adanya peningkatan monosit yang heterogen diantara populasi myeloid. Hal yang serupa dikatakan terjadi peningkatan proporsi jumlah absolut sel granulositik dan sel monositik di sumsum tulang baik pada keadaan defisiensi zinc marginal dan defisiensi zinc berat.<sup>15</sup> Pada penelitian ini, hitung monosit darah tepi sebagai fagosit mononuklear, sebagai imunitas seluler non spesifik, tampaknya tidak berpengaruh terhadap kemungkinan terjadinya kusta, karena juga terdapat imunitas seluler lain yang berperan dalam patogenesis penyakit kusta seperti sekresi sitokin subset Th1 seperti IFN, IL 2 yang juga menentukan dan mempengaruhi perjalanan penyakit kusta.<sup>17</sup>

## SIMPULAN

Kadar zinc serum penderita kusta lebih rendah

dibandingkan kadar zinc serum bukan penderita kusta dan diantara penderita kusta tersebut, kadar zinc serum penderita kusta multibasilar lebih rendah dibandingkan kadar zinc serum kusta pausibasilar. Diperlukan koreksi kadar zinc serum pada penderita kusta melalui pendekatan nutrisi atau pemberian suplementasi zinc.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Margoles L, Rio Cd, Paredes CF. Leprosy : a modern assessment of an ancient neglected disease. *Bol Med Hosp Infant mex.* 2011;68(2):110-6.
2. Bakker M, Hatta M, Kwenang A, Van Benthem H, Van Beers SM, Klatser PM, dkk. Prevention of leprosy Using Rifampicin As Chemoprophylaxis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* The American Society of Tropical Medicine and Hygiene. 2005;72(4):443-8.
3. Ho CK, Lo KK. Epidemiology of leprosy and response to treatment in Hongkong. *Hongkong Med J.* 2006;12(3):174-9.
4. Gupta TSC, Sinha PK, Murthy VS, Kumari GS. Leprosy in an HIV - infected person. *Indian J sex Transm Dis.* 2007;28(2):100-2.
5. Goulart I, Bernardes Souza, Marques CR, Pimenta VL, Goncalves MA, Goulart LR. Risk and Protective Factors for Leprosy Development Determined by Epidemiological Surveillance of Household Contacts. *Clinical and vaccine Immunology.* 2008;15(1):101-5.
6. Rea TH, Modlin RL. Leprosy. Dalam : Freedberg IM, Elsen AZ, Wolff K, penyunting. *Fitzpatrick's Dermatology In General Medicine.* Edisi ke-7. New York : McGraw-Hill, 2008; h.1786-96.
7. Margoles L, Rio Cd, Paredes CF. Leprosy: a modern assessment of an ancient neglected disease. *Bol Med Hosp Infant mex.* 2011;68(2):110-6.
8. Prasad AS. Impact of The Discovery of Human Zinc Deficiency on Health. *Journal of the American College of Nutrition.* 2009; 28 (3):257-65.
9. Gomes GI, Nahn NP, Santos RK, Da Silva WD, Kipnis TL. The Functional state of the complement System in Leprosy. *AM. J. Trop. Med. Hyg.* The American Society of Tropical Medicine and Hygiene. 2008;78(4):605-10.
10. Shankar AH, Prasad AS. Zinc and Immune Function : The biological basis of altered resistance to infection. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 2000;68:447s-63s.
11. Haase H, Overbeck S, Rink L. Zinc Supplementation for the treatment or prevention of disease : Current status and future perspective. *Experimental gerontology.* 2007;43:394-408.
12. Arora B, Dhillon MKS, Rajan SR, Sayal SK, Al Das C. Serum Zinc Levels in Cutaneous Disorders. *MJAFI.* 2002;58:304-6.
13. Overbeck S, Rink L, Haase H. Modulating the Immune Response by Oral Zinc Supplementation : a Single Approach for Multiple Disease. *Arch, Immunol. Ther. Exp, Rev.* 2008;56:15-30.
14. Helge K, Rink L. Immunity Enhanced by Trace Elements : Zinc Altered Immune Function. *The journal of Nutrition American Society for Nutritional Sciences.* 2003; 133 :1452s-6s.
15. King LE, Fraker PJ. Zinc Deficiency in Mice Alters Myelopoiesis and Hematopoiesis. *American Society for Nutritional Sciences.* 2002;3301-8.
16. Wieringa FT, Dijkhuizen MA, West Ce, Ven Jongekrijg, Muhilal, JWM van der Meer. Reduced Production of Immunoregulatory cytokines in vitamin A and Zinc deficient Indonesian Infants. *European Journal of Clinical Nutrition.* 2004;58:1498-504.
17. Prasad AS. Zinc : Role in Immunity, oxidative stress and Chronic Inflammation. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care.* 2009;12:646-52.