

Claudia Schubert, Karina Guttek, Annegret Reinhold, Kurt Grüngreiff und Dirk Reinhold*

Der Einfluss des Spurenelements Zink auf das Immunsystem

The influence of the trace element zinc on the immune system

DOI 10.1515/labmed-2015-0022

Eingang 6.2.2015; Akzeptanz 10.2.2015; vorab online veröffentlicht 6.3.2015

Zusammenfassung: Klinische und experimentelle Untersuchungen haben gezeigt, dass enge Wechselwirkungen zwischen dem essentiellen Spurenelement Zink und dem Immunsystem existieren. Zink beeinflusst die zellulären und humoralen Komponenten sowohl des angeborenen als auch des erworbenen Immunsystems. Zinkmangelzustände beim Menschen sind häufig mit einer gestörten Immunfunktion, also einem sekundären Immundefekt vergesellschaftet. Je nach zugrundeliegender Ursache des Zinkmangels führt eine kontrollierte Zinksubstitution zu einer Normalisierung des Serumzinks, der Zinkhomöostase des Körpers und zu einer Verbesserung der Immunfunktion. In vitro wirken geringe Zinkkonzentrationen stimulierend auf funktionelle Parameter von Immunzellen, höhere Zinkkonzentrationen sind supprimierend oder zytotoxisch für diese Zellen. Arbeiten der letzten Jahre belegen die immunsuppressive Wirkung von Zink in T-Zell-vermittelten autoimmunen Tiermodellen, wie der Experimentellen Autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE). Zudem wurde bei einer Reihe von Autoimmunerkrankungen eine Abnahme der Serum-/Plasma-Zinkkonzentrationen nachgewiesen. In zukünftigen klinischen Studien sollte bei diesen Erkrankungen der mögliche Einsatz einer

kontrollierten immunsuppressiven Zinktherapie geprüft werden.

Schlüsselwörter: Autoimmunität; Immundefekt; Zink; Zinkstatus; Zinksubstitution.

Abstract: Clinical and experimental examinations showed a close relationship between zinc as an essential trace element and the immune system. Thus, cellular and humoral components from both the innate and the adaptive immune system are affected by zinc. Human zinc deficiencies are frequently connected with disturbed immune functions. Controlled zinc substitution results in a normalization of zinc serum levels, zinc homeostasis, and the immunological parameters. As shown in in vitro experiments, low zinc concentrations stimulate functional parameters of immune cells, but high zinc concentrations are suppressive or cytotoxic for these cells. Recently, the immunosuppressive effect of zinc was demonstrated in animal models of T cell-dependent autoimmune diseases, like experimental autoimmune encephalomyelitis. Moreover, decreased serum/plasma zinc concentrations have been detected in patients with different autoimmune diseases. Prospective studies should verify the possibility of controlled immunosuppressive zinc therapies for these diseases.

Keywords: autoimmunity; immunodeficiency; zinc; zinc status; zinc supplementation.

*Korrespondenz: Prof. Dr. med. Dirk Reinhold, Institut für Molekulare und Klinische Immunologie, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Leipziger Str. 44, 39120 Magdeburg, Deutschland, Tel.: +0391-6715857, Fax: +0391-6715852, E-Mail: dirk.reinhold@med.ovgu.de

Claudia Schubert, Karina Guttek und Annegret Reinhold: Institut für Molekulare und Klinische Immunologie, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Magdeburg, Deutschland

Kurt Grüngreiff: Hepatologische Schwerpunktpraxis im bng, Magdeburg, Deutschland

Einleitung

Das essenzielle Spurenelement Zink ist für viele biologische Prozesse bei Mensch, Tier und Pflanze unentbehrlich. Zink fungiert als Regulator bzw. Coenzym von mehr als 300 Enzymen, ist Bestandteil von Transkriptionsfaktoren, wirkt

als Antioxidans, beeinflusst die Stabilität biologischer Membranen und die Anordnung von Multiproteinkomplexen wie z.B. des T-Zell-Rezeptors. Zudem ist Zink an der Synthese von DNA und RNA sowie der Proteinsynthese beteiligt, reguliert die Expression von Hormonen und Hormonrezeptoren und ist für den Stoffwechsel von Neurotransmittern, Wachstums-, Sexual- und Schilddrüsenhormonen, sowie für die Speicherung des Insulins im Pankreas bedeutsam. Eine entscheidende Rolle wird diesem Spurenelement ebenfalls bei der Aufrechterhaltung der Sinnesfunktionen sowie der Immunhomöostase zugeschrieben [1–4].

Zink ist ein regulatorischer Bestandteil oder Cofaktor vieler Enzyme, u. a. von verschiedenen Dehydrogenasen, Carboanhydrasen, Matrix-Metalloproteinasen, dem Angiotensin-Converting-Enzym, der alkalischen Phosphatase, sowie DNA- und RNA-Polymerasen. Es verfügt über katalytische, cokatalytische und die Enzymstruktur unterstützende Funktionen [1, 2, 5]. Durch die Beteiligung an zellulären Phosphorylierungs- und Dephosphorylierungsprozessen ist Zink in der Lage, als intrazelluläres Signalmolekül zu agieren und somit die Wirkung von Wachstumsfaktoren, Hormonen und Zytokinen zu modifizieren [6, 7]. Verschiedene Arbeitsgruppen diskutierten auch eine direkte Rolle von Zink als intrazellulärer „Second Messenger“ [8]. Insgesamt unterstreichen diese Eigenschaften die essentielle Bedeutung von Zink für Wachstum, Entwicklung und Aufrechterhaltung biologischer Funktionen.

Der durchschnittliche Gesamt-Zink-Gehalt eines Erwachsenen beträgt etwa 2–3 g [1]. Die Knochen und Muskeln enthalten etwa 85% des Gesamt-Körper-Zinks, die Leber und Haut ca. 11%, die restlichen 4% sind in den anderen Organen und Geweben enthalten, vor allem in Prostata, Testes, Augen, Gehirn, Herz und Pankreas. Im Serum bzw. Plasma eines Menschen sind nur ca. 0,1% des Gesamt-Zinks zu finden. Etwa 99% des Spurenelementes befindet sich in den Körperzellen. Davon sind 50% im Zytosol nachweisbar, 30–40% innerhalb des Zellkerns, der restliche Anteil ist membranständig lokalisiert [1, 9]. Die intrazelluläre Zinkhomöostase ist eng verbunden mit dem Überleben und der Entwicklung von Zellen, d.h. mit der Regulation des Zell-Zyklus, der Proliferation sowie der Differenzierung und der Apoptose [10, 11].

Der Regulation der freien und damit biologisch aktiven Zink-Ionen in der Zelle kommt eine entscheidende Bedeutung bei der Entstehung und im Verlauf von Erkrankungen zu. Diese Zinkhomöostase unterliegt der Kontrolle durch zahlreiche Proteine. Im Gegensatz zu Eisen, welches hauptsächlich an Häm gebunden ist, unterhält Zink Wechselwirkungen mit ca. 3000 humanen Proteinen [12]. Metallothionein und Zinktransporter sind die Hauptkomponenten für die Aufrechterhaltung der zellulären

Zinkhomöostase. Metallothioneine sind bedeutsam für die Resorption und Speicherung von Zink. Sie schützen folglich vor Metalltoxizität und oxidativem Stress. Zinktransporter sichern insbesondere den Influx (Zip-Transporter) und den Efflux (ZnT-Transporter) durch die zellulären Membranen [13]. Störungen des Zinkstoffwechsels beeinträchtigen außerdem die Funktion der Mitochondrien und können zu DNA-Schäden führen.

Zum Erhalt einer Zinkhomöostase wird von der „Deutschen Gesellschaft für Ernährung e.V.“ unter Berücksichtigung einer durchschnittlichen Absorptionsrate von 30% sowie obligatorischen und fakultativen Zinkverlusten eine tägliche orale Zufuhr von 7 mg Zink für Frauen und 10 mg für Männer empfohlen [14]. Insbesondere tierische Nahrungsmittel wie Geflügel, Rind- und Schweinefleisch oder Milchprodukte stellen gute Zinklieferanten dar und weisen eine gute Bioverfügbarkeit auf. Pflanzliche Nahrungsmitteln enthalten meist nur geringe Zinkmengen und können aufgrund eines hohen Gehalts an Phytat (Phytinsäure) die Zink-Resorption stark reduzieren [1–3].

Zinkmangel wird von der WHO als die fünfthäufigste Ursache für eine hohe Morbidität und Mortalität in den Entwicklungsländern angesehen [15–17]. Aber auch in den westlichen Industriestaaten wird angenommen, dass ca. 40% der Bevölkerung einen marginalen, latenten Zinkmangel aufweisen [1]. Zudem wird dem Zinkmangel in diesen Ländern eine Bedeutung in der Pathogenese chronisch-entzündlicher Erkrankungen wie Diabetes mellitus, Arteriosklerose, chronische Leber-, Nieren-, Pankreas- und Darmerkrankungen, aber auch Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises zugeschrieben.

Durch Anwendung moderner immunologischer, pharmakologischer, molekularbiologischer und physikochemischer Methoden und Verfahren wurde in den letzten zwei Jahrzehnten ein rasanter Wissenszuwachs zur Rolle von Zink bei den physiologischen Prozessen in verschiedenen Geweben und Organen erhalten. So konnten durch klinische Beobachtungen und experimentelle Untersuchungen in der Vergangenheit enge Zusammenhänge zwischen dem Spurenelement Zink und dem Immunsystem aufgezeigt werden [18–21]. Zink wirkt durch seine funktionelle Vielfalt, wie z.B. die Regulation vieler Enzyme, Transkriptionsfaktoren und Zink-bindender Proteine, sowohl auf Komponenten der zellulären als auch der humoralen Immunität. Das Spurenelement beeinflusst die Funktionen und die Aktivität von Zellen des angeborenen und des erworbenen Immunsystems, wie neutrophile Granulozyten, Monozyten/Makrophagen, NK-Zellen sowie dendritische Zellen, T- und B-Lymphozyten. Außerdem wirkt Zink auf die Zytokinproduktion, die Aktivität des Komplementsystems und die Antikörperproduktion [18–21].

Ausgeprägte Zinkmangelzustände beim Menschen und ein tierexperimentell erzeugtes Zinkdefizit gehen mit gestörten Immunzellfunktionen und folglich mit einem sekundären Immundefekt einher. In einer Reihe klinischer Studien ist gezeigt worden, dass in jenen defizitären Situationen eine kontrollierte Zinksubstitution zu einer Normalisierung der immunologischen Parameter führt.

Je nach dem verwendeten Zellkultursystem können in vitro geringe Zinkkonzentrationen stimulierend auf unterschiedliche funktionelle Parameter von Immunzellen gesunder Probanden wirken, höhere Zinkkonzentrationen hingegen sind supprimierend bzw. zytotoxisch für diese Zellen [2, 22, 23].

Da im Serum bzw. Plasma eines Menschen nur ca. 0,1% des Gesamt-Zink-Gehalts zu finden sind, ist die Aussagekraft einer Analyse der jeweiligen Zink-Konzentrationen jedoch nicht optimal. Bei einer Reihe von Autoimmunerkrankungen wurden eindeutig verminderte Serum-/Plasma-Zinkkonzentrationen nachgewiesen. Darüber hinaus deuten tierexperimentelle Daten darauf hin, dass bei derartigen Erkrankungen aktivierte autoreaktive T-Zellen die Zielstruktur einer kontrollierten Zinktherapie darstellen könnten. Auf diese Aspekte und Fragestellungen soll in den folgenden Abschnitten detaillierter eingegangen werden.

Auswirkungen eines Zinkmangels auf das angeborene und adaptive Immunsystem in vivo

Ein Zinkmangel kann alimentär (durch allgemeine Mangel- oder Fehlernährung, phytatreiche Kost oder parenterale Ernährung), iatrogen (z.B. bei Therapie mit Glukokortikoiden, Antikonzeptiva bzw. Penicillamin) oder genetisch (Sichelzellanämie, Acrodermatitis enteropathica) bedingt sein, sowie durch Absorptionsstörungen (chronische entzündliche Darmerkrankungen, Pankreasinsuffizienz), durch einen erhöhten Zink-Bedarf (bei Schwangerschaft, starkem Wachstum, chronischen Erkrankungen, Leistungssport) oder eine verstärkte Zink-Ausscheidung (Niereninsuffizienz, Leberzirrhose) verursacht werden [1–3, 24]. Klinische Symptome eines Zinkmangels können Diarrhöen, erhöhte Infektanfälligkeit, Wundheilungsstörungen, Haarausfall, Dermatitis, verminderter Appetit, Geschmacksverlust sowie Einschränkungen im Wachstum und der Reproduktionsfähigkeit sein [2, 3].

Störungen der Zinkhomöostase wirken sich sowohl auf das angeborene als auch auf das erworbene Immunsystem aus [17, 25]. So führen Zinkmangel-Situationen zu

einer verminderten Chemotaxis der **neutrophilen Granulozyten** [26, 27]. Gestörte bzw. verminderte Aktivitäten und Funktionen dieser Immunzellen sind infolge eines Zinkmangels nach parenteraler Ernährung und bei Patienten mit einem Down-Syndrom beschrieben worden [28–30]. Darüber hinaus wurde nachgewiesen, dass bei einem Zinkmangel die Aktivität der NADPH-Oxidase der Neutrophilen vermindert war, was zu einer reduzierten Bildung reaktiver Sauerstoffspezies und zu einer verminderten Abtötungsfähigkeit führte [31, 32]. Interessanterweise wurde kürzlich eine Beteiligung des Spurenelements Zink an der Regulation der Freisetzung netzartiger extrazellulärer Strukturen, sogenannter „Neutrophil Extracellular Traps“ (NETs) beschrieben [33].

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass ein Zinkmangel in vivo eine verminderte Adhäsion und Chemotaxis von **Monozyten** sowie eine Störung der Makrophagen-Reifung und -Aktivität induziert [24–26]. Interessanterweise führte ein experimentell induzierter Zinkmangel an humanen Monozyten zu einer erhöhten Elimination bakterieller Pathogene durch Phagozytose und oxidativen Burst sowie zu einer Hemmung der IL-6- und TNF- α -Produktion [34]. Im Gegensatz dazu zeigten Untersuchungen an der Monozyten/Makrophagen-Zelllinie HL-60, dass ein Zinkdefizit eine Stimulation der mRNA der Zytokine TNF- α , IL-1 β - und IL-8-mRNA induzieren kann [35].

Zinkmangel wirkt ebenfalls auf **NK-Zellen**. Es kommt zu einer verminderten NK-Zell-Zahl im peripheren Blut und zu einer gestörten funktionellen Aktivität von NK-Zellen. So wurden eine reduzierte Chemotaxis und eine verminderte Lyse Virus-infizierter Zellen oder Tumorzellen nachgewiesen [36, 37]. Prasad und Mitarbeiter [38] konnten zeigen, dass sowohl Tumorpatienten mit Zinkmangel als auch gesunde Personen mit einem Zinkmangel durch Ernährungsgewohnheiten sowie Gesunde mit einem experimentell-induzierten Zinkdefizit (Diät) verminderte NK-Zell-Aktivitäten aufweisen. Auch von älteren Probanden mit einem Zinkmangel ist über eine verminderte NK-Zellzahl und NK-Zell-Funktion berichtet worden [39]. Eine verminderte Anzahl **dendritischer Zellen** (u.a. Langerhans Zellen der Haut) wurde sowohl bei Patienten mit Zinkmangel als auch in einem experimentellen Maussystem nachgewiesen [40].

Abweichungen der Zinkhomöostase wirken sich im Rahmen des adaptiven oder erworbenen Immunsystems besonders stark auf die Bildung, Reifung und Funktion von **T-Zellen** aus [41]. Im Thymus erfolgt die Reifung von Thymozyten (Prä-T-Lymphozyten) zu T-Lymphozyten unter Vermittlung des Peptidhormons Thymulin. Dieses von Thymus-Epithelzellen gebildete Peptidhormon nimmt eine Schlüsselfunktion bei der T-Zell-Reifung im Thymus ein und benötigt Zink als wichtiges strukturelles Element,

um biologisch aktiv zu sein [42]. Folglich beeinflusst ein Zinkmangel negativ die T-Zellreifung im Thymus. Wie in Mausmodellen gezeigt wurde, führt Zinkmangel zu einer Thymusatrophie mit einer ca. 50%igen Verringerung der Thymozytenzahl [41, 43]. Unter diesen defizitären Bedingungen ist im Thymus auch eine erhöhte Apoptoserate nachgewiesen worden [44].

Weiterhin wurde infolge von Zinkmangel-Situationen *in vivo* eine verminderte Fähigkeit mononukleärer Zellen (MNZ) des peripheren Blutes zur Mitogen-induzierten T-Zell-Proliferation (Lymphozytentransformationstest) bzw. zur Zytokinproduktion (z.B. IL-2, IFN- γ) beobachtet. Dies konnte für Mangelbedingungen des Spurenelementes nach parenteraler Ernährung [28], bei Patienten mit Leberzirrhose [45, 46], bei Hämo- bzw. Peritonealdialysepatienten [47], bei Personen mit Down-Syndrom [30], bei Tumorpatienten und bei Probanden mit einem Zinkmangel durch Ernährungsgewohnheiten (z.B. Vegetarier) oder nach Diät [38] belegt werden.

Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass Zink auch T-Zell-Differenzierungsprozesse beeinflusst. So wiesen Kinder mit einem durch Diarrhöen verursachten Zinkmangel eine verminderte Anzahl naiver T-Zellen auf [48]. Des Weiteren ist bei einem Defizit des Biometalls die CD4⁺/CD8⁺-T-Zell-Ratio insbesondere durch eine Verminderung der Anzahl von CD4⁺ T-Zellen erniedrigt [49]. Ebenso kommt es zu einer Th1/Th2-Imbalance mit verminderter Anzahl an Th1-T-Zellen und verringerter Th1-Zytokin-Produktion (IL-2, IFN- γ , TNF- α), während die Th2-Zellen wenig beeinflusst werden [49, 50].

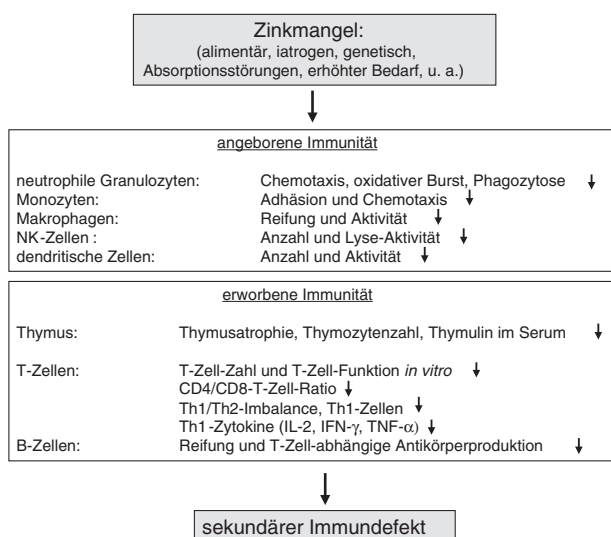


Abbildung 1: Zusammenhang zwischen einem Zinkmangel, den Funktionsstörungen des Immunsystems und dem damit vergesellschafteten sekundären Immundefekt.

Daneben führt Zinkmangel zu einer verminderten **B-Zell**-Reifung und zu einer verminderten T-Zell-abhängigen Antikörperproduktion [25].

In der Zusammenschau der Daten stellt sich dar, dass unterschiedlich verursachte Zinkmangelzustände zu Einschränkungen der Immunzellfunktionen und somit zu einem sekundären Immundefekt führen (siehe Abbildung 1). In einer Reihe klinischer Studien und tierexperimenteller Untersuchungen ist gezeigt worden, dass bei Zinkmangelzuständen eine kontrollierte Zinksubstitution zu einer Normalisierung der Zinkhomöostase des Körpers und der beschriebenen immunologischen Parameter führt (siehe auch Abschnitt „Substitution eines Zinkmangels *in vivo*“).

Einfluss von Zink auf die Funktion von Immunzellen gesunder Probanden *in vitro*

Der Einfluss von Zinkverbindungen bzw. kommerziellen Zinkpräparaten auf die Funktionen der Immunzellen gesunder Probanden ist in der Vergangenheit in unterschiedlichen Zellkultursystemen (insbesondere MNZ, isolierte Monozyten und isolierte T-Zellen) intensiv untersucht worden [1, 18–21].

Eine Präinkubation humaner Monozyten mit für diese Zellen nicht toxischen ZnCl₂-Konzentrationen (20–40 μ M) verminderte die Lipopolysaccharid (LPS)-induzierte Monozyten-Aktivierung (Adhärenz, Bildung reaktiver Sauerstoffmetabolite, IL-1 β -mRNA-Expression) [51]. Die Inkubation von MNZ des peripheren Blutes, also eines Zellgemisches aus Monozyten, T-Zellen, B-Zellen und NK-Zellen, mit ZnSO₄ allein führte hingegen zu einer erhöhten Freisetzung der Zytokine IL-1 β , IL-6, TNF- α und IFN- γ [52, 53]. In Kombination mit LPS induzierte ZnSO₄ (10–100 μ M) in MNZ ebenfalls eine erhöhte IL-1 β - und IFN- γ -Produktion [54, 55]. Der Mechanismus hierfür scheint in der Beeinflussung der Beweglichkeit der LPS-Ketten durch Zink zu liegen [56]. Eine Inkubation von MNZ mit suboptimalen LPS- und Zinkkonzentrationen stimulierte ebenfalls die IL-1 β -Freisetzung [57]. Interessanterweise üben niedrige Zinkkonzentrationen keinen stimulierenden Einfluss auf die Mitogen-stimulierte Zytokinfreisetzung humaner MNZ aus. Im Gegensatz dazu wurde bei einer Stimulation mit Superantigen eine Hemmung der Zytokinproduktion durch ZnSO₄ beobachtet [55].

Hayashi und Mitarbeiter [58] zeigten in Jurkat-Zellen, einer humanen T-Zell-Linie, eine Zink-abhängige Hemmung der IFN- γ -Produktion in Gegenwart erhöhter Zinkkonzentrationen.

Unsere Arbeitsgruppe dokumentierte, dass ZnCl_2 , ZnO oder ZnSO_4 in einem Konzentrationsbereich von 100 μM bis 200 μM die DNS-Synthese (Proliferation) und die Produktion verschiedener T-Zell-Zytokine (IL-2, IL-6, IL-10) Mitogen-stimulierter MNZ und isolierter T-Lymphozyten dosisabhängig inhibiert [22]. Prasad und Mitarbeiter [59] sowie Sprietsma [60] diskutierten erstmals eine Wirkung von Zink auf die Regulation der T-Zell-Differenzierung in Th1- und Th2-Zellen, bei der insbesondere eine Verminderung der Th1-Zellen auftritt. Campo und Mitarbeiter [61] zeigten, dass ZnSO_4 die Produktion des Th1-Zytokins $\text{IFN-}\gamma$ humaner durch Mischlymphozytenkultur stimulierter MNZ dosisabhängig hemmt. Eine biphasische Wirkung von Zink auf die $\text{IFN-}\gamma$ -Produktion humaner aktivierter T-Zellen mit maximaler Stimulation durch 3 μM und beginnender Hemmung ab 25 μM Zink wurde von Aydemir und Mitarbeiter berichtet [62].

In Mausmodellen konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass höhere Zinkkonzentrationen über eine Beeinflussung der IL-6/STAT3-Signalkaskade auch die Entwicklung von Th17-Zellen hemmen, welche eine entscheidende Rolle in der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen innehaben. Dabei inhibierten präventive Zinkgaben mittels direkter STAT3-Bindung die Reifung von naiven CD4^+ -T-Zellen zu Th17-Zellen. Dieses führte zum Verlust der α -helikalen Struktur und Entfaltung von STAT3 mit einhergehendem Aktivitätsverlust [63].

Eigene Untersuchungen zur Wirkung von Zink-Hydrogenaspartat (Zink-HA, Unizink 50), einem kommerziell verfügbaren Zink-Präparat, auf die Proliferation und Zytokinfreisetzung isolierter humaner T-Zellen belegten erstmals, dass Zink-HA in nicht zytotoxischen Konzentrationen bis 150 μM die Proliferation (DNS-Synthese) humaner anti-CD3/CD28-Antikörper- und Mitogen-stimulierter T-Zellen signifikant hemmt. Weiterhin suppressierte Zink-HA dosisabhängig die Produktion verschiedener Th1- (IL-2, $\text{IFN-}\gamma$, $\text{TNF-}\alpha$), Th2- (IL-5) und Th17-Zytokine (IL-17, GM-CSF). Diese Ergebnisse konnten an anti-CD3-Antikörper- bzw. Mitogen-stimulierten Maus-Splenozyten bestätigt werden [64, 65].

Wir beobachteten darüber hinaus, dass je nach Zellsystem sehr hohe Zink-Konzentrationen (200–500 μM) zytotoxisch für Pokeweed Mitogen (PWM)-stimulierte humane MNZ und T-Zellen sind [22, 64, 65]. Andere Autoren berichteten ebenfalls über den toxischen Einfluss hoher Zinkkonzentrationen auf Lymphozyten und Monozyten in vitro [66].

Eine mögliche Erklärung für die teilweise gegensätzlichen Effekte auf MNZ, Monozyten und T-Zellen könnte eine konzentrationsabhängige Zinkwirkung auf verschiedene Signalwege dieser Zellen und damit u.a. auf die Zytokinproduktion sein [20].

Somit kann es bei unterschiedlichen Stimulationen (LPS, Mitogene, Antikörper) zu stimulierenden und inhibierenden Effekten kommen. Die Verwendung unterschiedlicher Zinkverbindungen (ZnO , ZnCl_2 , ZnSO_4 , Zink-HA) scheint dabei keinen Einfluss zu haben.

Bei der Betrachtung dieser Ergebnisse sollte beachtet werden, dass die jeweiligen Zellkultur-Systeme und insbesondere die verwendeten Zellkulturmedien einen entscheidenden Einfluss auf die Konzentrationen der „freien Zink-Ionen“ haben, welche auf die Immunzellen wirken und die jeweiligen beobachteten Effekte induzieren. Haase und Mitarbeiter wiesen kürzlich nach, dass Bestandteile von Zellkulturmedien, wie Albumin oder humanes bzw. Kälberserum, erheblich die Wirkung von Zinkverbindungen in Zellkulturexperimenten beeinflussen [67].

Zinkstatus in Patienten mit Autoimmunerkrankungen

Die Quantifizierung von Zink-Konzentration im Serum, Vollblut, Plasma (Lithium-Heparinat) oder 24 h-Sammelurin sollte in dafür ausgewiesenen klinisch-chemischen Laboratorien und mittels Flammen-Atomabsorptionsspektroskopie, Plasma-Emmissionsspektroskopie oder direkter elektrothermaler Atomabsorptionsspektroskopie durchgeführt werden. Photometrische Methoden eignen sich nur ungenügend als Bestimmungsmethode. [68, 69].

Zur Blutentnahme sollten metallfreie Abnahmesysteme eingesetzt werden. Hämolyse und die damit verbundene Freisetzung von Zink aus Erythrozyten durch z.B. zu starke Stauung oder Aspiration bei der Blutentnahme, ist strengstens zu vermeiden. Da die Zink-Konzentration im Blut nach einer Nahrungsaufnahme abnimmt, sollte die Blutentnahme am nüchternen Patienten erfolgen.

Der Referenzbereich beträgt für Erwachsene im Serum 9–18 $\mu\text{mol/L}$ und im Plasma für Frauen 9–22 $\mu\text{mol/L}$ und für Männer 12–26 $\mu\text{mol/L}$ [1, 68].

In den letzten Jahren wurde von verschiedenen Arbeitsgruppen versucht, mittels Analyse der Zinkkonzentrationen in Zellen (vor allem in Erythrozyten, Leukozyten, Lymphozyten) geeignetere Parameter für belastbare Aussagen über den menschlichen „Zinkstatus“ zu finden. Leider waren diese Anstrengungen bisher nicht erfolgreich. Auch Versuche, von der Expression einzelner Zinktransporter-Proteine auf den „Zinkstatus“ eines Patienten zu schließen, brachten bisher nicht den gewünschten Erfolg [1, 69].

Aufgrund des äußerst geringen Anteils des Gesamt-Zink-Gehalts eines Menschen im Serum bzw. Plasma (nur

ca. 0,1%), ist die Aussagekraft einer Analyse von Serum bzw. Plasma-Zink-Konzentrationen nach wie vor ein Kritik- bzw. Diskussionspunkt. Dennoch wird das Serumzink derzeit als der beste biochemische Indikator des „Zinkstatus“ angesehen [70].

So konnte neben den bereits oben aufgeführten alimentären, iatrogenen und genetisch bedingten Zinkmangel-Zuständen bei einer Reihe chronischer Erkrankungen wie z.B. bei verschiedenen Autoimmunerkrankungen eindeutig verminderte Zink-Serum- bzw. -Plasma-Konzentrationen nachgewiesen werden [1, 25].

Autoimmunerkrankungen betreffen ca. 5–7% der Bevölkerung und stehen damit, was die Häufigkeit anbelangt, nach Herz-Kreislauf- und Tumorerkrankungen an dritter Stelle. Neben einer genetischen Prädisposition, verschiedenen Umwelteinflüssen und physischem bzw. psychischem Stress scheinen weitere Faktoren wie Hormonstatus, das Alter und der Immunstatus eine entscheidende Rolle bei der Entstehung von Autoimmunerkrankungen zu spielen.

Zu den häufigsten Autoimmunerkrankungen zählen neben den autoimmunen Schilddrüsenerkrankungen, die Rheumatoide Arthritis (RA), die Zöliakie, der Diabetes mellitus Typ I, der Systemische Lupus Erythematoses (SLE) sowie autoimmune Erkrankungen der Leber und die Multiple Sklerose (MS).

Von verschiedenen Autoren sind bei Patienten mit RA verminderte Zinkkonzentrationen im Serum bzw. Plasma im Vergleich zu gesunden Probanden nachgewiesen worden [71–75]. Yazar und Mitarbeiter [76] hingegen fanden keine Unterschiede in den Zink-Plasmakonzentrationen von Patienten mit RA. Auch Patienten mit Zöliakie [77–80], Diabetes mellitus Typ I [81, 82], SLE [83, 84], autoimmuner Hepatitis [85, 86], Primär Biliärer Zirrhose [87, 88] und Pemphigus vulgaris [89] wiesen erniedrigte Serum-Zink-Konzentrationen auf.

Verschiedene Autoren beschrieben erniedrigte Zink-Konzentrationen im Plasma [90–92] oder im Serum [93] von MS-Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden. Diese Befunde stehen im Gegensatz zu Beobachtungen von Dore-Duffy und Mitarbeitern [94], welche über leicht erhöhte Plasma-Zink-Werte in einer Studie an 68 MS-Patienten im Vergleich zu einem gesunden Kontrollkollektiv berichteten. Kürzlich analysierten Ghazavi und Mitarbeiter [95] die Zink-Konzentrationen im Serum von 60 MS-Patienten. Sie fanden ebenfalls signifikant verminderte Zink-Werte in den Seren der Patienten im Vergleich zu denen einer entsprechenden Kontrollgruppe.

Abschließend lässt sich feststellen, dass trotz der bestehenden Probleme bezüglich der Analytik/Diagnostik eines Zinkdefizits bei einer Vielzahl von

Autoimmunerkrankungen eine eindeutige Reduktion der Serum- bzw. Plasma-Zink-Spiegel nachweisbar ist. Diese Ergebnisse weisen auf eine potentielle regulatorische Rolle von Zink in der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen hin. Eine immunsuppressive Zinktherapie könnte möglicherweise einen neuen therapeutischen Ansatzpunkt für derartige Erkrankungen darstellen (siehe auch Abschnitt „Immunsuppressive Zinktherapie bei Autoimmunerkrankungen in vivo“).

Substitution eines Zinkmangels in vivo

Bei einem Auftreten klinischer Zinkmangelsymptome sollte eine Bestimmung der Serum- bzw. Plasmakonzentrationen des Spurenelementes erfolgen. Eine Zinksubstitution ist prinzipiell bei allen Formen eines laborchemisch nachgewiesenen Zinkmangels indiziert. Diese Therapie sollte stets unter Kontrolle des „Serumzinks“ in 6- bis 8-wöchigen Intervallen erfolgen [96].

Eine Zinksubstitution ist unbedingt indiziert bei Patienten mit einer Acrodermatitis enteropathica. Diese Erkrankung basiert auf einer Gen-Mutation, welche für den intestinalen Zink-Importeur ZIP 4 codiert. Dies führt zu einem schweren Zinkmangel-Syndrom, dessen immunologische Kardinalsymptome durch Thymusatrophie, quantitative und funktionelle Minderung von Lymphozyten sowie erhöhte Infektanfälligkeit gekennzeichnet sind. Moynahan beschrieb bereits 1974 [97], dass eine Zinksubstitution bei Patienten mit einer Acrodermatitis enteropathica lebensrettend ist.

In der Inneren Medizin sind chronische Leber- und Darmerkrankungen sowie die parenterale Ernährung die Hauptindikationen zur Zinksubstitution. So weisen 70–75% der Patienten mit einer dekompensierten Leberzirrhose einen mehr oder weniger ausgeprägten Zinkmangel auf. In verschiedenen Studien konnte bei diesen Patienten nach kontrollierter Zinksubstitution eine Verbesserung der Leberfunktionen, des Ernährungsstatus, der hepatischen Enzephalopathie, eine Abnahme von Aszites sowie die Verbesserung der immunologischen Parameter nachgewiesen werden [20, 96, 98–101].

Eine für den Einzelfall zuverlässige Dosierungsangabe eines Zinkpräparates ist pauschal kaum möglich. Von Kästner [102] wird für die optimale Zinktherapie bei der Acrodermatitis enteropathica die 10-fache Dosis des normalen täglichen Zinkbedarfs in der Nahrung (Erwachsene bis 10 mg pro Tag) in Form eines Zinksalzes empfohlen. Nach Prasad [103] sind orale Zinkdosen bis 45 mg von

elementarem Zink pro Tag als nicht toxisch anzusehen. Verschiedene Autoren wiesen darauf hin, dass bei einer Gabe sehr hoher Zinkdosen (100–300 mg Zink pro Tag) Störungen der Immunfunktionen zu beobachten sind [16, 104, 105]. Unsere Arbeitsgruppe beschrieb, dass Zinkkonzentrationen höher als 500 μmol (in etwa äquivalent einer täglichen Dosis von 45 mg elementarem Zink) toxische Wirkungen auf Immunzellen mit Hemmung der DNS-Synthese und der Zytokin-Produktion induzieren [22].

Insgesamt konnte in klinischen und tierexperimentellen Untersuchungen gezeigt werden, dass bei Zinkmangelzuständen eine kontrollierte Zinksubstitution zu einer Normalisierung der Zinkhomöostase des Körpers und der immunologischen Parameter führt (siehe Abbildung 2) [25].

Immunsuppressive Zinktherapie bei Autoimmunerkrankungen in vivo

In den letzten Jahren wird auch der Einsatz einer **immunsuppressiven Zinktherapie** bei insbesondere T-Zell-vermittelten Autoimmunerkrankungen und Transplantatabstoßungsreaktionen in Betracht gezogen [16, 64, 65, 106]. Diese weitere Form der kontrollierten Zink-Therapie ist im rechten Abschnitt der Abbildung 2 dargestellt.

Es muss an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass bisher für keine Autoimmunerkrankung eine immunsuppressive Hochdosis-Zinktherapie in klinischer Anwendung am Patienten etabliert worden ist.

Arbeiten der letzten Jahre belegten die immunsuppressive Wirkung von Zink in verschiedenen autoimmunen

Tiermodellen. Tran und Mitarbeiter [107] sowie die Arbeitsgruppe von Ohkawara [108] beschrieben einen therapeutischen Effekt von Zinkverbindungen bei der experimentellen Dextran-Sulfat-Natrium (DSS)-induzierten Kolitis.

Kitabayashi und Mitarbeiter [63] wiesen eine präventive Wirkung von Zink in der Kollagen-induzierten Arthritis nach.

Im Tiermodell der Multiplen Sklerose, der Experimentellen Autoimmunen Enzephalomyelitis (EAE), wurde von der Arbeitsgruppe um Penkowa [109] und von Kitabayashi und Mitarbeitern [63] ein präventiver Effekt auf den Schweregrad der Erkrankung gezeigt. Unsere Arbeitsgruppe dokumentierte zudem, dass Zink-HA (Unizink), ein kommerziell erhältliches Zinkpräparat mit ausgezeichneter Bioverfügbarkeit, in der Lage ist, präventiv und therapeutisch sowohl durch intraperitoneale als auch orale Gabe die klinischen Symptome einer aktiven EAE an SJL/J-Mäusen signifikant zu reduzieren [64, 65]. Bei derartigen T-Zell-vermittelten Autoimmunerkrankungen könnten somit aktivierte autoreaktive T-Zellen die Zielstruktur einer **immunsuppressiven Zinktherapie** darstellen. Diese Form der Therapie sollte ebenfalls unter einer engmaschigen Kontrolle des „Serumzink-Spiegels“ erfolgen.

Ausblick

Insgesamt kann festgestellt werden, dass Zink ein bedeutendes Spurenelement für die Homöostase des Immunsystems ist. Eine Vielzahl klinischer Symptome ist mit einem Mangel dieses Biometalls assoziiert. Aktuell wird

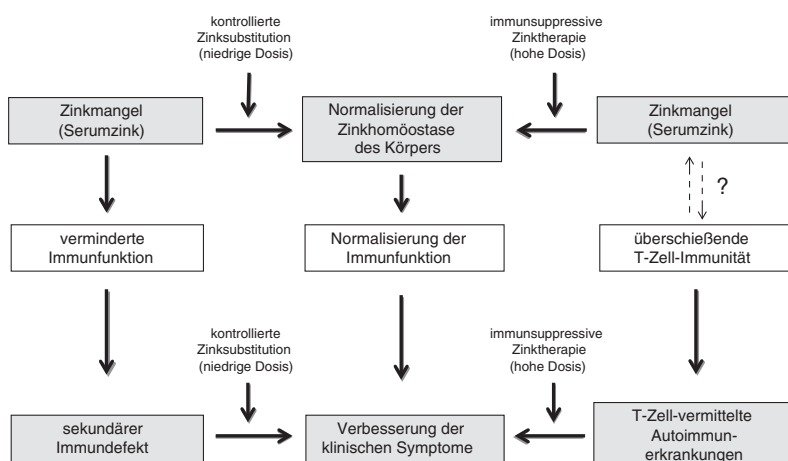


Abbildung 2: Darstellung der Zusammenhänge zwischen einem Zinkmangel und einem sekundären Immundefekt mit kontrollierter Zinksubstitution sowie von einer T-Zell-vermittelten Autoimmunerkrankung mit vorhandenem Zinkmangel und kontrollierter, immunsuppressiver Zink-Therapie.

die Aussagekraft einer Analyse des Serum- bzw. Plasma-Zink-Spiegels hierbei als nicht optimal eingeschätzt. Aus diesem Grund sind weitere Untersuchungen nötig, um standardisierte Aussagen über den „Zinkstatus“ einer Person treffen zu können.

Weiterhin gilt es zu prüfen, inwiefern das Anwendungsspektrum einer kontrollierten Zinksubstitution erweitert werden kann. Zudem sollte in zukünftigen klinischen Studien bei T-Zell-vermittelten Autoimmunerkrankungen wie der MS der mögliche Einsatz einer kontrollierten immunsuppressiven Zinktherapie untersucht werden.

Interessenkonflikt: Die Autoren erklären, dass keine wirtschaftlichen oder persönlichen Interessenskonflikte bestehen.

Literatur

- Rink L. Why investigate zinc? In: Rink L, editor. Zinc in human health. Amsterdam: IOS Press, 2011:3–6.
- Grüngreiff K, Reinhold D, editors. Zink: Bedeutung in der täglichen Praxis. 1. Auflage, Hessdorf-Klebheim: J Hartmann-Verlag, 2008:96.
- Grüngreiff K, editor. Zink und Leber. 7. Auflage, Freiburg: Dr. Falk Pharma GmbH, 2012:84.
- Prasad AS. Discovery of zinc deficiency in humans and its impact fifty years later. In: Rink L, editor. Zinc in Human Health. Amsterdam: IOS Press, 2011:7–28.
- Chasapis CT, Loutsidou AC, Spiliopoulou CA, Stefanidou ME. Zinc and human health: an update. Arch Toxicol 2012;86:521–34.
- Beyersmann D, Haase H. Functions of zinc in signaling, proliferation and differentiation of mammalian cells. BioMetals 2001;14:331–41.
- Haase H, Rink L. Functional significance of zinc-related signaling pathways in immune cells. Annu Rev Nutr 2009;29:133–52.
- Yamasaki S, Sakata-Sogawa K, Hasegawa A, Suzuki T, Kabu K, Sato E, et al. Zinc is a novel intracellular second messenger. J Cell Biol 2007;177:637–45.
- Prasad AS. Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2009;12:646–52.
- Maret W. Human zinc biochemistry. In: Rink L, editor. Zinc in Human Health. Amsterdam: IOS Press, 2011:45–62.
- Huber KL, Hardy JA. Mechanism of zinc-mediated inhibition of caspase-9. Protein Sci 2012;21:1056–65.
- Maret W. Zinc and Human Disease. Met Ions Life Sci 2013;13:389–414.
- Cousins RJ, Lichten LA. Zinc transporters. In: Rink L, editor. Zinc in Human Health. Amsterdam: IOS Press, 2011:136–162.
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V., Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr Umschau Buchverlag, 2013.
- World Health report 2002 – Reducing Risks, Promoting Healthy Life. Geneva: WHO, 2002:1–250.
- Prasad AS. Zinc in growth and development and spectrum of human zinc deficiency. J Am Coll Nutr 1988;7:377–84.
- Yakoob MY, Theodoratou E, Jabeen A, Imdad A, Eisele TP, Ferguson J, et al. Preventive zinc supplementation in developing countries: impact on mortality and morbidity due to diarrhea, pneumonia and malaria. BMC Public Health 2011;11:S23.
- Wellinghausen N, Kirchner H, Rink L. The immunobiology of zinc. Immunol Today 1997;18:519–21.
- Rink L, Haase H. Zinc homeostasis and immunity. Trends Immunol 2007;28:1–4.
- Haase H, Rink L. Zinc signals and immune function. Biofactors 2014;40:27–40.
- Haase H, Rink L. Multiple impacts of zinc on immune function. Metallomics 2014;6:1175–80.
- Reinhold D, Ansorge S, Grüngreiff K. Zinc regulates DNA synthesis an IL-2, IL-6, and IL-10 production of PWM-stimulated PBMC and normalizes the periphery cytokine concentration in chronic liver disease. J Trace Elem Exp Med 1997;10:19–27.
- Maywald M, Rink L. Zinc homeostasis and immunosenescence. J Trace Elem Med Biol 2015;29:24–30.
- Guilbert JJ. The world health report 2002 – reducing risks, promoting healthy life. Educ Health (Abingdon) 2003;16:230.
- Bonaventura P, Benedetti G, Albarède F, Miossec P. Zinc and its role in immunity and inflammation. Autoimmun Rev 2014;14:280–8.
- Shankar AH, Prasad AS. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. Am J Clin Nutr 1998;68:447S–63S.
- Ibs KH, Rink L. Zinc-altered immune function. J Nutr 2003;133:1452S–6S.
- Fan PC, Teng RJ, Chou CC, Wu TJ, Tsou Yau KI, Hsieh KH. Impaired immune function in a premature infant with zinc deficiency after total parenteral nutrition. Acta Paediatr Sin 1996;37:364–9.
- Licastro F, Chiricolo M, Mocchegiani E, Fabris N, Zannoni M, Beltrandi E, et al. Oral zinc supplementation in Down's syndrome subjects decreased infections and normalized some humoral and cellular immune parameters. J Intellect Disabil Res 1994;38:149–62.
- Stabile A, Pesaresi MA, Stabile AM, Pastore M, Sopo SM, Ricci R, et al. Immunodeficiency and plasma zinc levels in children with Down's syndrome: a long-term follow-up of oral zinc supplementation. Clin Immunol Immunopathol 1991;58:207–16.
- Hasegawa H, Suzuki K, Suzuki K, Nakaji S, Sugawara K. Effects of zinc on the reactive oxygen species generating capacity of human neutrophils and on the serum opsonic activity in vitro. Luminescence 2000;15:321–7.
- DeCoursey TE, Morgan D, Cherny VV. The voltage dependence of NADPH oxidase reveals why phagocytes need proton channels. Nature 2003;422:531–4.
- Hasan R, Rink L, Haase H. Zinc signals in neutrophil granulocytes are required for the formation of neutrophil extracellular traps. Innate Immun 2013;19:253–64.
- Mayer LS, Uciechowski P, Meyer S, Schwerdtle T, Rink L, Haase H. Differential impact of zinc deficiency on phagocytosis, oxidative burst, and production of pro-inflammatory cytokines by human monocytes. Metallomics 2014;6:1288–95.
- Bao B, Prasad AS, Beck FW, Godmere M. Zinc modulates mRNA levels of cytokines. Am J Physiol Endocrinol Metab 2003;285:E1095–102.
- Rajagopalan S, Winter CC, Wagtmann N, Long EO. The Ig-related killer cell inhibitory receptor binds zinc and requires zinc for recognition of HLA-C on target cells. J Immunol 1995;155:4143–6.

37. Rajagopalan S, Long EO. Zinc bound to the killer cell-inhibitory receptor modulates the negative signal in human NK cells. *J Immunol* 1998;161:1299–305.
38. Prasad AS, Beck FW, Grabowski SM, Kaplan J, Mathog RH. Zinc deficiency: changes in cytokine production and T-cell subpopulations in patients with head and neck cancer and in noncancer subjects. *Proc Assoc Am Physicians* 1997;109:68–77.
39. Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Bastagli L, Facchini A, Mariani E, et al. Effect of micronutrient status on natural killer cell immune function in healthy free-living subjects aged ≥ 90 y. *Am J Clin Nutr* 2000;71:590–8.
40. Kawamura T, Ogawa Y, Nakamura Y, Nakamizo S, Ohta Y, Nakano H, et al. Severe dermatitis with loss of epidermal Langerhans cells in human and mouse zinc deficiency. *J Clin Invest* 2012;122:722–32.
41. Fraker PJ, King LE. Reprogramming of the immune system during zinc deficiency. *Annu Rev Nutr* 2004;24:277–98.
42. Sherman AR. Zinc, copper, and iron nutrition and immunity. *J Nutr* 1992;122:604–9.
43. King LE, Frentzel JW, Mann JJ, Fraker PJ. Chronic zinc deficiency in mice disrupted T cell lymphopoiesis and erythropoiesis while B cell lymphopoiesis and myelopoiesis were maintained. *J Am Coll Nutr* 2005;24:494–502.
44. Fraker PJ. Roles for cell death in zinc deficiency. *J Nutr* 2005;135:359–62.
45. Bădulici S, Chirulescu Z, Chirila P, Chirila M, Roșca A. Treatment with zincum metallicum CH5 in patients with liver cirrhosis. Preliminary study. *Rom J Intern Med* 1994;32:215–9.
46. Vega Robledo GB, Guinzberg AL, Ramos García C, Ortiz Ortiz L. Patients with hepatic cirrhosis: altered lymphocyte response to mitogens and its relation with plasmatic zinc, albumin and transferrin. *Arch Med Res* 1994;25:5–9.
47. Shu KH, Lu YS, Chen CH, Chen DC, Lee SH, Lian JD. Lymphocyte proliferation in uremic patients: correlation with zinc status. *J Formos Med Assoc* 1993;92:1017–20.
48. Sheikh A, Shamsuzzaman S, Ahmad SM, Nasrin D, Nahar S, Alam MM, et al. Zinc influences innate immune responses in children with enterotoxigenic *Escherichia coli*-induced diarrhea. *J Nutr* 2010;140:1049–56.
49. Beck FW, Prasad AS, Kaplan J, Fitzgerald JT, Brewer GJ. Changes in cytokine production and T cell subpopulations in experimentally induced zinc-deficient humans. *Am J Physiol* 1997;272:E1002–7.
50. Prasad AS. Effects of zinc deficiency on Th1 and Th2 cytokine shifts. *J Infect Dis* 2000;182:S62–8.
51. Koropatnick J, Zalups RK. Effect of non-toxic mercury, zinc or cadmium pretreatment on the capacity of human monocytes to undergo lipopolysaccharide-induced activation. *Br J Pharmacol* 1997;120:797–806.
52. Driessen C, Hirv K, Rink L, Kirchner H. Induction of cytokines by zinc ions in human peripheral blood mononuclear cells and separated monocytes. *Lymphokine Cytokine Res* 1994;13:15–20.
53. Wellinghausen N, Driessen C, Rink L. Stimulation of human peripheral blood mononuclear cells by zinc and related cations. *Cytokine* 1996;8:767–71.
54. Wellinghausen N, Schromm AB, Seydel U, Brandenburg K, Luhm J, Kirchner H, et al. Zinc enhances lipopolysaccharide-induced monokine secretion by alteration of fluidity state of lipopolysaccharide. *J Immunol* 1996;157:3139–45.
55. Driessen C, Hirv K, Kirchner H, Rink L. Zinc regulates cytokine induction by superantigens and lipopolysaccharide. *Immunology* 1995;84:272–7.
56. Wellinghausen N, Fischer A, Kirchner H, Rink L. Interaction of zinc ions with human peripheral blood mononuclear cells. *Cell Immunol* 1996;171:255–61.
57. Driessen C, Hirv K, Kirchner H, Rink L. Divergent effects of zinc on different bacterial pathogenic agents. *J Infect Dis* 1995;171:486–9.
58. Hayashi K, Ishizuka S, Yokoyama C, Hatae T. Attenuation of interferon-gamma mRNA expression in activated Jurkat T cells by exogenous zinc via down-regulation of the calcium-independent PKC-AP-1 signaling pathway. *Life Sci* 2008;83:6–11.
59. Prasad AS. Zinc and immunity. *Mol Cell Biochem* 1998;188:63–9.
60. Sprietsma JE. Zinc-controlled Th1/Th2 switch significantly determines development of diseases. *Med Hypotheses* 1997;49:1–14.
61. Campo CA, Wellinghausen N, Faber C, Fischer A, Rink L. Zinc inhibits the mixed lymphocyte culture. *Biol Trace Elem Res* 2001;79:15–22.
62. Aydemir TB, Blanchard RK, Cousins RJ. Zinc supplementation of young men alters metallothionein, zinc transporter, and cytokine gene expression in leukocyte populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:1699–704.
63. Kitabayashi C, Fukada T, Kanamoto M, Ohashi W, Hojyo S, Atsumi T, et al. Zinc suppresses Th17 development via inhibition of STAT3 activation. *Int Immunol* 2010;22:375–86.
64. Stoye D, Schubert C, Goihl A, Guttek K, Reinhold A, Brocke S, et al. Zinc aspartate suppresses T cell activation in vitro and relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis in SJL/J mice. *Biometals* 2012;25:529–39.
65. Schubert C, Guttek K, Grüngreif K, Thielitz A, Bühlhling F, Reinhold A, et al. Oral zinc aspartate treats experimental autoimmune encephalomyelitis. *Biometals* 2014;27:1249–62.
66. Steffensen IL, Mesna OJ, Andruchow E, Namork E, Hylland K, Andersen RA. Cytotoxicity and accumulation of Hg, Ag, Cd, Cu, Pb and Zn in human peripheral T and B lymphocytes and monocytes in vitro. *Gen Pharmacol* 1994;25:1621–33.
67. Haase H, Hebel S, Engelhardt G, Rink L. The biochemical effects of extracellular Zn(2+) and other metal ions are severely affected by their speciation in cell culture media. *Metallomics* 2015;7:97–106.
68. Thomas L. Labordiagnostik von Spurenelementen. In: Thomas L, editor. *Labor und Diagnose – Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik*. Frankfurt/Main: Th-Books Verlagsgesellschaft mbH, 2012:545–579.
69. Lowe NM, Fekete K, Decsi T. Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review. *Am J Clin Nutr* 2009;89:2040S–51S.
70. Krebs NF, Miller LV, Hambidge KM. Zinc deficiency in infants and children: a review of its complex and synergistic interactions. *Paed Inter Child Health* 2014;34:279–88.
71. Önal S, Nazıroğlu M, Çolak M, Bulut V, Flores-Arce MF. Effects of different medical treatments on serum copper, selenium and zinc levels in patients with rheumatoid arthritis. *Biol Trace Elem Res* 2011;142:447–55.
72. Zoli A, Altomonte L, Caricchio R, Galossi A, Mirone L, Ruffini MP, et al. Serum zinc and copper in active rheumatoid arthritis: correlation with interleukin 1 beta and tumour necrosis factor alpha. *Clin Rheumatol* 1998;17:378–82.

73. Milanino R, Frigo A, Bambara LM, Marrella M, Moretti U, Pasqualicchio M, et al. Copper and zinc status in rheumatoid arthritis: studies of plasma, erythrocytes, and urine, and their relationship to disease activity markers and pharmacological treatment. *Clin Exp Rheumatol* 1993;11:271–81.
74. Afridi HI, Kazi TG, Kazi N, Talpur FN, Shah F, Naeemullah, Arain SS, et al. Evaluation of status of arsenic, cadmium, lead and zinc levels in biological samples of normal and arthritis patients of age groups (46–60) and (61–75) years. *Clin Lab* 2013;59:143–53.
75. Afridi HI, Kazi TG, Kazi N, Shah F. Evaluation of status of zinc, copper, and iron levels in biological samples of normal and arthritis patients in age groups 46–60 and 61–75 years. *Clin Lab* 2012;58:705–17.
76. Yazar M, Sarban S, Kocyigit A, Isikan UE. Synovial fluid and plasma selenium, copper, zinc, and iron concentrations in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Biol Trace Elem Res* 2005;106:123–32.
77. Högborg L, Danielsson L, Jarleman S, Sundqvist T, Stenhammar L. Serum zinc in small children with coeliac disease. *Acta Paediatr* 2009;98:343–5.
78. Singhal N, Alam S, Sherwani R, Musarrat J. Serum zinc levels in celiac disease. *Indian Pediatr* 2008;45:319–21.
79. Henker J, Gabsch HC. Serum zinc levels in children with celiac disease. *Helv Paediatr Acta* 1985;40:47–53.
80. Jones PE, Peters TJ. Oral zinc supplements in non-responsive coeliac syndrome: effect on jejunal morphology, enterocyte production, and brush border disaccharidase activities. *Gut* 1981;22:194–8.
81. Jansen J, Rosenkranz E, Overbeck S, Warmuth S, Mocchegiani E, Giacconi R, et al. Disturbed zinc homeostasis in diabetic patients by in vitro and in vivo analysis of insulinomimetic activity of zinc. *J Nutr Biochem* 2012;23:1458–66.
82. Taylor CG. Zinc, the pancreas, and diabetes: insights from rodent studies and future directions. *Biomaterials* 2005;18:305–12.
83. Yilmaz A, Sari RA, Gundogdu M, Kose N, Dag E. Trace elements and some extracellular antioxidant proteins levels in serum of patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 2005;24:331–5.
84. Sahebari M, Abrishami-Moghaddam M, Moezzi A, Ghayour-Mobarhan M, Mirfeizi Z, Esmaily H, et al. Association between serum trace element concentrations and the disease activity of systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2014;23:793–801.
85. Pereira TC, Saron ML, Carvalho WA, Vilela MM, Hoehr NF, Hessel G. Research on zinc blood levels and nutritional status in adolescents with autoimmune hepatitis. *Arq Gastroenterol* 2011;48:62–5.
86. Goode HF, Kelleher J, Walker BE. Relation between zinc status and hepatic functional reserve in patients with liver disease. *Gut* 1990;31:694–7.
87. Himoto T, Yoneyama H, Kurokuchi K, Inukai M, Masugata H, Goda F, et al. Contribution of zinc deficiency to insulin resistance in patients with primary biliary cirrhosis. *Biol Trace Elem Res* 2011;144:133–42.
88. Sogawa K, Yamada T, Suzuki Y, Masaki T, Watanabe S, Uchida Y, et al. Elevation of ceruloplasmin activity involved in changes of hepatic metal concentration in primary biliary cirrhosis. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1994;84:367–70.
89. Yazdanpanah MJ, Ghayour-Mobarhan M, Tajji A, Javidi Z, Pezeshkpoor F, Tavallaie S, et al. Serum zinc and copper status in Iranian patients with pemphigus vulgaris. *Int J Dermatol* 2011;50:1343–6.
90. Wong EK Jr, Enomoto H, Leopold IH, Fleischer EB, Schoon DV, Fender D, et al. Plasma zinc levels in multiple sclerosis. *Metab Pediatr Ophthalmol* 1980;4:3–8.
91. Williams CM, Lines CM, McKay EC. Iron and zinc status in multiple sclerosis patients with pressure sores. *Eur J Clin Nutr* 1988;42:321–8.
92. Leopold IH (1981) United States Patent 4,255,419.
93. Palm R, Hallmans G. Zinc and copper in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1982;45:691–8.
94. Dore-Duffy P, Catalanotto F, Donaldson JO, Ostrom KM, Testa MA. Zinc in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1983;14:450–4.
95. Ghazavi A, Kianbakht S, Ghasami K, Mosayebi G. High copper and low zinc serum levels in Iranian patients with multiple sclerosis: a case control study. *Clin Lab* 2012;58:161–4.
96. Grüngreiff K, Reinhold D. Zinc and the liver. In: Rink L, editor. *Zinc in Human Health*. Amsterdam: IOS Press, 2011:473–92.
97. Moynahan EJ. Acrodermatitis enteropathica A lethal inherited human deficiency disorder. *Lancet* 1974;2:399–400.
98. Bianchi GP, Marchesini G, Brizi M. Nutritional effects of oral zinc supplementation in cirrhosis. *Nutr Res* 2000;20:1079–89.
99. Takuma Y, Nouse K, Makino Y, Hayashi M, Takahashi H. Clinical trial: oral zinc in hepatic encephalopathy. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;32:1080–90.
100. Somi MH, Rezaeifar P, Ostad Rahimi A, Moshrefi B. Effects of low dose zinc supplementation on biochemical markers in non-alcoholic cirrhosis: a randomized clinical trial. *Arch Iran Med* 2012;15:472–6.
101. Hayashi M, Ikezawa K, Ono A, Okabayashi S, Hayashi Y, Shimizu S, et al. Evaluation of the effects of combination therapy with branched-chain amino acid and zinc supplements on nitrogen metabolism in liver cirrhosis. *Hepatol Res* 2007;37:615–9.
102. Kästner H. Acrodermatitis enteropathica Danbolt-Closs. In: Zunkley H, editor. *Spurenelemente in der inneren Medizin unter besonderer Berücksichtigung von Zink*. Seeheim-Jugenheim: Innovations-Verlagsgesellschaft 1984:63–71.
103. Prasad AS. Essentiality and toxicity of zinc. *Scand J Work Environ Health* 1993;19:134–6.
104. Fosmire GJ. Zinc toxicity. *Am J Clin Nutr* 1990;51:225–7.
105. Sandström B, Cederblad A, Lindblad BS, Lonnnerdal B. Acrodermatitis enteropathica, zinc metabolism, copper status, and immune function. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1994;148:980–5.
106. Wellinghausen N, Rink L. The significance of zinc for leukocyte biology. *J Leukocyte Biol* 1998;64:571–7.
107. Tran CD, Ball JM, Sundar S, Coyle P, Howarth GS. The role of zinc and metallothionein in the dextran sulfate sodium-induced colitis mouse model. *Dig Dis Sci* 2007;52:2113–21.
108. Ohkawara T, Takeda H, Kato K, Miyashita K, Kato M, Iwanaga T, et al. Polaprezinc (N-(3-aminopropionyl)-L-histidinato zinc) ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Scand J Gastroenterol* 2005;40:1321–7.
109. Penkowa M, Hidalgo J. Treatment with metallothionein prevents demyelination and axonal damage and increases oligodendrocyte precursors and tissue repair during experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neurosci Res* 2003;72:574–86.