

# Uloga cinka u zdravlju i bolesti

---

Štefančić, Martina

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:462755>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-14**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Nutricionizam**

**Martina Štefančić**

6826/N

**ULOGA CINKA U ZDRAVLJU I BOLESTI**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Imunologija za nutricioniste

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. *Lidija Šver*

**Zagreb, 2019.**

## DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Preddiplomski studij Nutricionizam  
Zavod za biokemijsko inženjerstvo  
Laboratorij za biologiju i genetiku mikroorganizama

### ULOGA CINKA U ZDRAVLJU I BOLESTI

*Martina Štefančić, 0058203896*

**Sažetak:** Poznata je važnost cinka kao tehnološke sirovine, no sve više se naglasak stavlja na njegovu ulogu u organizmu čovjeka. Jedan je od najvažnijih elemenata u tragovima. Homeostaza cinka regulirana je proteinskim transporterima i metalotioneinima. Cink potpomaže rad enzima, sudjeluje u međustaničnoj komunikaciji, sintezi proteina te pravilnom radu i razvoju stanica. S obzirom na njegovu važnost u imunskom sustavu, postoji povezanost narušene homeostaze i pojave različitih upalnih i autoimunih bolesti. U današnje vrijeme sve se više ispituje učinak cinka na stanja poput reumatoidnog artritisa, dijabetesa, Alzheimerove bolesti i multiple skleroze te se na temelju pozitivnih rezultata vrše daljnja istraživanja.

**Ključne riječi:** bolest, cink, cinkovi transporteri, imunitet, upala

**Rad sadrži:** 24 stranice, 3 slike, 37 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica

Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** *izv. prof. dr. sc. Lidija Šver*

**Datum obrane:** 18. rujna 2019.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**Undergraduate studies Nutrition**  
**Department of Department of Biochemical Engineering**  
**Laboratory for Biology and Microbial Genetics**

### THE ROLE OF ZINC IN HEALTH AND DISEASE

*Martina Štefančić, 0058203896*

**Abstract:** It is well known that zinc is used for plenty industrial and biological uses but, nowadays, its role in human organism is coming more to focus. It is one of the most important trace elements. Zinc homeostasis is regulated by transport proteins and metallothioneins. Zinc has important roles in enzyme function, protein synthesis, intercellular communication mechanisms and proper cell function and development. Considering its importance in immune system function, it can be said that connection between imbalanced homeostasis and development of inflammatory and autoimmune diseases exists. Recently, there are more and more studies which examine the effect that zinc has in different conditions like rheumatoid arthritis, diabetes, Alzheimer's disease and multiple sclerosis and, based on previous positive outcomes, even more research can be expected.

**Keywords:** disease, zinc, zinc transporters, immunity, inflammation

**Thesis contains:** 24 pages, 3 figures, 37 references

**Original in:** Croatian

**Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of  
Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** PhD. Lidija Šver, Associate Professor

**Defence date:** September 18<sup>th</sup> 2019

# Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	2
2.1. O cinku .....	2
2.2. Cink u organizmu .....	4
2.2.1. Održavanje stalne razine cinka (homeostaza).....	4
2.2.2. Transporteri cinka .....	6
2.2.3. Uloga cinkovih transportera u stanicama imunskog sustava .....	7
2.2.4. Uloga cinka kao antioksidansa i prooksidansa .....	10
2.3. Uloga cinka u bolestima .....	13
2.3.1. Reumatoidni artritis .....	14
2.3.2. Dijabetes .....	15
2.3.3. Alzheimerova bolest .....	17
2.3.4. Multipla skleroza .....	19
3. Zaključak .....	20
4. POPIS LITERATURE .....	21

# 1. UVOD

Cink je uglavnom poznat kao tehnološki važna sirovina, no važan je element unutar organizma te kao dodatak prehrani postaje sve češća tema različitih istraživanja. Jedan je od elemenata u tragovima esencijalan za čovjeka te ga je potrebno unositi putem hrane. Preporuke za unos cinka su 10 mg/dan do najviše 15 mg/dan (NN 160/2013). Iako količine cinka unesenih hranom variraju, eukariotske stanice moraju održavati stalnu homeostazu cinka kako bi osigurale pravilnu funkciju. Homeostaza cinka regulirana je transportnim proteinima i metalotioneinima. Uloge cinka u organizmu su brojne. Sudjeluje u strukturi i katalitičkoj funkciji enzima, međustaničnoj komunikaciji, proliferaciji i diferencijaciji stanica. Prema tome, cink je ključan element u regulaciji imunskog sustava, obuhvaćajući i urođenu i stečenu imunost. Glavni prehrambeni izvori su meso, perad i mlijeko, no, kalcij ometa apsorpciju cinka i željeza. Pri niskom unosu cinka, folna kiselina može smanjiti njegovu apsorpciju. Manjak cinka moguć je i kao posljedica prehrane bogate fitatima koji vežu cink i tako smanjuju njegovu apsorpciju. Posljedično se javljaju smanjenje omjera pomoćničkih i citotoksičnih T limfocita, smanjenje aktivnosti NK stanica te upalno stanje organizma. Kao posljedica prevelikog unosa cinka, više od 150 mg/dan (Lee, 2018), javlja se deficit bakra. Ovaj će rad dati kratak pregled načina funkcioniranja cinka unutar živog organizma kada je on u homeostazi te što se događa kada nije. Također, proučit će se njegov utjecaj na autoimuna stanja poput dijabetesa i reumatoidnog artritisa te multiple skleroze i Alzheimerove bolesti.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. O cinku

Cink je jedan od najvažnijih elemenata u tragovima ljudskog organizma, a prema količini odmah je iza željeza. Otkrio ga je Andreas Marggraf 1746. godine u Njemačkoj, a ime mu dolazi od njemačke riječi "zink" (RSC, 2019). Cink je kemijski element 12. skupine periodnog sustava elemenata te nosi simbol Zn. Njegov atomski broj je 30, a atomska masa iznosi 65,39. Cink komercijalne čistoće metal je plavkasto-bijele boje koja potječe od površinskog sloja alkalnog karbonata, a potpuno čist cink je srebrno-bijele boje. Struktura je gusta heksagonska kristalna rešetka. Dosta je tvrd i pri udaru daje metalan zvuk. Ovisno o temperaturi mijenja mu se tvrdoća. Pri sobnoj temperaturi je krhak i lomljiv. Na temperaturama 100-150 °C postaje mekši te se lakše kuje, valja u listiće debljine 0,05 mm i izvlači u žicu. Iznad 200 °C ponovno postaje lomljiv i može se smrviti u prah. Vrelište cinka je pri 908,5 °C te je u plinovitom stanju jednoatomano. Cink je amfoteran element, oksidacijskog broja +2, koji stvara soli, kao kation, i cinkate, kao anion. Najčešći ligandi s kojima stvara spojeve su atomi kisika i dušika. Cink ne reagira s vodom jer se na njegovoj površini stvara sloj teško topljivog alkalnog karbonata. Potpuno čisti cink otapa se u lužinama, dok se u kiselinama otapa, uz razvijanje vodika, samo ako su u otopini prisutni plemenitiji metali te se tako koristi za laboratorijsko dobivanje vodika. Prema tome, otpornost cinka na koroziju ovisi o čistoći metala i sastavu sredine. Cink reagira i s metalnim oksidima, pri čemu je reakcija burna zbog velikog afiniteta cinka prema kisiku. Kada se zapali, smjesa cinkova praha sa sumpornim cvijetom gori kao barut. Cinkov prah, izgaranjem na temperaturi 500 °C, daje plamen blijedozelene boje te nastaje bijeli prah cinkova oksida. Cink se upotrebljava za izradu dijelova motornih vozila, kućanskih aparata, strojeva, za zaštitu metala od korozije pocinčavanjem i anodnu zaštitu, u kemijskoj industriji, elektrotehnici, pirotehnici, metalurgiji, za izradu igračaka i ambalaža itd. (Dopuđa, 1999.-2008.).

Cink u organizmu doprinosi normalnoj funkciji imunskog sustava, reproduktivnog sustava, plodnosti, održavanju normalne razine testosterona u krvi, održavanju normalnog vida te zdravlja kose, kože i noktiju, kognitivnih funkcija, štiti stanice od oksidativnog stresa te sudjeluje u procesu dijeljenja stanica (Bonaventura i sur., 2015). Važan je za sintezu DNA i proteina, zacjeljivanje rana, očuvanje osjetila okusa i mirisa, kontrolu razine glukoze u krvi. Također, potiče normalan rast i razvoj, osobito za vrijeme trudnoće, djetinjstva i adolescencije. Jedna od najznačajnijih uloga cinka je njegov utjecaj na imunski sustav. Naime, cink utječe na stvaranje i aktivaciju T-limfocita. Nakon provedene suplementacije

cinkom kod osoba s niskom razinom, broj T-limfocita u krvi poraste te se povećava sposobnost svladavanja infekcija. Istraživanja govore u prilog primjeni cinka i kod prehlada. Kada se cink preventivno uzima u razdoblju od 5 mjeseci vjerojatno smanjuje mogućnost obolijevanja od prehlade, a pokazalo se kako je uzimanje doze od 75 mg/dan i više, za vrijeme simptoma prehlade, smanjilo njihovo trajanje i do 40 %. Suplementacija cinkom pokazala se uspješnom i za cijeljenje rana (Higdon i sur., 2001-2019).

Cink u obliku dodatka prehrani uzet u velikoj količini može izazvati iritaciju želuca i povraćanje, ali ti simptomi nestaju ubrzo nakon prestanka suplementacije. Od dodataka prehrani najmanju apsorpciju ima cinkov sulfat, dok veću postižu cinkov pikolinat, citrat, acetat, glicerat i monometionin. Tijekom provođenja suplementacije cinkom posebno treba naglasiti interakciju s bakrom, jer se cink i bakar vežu za iste receptore, pa dugotrajno uzimanje većih doza cinka može izazvati manjak bakra u organizmu. Također, suplementacija željezom može uzrokovati smanjenje apsorpcije cinka (Higdon i sur., 2001-2019). Najviša dnevna granica unosa cinka bez toksičnih posljedica je 150 mg, dok dugotrajni povišeni unos može uzrokovati povišenje razine ukupnog kolesterola.

Istodobna primjena cinka i penicilamina dovodi do smanjene apsorpcije lijeka. Cink utječe i na apsorpciju kinolonskih i tetraciklinskih antibiotika. Istodobna primjena cinka s tetraciklinskim antibioticima uzrokuje stvaranje netopivih kelata i smanjenje djelotvornosti antibiotika. Tiazidski diuretici djeluju tako što povećavaju izlučivanje cinka te mogu uzrokovati njegov nedostatak u organizmu. Neki od simptoma manjka cinka u organizmu su: poremećaj u rastu, alopecija, dermatitis, poremećaj imunosnog sustava, psihološki poremećaji, hipogonadizam, anoreksija, poremećaji okusa i mirisa, usporeno zacjeljivanje rana, povećanje prostate (NIH, 2019).

Pošto u organizmu ne postoji skladište cinka, potrebno ga je unositi hranom. Najkoncentriraniji izvor cinka su kamenice i ostali morski plodovi (rakovi i jastog), no dobar izvor su i crveno meso i meso peradi pošto se češće i u većoj količini konzumiraju. Ostali izvori cinka su grah, orašasti plodovi, cjelovite žitarice, mlijeko i mliječni proizvodi. Bioraspoloživost cinka iz hrane biljnog podrijetla manja je u odnosu na onu iz hrane životinjskog podrijetla. Također, fitati prisutni u hrani biljnog podrijetla djeluju tako da inhibiraju apsorpciju cinka. Zbog toga se vegetarijancima ponekad preporuča i 50 % više od preporučenog dnevnog unosa cinka (NIH, 2019).



## 2.2. Cink u organizmu

Cink je, od mikrominerala, nakon željeza, u najvećoj količini u tijelu. Količina cinka u tijelu odraslog čovjeka iznosi 2 – 4 g te je u različitim koncentracijama raspoređena u različitim tkivima (Maywald i sur., 2017). Cink je prisutan u svim tkivima i izlučevinama ljudskog organizma u relativno visokim koncentracijama. U mišićima i kostima pohranjeno je 85 % ukupne količine cinka u tijelu, u koži i jetri 11 %, a ostatak u drugim tkivima od kojih najviše koncentracije sadrže prostata te mrežnica i žilnica oka. Ukupna količina cinka u plazmi obično je oko 100 g/100 mL plazme, a ovisi o dobi, spolu, trudnoći i dobu dana jer je ujutro koncentracija cinka u plazmi viša nego popodne (Jurowski i sur., 2014). Iako je bazen cinka u plazmi relativno mali, zahvaljujući svojoj mobilnosti i brzim izmjenama ima veliku važnost u staničnoj signalizaciji. Posljedično, unutarstanična razina cinka je promjenjiva te može uzrokovati promjenu u funkciji i diferencijaciji stanice (Maywald i sur., 2017).

Cink je esencijalni metal potreban za izgradnju strukture i pravilan rad oko 2800 makromolekula i 300 enzima. U prokariota oko 83% proteina koji sadrže cink provode enzimске katalitičke reakcije. U eukariota cink ima bitnu ulogu u brojnim biološkim funkcijama. Kao strukturna komponenta proteina sudjeluje u mnogim staničnim procesima kao što su proliferacija i diferencijacija stanica, sinteza DNA i RNA i regulacija oksido-redukcijskih reakcija. Cink je, također, uključen i u stabilizaciju staničnih struktura i membrane pri čemu njegov manjak mijenja funkcije plazmatske membrane koje su potrebne za agregaciju trombocita, osmotsku zaštitu i razne druge procese (Lee, 2018).

### 2.2.1. Održavanje stalne razine cinka (homeostaza)

Održavanje stalne razine staničnog cinka, tj. homeostaze, esencijalno je za preživljavanje organizma. Kod ljudi i sisavaca primarni način održavanja homeostaze cinka je prilagodba u apsorpciji ukupnog cinka i endogenog intestinalnog izlučivanja. Regulacija apsorpcije cinka u gastrointestinalnom sustavu i njegove endogenog izlučivanja je sinergistička. Promjene u endogenom izlučivanju događaju se brzo ovisno o promjenama unosa cinka višim ili nižim od optimalnih, dok su promjene u apsorpciji cinka sporije. U razdobljima niskog ili ekstremno niskog unosa cinka, sekundarne homeostatske prilagodbe utječu na gastrointestinalne promjene. Te sekundarne homeostatske prilagodbe uključuju promjene u izlučivanju cinka putem urina, promjene u prometu cinka u plazmi te moguću retenciju cinka oslobođenog iz tkiva, npr. koštanog, u drugim tkivima kako bi zadržala svoju funkciju (Roohani i sur., 2013).

Cink se u crijevima apsorbira specifičnim transportnim proteinima te se dalje raspodjeljuje po tijelu. U serumu se slobodni cink rijetko nalazi budući da je većinom vezan za proteine kao što su albumin,  $\alpha_2$ -makroglobulin (A2M) i transferin. Albumin relativno niskim afinitetom veže cink, A2M srednjim dok transferin ima najviši afinitet vezanja. Na albumin je vezano 70 % cinka te bilo koje stanje koje utječe na koncentraciju albumina može utjecati na razinu cinka u serumu. Cink je podijeljen između specifičnih vezikula koje služe za pohranu cinka nazvanima cinkosomima (~50 %), jezgre (30-40 %) te citoplazme i ostalih organela. U citoplazmi cink je najvećim dijelom vezan s cink-kelirajućim proteinima nazvanima metalotioneinima (MT). U regulaciji homeostaze cinka vrlo bitnu ulogu imaju dvadeset i četiri transportna proteina i četiri metalotioneina koji koordiniranim radom pomažu u regulaciji distribucije, transporta i održavanja razine unutarstaničnog cinka. Metalotioneini otkriveni su 1957. godine te su važni u održavanju homeostaze cinka stvarajući komplekse s 20 % unutarstaničnog cinka. Prilagođavanje i modulacija dostupnog slobodnog cinka u citosolu potpomognuto je uskladištenim cinkom iz cinkosoma i drugih organela kao što su endoplazmatski retikulum i Golgijev aparat. Distribucija cinka između citosola i organela posredovana je specifičnim cinkovim transporterima, koji ga unose i iznose, ili membranskim kanalima. Koncentracija slobodnih cinkovih iona u citosolu održava se na niskim pikomolarnim do nanomolarnim koncentracijama. No, uslijed oslobađanja cinka iz proteina ili organela, koncentracije cinka mogu porasti te utjecati na ekspresiju gena, enzimsku aktivnost i staničnu signalizaciju (Wessels i sur., 2017).

Apsorpcija cinka odvija se u tankom crijevu pasivnom difuzijom ili putem nosača te manjim dijelom u želucu i debelom crijevu. Endogeni cink reapsorbira se u ileumu i kolonu. Mogućnosti apsorpcije cinka ovise o nekoliko čimbenika, uključujući količinu cinka, vrstu konzumirane hrane i potrebe organizma za cinkom. Kod ljudi s niskom razinom cinka apsorpcija se odvija efikasnije nego kod ljudi s normalnom razinom. Prosječna apsorpcija cinka u čovjeka je 33 %. Tijekom probave cink se oslobađa iz hrane u obliku slobodnih iona. Ako je unos cinka nizak, apsorpcija će biti posredovana nosačem. Gušterača izlučuje ligand, npr. metalotionein, na koji se cinkovi ioni vežu prije transporta u enterocite duodenuma i jejunuma. Cink prisutan u lumenu tankog crijeva dolazi iz dva izvora, a to su hrana (~10 mg) i želučani sokovi (~3 mg) (Jurowski i sur., 2014).

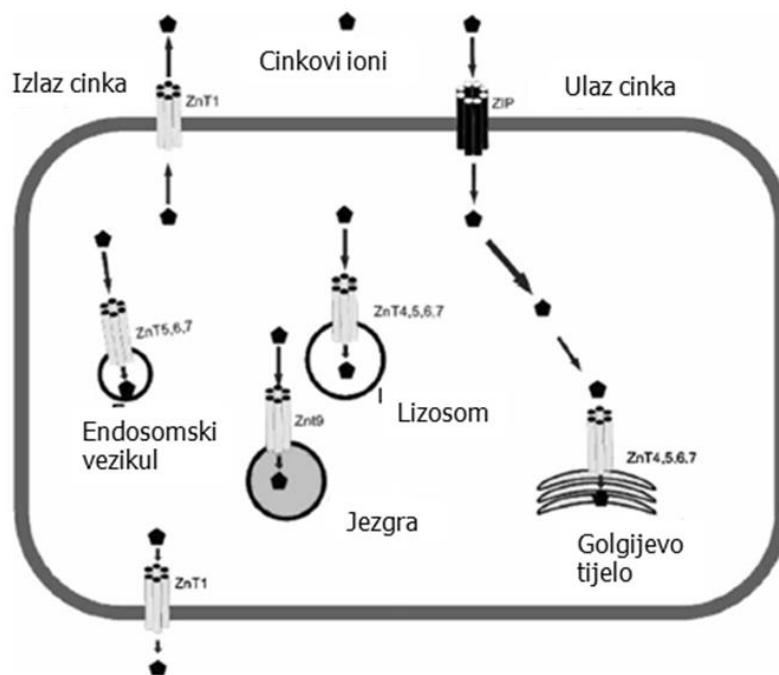
Preko enterocita cink se transportira u obliku iona i pomoću transportnih proteina prelazi staničnu membranu i odlazi u portalnu cirkulaciju. Ako je unos cinka visok, apsorpcija će se odvijati pasivnom difuzijom. Portalnom venom cink odlazi u jetru gdje se oslobađa te se sistemskom cirkulacijom prenosi do ostalih tkiva. Prisutnost fitinske kiseline, kalcija te metala u tragovima, kadmija, žive ili bakra, usporava apsorpciju cinka, dok ju prisutnost

glukoze u lumenu crijeva pospješuje. Starenjem se smanjuje apsorpcija cinka, ali i njegovo izlučivanje (Roohani i sur., 2013).

Izlučivanje je važan proces u regulaciji homeostaze cinka. Izlučivanje cinka putem gastrointestinalnog trakta obuhvaća oko polovine ukupno izlučenog cinka iz tijela. Značajne količine izlučuju se žučnim sekretima te urinom, fecesom, znojem, ljuštenjem kože i otpadanjem kose, no većina se reapsorbira. Primarno su mjerenja endogenog intestinalnog cinka kod ljudi bila obavljena pomoću fekalnih izlučevina. Te izlučene količine odgovaraju unosu cinka, apsorbiranom cinku i fiziološkim potrebama (Roohani i sur., 2013).

### 2.2.2. Transporteri cinka

Cinkovi ioni su hidrofilni i ne mogu prolaziti kroz plazmatsku membranu niti membranu organela u stanici. Homeostaza cinka primarno je regulirana ekspresijom i aktivnošću transportnih proteina te metalotioneina. U sisavaca postoje dva tipa transportera, a to su Zrt-/Irt-proteini (ZIP1-14) koji povisuju razinu citoplazmatskog cinka unosom cinka i ZnT-proteini (ZnT1-10) koji ju snizuju. Mnogi od njih prelaze plazmatsku membranu, dok su neki smješteni unutar membrane mitohondrija, Golgijeva aparata, lizosoma i endoplazmatskog retikuluma, što ukazuje da sniženje cinka u citoplazmi može opisati izvoz cinka putem ZnT, ali i unos cinka u neki od navedenih organela (Slika 1) (Jurowski i sur., 2014).



**Slika 1.** Moguće uloge cinkovih transportera u stanicama (Jurowski i sur., 2014).

Uz ZIP, u mobilizaciju cinkovih iona preko plazmatske membrane uključeni su i drugi membranski transportni proteini, uključujući kalcijeve kanale, receptor glutamata, receptor acetilkolina i TRP (engl. *transient receptor potential*) ionske kanale (Lee, 2018). Proteini skupine ZIP formiraju homodimere ili heterodimere s osam transmembranskih domena te izvanstaničnim i unutarstaničnim domenama različitih duljina. Neki od članova imaju specifične izvanstanične domene sastavljene od dvije poddomene, jedna sadrži motiv prolin-alanin-leucin (PAL), a druga sadrži puno zavojnica. Članovi ZnT skupine pokazuju karakterističnu konformaciju u obliku slova Y i veliku citoplazmatsku domenu (Bin i sur., 2018).

### **2.2.3. Uloga cinkovih transportera u stanicama imunskog sustava**

Cinkovi transporteri uključeni su u regulaciju homeostaze cinka u stanicama uključenih u urođenu i stečenu imunost kao što su neutrofil, monociti/makrofagi, mast stanice, NK stanice i dendritičke stanice odnosno limfociti T i limfociti B. ZIP6 i ZIP10 su poznati kao ključni transporteri u regulaciji funkcija imunskih stanica sisavaca. Nedavni podaci pokazuju da postoji velika razlika učinka cinka na signalizaciju u stanicama urođenog u usporedbi sa stanicama stečenog imunskog odgovora (Maywald i sur., 2017). Stanice urođene imunosti prepoznaju patogene otkrivanjem općih molekularnih obrazaca patogenih organizama (engl. *pathogen-associated molecular patterns*, PAMP) pomoću receptora za prepoznavanje obrazaca (engl. *pattern-recognition receptor*, PRR), primjerice receptora čija građa slična Toll proteinu (engl. *toll-like receptor*, TLR). Vezivanje PAMP aktivira signalne putove koji vode do antimikrobnih procesa, uključujući proizvodnju citokina, degranulaciju, fagocitozu patogena i predočavanje antigena drugim stanicama, uključujući stanice stečenog imunskog odgovora.

Ligacija PRR-ova općenito dovodi do aktivacije proteina iz porodice kinaza povezane s interleukinom 1 (engl. *interleukin-1 receptor-associated kinase*, IRAK) te primarno aktivacijom gena za mijeloidne diferencijacije 88 (engl. *myeloid differentiation 88*, MyD88) ili može inducirati ekspresiju gena pomoću jezgrinog transkripcijskog čimbenika kappa B (NF- $\kappa$ B) ili mitogenom aktivirane proteinske kinaze (MAPK). Promjene u funkciji imunskih stanica reguliraju se unutarstaničnom signalizacijom pomoću cinka koji djeluje izravno na signalne molekule ili neizravno putem fosfataza, kinaza i redoks metabolizma (Maywald i sur., 2017).

ZIP8 važan je transporter u različitim imunskim stanicama urođene imunosti. NF- $\kappa$ B, središnji transkripcijski faktor koji regulira odgovore urođene imunosti uključujući proupalne puteve, regulira ekspresiju ZIP8 u monocitima, makrofagima, dendritičkim stanicama i

neprofesionalnim stanicama kao što su epitelne stanice pluća. Kada se  $\text{TNF-}\alpha$  i LPS vežu za svoje receptore, aktivira se I $\kappa$ B kinaza (IKK), što vodi fosforilaciji I $\kappa$ B $\alpha$  proteina. Tada je fosforilirani I $\kappa$ B $\alpha$  disociran s NF- $\kappa$ B i to uzrokuje translokaciju NF- $\kappa$ B u jezgru radi transkripcije citokina i ZIP8. Regulacija cinka posredovana ZIP8 inhibira IKK. ZIP8 negativno regulira put NF- $\kappa$ B, ukazujući na važnost koju cink-ZIP8-NF- $\kappa$ B put ima tijekom obrane stanice domaćina.

Dendritičke stanice diferencirane iz hematopoetskih multipotentnih stanica koštane srži imaju bitnu ulogu u predočavanju antigena limfocitima T i time imaju ulogu poveznice između urođene i stečene imunosti.

Dendritičke stanice izložene lipopolisaharidu (LPS) iz vanjske membrane gram-negativnih bakterija, vezat će LPS pomoću TLR4 pri čemu se smanji koncentracija unutarstaničnog cinka što potakne sazrijevanje dendritičke stanice. LPS stimulacija aktivira put TLR4 - Toll-interleukin-1 receptor s domenom koja sadrži adaptorsku molekulu koja inducira interferon (engl. *Toll-interleukin-1 receptor domain-containing adaptor-inducing interferon*, TRIF), što rezultira smanjivanjem količine transportera cinka ZIP6 i ZIP10 koji unose cink u stanice i povećanjem transpotera ZnT1 i ZnT6 koji izbacuju cink iz stanice (Bin i sur., 2018).

Limfociti T osjetljivi su na manjak cinka koji može uzrokovati atrofiju timusa i limfopeniju. Tijekom sazrijevanja T limfocita manjak cinka povezan je s povećanom apoptozom preteča limfocita T. Cink je bitan za održavanje ravnoteže između različitih subpopulacija T limfocita (Bonaventura i sur., 2014). Aktivacija T staničnog receptora (TCR) potiče naivne CD4 T limfocite na diferencijaciju u nekoliko subpopulacija uključujući Th1, Th2, Th17 i Treg stanice. Kada je signalizacija s TCR aktivirana dendritičkim stanicama, u prostorno ograničenim regijama u blizini sinapse između T-stanica i dendritičkih stanica dolazi do porasta razine cinka posredovanog ZIP6 transporterom. Ovo nakupljanje cinka aktivira put TCR-LCK-ZAP70 za proliferaciju stanica i produkciju citokina. Aktivacija TCR potiče ekspresiju ZIP8 transportera u humanim limfocitima T. ZIP8 nalazi se na membrani lizosoma kako bi mogao prenositi cink s luminalne strane stanice u citoplazmu limfocita T tijekom aktivacije TCR. Povišena razina cinka koja je posredovana sa ZIP8, zaustavlja aktivnost kalcineurina i time posreduje fosforilaciju CREB proteina (engl. *cAMP response element-binding protein*, CREB) za transkripciju IFN- $\gamma$ . To ukazuje na smanjenje produkcije citokina, kao što su IL-1, IL-2 i IFN- $\gamma$ , u stanju manjka cinka (Bin i sur., 2018). Manjak povećava proizvodnju Th1 citokina (IFN- $\gamma$ , IL-2 i TNF- $\alpha$ ), dok na Th2 odgovor (IL-4, IL-6, IL-10) ima manji utjecaj, što rezultira neravnotežom između Th1 i Th2 subpopulacija. Također, cink djeluje inhibirajuće na razvoj Th17. Mnoge funkcije T limfocita i otpuštanje citokina

regulirani su vezanjem cinka na metalotionein. Vezanje cinka rezultira povećanjem razine IL-10, koji modulira autoimune procese te ih potiskuje (Bonaventura i sur., 2014).

Limfociti B stvaraju protutijela i imaju središnju ulogu u stečenoj imunosti. Razvoj i funkcije B limfocita pod manjim su utjecajem promjena razina cinka. No, manjak cinka uzrokuje redukciju B limfocita, što utječe na njihovo sazrijevanje i proizvodnju protutijela (Bonaventura i sur., 2014).

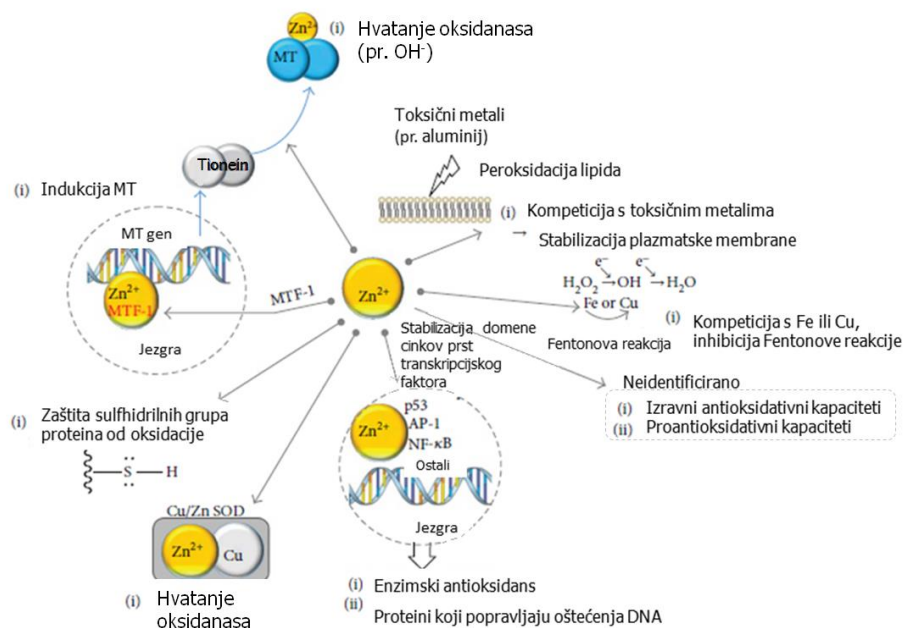
Za preživljavanje i ispravno djelovanje limfocita B esencijalan je ZIP10. Tijekom ranog sazrijevanja limfocita B potrošnja ZIP10 povećava apoptozu i tako izaziva njihovo značajno smanjenje. U normalnom stanju unutarstanični cink posredovan sa ZIP10 učinkovito inhibira kaspaze, enzime koji sudjeluju u regulaciji stanične smrti i upale (McIlwain i sur., 2013). Međutim, kada je ZIP10 potrošen, razina unutarstaničnog cinka je snižena, što onda aktivira djelovanje kaspaza za apoptozu. ZIP10 također je bitan u signalizaciji staničnog receptora limfocita B (BCR). Zreli limfociti B u kojima je potrošen ZIP10, slabo proliferiraju uslijed poremećene regulacije signalizacije BCR. U tim je stanicama smanjena aktivnost CD45R fosfataze za signalizaciju BCR. To ukazuje na to kako je ZIP10 neophodan u održavanju nezrelih i zrelih limfocita B i humoralnu imunost.

Cinkovi transporteri posredno moduliraju imunosni odgovor. Iako je ZIP4 izražen u humanom epidermisu, većinom je izražen u četkastoj membrani tankog crijeva kako bi prenio cink iz hrane. Prema tome, mutacije u ekspresiji ZIP4 uzrokuju nedostatak cinka u organizmu. Premda je ZIP4 izražen u intestinalnim enterocitima, mutacije u ZIP4 dovode do razvoja enteropatskog akrodermatitisa. U takvih bolesnika i miševa s manjkom cinka patogeni mehanizam u koži povezan je s Langerhansovim stanicama. Nedostatak cinka vodi ka smanjenoj/oštećenoj proizvodnji TGF- $\beta$ 1, koji su esencijalni za Langerhansove stanice, te, posljedično, djelomičnom gubitku Langerhansovih stanica. Prema novijim saznanjima Doebela i suradnika (2017) Langerhansove stanice pripadaju skupini dendritičkih stanica, s nekim svojstvima tkivnih makrofaga te sudjeluju u predočavanju antigena, a nalaze se u epidermisu kože i epitelu dišnog, probavnog i urogenitalnog sustava. Sami manjak cinka može povećati stopu apoptoze što uzrokuje gubitak Langerhansovih stanica u koži oboljelih od enteropatskog akrodermatitisa i miševa s manjkom cinka. Gubitak Langerhansovih stanica povećava nakupljanje adenozin trifosfata (ATP) otpuštenog iz oštećenih keratinocita u epidermisu, što uzrokuje pojavu kontaktnog dermatitisa. Isto tako, cinkovi transporteri u ostalim humanim stanicama, ne samo imunskim, mogu posredovati imunski odgovor budući da i one oslobađaju citokine i ostale kemijske tvari koji mogu potaknuti imunske stanice. O ulozi i djelovanju članova ZnT skupine zasad je dostupno malo informacija. Poznato je kako je homeostaza cinka u alergijskim reakcijama posredovana sa ZnT5. Mast

stanice bez ZnT5 pokazuju smanjenu produkciju citokina koja je potaknuta s FcεRI. ZnT5 regulira translokaciju protein kinaze C (PKC) potaknutu s FcεRI u staničnu membranu za produkciju citokina koja je NF-κB ovisna. ZnT8 u beta-stanicama transportira cinkove ione iz citosola u inzulinske granule te ima važnu ulogu u skladištenju inzulina. Od svih transportera cinka pokazuje najveću ekspresiju, kako u β-stanicama, tako i u α-stanicama. Uz to, povezan je s razvitkom dijabetesa, a može i modulirati imunosne stanice (Chabosseau i Rutter, 2016).

## 2.2.4. Uloga cinka kao antioksidansa i prooksidansa

Štetni učinci reaktivnih radikala kisika (engl. *Reactive Oxygen Species*, ROS) i dušika (engl. *Reactive Nitrogen Species*, RNS) mogu biti spriječeni ili usporeni neenzimskim antioksidansima, kao što su α-tokoferol, askorbat, glutation i metalotionein (MT), te antioksidativnim enzimima, kao što su superoksid dismutaza, katalaza i glutation peroksidaza (Slika 2) (Lee, 2018).



Slika 2. Uloga cinka kao antioksidansa (Lee, 2018). AP-1: aktivator protein 1; Cu: bakar; Fe: željezo; MT: metalotionein; MTF-1: transkripcijski faktor-1 reguliran metalima; NF-κB: nuklearni faktor κB; p53: tumor supresorski gen p53; SOD: superoksid dismutaza.

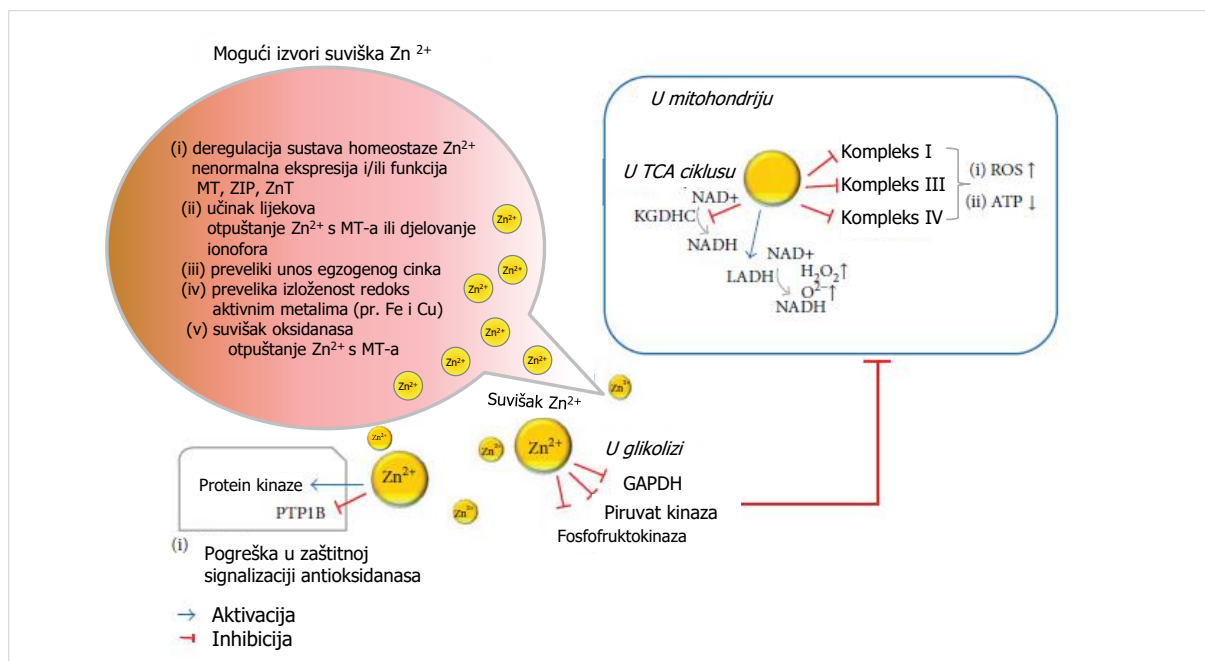
Međutim, ne zna se točno koja je povezanost manjka staničnog cinka i povišenih razina reaktivnih radikala kisika i dušika. Postoje neki dokazi kako se prekomjerna oksidacija i peroksidacija primarno događaju *in vivo* u tkivima životinja kojima manjka cinka (Bray i Bettger, 1990). Poznato je kako prehrana kojoj manjka cinka u štakora uzrokuje smanjenje unosa hrane. Prema tome, mnoge nutritivne deficijencije, koje su posljedica smanjenog unosa hrane, neke su od posljedica manjka cinka. Ono što je neočekivano jest da manjak

cinka ne smanjuje cjelokupne obrambene mogućnosti antioksidansa u tkivima (Taylor i sur., 1988) te sustav obrane od slobodnih radikala i dalje funkcionira (Bray i Bettger, 1990). Cink ne sudjeluje u redoks reakcijama i tako ne dolazi direktno u interakciju s reaktivnim radikalima kisika (Bray i Bettger, 1990). Postoji mogućnost kako je povećana količina reaktivnih radikala kisika pri manjku cinka povezana sa smanjenom aktivnošću ključnih antioksidativnih enzima, kao što je bakar-cink-superoksid dismutaza (Cu/Zn-SOD). Poznato je i da nema pozitivne korelacije između aktivnosti bakar-cink-superoksid dismutaze i cinka unesenog hranom ili koncentracije cinka u tkivima. Smanjena aktivnost SOD u stanju manjka cinka ne mora biti kritični faktor za oksidativni stres budući da prekomjerna ekspresija SOD u kvascu nije smanjila razinu oksidativnog stresa (Harris i sur., 2005). U uvjetima nutritivnog stresa, promjena aktivnosti Cu/Zn-SOD ovisi o koncentraciji cinkovih iona, ali i koncentraciji bakra (Taylor i sur., 1988). Zatim, pogrešna metilacija u odsutnosti cinka može biti štetna i proizvesti ili inaktivni protein ili protein pogrešne konformacije koji je podložan agregaciji. Također, moguće su smetnje u indukciji MT cinkovim ionima te smanjenje zaštite sulfhidrilnih grupa u proteinima. Cinkovi ioni štite sulfhidrilne skupine u proteinima od oksidacije. Interakcija cinkovih iona i sulfhidrilnih skupina uključena je u enzimsku aktivnost kroz prevenciju tvorbe intramolekularnih disulfida, koji uzrokuju steričke smetnje i konformacijske promjene (Bray i Bettger, 1990). Bitno je naglasiti kako kompleks Zn-MT ne štiti sve sulfhidrilne skupine od oksidativnog stresa pošto će cinkov ion nakon reakcije s  $\text{OH}^-$  ili  $\text{O}_2^-$  izaći iz kompleksa (Bray i Bettger, 1990). Proteinska struktura MT može se modificirati u reakciji s L-homocisteinom nakon čega struktura gubi svoju funkciju što uzrokuje povećanu proizvodnju reaktivnih radikala kisika, kroničnu upalu i aterotrombozu (Barbato i sur., 2007). Uslijed sličnosti u konformaciji cink se natječe s bakrom ili željezom za određena mjesta vezanja (Hegetschweiler i sur., 1987) i tako potiskuje njihovu mogućnost prijenosa elektrona i proizvodnju ROS. Primjerice, kompeticija cinka s bakrom i željezom u staničnoj membrani uzrokuje inhibiciju enzima NADPH oksidaze, koja sudjeluje u proizvodnji  $\text{O}_2^-$  i  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Prasad, 2014), te smanjuje kroničnu upalu i hiperglikemiju. Također, pogreška u postupku metilacije, zbog manjka cinka i njegovog indirektnog utjecaja na postupak oksidacije, može uzrokovati drugačije funkcioniranje mitohondrija i endoplazmatskog retikuluma. Nadalje, cink se selektivno veže na NADPH, ali ne i na NADH. Prema tome, cink inhibira oksidacijske putove posredovane s NADPH (Ludwig i sur., 1980). Cink ometa formiranje kompleksa koji započinje lipidnu peroksidaciju i sprječava propagaciju (Ludwig i sur., 1980). Cink stabilizira makromolekule i biološke membrane te smanjuje oštećenja uzrokovana oksidacijom i peroksidacijom. Pretpostavlja se kako cink ima ulogu antioksidansa (Maret, 2013), pošto regulira i potiče ekspresiju nekoliko transkripcijskih faktora koji onda induciraju



antioksidativne i detoksifikacijske molekule, poput glutationa, SOD, glutation S-transferaze, te Nrf2. Transkripcijski čimbenik 2 povezan s NF-E2 (engl. *nuclear factor erythroid 2-related factor 2*, Nrf2) važan je za zaštitu stanice od oksidacijskog stresa uzrokovanog kemijskim spojevima.

Uz antioksidativno, cink pokazuje i prooksidativno djelovanje koje je povezano s abnormalnim porastom razine cinka u stanici (Slika 3) (Lee, 2018). Tada je potrebno neko vrijeme kako bi se mehanizmi detoksikacije u citosolu i organelima, primjerice lizosomima i mitohondrijima, aktivirali (Lee i Koh, 2010). U slučaju ishemije ili prevladavanja oksidansa kao što su peroksinitrit i metilizotiazolinon, otpuštanje cinka sa metalotioneina ili drugih proteina čini ga prooksidansom uslijed pogrešnog formiranja proteina te nakupljanja takvih proteina koji induciraju oksidativni stres. Egzogeni dušikov (II) oksid (NO) ili N-metil-D-aspartat (NMDA), koji putem aktivacije receptora povećavaju proizvodnju endogenog dušikovog (II) oksida, uzrokuju formiranje peroksinitrita (ONOO<sup>-</sup>) i otpuštanje cinka iz unutarstaničnih zaliha, što se događa u neuronima kore mozga (Bossy-Wetzel i sur., 2004). U kardiomiocitima, brzom porastu razine unutarstaničnog cinka, kao rezultatu mobilizacije cinka iz unutarstaničnih zaliha, najviše doprinose ROS i RNS. Nadalje, tijekom oksidativnog stresa, koji uključuje i djelovanje UV zračenja, cink se oslobađa s metalotioneina S-nitrozilacijom ili oksidacijom tiolnih liganda. Kirurške rane ili ozljeda tkiva uzrokuju oslobađanje cinka iz oštećenih stanica i lokalno povišenje razine cinka u susjednim stanicama. Uslijed djelovanja određenih lijekova, primjerice epselena, i metabolita cink se oslobađa s proteina na kojeg je vezan što uzrokuje citotoksične efekte. Prekomjerna količina cinka djeluje stimulirajuće na proizvodnju reaktivnih radikala kisika u mitohondriju, koji onda mogu potaknuti daljnju unutarstaničnu mobilizaciju cinka (Lee, 2018). U endotelnim stanicama nenormalno velika količina cinka može uzrokovati povećanu ekspresiju *Nox1*, gena koji kodira za enzim NADPH oksidazu 1, što pridonosi progresiji starenja krvožilnog sustava (Salazar i sur., 2017). Zanimljivo je kako su endotelne stanice osjetljive na preveliku količinu cinka, dok su na manjak cinka otporne (Malavolta i sur., 2017). Prevelika količina cinka ometa signalne putove, što remeti staničnu homeostazu. Primjerice, cink može inhibirati protein tirozin fosfatazu 1B (PTB 1B) i, posljedično, aktivirati brojne kinaze koje su supstrati PTB 1B. Takva nekontrolirana aktivacija kinaza rezultira disfunkcijom mitohondrija i aktivacijom transkripcijskih faktora, kao što su protein ranog odgovora rasta 1 (engl. *Early growth response protein 1*, Egr-1) ili protein-1 iz porodice E26 proteina specifičnih za transformaciju (engl. *ETS Like-1 protein*, ELK-1) te smrću stanice koja je neovisna o djelovanju kaspaza (Haase i Maret, 2003).



Slika 3. Uloga cinka kao prooksidansa. ATP: adozin trifosfat; kompleks I: NADH, ubikion oksidoreduktaza; kompleks III: citokrom bc1 kompleks; kompleks IV: citokrom c oksidaza; GAPDH: gliceralhid-3-fosfat dehidrogenaza; KGDHC: kompleks  $\alpha$ -ketoglutarat dehidrogenaza; LADH: lipoamid dehidrogenaza; MT: metalotionein; NADH: nikotinamid adenin dinukleotid; PTP1B: protein tirozin fosfataza 1B; ROS: reaktivni radikali kisika; TCA: trikarboksilna kiselina, (NADH); ZIP: cinkovi transporteri koji unose cink; ZnT: cinkov transporter. (Lee, 2018)

### 2.3. Uloga cinka u bolestima

Deficijencije mikronutrijenata (primjerice cinka i vitamina A) najveći su čimbenici rizika za malnutriciju, koja je odgovorna za smrt više od 1/3 djece mlađe od pet godina u zemljama u razvoju. Malnutricija utječe na imunost i povećava rizik od infekcija. Manjak cinka, procjenjuje se, pogađa više od 25 % svjetske populacije. Brojne stanične funkcije zahtijevaju cink. Abnormalnosti homeostaze cinka uzrokuju mnoge zdravstvene probleme, različitih stupnjeva. Ako je kroničan i neliječen, manjak cinka može uzrokovati promjene imunostnog sustava koje rezultiraju infekcijama, a moguće i smrću. Manje ozbiljni simptomi manjka cinka su infekcije, gubitak tjelesne mase, hipogonadizam, poremećaji rasta, dermatitis, alopecija i sporije zarastanje rana. Sve u svemu, manjak cinka utječe na sve aspekte imunostnog sustava. Esencijalan je za odgovarajući razvoj i funkcioniranje imunostnog sustava, iako mnogi mehanizmi djelovanja nisu još otkriveni (Bonaventura i sur., 2014). Cinkovi signali reguliraju odgovarajuću funkciju i urođene i stečene imunosti. S jedne strane, manjak cinka izaziva značajne promjene imunostne funkcije. S druge strane, višak cinka

uzrokuje promjene imunskog sustava koje su usporedive s onima koje uzrokuje manjak. Zbog toga je uravnotežena homeostaza cinka ključna za obranu organizma od patogena, ali i suviše reaktivnog imunskog sustava koji onda uzrokuje autoimune bolesti, kronične upale i alergije (Wessels i sur., 2017). Neke od bolesti koje karakterizira poremećaj ravnoteže homeostaze opisane su u tekstu u nastavku.

### **2.3.1. Reumatoidni artritis**

Posljednjih godina sve je veće zanimanje za istraživanje mogućeg utjecaja elemenata u tragovima na etiologiju i patogenezu reumatoidnog artritisa. Promjene razina elemenata u tragovima dio su imunskog sustava za obranu organizma te su inducirane proupalnim imunocitokinima: interleukinom 1 (IL-1), interleukinom 6 (IL-6) i čimbenikom tumorske nekroze  $\alpha$  (engl. *tumour necrosis factor*, TNF- $\alpha$ ). Oni se oslobađaju aktivacijom makrofaga, kao odgovor na različite stimulanse poput stresa, traume i infekcije. Cink i bakar zajedno sudjeluju u radu Cu-Zn superoksid dismutaze (engl. *Cu-Zn-superoxide dismutase*, SOD) i katalaze (engl. *catalase*, CAT), enzima koji kataliziraju reakciju redukcije hidrogen peroksida u vodu. Selen je kofaktor glutation peroksidaze (engl. *glutathione peroxidase*, GSH-Px), enzima koji djeluje antioksidativno uklanjajući lipidne hidroperoksidge i hidrogen peroksid. U liječenju reumatoidnog artritisa koriste se mnogi različiti lijekovi koji uključuju, nesteroidne protuupalne lijekove (engl. *non-steroidal anti-inflammatory drugs*, NSAID), penicilamin, sulfasalazin, klorokin, glukokortikoide te metotreksat kao imunosupresor. Mnogi od njih djeluju na promjenu serumskih razina elemenata u tragovima ili aktivnosti katalaze, superoksid dismutaze i glutation peroksidaze kod različitih upalnih bolesti, pa tako i kod reumatoidnog artritisa. No, još uvijek je nedovoljno informacija o djelovanju metotreksata, salazopyrina, kortikostreoida i nesteroidnih protuupalnih lijekova na bolesnike s reumatoidnim artritismom (Önal i sur., 2011).

Zoli i suradnici (1998) proveli su istraživanje koje je mjerilo promjene selena, cinka i bakra u serumu u korelaciji s IL-1 $\beta$  i TNF- $\alpha$  te se pokazalo se kako su u bolesnika koji su se liječili od reumatoidnog artritisa razine cinka bile povišene, a selena i bakra snižene, u odnosu na razine zdrave kontrolne skupine. Terapija metotreksatom rezultirala je povišenjem razina cinka, ali ne i cinka i selena, dok salazopyrin, kortikosteroidi, klorokin i nesteroidni protuupalni lijekovi nisu utjecali na promjenu razine niti jednog od promatranih elemenata.

Sniženje razine cinka mogu uzrokovati interleukini oslobođeni iz leukocita ili aktiviranih fagocita inhibicijom njegovog transporta iz plazme u jetru. Također, snižena razina cinka može biti i posljedica sinteze metalotioneina u jetri i drugim tkivima, pošto veže

7 g cinka po molu i tako ga odvodi iz bazena slobodnog cirkulirajućeg cinka, te akumulacije proteina koji sadrže cink u jetri i upaljenim zglobovima.

Povišena razina bakra posljedica je upale povezane s bolešću te je povezana s povećanom sintezom ceruloplazmina, enzima koji u strukturi sadrži bakar te katalizira reakciju oksidacije  $Fe^{2+}$  i sudjeluje u uklanjanju željeza iz stanica (Hellman i Gitlin, 2002), u jetri i u pozitivnoj je korelaciji s IgG i C3 komponentom komplementa. Uočena je negativna korelacija stope sedimentacije eritrocita s razinom cinka, a pozitivna s bakrom. Također, razine IL-1 $\beta$  i TNF- $\alpha$  značajno su povišene i pokazuju negativnu korelaciju s cinkom, a pozitivnu s bakrom. Stopa sedimentacije eritrocita i proteini akutne faze upale poput C-reaktivnog proteina,  $\alpha$ 1 kiselog glikoproteina (engl.  *$\alpha$ 1 acid glycoprotein*) i fibrinogena pokazuju negativnu korelaciju s razinom serumskog cinka, a pozitivnu s razinom serumskog bakra (Zoli i sur., 1998).

Reumatoidni artritis upalna je bolest, no malo se zna o tome koji faktori utječu na razvoj upale. Poznato je kako umjerene i jake upalne reakcije povećavaju oksidativni stres i smanjuju aktivnost GSH-Px u serumu i eritrocitima oboljelih (Önal i sur., 2011). Akutni i kronični upalni procesi u laboratorijskih životinja uzrokuju nakupljanje cinka i bakra u različitim dijelovima tijela i upaljenim područjima, što podržava hipotezu kako s napredovanjem upale rastu potrebe organizma za tim elementima. Rezultat značajne povezanosti citokina te razina cinka i bakra ukazuju na to kako su IL-1 i TNF odgovorni za nakupljanje proteina koji sadrže cink i proteina koji sadrže bakar u jetri i upaljenim zglobovima. Povećana sinteza antioksidativnih proteina koji sadrže cink i bakar, kao što su metalotioneini, ceruloplazmin i superoksid dismutaza, ukazuje na mogućnost protuupalne uloge elemenata u tragovima (Zoli i sur., 1998).

### **2.3.2. Dijabetes**

Zdrava gušterača sadrži velike količine cinka, koje su u dijabetičara značajno smanjene. Većina cinka smještena je u inzulinskim granulama  $\beta$ -stanica, u koncentracijama između 10 i 20  $\mu$ mol. Ioni cinka esencijalni su za procesiranje i skladištenje inzulina. U prisutnosti cinka dolazi do agregacije dimera inzulina oko dva cinkova iona te nastaje heksamer. Taj postupak smanjuje topivost inzulina te započinje njegova kristalizacija, što povećava skladišni kapacitet inzulinskih granula. Egzocitozom inzulina u izvanstanični prostor, heksameri se pretvaraju u aktivne monomere te se cinkovi ioni oslobađaju u cirkulaciju (Chabosseau i Rutter, 2016).

Ranasinghe i suradnici (2015) navode kako su antioksidativna svojstva cinka procijenjena u *in vivo* i *in vitro* istraživanjima na životinjama i ljudima. U oboljelih od

dijabetesa tipa 1 i dijabetesa tipa 2 prisutna su stanja i manjka i viška cinka te se suplementacija cinkom pokazala korisnom u vraćanju razine cinka u plazmi na normalne vrijednosti. Pokazatelji oksidativnog stresa tiobarbiturnim testom (engl. *thiobarbituric acid reactive substances*, TBARS), visoki su i kod dijabetesa tipa 1 i dijabetesa tipa 2 te su značajno smanjeni nakon suplementacije s 30 mg cinka dnevno u razdoblju od tri do šest mjeseci. Glutation peroksidaza ovisna o selenu, antioksidativni enzim čija je razina niska u oboljelih od dijabetesa tipa 1, također se normalizirala nakon suplementacije cinkom. Međutim, u oboljelih od dijabetesa tipa 2 nije uočena značajna razlika u aktivnosti antioksidativnih enzima. Suplementacija cinkom u životinja otpornih na inzulin povećala je osjetljivost na inzulin i antioksidativni status. Nadalje, u životinja s izazvanim dijabetesom razine antioksidativnih enzima katalaze, glutacion peroksidaze i superoksid dismutaze niže su u odnosu na razine u zdravih životinja. Nakon suplementacije cinkom razine su normalizirane te je povećana sinteza glutationa. Malondialdehid (MDA), pokazatelj lipidne peroksidacije, povišen je u životinja s dijabetesom te značajno snižen uslijed suplementacije cinkom. Značajna indukcija sinteze metalotioneina u Langerhansovim otočićima gušterače, bubrezima, jetri i srcu životinja s dijabetesom postignuta je suplementacijom ili injektiranjem cinka. Cink pomaže i u prevenciji dijabetičke kardiomiopatije i oštećenja perifernih živaca stimuliranjem sinteze metalotioneina i pratećim antioksidativnim učincima. Tretman cinkom značajno poboljšava ekspresiju i funkciju nuklearnog faktora Nrf2, regulatora bitnog za antioksidativne mehanizme i ekspresiju metalotioneina, što je pokazano u ljudskim stanicama renalnih tubula u kojima je inhibirana apoptoza stanice uzrokovana visokom razinom glukoze.

Poznato je kako cink stimulira glikolizu, a inhibira glukoneogenezu. U skeletnim mišićima cink- $\alpha$ 2-glikoprotein povećava ekspresiju GLUT4, što je uočeno u adipoznom tkivu i rezultira povećanim unosom glukoze u stanice. Međutim, postoje istraživanja koja su pokazala kako cink- $\alpha$ 2-glikoprotein inhibira signalizaciju inzulinom i unos glukoze u adipocite, dok protein cinkov prst 407 (engl. *zinc finger protein 407*, ZFP407) stimulira ekspresiju GLUT4 i omogućava unos glukoze putem GLUT4, koji je stimuliran inzulinom. Cink- $\alpha$ 2-glikoproteini, također, povećavaju ekspresiju lipolitičkih enzima u adipoznom tkivu i tako stimuliraju lipogenezu. U štakora s nedostatkom cinka uočeno je smanjeno vezanje inzulina na receptore adipocita, dok je dodatkom cinka vezanje stimulirano.

U humanim Langerhansovim otočićima ZnT8 ključni je protein odgovoran za nakupljanje cinka u vezikulama koje sadrže inzulin i regulaciju sekrecije inzulina. Međutim, odsutnost ekspresije ZnT8 ne mijenja stopu biosinteze inzulina, količinu inzulina i metabolizam glukoze, već doprinosi učinkovitosti pakiranja pohranjenog inzulina. Kada su

miševi bez ZnT8 bili na kontroliranoj dijete, tolerancija glukoze i osjetljivost na inzulin bili su normalni. Tek nakon visoko masne dijeta pojavila se intolerancija glukoze ili dijabetes te se smanjila osjetljivost Langerhansovih otočića na glukozu. Prisutnost dijabetesa značajno mijenja homeostazu cinka te se posljedično javlja manjak cinka u serumu. Liang i suradnici (2015) zaključili su kako cink, između ostaloga, ima važnu ulogu u zaštiti jetre u fiziološkim i patološkim uvjetima. Ti učinci cinka istraživani su u OVE26 miševa, transgeničnih miševa s dijabetesom tipa 1, koji nakon tri tjedna starosti razviju hiperglikemiju. Kod njih je uočeno oštećenje jetre koje uključuje povećano nakupljanje lipida, upalne procese, oksidativno oštećenje, smrt stanica i povećanu serumsku razinu jetrenog enzima alanin transaminaze (ALT). Nakon tromjesečnog tretmana OVE26 miševa i divljeg tipa s 5 mg cinka po kilogramu tjelesne mase, značajno su smanjene abnormalnosti jetre uzrokovane dijabetesom. Povećana je ekspresija metalotioneina i smanjen je stres endoplazmatskog retikuluma. Zaštitni učinak cinka koji pomaže u prevenciji oštećenja jetre u slučaju dijabetesa povezuje se s povećanom ekspresijom metalotioneina i njegovom ulogom u zaštiti od oksidativnog stresa, stresa endoplazmatskog retikuluma, a koji je povezan sa smrću stanice, upalnih procesa i steatoze. Oksidativni stres najčešći je patogeni čimbenik koji uzrokuje upalne procese koji onda mogu dovesti do smrti stanice. U oboljelih od dijabetesa tipa 1 s bolešću jetre česta je pojava sistemskog povećanja upalnih citokina poput TNF- $\alpha$ .

U istraživanju koje su proveli Özcelik i suradnici (2012) suplementacija cinkom pokazala se korisnom u očuvanju renalne funkcije i usporavanja napredovanja dijabetičke nefropatije. To je uočeno u štakora s dijabetesom izazvanim upotrebom streptozotocina. Nakon tretmana s 30 mg cinkovog sulfata po kilogramu tjelesne mase u razdoblju od 42 dana, uočene su povećane razine cinka i metalotioneina u bubrežnom tkivu, smanjenje mikroalbuminurije te manja izraženost porasta glukoze u krvi.

### **2.3.3. Alzheimerova bolest**

Alzheimerova bolest kronični je neurodegenerativni poremećaj koji, najčešće, zahvaća stariju populaciju te u današnje vrijeme predstavlja najčešći oblik demencije. Manifestira se gubitkom pamćenja te progresivnim gubitkom kognitivnih funkcija. Glavna pretpostavka koja objašnjava patogenezu bolesti je nastanak i taloženje izvanstaničnog  $\beta$  amiloidnog ( $A\beta$ ) plaka koji stvara toksične slobodne radikale koji uzrokuju oksidativno oštećenje mozga. Slobodni radikali posebice nastaju u prisutnosti viška bakra ili željeza (Juwski i sur., 2014). Uz amiloidni plak, ostali pokazatelji bolesti su unutarstanični neurofibrilarni čvorovi koji sadrže hiperfosforilirani oblik tau proteina, smanjena debljine kortikalne sive tvari, povećani ventrikularni prostori te apoptoza neurona (Wessels i sur., 2017). Poznati rizični čimbenici za

razvoj Alzheimerove bolesti su dob, prisutnost E4 alela apolipoproteina E, povišena razina homocisteina te prisutnost određenih alela za hemokromatozu i transferin. Kako starenjem opadaju razine cinka u serumu, tako i kod oboljelih te je pad još značajniji. U neuropatologiji transgeničnih miševa s Alzheimerom sudjeluje ZnT3, koji je esencijalan za unos cinkovih iona u sinaptičke vezikule. ZnT3 prvenstveno se nalazi u glutamatergičnoj sinapsi u određenim dijelovima mozga poput hipokampusa i neokorteksa, gdje sudjeluju u višim kognitivnim funkcijama. Između ostaloga, glavni je transporter vezikularnih cinkovih iona u sinapsi te ima bitnu ulogu u modulaciji sinaptičke transmisije i plastičnosti. Kao i cink, razina ZnT3 u mozgu miševa i ljudi opada starenjem. Izvanstanični amiloidni plak djeluje tako da veže cink i time troši onaj slobodan za neurone. Uz to, drugi mehanizam uključen u razvoj bolesti i djelovanje cinka jest cinkov kapacitet za inhibiciju kalcineurina. Kalcineurin eukariotska je serin/treonin fosfataza ovisna o kalcijevim ionima i kalmodulinu, čije su najviše razine određene u mozgu (Rusnak i Mertz, 2000). Aktivnost kalcineurina potaknuta je izlaganjem  $\beta$ -amiloidu, a inhibirana cinkom. Pretpostavlja se kako manjak cinka ima važnu ulogu u smanjenju funkcije neurona, razvoju oštećenja mozga i, posljedično, Alzheimerove bolesti. Postoji mogućnost kako višak bakra i njegova toksičnost pogoduju razvoju amiloidnog plaka u kojem onda cink ostaje zarobljen (Jurowski i sur., 2014).

U kontroliranom istraživanju koje je trajalo šest mjeseci sudjelovali su oboljeli od Alzheimerove bolesti sa slabim do umjerenim simptomima. Ispitanici su bili podijeljeni u dvije skupine te su jednom dnevno, tijekom šest mjeseci, primali kapsule cinkova acetata od 150 mg i placebo, uz stalno praćenje serumskog ceruloplazmina, kao mjere statusa bakra, pošto tako velike doze cinka mogu uzrokovati deficit bakra. Rezultati su pokazali značajno povećanje serumskog cinka i smanjenje slobodnog bakra u serumu. Kognitivne sposobnosti ispitanika skupine koja je dobivala cink su se, u odnosu na kontrolnu skupinu, poboljšale no ne značajno. Također, uočeno je kako su se kognitivne sposobnosti starijih od 70 godina stabilizirale, u odnosu na one ispitanika kontrolne skupine. Prema tome, može se zaključiti kako je pozitivan učinak cinka posljedica je ponovnog uspostavljanja ravnoteže cinka, smanjenja razine bakra u serumu ili oba navedena slučaja (Brewer, 2014).

Međutim, rezultati istraživanja o povezanosti cinka i Alzheimerove bolesti, te značajnosti njegovog učinka na smanjenje simptoma još uvijek su nedosljedni ili proturječni. Loef i suradnici (2012) zaključili su kako trenutna saznanja o učincima suplementacije cinkom na stanje oboljelih od Alzheimerove bolesti nisu dovoljna da bi se sa sigurnošću moglo reći kako pomaže u ublažavanju simptoma, usporavanju progresije i liječenju bolesti.

### 2.3.4. Multipla skleroza

Multipla skleroza najčešća je kronična upalna bolest središnjeg živčanog sustava. Karakteriziraju ju upalni procesi središnjeg živčanog sustava, gubitak mijelinske ovojnice, koja obavija akson neurona te je esencijalna je za provođenje električnog impulsa i funkcioniranje živčanog sustava te paraliza koja je posredovana CD4<sup>+</sup> Th limfocitima. Jedna moguća pretpostavka koja opisuje progresiju bolesti jest infiltracija T-limfocita u središnji živčani sustav, pri čemu pojačavaju upalu. Funkcija T-limfocita strogo je regulirana koncentracijom cinka. Manjak cinka uzrokuje neispravno funkcioniranje i promjenu u diferencijaciji T-limfocita, što remeti ravnotežu imunskog odgovora. Prema tome, poremećaji u homeostazi cinka povezani su s razvojem multiple skleroze. Smatra se kako su manjak cinka, ali i njegov višak, povezani s povećanjem rizika za razvoj multiple skleroze i razvoj patogenih proupalnih T-limfocita kod eksperimentalnog autoimunog encefalomijelitisa (EAE). U oboljelih od multiple skleroze razina cinka u plazmi je niska, kao i koncentracija cinka u kroničnim lezijama. Upotreba cinka umanjila je simptome kod EAE, induciranjem regulacijskih limfocita T (Treg) i smanjenjem Th17. Prema tome, protuupalni imunski odgovor imao je prednost u odnosu na proupalni. U skladu s time, poznata je važnost cinkovih signala u regulaciji i potiskivanju neželjenih imunskih reakcija posredovanih limfocitima T, proliferacije imunskih stanica, proizvodnje proupalnih citokina te IL-2, IL-10 i IL-17. Uzimajući to u obzir, dodatak cinka oboljelima od multiple skleroze mogao bi rezultirati potencijalno korisnim učincima (Wessels i sur., 2017).



### 3. Zaključak

Cink je iznimno važan element za pravilno funkcioniranje organizma te kod poremećaja u njegovoj homeostazi dolazi i do različitih promjena u tijelu, uključujući promjene u ekspresiji gena. Prepoznat je kao element koji utječe na imunski odgovor i razvoj upalnih bolesti. Uzimajući u obzir važnost cinka u regulaciji imunskog sustava, moguće je zaključiti kako poveznica između poremećaja homeostaze cinka te upalnih i autoimunih bolesti postoji. Istraživanja pokazuju dosljednost rezultata koji pokazuju smanjenu razinu cinka u serumu oboljelih od autoimunih bolesti. Manjak cinka povezan je s nepravilnim sazrijevanjem i funkcijom limfocita T i B, neuravnoteženim omjerom regulacijskih i proupalnih limfocita T i slabljenjem funkcije NK stanica. Cink, također, inhibira Th17 koji potiču upalu, a time i povećavaju podložnost autoimunim bolestima. Međutim, postavlja se pitanje je li taj manjak cinka uzrok ili posljedica upalnog stanja. Postoje istraživanja koja pokazuju kako se homeostaza ponovno može uspostaviti dodatkom cinka, što onda djeluje na smanjenje proupalnih stanica i same upale. Različita istraživanja upućuju na iznimno korisne učinke cinka u zdravome tijelu, ali i u tijelu koje se već bori s određenom poteškoćom. Kod dijabetesa, Alzheimerove bolesti, reumatoidnog artritisa i multiple skleroze naglašava se pozitivan protuupalni učinak cinka i preporučuje se njegovo korištenje, no za detaljnije mogućnosti njegova djelovanja u slučaju spomenutih stanja, potrebna su daljnja istraživanja.

## 4. POPIS LITERATURE

- Barbato J. C., Catanescu O., Murray K., DiBello P. M., Jacobsen D. W. (2007) Targeting of metallothionein by L-homocysteine: a novel mechanism for disruption of zinc and redox homeostasis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* **27**: 49 – 54.
- Bin B. H., Seo J., Kim S. T. (2018) Function, structure, and transport aspects of ZIP and ZnT zinc transporters in immune cells. *Journal of Immunology Research* **2018**: 9365747, 9 str.
- Bonaventura P., Benedetti G., Albarède F., Miossec P. (2015). Zinc and its role in immunity and inflammation. *Autoimmunity Reviews* **14**: 277 – 285.
- Bossy-Wetzell E., Talantova M. V., Lee W. D., Schölzke M. N., Harrop A., Mathews E., Götz T., Han J., Ellisman M. H., Perkins G. A., Lipton S. A. (2004) Crosstalk between nitric oxide and zinc pathways to neuronal cell death involving mitochondrial dysfunction and p38 activated K<sup>+</sup> channels. *Neuron* **41**: 351 – 365.
- Bray T. M., Bettger W. J. (1990) The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free Radical Biology & Medicine* **8**: 281 – 291.
- Brewer G. J. (2014) Alzheimer's disease causation by copper toxicity and treatment with zinc. *Frontiers in Aging Neuroscience* **6**: 92, 6 str.
- Chabosseau P., Rutter G. A. (2016) Zinc and diabetes. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **611**: 79 – 85.
- Doebel T., Voisin B., Nagao K. (2017) Langerhans cells - the macrophage in dendritic cell clothing. *Trends in Immunology* **38**: 817 – 828.
- Dopuđa B. (1999.-2008.) Periodni sustav elemenata, PBF-Prehrambeno-biotehnološki fakultet. <<http://www.pse.pbf.hr>> Pristupljeno 30. kolovoza 2019.
- Haase H., Maret W. (2003) Intracellular zinc fluctuations modulate protein tyrosine phosphatase activity in insulin/insulin-like growth factor-1 signaling. *Experimental Cell Research* **291**: 289 – 298.
- Harris N., Bachler M., Costa V., Mollapour M., Moradas-Ferreira P., Piper P. W. (2005) Overexpressed Sod1p acts either to reduce or to increase the lifespans and stress resistance of yeast, depending on whether it is Cu<sup>2+</sup>-deficient or an active Cu, Zn-superoxide dismutase. *Aging Cell* **4**: 41 – 52.
- Hegetschweiler K., Saltman P., Dalvit C., Wright P. E. (1987) Kinetics and mechanisms of the oxidation of myoglobin by Fe (III) and Cu (II) complexes. *Biochimica et*

- Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology* **912**: 384 – 397.
- Hellman N. E., Gitlin J. D. (2002) Ceruloplasmin metabolism and function. *Annual Review of Nutrition* **22**: 439 – 458.
- Higdon, J., Drake V. J., Delage B., Ho E. (2001-2019) Zink. Linus Pauling Institute, Oregon State University. <<http://lpi.oregonstate.edu/>> Pristupljeno 10. rujna 2019.
- Jurowski K., Szewczyk B., Nowak G., Piekoszewski W. (2014) Biological consequences of zinc deficiency in the pathomechanisms of selected diseases. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* **19**: 1069 – 1079.
- Lee S. J., Koh J. Y. (2010) Roles of zinc and metallothionein-3 in oxidative stress-induced lysosomal dysfunction, cell death, and autophagy in neurons and astrocytes. *Molecular Brain* **3**: 30, 9 str.
- Lee S. R. (2018) Critical role of zinc as either an antioxidant or a prooxidant in cellular systems. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2018**: 9156285, 11 str.
- Liang T., Zhang Q., WeixiaSun W., Xin Y., Zhang Z., Tan Y., Zhou S., Zhang C., Cai L., Lu X., Cheng M. (2015) Zinc treatment prevents type 1 diabetes-induced hepatic oxidative damage, endoplasmic reticulum stress, and cell death, and even prevents possible steatohepatitis in the OVE26 mouse model: Important role of metallothionein. *Toxicology Letters* **233**: 114 – 124.
- Loef M., von Stillfried N., Walach H. (2012) Zinc diet and Alzheimer's disease: a systematic review. *Nutritional Neuroscience* **15**: 2 – 12.
- Ludwig J. C., Misorowski R. L., Chvapil M., Seymour M. D. (1980) Interaction of zinc ions with electron carrying coenzymes NADPH and NADH. *Chemico-Biological Interactions* **30**: 25 – 34.
- Malavolta M., Costarelli L., Giacconi R., Basso A., Piacenza F., Pierpaoli E., Provinciali M., Ogo O. A., Ford D. (2017) Changes in Zn homeostasis during long term culture of primary endothelial cells and effects of Zn on endothelial cell senescence. *Experimental Gerontology* **99**: 35 – 45.
- Maret W. (2013) Zinc biochemistry: from a single zinc enzyme to a key element of life. *Advances in Nutrition* **4**: 82- – 91.
- Maywald M., Wessels I., Rink L. (2017) Zinc signals and immunity. *International Journal of Molecular Sciences* **18**: pii: E2222, 34 str.
- McIlwain D. R., Berger T., Mak T. W. (2013) Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* **5**: a008656, 28 str.

- NIH (2019) National Institutes of Health, Office of Dietary Supplements. Zinc. Fact Sheet for Health Professionals (<<https://ods.od.nih.gov/>> Pristupljeno 10. rujna 2019.
- Önal S., Nazıroğlu M., Çolak M., Bulut V., Flores-Arce M. F. (2011) Effects of different medical treatments on serum copper, selenium and zinc levels in patients with rheumatoid arthritis. *Biological Trace Element Research* **142**: 447 – 455.
- Özcelik D., Nazıroğlu M., Tunçdemir M., Çelik Ö., Öztürk M., Flores-Arce M. F. (2012) Zinc supplementation attenuates metallothionein and oxidative stress changes in kidney of Streptozotocin-induced diabetic rats. *Biological Trace Element Research* **150**: 342 – 349.
- Prasad A. S. (2014) Zinc is an antioxidant and anti-inflammatory agent: its role in human health. *Frontiers in Nutrition* **1**: 14, 10 str.
- Pravilnik o tavrima koje se mogu dodavati hrani (2013) *Narodne novine* 160 (NN 160/2013).
- Ranasinghe P., Pigera S., Galappatthy P., Katulanda P., Constantine G. R. (2015) Zinc and diabetes mellitus: understanding molecular mechanisms and clinical implications. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* **23**:44, 13 str.
- Roohani N., Hurrell R., Kelishadi R., Schulin R. (2013) Zinc and its importance for human health: an integrative review. *Journal of Research in Medical Sciences* **18**: 144 – 157.
- RSC (2019) Royal Society of Chemistry, Periodic Table. <<http://www.rsc.org/periodic-table/>> Pristupljeno 10. rujna 2019.
- Rusnak F., Mertz P. (2000) Calcineurin: form and function. *Physiological Reviews* **80**: 1483 – 1521.
- Salazar G., Huang J., Feresin R. G., Zhao Y., Griendling K. K. (2017) Zinc regulates Nox1 expression through a NF-κB and mitochondrial ROS dependent mechanism to induce senescence of vascular smooth muscle cells. *Free Radical Biology and Medicine* **108**: 225 – 235.
- Taylor C. G., Bettger W. J., Bray T. M. (1988) Effect of dietary zinc or copper deficiency on the primary free radical defense system in rats. *The Journal of Nutrition* **118**: 613 – 621.
- Wessels, I., Maywald, M., Rink, L. (2017) Zinc as a gatekeeper of immune function. *Nutrients* **9**: pii: E1286, 44 str.

Zoli A., Altomonte L., Caricchio R., Galossi A., Mirone L., Ruffini M. P., Magaró M. (1998)  
Serum zinc and copper in active rheumatoid arthritis: correlation with interleukin  
1 $\beta$  and tumour necrosis factor  $\alpha$ . *Clinical Rheumatology* **17**: 378 – 382

## Izjava o izvornosti

*Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.*

*Martina Štefančić*

Martina Štefančić