

Ewelina Stępień¹, Joanna Jerzyńska², Mikołaj Gwardys², Iwona Stelmach²

Surowicze stężenia cynku u dzieci z nawracającymi infekcjami i chorobami atopowymi

Serum zinc levels in children with recurrent infections and atopic diseases

¹ Laboratorium Synevo, Wojewódzkie Wielospecjalistyczne Centrum Onkologii i Traumatologii im. M. Kopernika w Łodzi, Łódź, Polska

² Oddział Kliniczny Interny Dziecięcej i Alergologii, Ośrodek Pediatryczny im. J. Korczaka, Wojewódzkie Wielospecjalistyczne Centrum Onkologii i Traumatologii im. M. Kopernika w Łodzi, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź, Polska (Mikołaj Gwardys: ORCID: 0000-0001-6552-0486)

Adres do korespondencji: Prof. dr hab. n. med. Iwona Stelmach, Oddział Kliniczny Interny Dziecięcej i Alergologii, Ośrodek Pediatryczny im. J. Korczaka, Wojewódzkie Wielospecjalistyczne Centrum Onkologii i Traumatologii im. M. Kopernika w Łodzi, ul. Piłsudskiego 71, 90-329 Łódź, tel.: +48 42 207 47 26, faks: +48 42 677 63 58, e-mail: alergol@kopernik.lodz.pl

Streszczenie

Cynk jest pierwiastkiem śladowym niezbędnym ludziom w wielu procesach metabolizmu komórkowego, koniecznym dla katalitycznej aktywności ponad 100 enzymów. Odgrywa rolę w układzie odpornościowym, syntezie białek, gojeniu ran, syntezie DNA i podziałach komórkowych. Jego działanie immunomodulacyjne i przeciwzapalne zostało ocenione w wielu badaniach. Niedobór cynku hamuje zarówno odporność wrodzoną, jak i swoistą, zaburza fagocytozę, zabijanie wewnątrzkomórkowe oraz produkcję cytokin przez makrofagi. Nawet niewielkie niedobory cynku mogą upośledzać funkcje makrofagów i neutrofilii. Cynk jako jeden z najważniejszych mikroelementów jest obecny w wielu enzymach, ma wpływ na syntezę białek, hormonów i krwinek czerwonych, prawidłowe funkcjonowanie skóry i błon śluzowych. Niedobór cynku jest czynnikiem ryzyka rozwoju astmy. Ostatnie badania dowodzą, że suplementy cynku mogą skutecznie tłumić przewlekłe stany zapalne, a włączenie tego mikroelementu do terapii skutecznie hamuje anafilaksję. Celem pracy była ocena stężenia cynku u dzieci hospitalizowanych z powodu nawracających infekcji górnych i dolnych dróg oddechowych oraz z powodu chorób atopowych. Stwierdzono, że u 30% badanych dzieci stężenie tego pierwiastka jest obniżone. Niedobór cynku był większy u dzieci z nawracającymi infekcjami w porównaniu z dziećmi, u których stwierdzono chorobę atopową. Zaobserwowano, że im wyższe stężenie IgE swoistych, tym wyższe stężenie cynku w surowicy badanych dzieci. Wyniki sugerują, że u hospitalizowanych dzieci występują niższe stężenia cynku, co może wskazywać na jego udział w regulacji odpowiedzi immunologicznej, szczególnie u pacjentów wykazujących zaburzenia odpornościowe.

Słowa kluczowe: cynk, dzieci, infekcje, atopia

Abstract

Zinc is a trace element necessary in many processes of cell metabolism and the catalytic activity of over 100 enzymes in humans. It plays a role in the immune system, protein synthesis, wound healing, DNA synthesis and cell division. Its immunomodulatory and anti-inflammatory effects have been evaluated in many studies. Zinc deficiency inhibits both innate and specific immunity, interferes with phagocytosis, intracellular killing and cytokine production by macrophages. Even minor zinc deficiencies can impair macrophage and neutrophil function. As one of the most important micronutrients included in many enzymes, zinc has an impact on the synthesis of proteins, hormones and red blood cells as well as proper functioning of the skin and mucous membranes. Zinc deficiency is a risk factor for developing asthma. Recent studies have shown that zinc supplementation can effectively suppress chronic inflammation and that zinc therapy effectively inhibits anaphylaxis. The aim of the study was to assess serum zinc levels in children hospitalised due to recurrent upper and lower respiratory tract infections and atopic diseases. The study showed lower zinc levels in 30% of children. This deficiency was greater in children with recurrent infections compared to children with atopic diseases. It was observed that the higher the specific IgE levels, the higher the serum zinc level in children. Our results suggest that hospitalised children are characterised by lower zinc levels, which may indicate its participation in the regulation of immune responses in patients with immune disorders.

Keywords: zinc, children, infections, atopy

WSTĘP

Cynk (Zn) jest pierwiastkiem zaliczanym do mikroelementów. Jego głównym źródłem w pożywieniu są produkty zbożowe, mięso, wędliny oraz ryby⁽¹⁾. Jako kofaktor ponad 300 enzymów wpływa na prawidłowe funkcjonowanie wielu narządów i tkanek. Bierze udział w modulowaniu mechanizmów układu odpornościowego⁽²⁻⁴⁾. Nasila odpowiedź immunologiczną, m.in. poprzez indukcję adhezji monocytów do komórek śródbłonna naczyniowego, natomiast jego kompleks z fosforanami działa przeciwnie. Niedobór cynku hamuje zarówno wrodzoną, jak i nabytą odpowiedź immunologiczną⁽⁵⁾, zmniejsza chemotaksję neutrofilów, upośledza fagocytozę z udziałem makrofagów oraz zaburza proces generowania reaktywnych form tlenu (*reactive oxygen species*, ROS) przez te komórki⁽⁶⁾. Jony cynku indukują uwalnianie cytokin prozapalnych, tj. interleukiny 1 (IL-1), interleukiny 6 (IL-6) i czynnika martwicy nowotworów α (*tumour necrosis factor α* , TNF- α), oraz pobudzają funkcje monocytów. W badaniach prowadzonych *in vitro* stwierdzono, że wysokie dawki cynku mogą hamować funkcję limfocytów T oraz produkcję interferonu α (IFN- α) przez leukocyty. W związku z tym niezwykle istotne wydaje się monitorowanie ilości cynku poprzez ocenę jego stężeń w surowicy. Jednak dokładne fizjologiczne mechanizmy regulacji układu odpornościowego za pośrednictwem cynku są nadal w dużej mierze niejasne. Coraz więcej danych wskazuje, że cynk zachowuje się jak cząsteczka sygnalizująca, ułatwiając transdukcję różnych kaskad sygnalizacyjnych w odpowiedzi na bodźce pozakomórkowe⁽⁷⁾.

Niedobór cynku może zwiększać naciek eozynofilowy i jest czynnikiem ryzyka rozwoju astmy, podczas gdy suplementacja tego mikroelementu łagodzi objawy alergii⁽⁸⁻¹⁰⁾. Chelatory cynku skutecznie hamują anafilaksję, a suplementy cynku efektywnie tłumią przewlekłe stany zapalne, na co wskazują wyniki badań z wykorzystaniem modeli mysich. Mogą one mieć istotne implikacje kliniczne w opracowaniu nowych metod terapeutycznych z wykorzystaniem cynku do hamowania nasilenia reakcji zapalnych lub alergicznych⁽¹¹⁾.

Przy uwzględnieniu wielokierunkowego działania cynku na różne komórki organizmu celem niniejszej pracy była ocena stężenia tego pierwiastka w surowicy dzieci z nawracającymi infekcjami i chorobami atopowymi w różnych grupach wiekowych podczas różnych pór roku.

MATERIAŁ I METODY

W badaniu wzięło udział 120 dzieci w wieku od 1. do 18. roku życia obojga płci, które były hospitalizowane na Oddziale Klinicznym Interny Dziecięcej i Alergologii Ośrodka Pediatricznego im. J. Korczaka w Łodzi od grudnia 2017 do października 2018 roku z powodu nawracających infekcji układu oddechowego oraz chorób atopowych. Dzieci podzielono na dwie grupy – pierwszą

grupę stanowili pacjenci z nawracającymi infekcjami, drugą – osoby z atopią. Dodatkowo grupy badawcze zostały podzielone na trzy grupy wiekowe: 1.–6. rok życia, 7.–12. rok życia, 13.–18. rok życia. Badania prowadzono w różnych porach roku. U pacjentów oznaczano stężenie surowicze cynku oraz całkowite stężenie immunoglobulin E (IgE).

Oznaczenie stężenia cynku

Materiał badany stanowiła surowica krwi. Krew pobierano z żyły łokciowej przy użyciu zestawu próżniowego do próbki na skrzep (Vacutainer, Sarsted). Po wykrzepieniu krew wirowano. Stężenie cynku oznaczano metodą spektrometrii płomieniowej na aparacie Atomic Absorption Spectrometer PinAAcle 900T (PerkinElmer). Do oznaczenia pierwiastka wykorzystywano próbkę rozcieńczoną wodą dejonizowaną (w celu pozbycia się interferencji spektralnych). Rozcieńczoną czterokrotnie próbkę krwi wprowadzano do płomienia i oznaczano przy 213,86 nm, szczelina 0,7 mm, z korekcją tła przy użyciu lampy deuterowej. Każde oznaczenie prób rozpoczynano od wykonania krzywej kalibracyjnej. Absorbancja krzywej mieściła się w zakresie 0,0–0,8. Jako pierwsze wykonywano oznaczenie próby ślepej z użyciem czystej wody dejonizowanej. Próba ślepa stanowiła próbkę dla punktu 0 krzywej kalibracji. Przed oznaczeniem kalibracyjnym roztwór w kolbie dokładnie wymieszano. Każde oznaczenie wykonywano dwukrotnie i wyliczano średnią arytmetyczną. Współczynnik korelacji dla krzywej kalibracyjnej nie powinien być mniejszy niż 0,995.

Oznaczenie całkowitego stężenia IgE

Całkowite stężenie IgE oznaczano metodą elektrochemiluminescencji (ECLIA) na aparacie Cobas 6000 firmy Roche. Próbkę poddawano dwuetapowej inkubacji: IgE w próbce, biotynylowane monoklonalne przeciwciała swoiste dla IgE oraz monoklonalne przeciwciała swoiste dla IgE znakowane kompleksem rutenu tworzyły kompleks typu sandwich. W drugiej fazie inkubacji dodawano mikrocząsteczki opłaszczone streptawidyną. Mieszanie reakcyjną przenoszono do komory pomiarowej, gdzie mikrocząsteczki przyciągane były do powierzchni elektrody za pomocą magnesu. Napięcie przyłożone do elektrody indukowało reakcję elektrochemiluminescencji i emisję fotonu, która była mierzona za pomocą fotopowielacza. Wyniki odczytywano z krzywej kalibracyjnej przygotowanej dla danego analizatora.

WYNIKI

W każdej z dwóch grup znalazło się po 60 pacjentów obu płci. Grupy nie różniły się statystycznie pod względem płci ($p = 0,855$) ani wieku ($p = 0,024$) (tab. 1). Do interpretacji wyników przyjęto wartości referencyjne stężeń cynku 70–120 $\mu\text{g/dl}$ ⁽¹²⁾. Spośród wszystkich 120 przyjętych

Grupa wiekowa [lata]	Płeć	Średnie stężenie cynku [$\mu\text{g/dl}$]
0–6	Dziewczęta	77,1
	Chłopcy	79,0
	Razem	78,2
7–12	Dziewczęta	68,2
	Chłopcy	83,9
	Razem	75,4
13–18	Dziewczęta	80,5
	Chłopcy	84,0
	Razem	82,0

Tab. 1. Podział uczestników badania ze względu na wiek i płeć

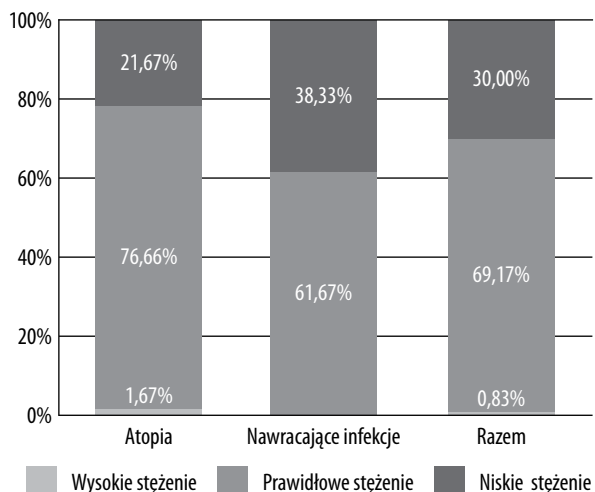
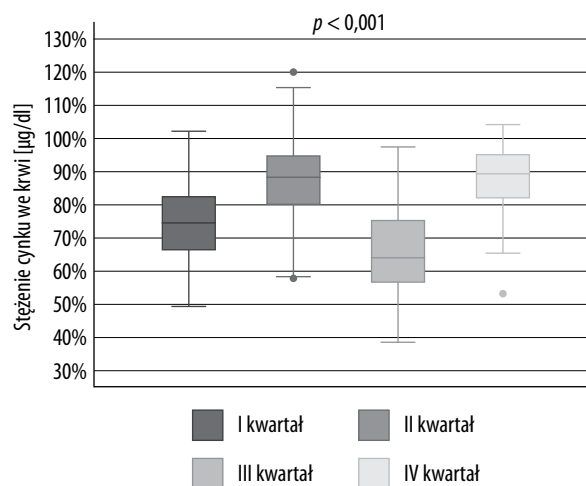
Powód hospitalizacji	Płeć	Średnie stężenie cynku [$\mu\text{g/dl}$]
Atopia	Dziewczęta	76,60
	Chłopcy	83,00
	Razem	80,01
Nawracające infekcje	Dziewczęta	74,15
	Chłopcy	77,60
	Razem	75,93
Ogółem	Dziewczęta	75,35
	Chłopcy	80,34
	Razem	77,97

Tab. 2. Podział uczestników badania ze względu na powód hospitalizacji i płeć

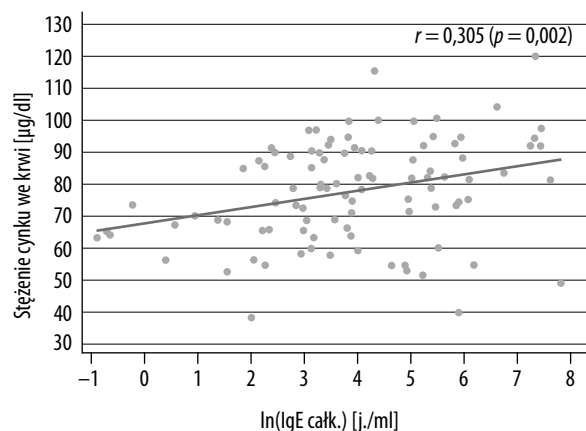
dzieci u 36 (30%) stwierdzono niskie stężenia cynku, u 83 (69%) były one w zakresie wartości referencyjnych. Tylko u 1 pacjenta stwierdzono stężenie wysokie (1%). Niższe stężenia cynku zaobserwowano u dzieci z nawracającymi infekcjami ($p = 0,072$) (ryc. 1, tab. 2). Zauważono, że w I i III kwartale roku stężenie cynku jest niższe niż w II i IV kwartale przy $p < 0,001$ (ryc. 2). U badanych dzieci uzyskano istotną statystycznie korelację między stężeniem cynku a oznaczonymi całkowitymi stężeniami IgE przy $p = 0,002$ (ryc. 3).

OMÓWIENIE

Chociaż niedobór cynku jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych niedoborów składników odżywczych na świecie, liczba badań przeprowadzonych w zdrowych społecznościach w celu określenia jego występowania jest nadal bardzo ograniczona. W znacznej mierze wynika to z trudności technicznych w uzyskaniu wiarygodnego biologicznie wyniku stężenia tego pierwiastka. Do diagnozowania niedoboru cynku stosowano różne testy, ale żaden z nich nie okazał się odpowiedni do diagnozy⁽¹³⁾. Najczęściej wykorzystywaną metodą określania stężenia cynku jest jego pomiar w surowicy. W przeprowadzonym badaniu stężenie cynku mierzono metodą fotometrii płomieniowej – jest to metoda referencyjna, uważana obecnie za najbardziej czułą. W niniejszej pracy nie wykryto

Ryc. 1. Stężenie cynku we krwi u uczestników badania w odniesieniu do zakresu referencyjnego [$\mu\text{g/dl}$] według grupy ($p = 0,072$)

Ryc. 2. Stężenie cynku we krwi u uczestników badania według kwartału roku



Ryc. 3. Wykres korelacji logarytmu naturalnego całkowitego stężenia IgE i stężenia cynku we krwi u uczestników badania

istotnej korelacji między wiekiem dziecka a stężeniem cynku w surowicy, chociaż istnieją dane wskazujące na taką zależność⁽¹⁴⁾. Vaghri i wsp. również nie stwierdzili takiej relacji⁽¹⁵⁾. W prezentowanej analizie zaobserwowano natomiast, że wraz z wiekiem stężenie cynku u chłopców rośnie, u dziewczynek natomiast nie odnotowano takiej zależności. W badaniu przeprowadzonym w 2018 roku udokumentowano u dzieci zależność między stężeniem cynku a całkowitym stężeniem IgE. Stężenia cynku w surowicy były znacznie niższe u chorych na astmę atopową w porównaniu z chorymi na astmę nieatopową oraz osobami zdrowymi. U astmatyków atopowych stwierdzono bardzo istotne korelacje między stężeniem cynku a całkowitymi stężeniami IgE, a także natężoną objętością wydechową pierwszosekundową (*forced expiratory volume in 1 second, FEV₁*)⁽¹⁶⁾. W badaniu autorów niniejszej pracy wykazano, że u dzieci z nawracającymi infekcjami stężenie cynku jest niższe niż u dzieci z chorobą atopową. Najniższe średnie stężenie cynku odnotowano u dziewczynek z nawracającymi infekcjami, a najwyższe średnie stężenie cynku występowało u chłopców z chorobą atopową. W najnowszych badaniach wykazano też, że włączenie cynku i żelaza do terapii może mieć istotne działanie przeciwastmatyczne, które można przypisać ich właściwościom immunomodulującym i przeciwzapalnym⁽¹⁷⁾. Homeostaza cynku jest niezbędna dla wielu aspektów funkcjonowania układu odpornościowego, w tym hematopoezy, dojrzewania i różnicowania komórek, postępu cyklu komórkowego oraz dla prawidłowego funkcjonowania różnych populacji komórek odpornościowych⁽¹⁸⁾. W literaturze sugeruje się, że obniżone stężenie cynku koreluje z podwyższonymi wartościami mediatorów stanu zapalnego, w tym reaktywnych form tlenu (*reactive oxygen species, ROS*), metaloproteiny macierzy (*matrix metalloproteinases, MMP*) lub peptydów przeciwdrobnoustrojowych, np. kalprotektyny, powodując uszkodzenie tkanek, szczególnie w wątrobie, płucach i śledzionie^(19,20). Zasadniczo funkcje komórkowe, takie jak wewnątrzkomórkowe zabijanie szkodliwych patogenów, synteza cytokin oraz wytwarzanie ROS, zależą od cynku i niedobór tego pierwiastka prowadzi do ich upośledzenia. Niedobór cynku wpływa również niekorzystnie na dojrzewanie i aktywność komórek T i B, co następuje poprzez rozregulowanie podstawowych funkcji biologicznych na poziomie komórkowym. W przypadku komórek T zaburzony zostaje stosunek komórek Th1 i Th2, co skutkuje zwiększoną produkcją limfocytów Th2, prowadząc do zaostrzenia reakcji alergicznych⁽²¹⁾. Ostatnio wykazano, że niedobór cynku upośledza niektóre funkcje neutrofilów, w tym zdolność do fagocytozy, wybuch oksydacyjny, degranulację i wytwarzanie cytokin oraz chemotaksję^(22–24).

Bez wątpienia cynk odgrywa kluczową rolę w regulacji funkcji układu odpornościowego. Uzasadnione zatem wydają się dalsze szczegółowe badania dotyczące konsekwencji jego niedoboru w różnych jednostkach chorobowych.

WNIOSKI

1. U 30% badanych dzieci z regionu łódzkiego hospitalizowanych na Oddziale Klinicznym Interny Dziecięcej i Alergologii stwierdzono niskie stężenie cynku w surowicy krwi. Niedobór ten był większy u dzieci z nawracającymi infekcjami w porównaniu z dziećmi, u których stwierdzono chorobę atopową.
2. Stężenie cynku zależało od kwartału, w jakim zostało przeprowadzone badanie – najniższe odnotowano w I i III kwartał roku.
3. Zaobserwowano, że im wyższe całkowite stężenie IgE swoistych, tym wyższe stężenie cynku w surowicy badanych dzieci.
4. Stwierdzono brak istotnej statystycznie zależności między stężeniem cynku a płcią i wiekiem badanych dzieci.

Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpływać na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

Źródło finansowania

Praca została sfinansowana przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi, grant nr 503/2-056-01/503-21-001.

Piśmiennictwo

1. Gawęcki J, Hryniewiecki L (eds.): Żywnienie człowieka. Vol. 1: Podstawy nauki o żywieniu. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2000.
2. Rink L, Kirchner H: Zinc-altered immune function and cytokine production. *J Nutr* 2000; 130 (5S Suppl): 1407S–1411S.
3. Rink L, Gabriel P: Zinc and the immune system. *Proc Nutr Soc* 2000; 59: 541–552.
4. Wellinghausen N: Immunobiology of gestational zinc deficiency. *Br J Nutr* 2001; 85 Suppl 2: S81–S86.
5. Bailey RL, West KP Jr, Black RE: The epidemiology of global micronutrient deficiencies. *Ann Nutr Metab* 2015; 66 Suppl 2: 22–33.
6. Krzysik M, Biernat J, Grajeta H: Wpływ wybranych składników odżywczych pożywienia na funkcjonowanie układu odpornościowego. Cz. II. Immunomodulatoryjne działanie witamin i pierwiastków śladowych na organizm człowieka. *Adv Clin Exp Med* 2007; 16: 123–133.
7. Hojyo S, Fukada T: Roles of zinc signaling in the immune system. *J Immunol Res* 2016; 2016: 6762343.
8. Richter M, Bonneau R, Girard MA et al.: Zinc status modulates bronchopulmonary eosinophil infiltration in a murine model of allergic inflammation. *Chest* 2003; 123 (Suppl): 446S.
9. Zalewski PD, Truong-Tran AQ, Grosser D et al.: Zinc metabolism in airway epithelium and airway inflammation: basic mechanisms and clinical targets. A review. *Pharmacol Ther* 2005; 105: 127–149.
10. Riccioni G, D'Orazio N: The role of selenium, zinc and antioxidant vitamin supplementation in the treatment of bronchial asthma: adjuvant therapy or not? *Expert Opin Investig Drugs* 2005; 14: 1145–1155.
11. Nishida K, Uchida R: Role of zinc signaling in the regulation of mast cell-, basophil-, and T cell-mediated allergic responses. *J Immunol Res* 2018; 2018: 5749120.

12. Jakubowski Z, Kabata J, Kalinowski L et al.: *Badania laboratoryjne w codziennej praktyce*. MAKmed, Gdańsk 1998.
13. International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG); Brown KH, Rivera JA, Bhutta Z et al.: International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) technical document #1. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull* 2004; 25 (Suppl 2): S99–S203.
14. Vuralli D, Tumer L, Hasanoglu A: Zinc deficiency in the pediatric age group is common but underevaluated. *World J Pediatr* 2017; 13: 360–366.
15. Vaghri Z, Barr S, Wong H et al.: Age-based differences in hair zinc of Vancouver preschoolers. *Biol Trace Elem Res* 2008; 126 Suppl 1: S21–S30.
16. Mohamed NA, Rushdy M, Abdel-Rehim ASM: The immunomodulatory role of zinc in asthmatic patients. *Cytokine* 2018; 110: 301–305.
17. Jehangir A, Shahzad M, Shahid K et al.: Zinc and iron complexes of oleanolic acid, (OA) attenuate allergic airway inflammation in rats. *Inflammopharmacology* 2019; 27: 1179–1192.
18. Haase H, Rink L: Multiple impacts of zinc on immune function. *Metallomics* 2014; 6: 1175–1180.
19. Wessels I, Cousins RJ: Zinc dyshomeostasis during polymicrobial sepsis in mice involves zinc transporter ZIP14 and can be overcome by zinc supplementation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2015; 309: G768–G778.
20. Knoell DL, Julian MW, Bao S et al.: Zinc deficiency increases organ damage and mortality in a murine model of polymicrobial sepsis. *Crit Care Med* 2009; 37: 1380–1388.
21. Wessels I, Haase H, Engelhardt G et al.: Zinc deficiency induces production of the proinflammatory cytokines IL-1 β and TNF α in promyeloid cells via epigenetic and redox-dependent mechanisms. *J Nutr Biochem* 2013; 24: 289–297.
22. Wessels I, Maywald M, Rink L: Zinc as a gatekeeper of immune function. *Nutrients* 2017; 9: pii: E1286.
23. Hasan R, Rink L, Haase H: Zinc signals in neutrophil granulocytes are required for the formation of neutrophil extracellular traps. *Innate Immun* 2013; 19: 253–264.
24. Hasan R, Rink L, Haase H: Chelation of free Zn²⁺ impairs chemotaxis, phagocytosis, oxidative burst, degranulation, and cytokine production by neutrophil granulocytes. *Biol Trace Elem Res* 2016; 171: 79–88.