

HOMEOSTAZA JONÓW Zn(II) W CHOROBYCH INFEKCYJNYCH

HOMEOSTASIS OF Zn(II) IONS IN INFECTIOUS DISEASES

Aneta Błaszczok, Elżbieta Gumienna-Kontecka*

*Uniwersytet Wrocławski, Wydział Chemii
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław*

**e-mail: elzbieta.gumienna-kontecka@chem.uni.wroc.pl*

Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. Biochemiczne znaczenie jonów cynku u ssaków
 - 1.1. Transport i magazynowanie jonów cynku w komórce
 - 1.2. Transport jonów cynku we krwi
 - 1.3. Rola jonów cynku w układzie odpornościowym
2. Wykorzystanie jonów cynku przez bakterie
 - 2.1. Znaczenie jonów cynku u bakterii
 - 2.2. Homeostaza jonów cynku w komórkach bakteryjnych
 - 2.3. Rola jonów cynku w patogenezie bakteryjnej
3. Wykorzystanie jonów cynku przez makrofagi
 - 3.1. Znaczenie jonów cynku w funkcjach pełnionych przez makrofagi
 - 3.2. Zwalczanie bakterii przez gospodarza – zatrucie jonami cynku
 - 3.3. Sekwestracja jonów cynku, wzmocnienie ochrony oksydacyjnej
4. Wpływ jonów cynku na działanie neutrofilii
 - 4.1. Zwiększenie przeciwbakteryjnej odpowiedzi zapalnej – kalprotektyna
 - 4.2. Pozakomórkowe pułapki neutrofilowe
5. Rola jonów cynku w odpowiedzi nieswoistej
 - 5.1. Komórki dendrytyczne - prezentacja antygeny
 - 5.2. Wpływ jonów cynku na aktywność i proliferację limfocytów T
 - 5.3. Wpływ na wczesny rozwój limfocytów B

Uwagi końcowe

Podziękowania

Piśmiennictwo cytowane



Lic. Aneta Błaszczok jest absolwentką Liceum Ogólnokształcącego nr 1 w Rybniku. W roku 2020 ukończyła studia pierwszego stopnia na kierunku Chemia Medyczna na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Obecnie jest studentką studiów magisterskich na tym samym wydziale, wiążąc pracę naukową z Zespołem Biologicznej Chemii Nieorganicznej pod kierunkiem dr hab. Elżbiety Gumiennej-Konteckiej.



<https://orcid.org/0000-0002-3445-8437>



Dr hab. Elżbieta Gumienno-Kontecka, prof. UWr - jest absolwentką Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego uzyskując kolejno tytuł zawodowy magistra w 1998 roku oraz stopnie doktora nauk chemicznych w 2003, a doktora habilitowanego w 2013 roku. W chwili obecnej jest zatrudniona na Wydziale Chemii UWr na stanowisku profesora nadzwyczajnego oraz pełni funkcję kierownika Zespołu naukowego Biologicznej Chemii Nieorganicznej oraz Zakładu dydaktycznego Chemii Biologicznej i Medycznej. Jej zainteresowania badawcze koncentrują się wokół struktury i termodynamiki układów bionieorganicznych, a szczególnie transportu i homeostazy jonów metali (m.in. żelaza, miedzi, manganu) u patogenów, badań zależności struktura-funkcja metaloforów, ich kompleksów oraz układów biomimetycznych. Ważnym aspektem prowadzonych przez nią badań są też wielojądrowe związki koordynacyjne i polimery koordynacyjne o obiecujących właściwościach fizyko-chemicznych. Dr hab. Gumienno-Kontecka jest współautorką ok. 80 publikacji naukowych oraz licznych prezentacji konferencyjnych, w tym wykładów na zaproszenie. Kierowała projektami naukowymi finansowanymi przez MNiSW, NCN, 7 Program Ramowy czy Horyzont 2020. W latach 2003-2005 przebywała na stażu podoktorskim na Uniwersytecie L. Pasteura w Strasburgu (stypendium naukowe Marie Curie-Skłodowskiej), a w kolejnych latach odbyła liczne krótkoterminowe staże badawcze na wielu uniwersytetach w Europie i w USA. Za działalność naukową była kilkakrotnie wyróżniana nagrodami, m.in. MNiSW, Rektora UWr.



<https://orcid.org/0000-0002-9556-6378>

ABSTRACT

Zinc is an essential element for all living organisms, as it performs important functions in many biological processes; its presence was identified in over 300 enzymes. Due to the important functions it performs, living organisms have created mechanisms to maintain zinc ion homeostasis. In mammals, these mechanisms are also used to combat pathogens. Specialized immune cells are able to manipulate, in response to immune signals, intracellular and extracellular concentrations of zinc ions through metal-specific transporters and transfer proteins. These actions cause that the resulting environment becomes unfavourable for pathogens. The ability to rapidly regulate free zinc levels is critical to cytokine responses and the proliferation, and activation of cells belonging to the adaptive immune system.

Keywords: zinc ions, homeostasis, pathogens, intoxication & sequestration, immune system

Słowa kluczowe: jony cynku, homeostaza, patogeny, zatrucie i sekwestracja, układ odpornościowy

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

Słowo cynk stosowane jest w znaczeniu jony cynku.

IFN γ	– interferon γ (ang. <i>Interferon γ</i>)
IL	– interleukiny (ang. <i>Interleukins</i>)
MHC	– główny układ zgodności tkankowej (ang. <i>Major Histocompatibility Complex</i>)
MT	– metalotioneiny (ang. <i>Metallothionein</i>)
NET	– pozakomórkowe pułapki neutrofilowe (ang. <i>Neutrophil Extracellular Traps</i>)
NF- κ B	– czynnik jądrowy κ B (ang. <i>Nuclear Factor κB</i>)
ROS	– reaktywne formy tlenu (ang. <i>Reactive Oxygen Species</i>)
Th	– pomocnicze limfocyty T (ang. <i>T-helper Cells</i>)
TLR	– receptor toll-podobny (ang. <i>Toll-like Receptor</i>)

WPROWADZENIE

Cynk jest pierwiastkiem niezbędnym dla wszystkich form życia, ponieważ bierze udział w szeregu procesów biologicznych. Odpowiada m. in. za proliferację komórek poprzez kontrolę syntezy DNA [1]. Jony cynku są bardzo ważnym elementem odpowiedzi immunologicznej organizmu, jako niezbędne do życia zarówno patogenom jak i organizmowi gospodarza, stają się obiektem konkurencji. Lokalna zmiana stężenia jonów cynku jest jednym ze sposobów walki organizmu gospodarza z drobnoustrojami. Sekwestracja cynku np. przez metalotioneiny (MT) obniża poziom, dostępnych dla patogenów, wolnych jonów cynku w komórce, co skutkuje zahamowaniem wzrostu większości drobnoustrojów. Niektóre z nich wytworzyły mechanizmy do pozyskiwania jonów cynku, dzięki którym są w stanie skutecznie konkurować o ten pierwiastek z organizmem gospodarza. Jednak również zbyt wysokie stężenie jonów cynku może być toksyczne dla patogenów. Ze względu na kluczowe znaczenie cynku w wielu szlakach biochemicznych organizmy wytworzyły mechanizmy mające na celu utrzymanie homeostazy tego metalu. W przypadku ssaków są to transportery z rodziny ZIP odpowiadające za import jonów cynku do cytoplazmy, ZnT odpowiadające za eksport jonów cynku z cytoplazmy oraz białka transportujące, do których należą m.in. MT i kalprotektyna. Wspólne działanie transporterów jonów cynku i białek przenoszących pozwala na lokalną i czasową kontrolę stężenia jonów cynku w komórkach odpornościowych, co ma znaczenie dla modulacji procesów immunologicznych [2, 3]. Jony cynku pełnią funkcję cząsteczek sygnałowych, które, w celu wzmocnienia działania przeciwdrobnoustrojowego, uruchamiają szlaki wymagane do aktywacji adaptacyjnego i wrodzonego układu odpornościowego. Pod wpływem stresu mikrobiologicznego, stężenie jonów cynku podlega dynamicznej regulacji, tak aby w zależności od rodzaju patogenu i komórek odpornościowych jak najefektywniej zwalczyć infekcję. Badania prowadzone na zwierzętach pokazują zależność pomiędzy poziomem jonów cynku w organizmie a kompetencją immunologiczną [4, 5].

Wpływ jonów cynku na układ odpornościowy jest zagadnieniem, które jest w fazie intensywnych badań. Zauważono korelację pomiędzy poziomem cynku w organizmie a prawidłowym funkcjonowaniem układu immunologicznego, jednak większość mechanizmów działania ciągle pozostaje nieznana. Szczegółowe poznanie mechanizmów wykorzystania jonów cynku przez układ odpornościowy przy jednoczesnym poznaniu systemów reagowania patogenów na odpowiedź immunologiczną może być kluczowym czynnikiem prowadzącym do stworzenia nowych terapii.

1. BIOCHEMICZNE ZNACZENIE JONÓW CYNKU U SSAKÓW

Cynk jest niezbędnym do życia pierwiastkiem śladowym biorącym udział w szeregu procesów biologicznych, w tym ekspresji genów. Jego funkcje można podzielić na trzy kategorie: katalityczne, strukturalne i regulacyjne [1]. Metal ten jest stabilny na +II stopniu utlenienia. Cynk może być wiązany przez 10% wszystkich ludzkich białek. Wykazano że ponad 300 enzymów zawiera jony cynku wykorzystywane jako kofaktor w procesach katalitycznych lub jako czynnik stabilizujący strukturę [5]. Cynk jest kluczowym składnikiem miejsca katalitycznego takich enzymów jak np. anhidraza węglanowa, polimeraza RNA, czy dehydrogenaza alkoholowa [1]. Pierwiastek ten jest również obecny w czynnikach transkrypcyjnych, z których wiele zawiera w swojej budowie palce cynkowe lub inne podobne motywy, odpowiedzialne za rozpoznawanie DNA, aktywację transkrypcji, pakowanie RNA, fałdowanie białek czy apoptozę [5, 6].

Niedobór cynku powoduje zaburzenia metabolizmu i odporności, zaburzenia poznawcze, zaburzenia wzrostu oraz bezpłodność. Jego namiar jest również toksyczny. Dlatego ważne jest utrzymanie homeostazy jonów cynku w organizmie - możliwe dzięki działaniu określonych transporterów [7].

1.1. TRANSPORT I MAGAZYNOWANIE JONÓW CYNKU W KOMÓRCIE

Białka transportujące jony cynku dzielimy na dwie główne rodziny: ZIP/SLC39s oraz ZnT/SLC30s, które transportują jony cynku w przeciwnych kierunkach przez błony komórkowe i wewnątrzkomórkowe [8].

Transportery ZIP odpowiadają za transport jonów cynku do cytoplazmy z przestrzeni pozakomórkowej lub z organelli komórkowych. Rodzina ZIP składa się z 14 transporterów (ZIP1 - ZIP14) [7], o różnych miejscach ekspresji oraz rozmieszczenia w komórkach [9].

Kolejne białka odpowiedzialne za transport cynku to rodzina transporterów ZnT, które należą do większej rodziny białek CDF [10]. Transportery te odpowiadają za zmniejszenie stężenia jonów cynku w cytoplazmie poprzez usuwanie ich na zewnątrz komórki lub transportowanie ich do wewnątrzkomórkowych organelli lub pęcherzyków. Rodzina białka ZnT składa się z 10 członków (ZnT1-ZnT10), o zróżnicowanych miejscach występowania w komórkach [9].

Badania z użyciem znaczników fluorescencyjnych wrażliwych na cynk wykazały, że w wielu różnych typach komórek ssaków można wykryć pęcherzyki związane z błoną komórkową, które są miejscem przechowywania labilnego cynku, tzw. cynkosomy [11].

Badania dowodzą, że czynniki stresowe takie jak tlenek azotu zwiększają stężenie labilnego cynku w cytoplazmie, który następnie gromadzi się w cynkosomach [12]. Dodatkowo prowadząc badania na hepatocytach szczura odkryto, że w warunkach niedoboru cynku w komórce, jego poziom może zostać uzupełniony poprzez uwolnienie z pęcherzyków [13]. Zatem cynkosomy biorą udział w regulacji wewnątrzkomórkowego stężenia jonów cynku, chroniąc tym samym komórkę przed zaburzeniem homeostazy. Główną zaletą cynkosomów jest ich zdolność do szybkiej i odwracalnej sekwestracji nadmiaru jonów cynku, proces ten jest znacznie szybszy niż synteza MT *de novo* [13].

Mechanizm cytoplazmatycznej regulacji jonów cynku nie został do końca poznany. Uważa się, że szybkie uwalnianie cynku z pęcherzyków jest spowodowane różnicą stężeń pomiędzy cynkiem w cynkosomach i cytoplazmie. Swobodny wypływ jonów metalu z pęcherzyków sugeruje, że istnieje dodatkowy mechanizm umożliwiający magazynowanie cynku wewnątrz cynkosomów. Badania przeprowadzone przy pomocy mikro-rentgenowskiej analizy fluorescencyjnej oraz spektroskopii promieniowania rentgenowskiego wykazują, że cynkosomy przechowują cynk w postaci kompleksów związanych z ligandami nieaktywnymi redoks [14].

Oprócz ZIP i ZnT homeostaza cynku kontrolowana jest na poziomie transkrypcji przez reagujący na cynk czynnik transkrypcyjny MTF1, który chroni komórki przed toksycznością cynku poprzez zwiększenie ekspresji genów metalotionein (MT). Są to małe, bogate w reszty cysteiny białka zdolne do wiązania jonów metali, występujące głównie w połączeniu z cynkiem oraz miedzią, ale mogące również wiązać jony innych metali, takich jak Cd(II), Co(II), Hg(II), Pb(II), czy Ag(I) [15]. U ssaków MT można podzielić na cztery podrodziny. Uważa się, że podrodziny MT I oraz MT II biorą udział w homeostazie jonów cynku, chronią komórki przed toksycznością metali ciężkich oraz stresem oksydacyjnym. MT III ulega głównie ekspresji w neuronach i komórkach glejowych, natomiast MT IV jest obecna w procesie różnicowania nabłonka wielowarstwowego płaskiego [15, 16].

Duża zdolność do chelatowania jonów cynku sprawia, że MT są ważnym elementem w procesie regulacji homeostazy cynku na poziomie cytoplazmatycznym. Oddziaływanie jonów cynku z MT oparte jest na odwracalnej dysocjacji jonów cynku oraz reakcjach redoks siarki tiolowej reszty cysteinyłowej. Dzięki użytecznej kombinacji wysokiej stabilności termodynamicznej i labilności kinetycznej, MT działają jako cytozolowe bufory cynkowe w warunkach fizjologicznych i kontrolują magazynowanie i uwalnianie wewnątrzkomórkowego cynku [17].

Dodatkowo, MT działają jako przeciwutleniacze przeciwko reaktywnym formom tlenu i azotu. Wykazano, że komórki zawierające kompleks Zn-MT są

bardziej odporne na stres oksydacyjny w porównaniu do komórek nie zawierających tego kompleksu [15, 18].

1.2. TRANSPORT JONÓW CYNKU WE KRWI

Badania mające na celu określenie interakcji pomiędzy białkami i jonami cynku w ludzkim osoczu i surowicy krwi, pozwalają twierdzić, że głównym transporterem jonów cynku w osoczu krwi jest albumina. Białko to zawiera kilka miejsc wiążących jony metali, a struktury otrzymane przy pomocy krystalografii rentgenowskiej pokazują, że w warunkach fizjologicznych jony cynku związane są w tzw. miejscu A (granica domen I i II). Obie domeny zapewniają po dwa ligandy His67 i Asn99 z domeny I oraz His247 i Asp249 z domeny II [19]. Badania prowadzone na tripeptydowych analogach N-końca albuminy pokazują, że jony cynku mogą również wiązać się do motywu ATCUN, jednak z dużo mniejszym powinowactwem niż jony miedzi oraz w dużo wyższym od fizjologicznego pH [20]. Drugim białkiem po albuminie wiążącym jony cynku we krwi jest α 2-makroglobulina. Badania nie wykazały związku pomiędzy stężeniem jonów cynku i stężeniem α 2-makroglobuliny co sugeruje, że wiązanie tego białka z cynkiem podlega samo w sobie kontroli metabolicznej, jednak biologiczne znaczenie tej funkcji nie jest jasne [21].

1.3. ROLA JONÓW CYNKU W UKŁADZIE ODPORNOŚCIOWYM

Cynk bierze udział w procesie proliferacji komórek, dlatego ma ogromne znaczenie dla prawidłowego rozwoju układu odpornościowego [22]. Metal ten odpowiada za prawidłowy rozwój i funkcjonowanie komórek wrodzonego układu odpornościowego, neutrofilii i limfocytów [23]. Niedobór jonów cynku w organizmie prowadzi do niedorozwoju tkanki limfatycznej oraz grasicy, zmniejszenia pod względem liczebności komórek T oraz B, obniżenia produkcji przeciwciał, zredukowania odpowiedzi komórkowej oraz fagocytozy [5]. Dodatkowo zbyt niski poziom cynku negatywnie wpływa na działanie cytokin, czyli podstawowych przekaźników układu odpornościowego, oraz zwiększa predyspozycje do wystąpienia nabytego niedoboru odporności [23].

Badania przeprowadzone na myszach dowodzą, że u osobników z niedoborem cynku dochodzi do atrofii grasicy, obniżenia poziomu splenocytów oraz upośledzenia wtórnej i pierwotnej odpowiedzi immunologicznej [23]. Aby sprawdzić wpływ cynku na układ immunologiczny człowieka, przeprowadzono eksperyment na grupie ochotników, polegający na wywołaniu niedoboru cynku poprzez stosowanie diety ubogiej w cynk. Po upływie określonego czasu rozpoczęto suplementację cynku przy jednoczesnym zachowaniu diety. Badania

przebadane na limfocytach, granulocytach i płytkach krwi pacjentów wykazały, że największy spadek stężenia jonów cynku w tych komórkach przypadł na szósty miesiąc stosowania diety. Dodatkowo zbadano rolę tymuliny. Enzym ten jest produkowany przez grasicę i wymaga jonów cynku do prawidłowego funkcjonowania. Tymulina odpowiada za stymulację cytotoksyczną limfocytów T oraz produkcję interleukiny IL-2. Otrzymane wyniki wskazują, że niedobór jonów cynku nie ma wpływu na produkcję tymuliny a jedynie uniemożliwia jej aktywację. Zauważono również, że niedobór cynku zmniejszył ilość komórek prekursorowych limfocytów T cytotoksycznych oraz spowodował zachwianie równowagi pomiędzy komórkami pomocniczymi T [24].

2. WYKORZYSTANIE JONÓW CYNKU PRZEZ BAKTERIE

2.1. ZNACZENIE JONÓW CYNKU U BAKTERII

Jak już wcześniej wspomniano, cynk jest śladowym pierwiastkiem niezbędnym do życia zarówno dla eukariotów jak i prokariotów. Jego obecność stwierdzono w wielu białkach i enzymach, w tym enzymach metabolizmu kwasu nukleinowego oraz w niektórych białkach rybosomalnych. Jony cynku pełnią funkcję kofaktora w β -laktamazach, enzymach odpowiedzialnych za oporność bakterii na antybiotyki β -laktamowe takie jak penicyliny, cefalosporyny i karbapenemy. Enzymy metalo- β -laktamowe są nieaktywne w przypadku braku jonów cynku. Metal pełni funkcję strukturalną w palcach cynkowych oraz działa jako kofaktor katalityczny [25, 26]. Nadmiar jonów cynku jest dla bakterii toksyczny tak samo jak dla ludzi, dlatego bakterie również wytworzyły szereg mechanizmów kontrolujących poziom cynku w komórce [27]. Komórki bakteryjne utrzymują homeostazę poprzez regulację transkrypcji, białka metaloregulacyjne, regulator wychwyty cynku (Zur) oraz eksport i import jonów cynku przez błonę komórkową [28].

2.2 HOMEOSTAZA JONÓW CYNKU W KOMÓRKACH BAKTERYJNYCH

U większości bakterii występuje regulator wychwyty cynku (Zur), który kontroluje ekspresję niewielkiej liczby genów wymaganych w adaptacji w warunkach silnego niedoboru jonów tego metalu. W warunkach dostatecznego poziomu jonów cynku czynnik ten tłumi ekspresję białka odpowiadającego za wychwyt cynku (ZnuABC). Natomiast kiedy poziom cynku jest obniżony, Zur aktywuje ekspresję transportera ZnuABC, powodując tym samym pobieranie jonów tego metalu ze środowiska. Dodatkowo istnieje jeszcze regulator ZntR, który

odpowiada za aktywację ATP-azy typu P. ATP-aza ta odpowiada za transport jonów cynku z cytoplazmy do peryplazmy [28, 29].

Aby kontrolować homeostazę jonów cynku w komórce, bakterie wytworzyły białka służące do transportu cynku przez błonę komórkową. W warunkach niedoboru jonów cynku bakterie aktywują mechanizmy pozwalające na wychwytywanie tego metalu ze środowiska. Wiele bakterii wykształciło dwa rodzaje systemów poboru jonów cynku: system wychwytywania jonów cynku o wysokim powinowactwie oraz system wychwytywania jonów cynku o niskim powinowactwie [30]. Do systemu wychwytywania jonów cynku o wysokim powinowactwie należą transportery ABC, które składają się z trzech białek: ZnuA, ZnuB, ZnuC [31]. Natomiast na temat systemu wychwytywania jonów cynku o niskim powinowactwie wiadomo niewiele. Na podstawie przeprowadzonych badań uważa się, że ZupT nie jest regulowane przez Zur [32]. Dodatkowo przypuszcza się, że ZupT nie odpowiada konkretnie za transport jonów cynkowych, ale może przenosić również jony innych metali, takie jak Fe(II), Co(II), Mn(II) czy Cd(II) [33]. Zbyt wysoki poziom jonów cynku jest toksyczny dla bakterii, dlatego w warunkach nadmiaru jonów tego metalu wewnątrz komórki patogeny aktywują mechanizm usuwania jonów cynku z cytoplazmy [34]. W komórkach bakteryjnych zidentyfikowano trzy rodziny białek eksportujących: CDF, pompy wypływowe (RND) oraz ATP-azy typu P. Do rodziny CDF należą białka ZitB oraz YiiP które u bakterii *E. coli* pełnią funkcję eksporterów jonów metali, takich jak Cd(II), Co(II), Zn(II) oraz Ni(II). Białka te przenoszą jony metali z cytoplazmy do peryplazmy przy użyciu energii powstałej podczas napływu protonów do światła komórki [35]. Rodzina ATP-azy typu P wykonuje aktywny transport jonów przez błonę, wykorzystując energię pozyskaną przez hydrolizę ATP [36]. Przykładem transportera z rodziny ATP-azy typu P jest białko ZntA, które po raz pierwszy zostało wykryte u bakterii *E. coli*. Uważa się, że białko ZntA jest bardziej aktywne przy toksycznych stężeniach cynku, podczas gdy ZitB odgrywa ważną rolę w utrzymaniu homeostazy przy niskim stężeniu jonów cynku [37]. Ostatnia rodzina należąca do białek eksportujących to RND, jest ona szeroko rozpowszechniona, szczególnie u bakterii Gram-ujemnych. Białka wspomagają aktywny wypływ wielu antybiotyków i chemioterapeutyków. RND razem z kanałami błony zewnętrznej oraz białkami adaptera peryplazmatycznego tworzą potrójne kompleksy, a brak któregoś ze składników sprawia, że cały kompleks staje się nieaktywny [38].

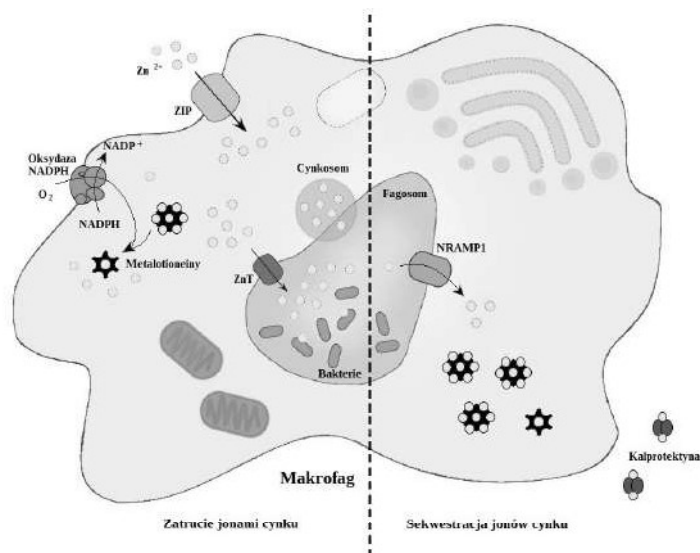
3. WYKORZYSTANIE JONÓW CYNKU PRZEZ MAKROFAGI

3.1. ZNACZENIE JONÓW CYNKU W FUNKCJACH PEŁNIONYCH PRZEZ MAKROFAGI

Jony cynku kontrolują chemotaksję monocytów, fagocytozę oraz produkcję cytokin przez makrofagi [39]. Badania przeprowadzone na myszach pokazują, że zaburzenia eferocytozy przez makrofagi spowodowane są głównie niedoborem jonów cynku. Wyniki te zostały potwierdzone badaniami przeprowadzonymi na komórkach płuc pacjentów z przewlekłą obstrukcyjną chorobą płuc (POChP). Mechanizm wpływu jonów cynku na eferocytozę nie został jeszcze poznany [40]. Inne badania przeprowadzone na komórkach osób z chorobą alkoholową pokazują, że nadmierne spożywanie alkoholu wiąże się z obniżonym poziomem jonów cynku w makrofagach, co skutkuje obniżeniem zdolności do fagocytozy tych komórek, a następnie upośledzeniem funkcji układu odpornościowego. Zauważono jednak, że podanie jonów cynku takim makrofagom powoduje wzrost możliwości fagocytozy [41]. Również badania przeprowadzone na makrofagach otrzewnowych myszy pokazują, że jony cynku są niezbędne do ich prawidłowego funkcjonowania. Podczas badań wykazano, że profilaktyczna suplementacja jonów cynku zwiększa przeżycie myszy zainfekowanych posocznicą drobnoustrojową. Mechanizm przetrwania obejmuje zmniejszenie obciążenia bakteryjnego poprzez zwiększoną fagocytozę *E. coli* i *S. aureus* przez makrofagi otrzewnowe [42]. Wyniki kolejnych badań pokazują, że makrofagi otrzewnowe pobrane od myszy z umiarkowanym lub ciężkim niedoborem jonów cynku słabo rozpoznają i zabijają pasożyty. Badania *in vitro* wykazują, że cynk działa bezpośrednio na makrofagi w celu kontroli infekcji. Makrofagi M2 są szczególnie bogate w zmiatacze mannozy i receptory lektynowe, które wiążą i internalizują pasożyty takie jak *T. cruzi* [43, 44]. Nowe dowody sugerują, że regulacja wymiany jonów cynku w makrofagach może odgrywać aktywną rolę w odpowiedziach przeciwdrobnoustrojowych. Makrofagi aktywowane cytokinami TNF α oraz IFN γ sprzyjają fagosomalnej akumulacji cynku u myszy zainfekowanych niegruźliczymi prątkami *Mycobacterium*, fagosomalny cynk jest również gromadzony w makrofagach podczas odpowiedzi na *M. tuberculosis*. Uważa się, że tak zgromadzone jony metalu przyczyniają się do odpowiedzi przeciwdrobnoustrojowej. Badania pokazują, że po czterech godzinach od zakażenia *M. tuberculosis* następuje gromadzenie się jonów cynku w fagosomach makrofagów [45].

3.2. ZWALCZANIE BAKTERII PRZEZ GOSPODARZA – ZATRUCIE JONAMI CYNKU

Prowadzone badania pokazują, że podczas infekcji *M. tuberculosis* ludzkie makrofagi „odurzają” komórki bakteryjne nadmierną ilością jonów cynku. Zakażone przez *M. tuberculosis* makrofagi uwalniają toksyczny poziom jonów cynku jednocześnie w komórkach gospodarza i wewnątrz komórek bakteryjnych. Oznacza to, że mechanizm ten powoduje zaburzenie homeostazy zarówno w komórkach gospodarza, jak i w komórkach patogenów. Zakażenie prątkami powoduje „wybuch” wolnych jonów cynku w makrofagach, co z kolei wpływa na zwiększenie ilości białek wiążących jony cynku, takich jak MT oraz transportery ZnT. Szybka mobilizacja wolnego cynku, spowodowana jest uaktywnieniem oksydazy NADPH, enzymu który odpowiada za wytwarzanie reaktywnych form tlenu (ROS). Badania sugerują, że działanie oksydazy NADPH polega na utlenieniu kompleksu Zn-MT, ułatwiając tym samym uwalnianie jonów cynku (Rysunek 1) [14, 45, 46]. Do zatrucia prątków jonami cynku dochodzi wewnątrz fagosomów. Wewnątrzkomórkowe zapasy jonów cynku są zdolne zaspokoić natychmiastowe zapotrzebowanie na cynk potrzebny do zatrucia prątków, jednak aby przedłużyć ten proces konieczny jest napływ jonów cynku z przestrzeni pozakomórkowej. Monocyty stymulowane przez *Mycobacterium* stale indukują ekspresję białka Zip8, które umożliwia transport jonów cynku do światła komórki, a następnie do fagosomów [47]. Podobny mechanizm zaobserwowano dla niepatogennej *E. coli* [45].



Rysunek 1. Kluczowe strategie zależne od cynku stosowane przez makrofagi w celu hamowania rozwoju wewnątrzkomórkowych infekcji bakteryjnych. Opracowanie własne na podstawie [46]

Figure 1. Key zinc-dependent strategies employed by phagocytes to inhibit survival of intracellular bacteria. Own figure based on [46]

3.3. SEKWESTRACJA JONÓW CYNKU, WZMOCNIENIE OCHRONY OKSYDACYJNEJ

Niewiele wiadomo na temat sekwestracji jonów cynku podczas patogenez, jednak badania przeprowadzone na mysich makrofagach zarażonych *Salmonella typhimurium* pokazują, że suplementacja jonami cynku nie sprzyjała zatruciu, ani usuwaniu pałeczek, a wręcz przeciwnie, zwiększała podatność makrofagów na infekcję. Dodatkowo zauważono, że makrofagi zainfekowane *Salmonellą* mają nieznacznie wyższe stężenie wolnych jonów cynku w porównaniu do komórek, którym udało się zwalczyć patogen. Zwiększenie poziomu wolnego cynku w makrofagach spowodowało zahamowanie aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF-κB, co skutkowało zmniejszonym wytwarzaniem ROS, które wykazują działanie antybakteryjne. Sugeruje się, że zwiększenie stężenia wolnych jonów cynku wewnątrz makrofagów, służy jako mechanizm obronny bakterii. Badania te dodatkowo ukazały ważną rolę MT (MT1 i MT2) podczas infekcji. Zauważono, że w makrofagach zainfekowanych pałeczką wzrosła produkcja MT, natomiast zaburzenie produkcji tych białek spowodowało wzrost poziomu wolnego cynku wewnątrz komórki. MT sekwestrują wolne jony cynku z cytoplazmy, tym samym zmniejszając ich stężenie wewnątrzkomórkowe, co umożliwia aktywację czynnika transkrypcyjnego NF-κB i wytwarzanie ROS [48]. Inne badania prowadzone na makrofagach ludzkich i mysich zainfekowanych grzybem *Histoplasma capsulatum* również wykazują zależność pomiędzy obniżonym poziomem jonów cynku w komórkach gospodarza a zahamowaniem wzrostu patogenów. Infekcja grzybicza powoduje wydzielanie czynnika zapalnego stymulującego tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów, który powoduje zwiększony import jonów cynku z fagosomu do cytoplazmy. Następnie jony te wiązane są przez MT1 oraz MT2 co sprawia, że stają się niedostępne dla grzybów. Obniżony poziom jonów cynku wewnątrz fagosomów powoduje zaburzenia procesów metabolicznych patogenów oraz uaktywnia kanały protonowe, umożliwiając tym samym napływ protonów do wnętrza fagosomów. Obecność protonów jest niezbędna do aktywacji oksydazy NADPH. Enzym ten odpowiada za wytwarzanie ROS, które uszkadzają komórki grzybów [49, 50].

4. WPŁYW JONÓW CYNKU NA DZIAŁANIE NEUTROFILI

4.1. ZWIĘKSZENIE PRZECIWBAKTERYJNEJ ODPOWIEDZI ZAPALNEJ – KALPROTEKTYNA

Kalprotektyna jest dimerycznym białkiem odpowiedzialnym głównie za wiązanie jonów wapnia w cytoplazmie neutrofilii i monocytów, ma również wysokie powinowactwo do wiązania jonów cynku, żelaza i manganu [51].

Zdolność do chelatacji jonów cynku stanowi ważny mechanizm obrony przeciwdrobnoustrojowej, poprzez konkurencję z patogenami o jony metalu - proces nazywany odpornością odżywczą.

Klasycznym miejscem konkurencji patogenów z gospodarzem o jony metali jest jelito cienkie, w którym patogeny muszą pokonać odporność żywieniową gospodarza oraz współzawodniczyć o dostępność jonów cynku z komensalną florą bakteryjną. Badania prowadzone na komórkach mysich pokazują, że odpowiedzią na ostre zakażenie spowodowane *S. typhimurium* jest podniesienie poziomu kalprotektyny w jelicie. Białko to indukowane jest podczas infekcji bakteryjnych i grzybiczych w odpowiedzi na cytokiny IL-17 i IL-22 [52]. Jednak chelatacja jonów cynku przez kalprotektynę może zaszkodzić mikroflorze jelit, przy jednoczesnym wspieraniu wzrostu patogenów takich jak *S. typhimurium*, które wykazują odporność na głód cynkowy. Uważa się, że bakterie *S. typhimurium* zabijają bakterie komensalne jelit, tym samym zmniejszając konkurencję o wolne jony cynku w organizmie gospodarza, które następnie są pobierane poprzez transportery ZnuABC. Badania prowadzone na *C. albicans* pokazują, że również grzyby posiadają odpowiednie mechanizmy umożliwiające przeżycie w warunkach niedoboru jonów cynku [52, 53].

Kalprotektyna poprzez sekwestrację jonów cynku hamuje działanie metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej, enzymu odpowiedzialnego m. in. za gojenie się ran, stany zapalne i niszczenie tkanek [54]. Badania prowadzone na ludzkim osoczu pokazały, że pomimo właściwości w zwalczaniu infekcji, zaburzony metabolizm kalprotektyny miał poważne konsekwencje dla homeostazy jonów cynku. Pomimo, iż wszystkie badane próbki charakteryzowały się zwiększonym stężeniem jonów cynku w osoczu, pacjenci cierpieli na nawracające infekcje, co było spowodowane prawie całkowitym związaniem jonów cynku przez kalprotektynę i pozostawienie małej ilości wolnego cynku. Zbyt długi czas ograniczenia wolnego cynku w komórkach prowadzi do zaburzenia odpowiedzi immunologicznej [55].

Oprócz bezpośredniego działania przeciwdrobnoustrojowego, kalprotektyna wzmacnia procesy immunologiczne podczas procesu zapalnego [56]. Badania prowadzone na komórkach mysich pokazują, że niedobór kalprotektyny skutkuje osłabioną migracją granulocytów. Kalprotektyna wiąże się z tubuliną powodując szybkie przegrupowanie cytoszkieletu. Taki mechanizm migracji jest prawdopodobnie odpowiedzią na duże zapotrzebowanie neutrofilów na miejscu infekcji [57]. Inne badania prowadzone na komórkach mysich wykazały, że niedobór kalprotektyny obniża aktywację receptora TLR-4, który odpowiada za rozpoznanie lipopolisacharydów. Samo przyłączenie kalprotektyny do receptora TLR-4 nie powoduje stanu zapalnego, potrzebne jest dodatkowe przyłączenie lipopolisacharydów [58]. Fizjologiczne uwalnianie kalprotektyny nie zaburza

homeostazy immunologicznej, ale przygotowuje odpowiednie systemy do działania przeciwdrobnoustrojowego. Poprzez sygnalizację, TLR-4 stymuluje produkcję IL-6, IL-1b i TNF α , zwiększając tym samym reakcję zapalną korzystną podczas zwalczania patogenów [56].

4.2. POZAKOMÓRKOWE PUŁAPKI NEUTROFILOWE

Neutrofile są wrodzonymi komórkami odpornościowymi, które walczą z patogenami poprzez wiele mechanizmów. Pozakomórkowe pułapki neutrofilowe (NET) to struktury złożone z chromatyny i białek ziarnistych, które wiążą i zabijają patogeny poprzez lokalne zwiększenie stężenia cząsteczek przeciwdrobnoustrojowych. Struktury te są uwalniane przez aktywowane neutrofile przy pomocy oksydazy NADPH, enzymu wytwarzającego ROS [59].

Głównym przeciwdrobnoustrojowym składnikiem NET jest kalprotektyna. Badania prowadzone na myszach zainfekowanych *C. albicans* pokazały, że wyczerpanie kalprotektyny w NETs sprawia, że struktury te przestają wykazywać właściwości przeciwdrobnoustrojowe, co skutkuje obniżoną odpowiedzią immunologiczną na infekcje. Kalprotektyna pełniąc funkcję chelatora jonów cynku, tym samym ogranicza ich dostępność dla mikroorganizmów. Zwiększenie stężenia jonów cynku skutkowało hamowaniem działania przeciwdrobnoustrojowego. Inne badania prowadzone na myszach zainfekowanych *A. fumigatus* pokazują, że również w tym przypadku dochodzi do chelatacji jonów cynku oraz manganu przez kalprotektynę, co ogranicza wzrost strzępek. Badania te dowodzą, że NET, poprzez kalprotektynę, tworzą nieprzyjazne dla patogenów środowisko ubogie w wolne jony cynku i manganu [52, 60].

5. ROLA JONÓW CYNKU W ODPOWIEDZI NIESWOISTEJ

5.1 KOMÓRKI DENDRYTYCZNE – PREZENTACJA ANTYGENU

Komórki dendrytyczne to komórki prezentujące antygen, stanowią ważne ogniwo łączące ze sobą układ odpornościowy wrodzony i adaptacyjny. W organizmie krążą jako nieodróżnicowane komórki, które różnicują się w dojrzałe komórki dendrytyczne pod wpływem ekspozycji na substancje wytwarzane przez patogeny lub cytokiny prozapalne. Komórki dendrytyczne pobierają antygeny, które następnie są rozkładane na peptydy. Powstałe peptydy są przenoszone na główny układ zgodności tkankowej klasy II (MHC-II) i na powierzchni komórki powstaje kompleks peptyd-MHC-II, który następnie jest prezentowany specyficznemu wobec antygeny limfocytowi pomocniczemu T CD4⁺ w celu zainicjowania odpowiedzi immunologicznej [61]. Badania prowadzone *in vivo* oraz

in vitro na mysich komórkach dendrytycznych pokazują, że podczas ekspozycji na lipopolisacharydy (LPS) (składnik bakteryjnych ścian komórkowych), który jest ligandem dla receptora TLR-4, komórki dendrytyczne dojrzewają w niskim wewnątrzkomórkowym stężeniu wolnych jonów cynku i następuje zwiększenie ekspresji MHC-II na powierzchni komórek. W trakcie procesu dojrzewania zmianie ulega ekspresja transporterów cynku, liczba transporterów ZIP maleje, a transporterów ZnT rośnie. Proces ten jest spowodowany koniecznością obniżenia wewnątrzkomórkowego stężenia jonów cynku. Wykazano, że jony cynku ułatwiają endocytozę MHC-II jednocześnie hamując handel MHC-II od lizosomów i endosomów do błony plazmatycznej [62].

5.2 WPLYW JONÓW CYNKU NA AKTYWNOŚĆ I PROLIFERACJĘ LIMFOCYTÓW T

Limfocyty T są w dużej mierze podzielone na komórki CD4⁺ Th, które odgrywają kluczową rolę w działaniu układu odpornościowego: pomagają komórkom B wytwarzać przeciwciała, regulują funkcję makrofagów, biorą udział w autoimmunizacji oraz wzmacniają i utrzymują odpowiedzi CD8⁺ cytotoksycznych limfocytów T. Limfocyty T indukują śmierć komórki poprzez bezpośrednią interakcję z komórką zainfekowaną patogenem lub komórką nowotworową. Oba typy komórek ustanawiają pamięć immunologiczną, dzięki czemu mogą szybko i skutecznie reagować na wcześniej napotkany patogen. Na powierzchni komórek T występuje receptor TLR, który zostaje aktywowany w określonym środowisku cytokin [63]. Niedobór jonów cynku ma negatywny wpływ na żywotność limfocytów T. Badania prowadzone *in vitro* wykazały, że znaczna część limfocytów oraz tymocytów (limfocytów pre-T) hodowanych na podłożu ubogim w jony cynku lub z chelatorami cynku ulega apoptozie, w przeciwieństwie do komórek hodowanych na podłożu z optymalnym poziomem cynku [64].

Badania prowadzone na modelu ludzkim pokazują, że niedobór jonów cynku w diecie zwiększa predyspozycję do infekcji bakteryjnych i grzybiczych. Przykładem jest genetyczna choroba, polegająca głównie na mutacji transportera ZIP4. Mutacja ta sprawia, że jony cynku są źle wchłaniane z pożywienia, co prowadzi do małej ilości krążących limfocytów Th CD4⁺ czego skutkiem są często powracające infekcje bakteryjne i grzybicze [65]. Jednak komórki T stanowią zróżnicowane podzbiory do których należą m.in. Th1, Th2 i komórki regulatorowe T. Każdy podzbiór pełni swoją rolę w infekcji, dzięki czemu zaburzenie homeostazy jonów cynku podczas immunologicznej odpowiedzi swoistej może być kontrolowane na wielu poziomach, w tym na etapie proliferacji i różnicowania linii. W większości przypadków zaburzenia te można zniwelować poprzez odpowiednią suplementację cynku [39]. Zauważono również, że zbyt mała

ilość dostarczanego do organizmu cyku prowadzi do atrofii grasicy. Prowadzone badania sugerują, że jednym z powodów zaniku grasicy jest upośledzona aktywność tymuliny nonapeptydowej. Tymulina wydzielana przez komórki nabłonkowe grasicy wiąże się z wysokim powinowactwem do receptora obecnego na powierzchni komórek T w celu promowania dojrzewania komórek T, nabywania funkcji cytotoksycznych i produkowania IL-2. Zauważono, że nawet niewielki niedobór jonów cynku powoduje zmniejszenie wytwarzania IL-2. Aktywność tymuliny u osób z niedoborem jonów cynku jest mniejsza, jednak jej prawidłowe działanie może zostać przywrócone dzięki suplementacji cynku. Uważa się, że jony cynku odpowiadają za zmianę konformacji tymuliny nadając jej tym samym aktywność biologiczną [24, 66]. Prowadząc badania na myszach zauważono, że u osobników z adrenalektomią, u których stosowano dietę ubogą w cynk, pomimo niewielkiej zmiany masy grasicy, działanie komórek Th jest zaburzone. Komórki pomocnicze Th uaktywniają proces różnicowania komórek B w komórki plazmatyczne wydzielające przeciwciała. Badania te pokazują, że poziom cynku wpływa również na aktywację komórek T [67]. Analiza mikromacierzy pokazuje, że w warunkach nawet niewielkiego niedoboru jonów cynku u myszy powoduje zmianę ekspresji ponad tysiąca genów związanych z proliferacją, przetrwaniem i odpowiedzią limfocytów T [68]. Przeprowadzone badania pokazują, że niedobór jonów cynku powoduje obniżenie produkcji cytokin takich jak: IL-1, IL-2, IL-4 i IFN γ . Wyniki przeprowadzonych eksperymentów pokazują, że niski poziom cynku obniża produkcję cytokin Th1, natomiast produkcja cytokin Th2 jest w mniejszym stopniu zależna od poziomu jonów cynku. Powoduje to zmianę równowagi Th1/Th2 z przesunięciem w kierunku Th2. Zgodnie z obserwacjami, podczas niedoboru cynku głównie zawodzi odporność komórkowa oraz nadwrażliwość typu opóźnionego w komórkach Th1, natomiast funkcje zależne od komórek Th2 nie są zbyt zaburzone. Zaburzenia te mogą jednak zostać zniwelowane poprzez suplementację cynku [65, 69].

5.3 WPŁYW NA WCZESNY ROZWÓJ LIMFOCYTÓW B

Komórki B odgrywają kluczową rolę w humoralnej reakcji odpornościowej, która jest główną bronią w adaptacyjnym układzie odpornościowym. Początkowy rozwój limfocytów B zachodzi w szpiku kostnym, po osiągnięciu dojrzałości komórki B, klasyfikowane jako profesjonalne komórki prezentujące antygen wraz z komórkami dendrytycznymi, wychwytyją i prezentują antygen poprzez specyficzny receptor BCR, następnie peptyd antygenowy zostaje załadowany na MHC-II i następuje prezentacja antygenów komórkom CD4⁺ Th [70].

Niedobór jonów cynku wpływa niekorzystnie na wczesny rozwój limfocytów B. Badania prowadzone na myszach pokazują, że stosowanie diety powodującej

nieznaczne niedobory cynku powoduje spadek populacji pre-limfocytów B o połowę oraz spadek niedojrzałych limfocytów B o 25%. Niedobór cynku w głównej mierze wpływa na prekursorów komórek B, a dojrzałe limfocyty B są stosunkowo odporne na deficyt tego pierwiastka. Przeprowadzono badania, które wykazały, że ilość pęcherzykowatych komórek B oraz poziom ich wewnątrzkomórkowego cynku nie uległ zmianie pomimo stosowania przez dwa tygodnie diety ubogiej w cynk. U badanych osobników doszło jednak do wyraźnego opóźnienia wzrostu oraz obniżenia poziomu cynku we krwi [71, 72].

UWAGI KOŃCOWE

Jony cynku są niezbędnym elementem do prawidłowego funkcjonowania układu odpornościowego. Wrodzony układ immunologiczny wykorzystuje fakt, że jony cynku są konieczne do życia również patogenom. Komórki nieswoistego układu odpornościowego gospodarza wykorzystują mechanizmy, odpowiedzialne w normalnych warunkach za utrzymanie homeostazy jonów cynku, do lokalnych i czasowych zmian stężenia cynku w poszczególnych komórkach. Głównym mechanizmem działania wrodzonego układu odpornościowego jest fagocytoza drobnoustrojów, a następnie sekwestracja jonów cynku z cytoplazmy komórki odpornościowej. Dzięki takim działaniom jony cynku stają się niedostępne dla patogenów, co prowadzi do ich śmierci. Makrofagi dodatkowo mają umiejętność podnoszenia wewnątrzkomórkowego poziomu cynku, co sprawia, że powstałe środowisko staje się toksyczne dla mikroorganizmów. Wybór ścieżki obronnej w głównej mierze zależy od rodzaju patogenu. Cynk jest niezbędnym pierwiastkiem również dla prawidłowego działania adaptacyjnego układu odpornościowego, jednak w tym przypadku jego znaczenie jest nieco inne. Jony cynku są tutaj odpowiedzialne za proliferację, dojrzewanie i aktywację. Jednak aby cały układ odpornościowy działał sprawnie, niezbędne jest dostarczanie odpowiednich ilości jonów cynku wraz z pożywieniem. Badania prowadzone głównie na myszach wykazują, że długotrwałe stosowanie diety ubogiej w cynk prowadzi do osłabienia układu odpornościowego, czego skutkiem są częste i nawracające infekcje.

PODZIĘKOWANIE

Publikacja finansowana ze środków przyznanych przez Narodowe Centrum Nauki w ramach grantu numer UMO-2017/26/A/ST5/00363.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] M.J. Tuerk, N. Fazel, *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 2009, **25**, 136.
- [2] D.J. Eide, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006, **1763**, 711.
- [3] K.S. Vignesh, J.A. Landero Figueroa, A. Porollo, J.A. Caruso, G.S. Deepe Jr, *PLoS Pathog.*, 2013, **9**, e1003815.
- [4] P.J. Fraker, L.E. King, *Annu. Rev. Nutr.*, 2004, **24**, 277.
- [5] H. Haase, L. Rink, *Immun. Ageing*, 2009, **6**, 9.
- [6] P. Babula, V. Kohoutkova, R. Opatrilova, I. Dankova, M. Masarik, R. Kizek, *Chimica Oggi*, 2010, **28**, 18.
- [7] J. Jeong, D.J. Eide, *Mol. Aspects Med.*, 2013, **34**, 612.
- [8] S. Hojyo, T. Fukada, *Arch. Biochem. Biophys.*, 2016, **611**, 43.
- [9] E. Bafaro, Y. Liu, Y. Xu, R.E. Dempski, *Sig. Transduct. Target. Ther.* 2017, **2**, 17029.
- [10] L. Huang, S. Tapaamorndech, *Mol. Aspects Med.*, 2013, **34**, 548.
- [11] H. Haase, D. Beyersmann, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, **296**, 923.
- [12] C.M. St Croix, K.J. Wasserloos, K.E. Dineley, I.J. Reynolds, E.S. Levitan, B.R. Pitt, *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2002, **282**, 185.
- [13] J.W. Kleineke, I.A. Brand, *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 1997, **38**, 181.
- [14] G. Wellenreuther, M. Cianci, R. Tucoulou, W. Meyer-Klaucke, H. Haase, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2009, **380**, 198.
- [15] M. Capdevila, R. Bofilla, Ò. Palacios, S. Atrian, *Coord. Chem. Rev.*, 2012, **256**, 46.
- [16] E. Carpena, G. Andreani, G. Isani, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 2007, **21**, 35.
- [17] W. Maret, A. Krężel, *Mol. Med.*, 2007, **13**, 371.
- [18] B. Ruttkay-Nedecky, et al., *J. Mol. Biol.*, 2013, **14**, 6044.
- [19] A. Stewart, C.A. Blindauer, *Biochem. Soc. Trans.*, 2009, **36**, 1317.
- [20] H. Lakusta, B. Sarkar, *J. Inorg. Biochem.*, 1979, **11**, 303.
- [21] J.W. Foote, H.T. Delves, *J. Clin. Pathol.*, 1984, **37**, 1050.
- [22] P. Bonaventura, G. Benedetti, F. Albareda, P. Miossec, *Autoimmun. Rev.*, 2015, **14**, 277.
- [23] A.S. Prasad, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 2009, **12**, 646.
- [24] A.S. Prasad, S. Meftah, J. Abdallah, J. Kaplan, G.J. Brewer, J.F. Bach, M. Dardenne, *J. Clin. Invest.*, 1988, **82**, 1202.
- [25] G. Malgieri, M. Palmieri, S. Esposito, V. Maione, L. Russo, I. Baglivo, I. de Paola, D. Milardi, D. Diana, L. Zaccaro, P.V. Pedone, R. Fattorusso, C. Isernia, *Metallomics*, 2014, **6**, 96.
- [26] A. Tamilselvi, G. Muges, *FEBS J.*, 2008, **13**, 1039.
- [27] R. Choudhury, S. Srivastava, *Current Science*, 2001, **81**, 768.
- [28] D.A. Capdevila, J. Wang, D.P. Giedroc, *J. Biol. Chem.*, 2016, **291**, 20858.
- [29] C.E. Outten, D.A. Tobin, J.E. Penner-Hahn, T.V. O'Halloran, *Biochemistry*, 2001, **40**, 10417.
- [30] K. Hantke, *Curr. Opin. Microbiol.*, 2005, **8**, 196.
- [31] S.I. Patzer, K. Hantke, *J. Biol. Chem.*, 2000, **275**, 24321.
- [32] M. Cerasi, J.Z. Liu, S. Ammendola, A.J. Poe, P. Petrarca, M. Pesciaroli, P. Pasquali, M. Raffatellu, A. Battisoni, *Metallomics*, 2014, **6**, 845.
- [33] G. Grass, S. Franke, N. Taudte, D.H. Nies, L.M. Kucharski, M.E. Maguire, C. Rensing, *J. Bacteriol.*, 2005, **187**, 1604.
- [34] C. Gulihen, M.K. Taha, F.J. Veyrier, *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2013, **3**, 102.
- [35] G. Porcheron, A. Garénaux, J. Proulx, M. Sabri, C.M. Dozois, *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2013, **3**, 90.
- [36] H.J. Apell, *Bioelectrochemistry*, 2004, **63**, 149.
- [37] G. Grass, B. Fan, B.P. Rosen, S. Franke, D.H. Nies, C. Rensing, *J. Bacteriol.* 2001, **183**, 4664.
- [38] H. Nikaïdo, Y. Takatsuka, *Biochim. Biophys. Acta.* 2009, **1794**, 769.

- [39] A.H. Shankar, A.S. Prasad, *Am. J. Clin. Nutr.*, 1998, **68**, 447S.
- [40] R. Hamon, C.C. Homan, H.B. Tran, V.R. Mukaro, S.E. Lester, E. Roscioli, M.D. Bosco, C.M. Murgia, M. Leigh Ackland, H.P. Jersmann, C. Lang, P.D. Zalewski, S.J. Hodge, *PLoS One*, 2014, **9**, e110056.
- [41] A.J. Mehta, S.M. Yeligar, L. Elon, L.A. Brown, D.M. Guidot, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2013, **188**, 716.
- [42] J.E. Nowak, K. Harmon, C.C. Caldwell, H.R. Wong, *Pediatr. Crit. Care Med.*, 2012, **13**, e323.
- [43] S. Gordon, *Nat. Rev. Immunol.*, 2003, **3**, 23.
- [44] T.C.A. Jorge, H.S. Barbosa, A.L. Moreira, W. de Souza, M.N. Meirelles, *Zeitschrift für Parasitenkd. Parasitol.*, 1986, **72**, 577.
- [45] H. Botella, P. Peyron, F. Levillain, R. Poincloux, Y. Poquet, I. Brandli, C. Wang, L. Tailleux, S. Tilleul, G.M. Charriere, S.J. Waddell, M. Foti, G. Lugo-Villarino, Q. Gao, I. Maridonneau-Parini, P.D. Butcher, P. Ricciardi Castagnoli, B. Gicquel, C. de Chastellier, O. Neyrolles, *Cell Host and Microbe*, 2011, **10**, 248.
- [46] J.R. Sheldon, E.P. Skaar, *Curr. Opin. Immunol*, 2019, **60**, 1.
- [47] N.A. Begum, M. Kobayashi, Y. Moriwaki, M. Matsumoto, K. Toyoshima, T. Seya, *Genomics*, 2002, **80**, 630.
- [48] A. Wu, P. Tymoszuk, D. Haschka, S. Heeke, S. Dichtl, V. Petzer, M. Seifert, R. Hilbe, S. Sopper, H. Talasz, D. Bumann, C. Lass-Flörl, I. Theurl, K. Zhang, G. Weiss, *Infect. Immun.*, 2017, **85**, e00418.
- [49] M.S. Winters, Q. Chan, J.A. Caruso, G.S. Deepe Jr, *J. Infect. Dis.*, 2010, **202**, 1136.
- [50] A. Crawford, D. Wilson, *FEMS Yeast Res.* 2015, **15**, fov071.
- [51] M. Brunjes Brophy, E.M. Nolan, *ACS Chem. Biol.*, 2015, **10**, 641.
- [52] J.Z. Liu, S. Jellbauer, A. Poe, V. Ton, M. Pesciaroli, T.E. Kehl-Fie, N.A. Restrepo, M.P. Hosking, R.A. Edwards, A. Battistoni, P. Pasquali, T.E. Lane, W.J. Chazin, T. Vogl, J. Roth, E.P. Skaar, M. Raffatellu, *Cell Host Microbe*, 2012, **11**, 227.
- [53] C.F. Urban, D. Ermert, M. Schmid, U. Abu-Abed, C. Goosmann, W. Nacken, V. Brinkmann, P.R. Jungblut, A. Zychlinsky, *PLoS Pathogens*, 2009, **5**, e1000639.
- [54] I. Striz, I. Trebichavsky, *Physiol. Res.*, 2004, **53**, 245.
- [55] S.B. Sampson, M.F. Fegerhol, C. Suderkotter, B.E. Golden. P. Richmond, N. Klein, I.Z. Kovar, J.H. Beattie, B. Wolska-Kusinierz, Y. Saito, J. Roth, *Lancet*, 2002, **360**, 1742.
- [56] J. M. Ehrchen, C. Suderkotter, D. Foell, T. Vogl, J. Roth, *J. Leukoc. Biol.*, 2009, **86**, 557.
- [57] T. Vogl, S. Ludwig, M. Goebeler, A. Strey, I.S. Thorey, R. Reichelt, D. Foell, V. Gerke, M.P. Mantiz, W. Nacken, S. Werner, C. Sorg, J. Roth, *Blood*, 2004, **104**, 4260.
- [58] T. Vogl, K. Tenbrock, S. Ludwig, N. Leukert, C. Ehrhardt, M. van AD Zoelen, W. Necken, D. Foell, T. von der Poll, C. Sorg, J. Roth, *Nat. Med.*, 2007, **13**, 1042.
- [59] T.A. Fusch, U. Abed, C. Goosman, R. Hurwitz, I. Schulze, V. Wahn, Y. Weinrauch, V. Brinkmann, A. Zychlinsky, *J. Biol.*, 2007, **176**, 231.
- [60] H.L. Clark, A. Jhingran, Y. Sun, C. Vareechon, S.J. Carrion, E.P. Skaar, W.J. Chazin, J.A. Calera, T.M. Hohl, E. Pearlman, *J. Immunol.*, 2016, **196**, 336.
- [61] I. Mellman, R.M. Steinman, *Cell*, 2001, **106**, 255.
- [62] H. Kitamura, H. Morikawa, M. Iguchi, S. Hojyo, T. Fukada, S. Yamashita, T. Kaisho, S. Akira, M. Murakami, T. Hirano, *Nat. Immunol.*, 2006, **7**, 971.
- [63] J. Zhu, H. Yamane, W.E. Paul, *Annu. Rev. Immunol.*, 2010, **28**, 445.
- [64] S. Treves, P.L. Trentini, M. Ascanelli, G. Bucci, F. Di Virgilio, *Exp. Cell Res.*, 1994, **211**, 339.
- [65] A.S. Prasad, *J. Infect. Dis.*, 2000, **182**, S62.
- [66] M. Dardenne, *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2002, **56**, S20.
- [67] P. DePasquale-Jardieu, P.J. Fraker, *J. Immunol.*, 1980, **124**, 2650.
- [68] J.B. Moore, R.K. Blanchard, W.T. McCormack, R.J. Cousins, *J. Nutr.*, 2001, **131**, 3189.

-
- [69] K. Gruber, M. Maywald, E. Rosenkranz, H. Haase, B. Plümäkers, L. Rink, *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*, 2013, **27**, 661.
- [70] T. Kurosaki, H. Shinohara, Y. Baba, *Annu. Rev. Immunol.*, 2010, **28**, 21.
- [71] J.M. Cook-Mills, P.J. Fraker, *Brit. J. Nutr.*, 1993, **69**, 835.
- [72] S. Hojyo, T. Miyai, H. Fujishiro, M. Kawamura, T. Yasuda, A. Hijikata, K. Bum-Ho, T. Irie, J. Tanaka, T. Atsumi, M. Murakami, M. Nakayama, O. Ohara, S. Himeno, H. Yoshida, H. Koseki, T. Ikawa, K. Mishima, T. Fukada, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2014, **111**, 11786.

Praca wpłynęła do Redakcji 30 listopada 2020 r.