

## МЕСТО ПРЕПАРАТА ЦИНКА КАО ДИЈЕТЕТСКОГ СУПЛЕМЕНТА У ИНСУЛИН НЕЗАВИСНОМ ДИЈАБЕТЕС МЕЛИТУСУ

Станојевић З.<sup>1</sup>, Митић Р.<sup>1</sup>, Стевић С.<sup>1</sup>, Букумирић З.<sup>1</sup>, Бишевац Б.<sup>2</sup>, Милетић М.<sup>2</sup>, Булајић С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт за фармакологију и токсикологију, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

<sup>2</sup>Институт за физиологију, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

## PLACE OF ZINC PREPARATION AS DIETETIC SUPPLEMENT IN NON-INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS

Станојевић З.<sup>1</sup>, Митић Р.<sup>1</sup>, Стевић С.<sup>1</sup>, Букумирић З.<sup>1</sup>, Бишевац Б.<sup>2</sup>, Милетић М.<sup>2</sup>, Булајић С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Pharmacology and Toxicology, Medical Faculty Priština, Kosovska Mitrovica

<sup>2</sup>Institute of Physiology, Medical Faculty Priština, Kosovska Mitrovica

### SUMMARY

Considering its importance in cell replication and differentiation, programmed cell death, DNA transcription, function of hormones, biological membranes and immunological system, zinc probably has a major role in enabling a proper function of different tissues, organs and organic system in general. As an essential micronutrient which is directly involved in metabolism of insulin, zinc play important role in pathogenesis of diabetes mellitus and its complications. On the other hand, low zinc absorption and hyperzincuria in diabetic animals and humans have indicated that diabetics are more susceptible to zinc deficiency compared to healthy persons. Inasmuch as zinc plays an important role in synthesis, storage and secretion of insulin as well as conformational integrity of insulin in the hexameric form, zinc deficiency may adversely affect the ability of the islet  $\beta$ -cell to produce and secrete insulin. Numerous studies suggested that urinary zinc excretion was higher in diabetes mellitus, probably as result of hyperglycemia. In contribution, there are findings about correlation between urinary zinc excretion and blood glycosylated hemoglobin (HbA1c) levels in non-insulin-dependent diabetic patients. Recent experimental investigations showed that zinc supplementation inhibited NF- $\kappa$ B activation in the pancreas and decreased the expression of inducible nitric oxide synthase, a downstream target gene of NF- $\kappa$ B. The ability of zinc to modulate NF- $\kappa$ B activation in the diabetogenic pathway may be the key mechanism for zinc's protective effect and important criterion for choosing nutritional strategies for diabetes mellitus prevention.

**Key words:** Zinc, Non-insulin-dependent diabetes mellitus, Insulin, Oxidative stress.

### САЖЕТАК

Узевши у обзир значај у деоби и диференцијацији ћелија, програмираној ћелијској смрти, транскрипцији ДНК, деловању хормона, биолошких мембрана и имунолошког састава, цинк вероватно има водећу улогу у омогућавању исправног деловања различитих ткива и органа, као и организма у целини. Као есенцијални микронутријенс који је директно укључен у метаболизам инсулина, цинк има важну улогу у патогенези дијабетес мелитуса и развоју дијабетичних компликација. На другој страни, смањена апсорпција цинка и хиперцинкурија забележена у експериментално изазваном дијабетесу животиња и код болесника са дијабетесом, показује да су дијабетичари много осетљивији на дефицит цинка у односу на здраву популацију. Пошто цинк има важну улогу у синтези, складиштењу и секрецији инсулина, као и одржавању конформацијског интегритета инсулина у хексамерној форми, дефицит цинка може неповољно утицати на способност  $\beta$ -ћелија панкреаса да синтетишу и излуче инсулин. Резултати бројних студија указују на повећано излучивање цинка урином у дијабетес мелитусу, највероватније као последица хипергликемије. У прилог томе иду налази о забележеној позитивној корелацији између цинкурије и концентрације гликолизованог хемоглобина (HbA1c) у инсулин независних дијабетичара. Скорашња експериментална истраживања указују да примена суплемента цинка инхибише активацију фактора транскрипције NF- $\kappa$ B у панкреасу и смањује експресију индукцибилне азот монооксид синтазе, »down« регулацијом NF- $\kappa$ B гена. Претпоставља се да је модулација активације фактора транскрипције NF- $\kappa$ B, кључни механизам протективног деловања цинка у дијабетесу и да може бити значајан критеријум при избору дијететске стратегије у превенцији дијабетес мелитуса.

**Кључне речи:** Цинк, Инсулин независан дијабетес мелитус, Инсулин, Оксидациони стрес.

Од укупно 89 хемијских елемената који се налазе у природи, 27 су есенцијални минерали, односно елементи неопходни за изградњу ткива и одвијање биолошких функција биљака, животиња и људи.

С обзиром на њихов садржај у организму, минерали се, као есенцијални нутријенси неорганског по-

рекла, деле на макро- и микроелементе. У макроелементе спадају сви елементи који су потребни организму у количини већој од 100 mg (Na, K, Ca, P, Mg, Cl, S). Остали, чији је садржај у телу мањи од 0,01%, сматрају се микроелементима (Fe, J, Zn, F, Cu, Mn, Cr, Mo, Se), односно елементима у траговима (*trace elements*).

Последњих година, истраживања везана за микроелементе добијају све већи значај и актуелност како у науци, тако и у пракси. У том погледу посебно се истиче улога микронутријенса (цинка, хрома, бакра и селена) у спречавању микро и макроангиопатских компликација дијабета, које се налазе у основи дијабетесне нефропатије, ретинопатије, неуропатије и кардиоваскуларне болести, било као интегралних компоненти антиоксидационих ензима (супероксид дисмутазе и глутатион пероксидазе), било као кофактора ензима и хормона укључених у метаболизам глукозе и липида (1). Епидемиолошке студије подржавају налазе да смањена концентрација цинка у организму, повећава ризик од настанка кардиоваскуларних болести (2).

Интересовања за цинк, као елемента неопходног за нормалан раст и развој биљака, животиња и људи, датирају од пре неких 130 година. Raulin је први 1869. године доказао да је цинк потребан за раст гљивице *Aspergillus niger*, што је подстакло научнике на проучавање потреба и улоге цинка у организму човека. Интерес за цинк расте након открића Prasad-a и сар. 1963. године, а затим и Pories-a и Strain-a 1966. године о утицају цинка на зарастање рана, као и везе цинка са појавом хипогонадизма код дечака у неким земљама Средњег Истока. Исте године, Quarterman са сар., први указује на смањену способност панкреаса да лучи инсулин у пацова хранљених оброком дефицитарним у цинку, док Voquist са сар., две године касније, налази смањену толеранцију глукозе у хрчкова хранљених оброком дефицитарним у цинку. Ово је подстакло на даља истраживања, али и наводе да би дефицит цинка могао да има важну улогу у патогенези инсулинске резистенције присутне у инсулин независном дијабетес мелитусу.

Узевши у обзир значај у деоби и диференцијацији ћелија, програмираној ћелијској смрти, транскрипцији DNK, деловању хормона, биолошких мембрана и имунолошког састава, разградњи ванћелијских пептида, синтези и разградњи колагена и др., цинк вероватно има водећу улогу у омогућавању исправног деловања различитих ткива и органа, као и организма у целини. Данас је познато више од 300 металоензима и преко 500 протеина регулатора гена за чије деловање је неопходно присуство цинка. Учествујући у специфичним ензимским реакцијама, цинк олакшава искоришћавање аминокиселина и фосфора и уградњу тимидина у DNK и уридина у RNK, односно неопходан је за активност DNK и RNK полимеразе. Позната је и есенцијална улога цинка у транскрипцији полинуклеотида, а самим тим и у процесу генетске експресије. Цинк је потребан за деловање металотионеина јетре који имају улогу у уклањању токсичних метала из организма (као што је бакар) и спречавању ослобађања реактивних кисеоничних врста (3). Својим антиоксидационим својствима и стабилизацијом мембрана цинк штити од дестабилизујућих агенаса, првенствено полиненасићених масних киселина и инфламаторних цитокина, што указује на антиатерогени потенцијал цинка у превенцији метаболичких поремећаја (4). Релативно новија истраживања указују и на синергистичко дејство цинка са есенцијалним масним киселинама и простагландинима у регулацији секреције инсулина и метаболизма глукозе (5).

Као есенцијални микронутријенс који је директно укључен у метаболизам инсулина, цинк има важну улогу у патогенези дијабетес мелитуса и развоју дијабетичних компликација. На другој страни, смањена апсорпција цинка и хиперцинкурија забележена у експериментално изазваном дијабетесу животиња и код болесника са дијабетесом, указује да су дијабетичари много осетљивији на дефицит цинка у односу на здраву популацију.

Концепција о улози цинка у метаболизму инсулина је старијег датума, и заснована је на експерименталним открићима. У том погледу значајни су налази Coulston и сар. 1980. године који први указују на инсулиномиметску активност цинкових јона у изолованим адипоцитима пацова, а затим и Гомота и сар. 1992. године о смањењу броја инсулинских рецептора у адипоцитима пацова хранљених оброком дефицитарним у цинку. Везивањем за хормоне пептидне природе цинк ствара активну просторну конфигурацију, а модификовањем облика рецептора на површини ћелијских мембрана или у једру ћелије обезбеђује и биолошку активност хормона. Данас је познато да цинк, као кофактор ензима у метаболизму хормона, има важну улогу у синтези, складиштењу и секрецији инсулина, као и одржавању конформацијског интегритета инсулина у хексамерној форми. Дефицит цинка несумњиво неповољно утиче на способност β-ћелија панкреаса да синтетичу и излуче инсулин, што је и документовано бројним студијама (6,7).

Хомеостаза цинка у организму регулисана је процесима апсорпције и елиминације. Након ресорпције из дуоденума и јејунума, цинк се прво везује за површину мембрана, а затим полако пролази кроз мембране, вероватно везан за лиганд-цистеин богати протеин (CR IP-cystein rich intestinal protein) који омогућава трансцелуларни транспорт. У облику комплекса с протеинима, цинк се налази у ћелијама готово свих органа, највише у простати, затим јетри, бубрегу, слезини, панкреасу, плућима, мишићима, срцу. У крвној плазми цинк се везује за албумине, трансферин, α<sub>2</sub>-макроглобулин и α<sub>2</sub>-гликопротеин. Из организма се већим делом излучује фећесом (90%), мањим делом урином (2-10%) (8).

Болесници са дијабетес мелитусом, независно од типа, излучују велике количине цинка урином, понекад и преко 1000 μg/24 h, у поређењу са здравим добровољцима (300-600 μg/24 h). Иако је доста рађено на расветљавању узрока настанка хиперцинкурије у дијабетесу, ова појава још увек није разјашњена. У прилог хипотези да хиперцинкурија настаје као резултат хипергликемије, иду резултати неколико клиничких студија, у којима је забележена позитивна корелација између цинкурије и концентрације гликолизованог хемоглобина (HbA<sub>1c</sub>) у крви инсулин независних дијабетичара (9). Новија истраживања о улози инсулина као физиолошког инхибитора цинкурије, искључују могућу повезаност хиперцинкурије са ефектима инсулина на реналне тубуле (10). Потврда томе су и налази Nonnogat-a и сар. (1992), да примена препарата инсулина може да редукује хиперцинкурију, док орални антидијабетици не испољавају ефекте, у смислу смањења повећаног излучивања цинка урином, присутним у инсулин независном дијабетес мелитусу.

Смањена апсорпција цинка у дијабетесу доводи се у везу са повећаном продукцијом металотионеина, интрацелуларног катјон везујућег протеина, тј. инхибитора трансцелуларног транспорта цинка (11).

Примена препарата цинка, као дијететског суплемента, показала се као веома корисна код експериментално изазваног дијабетеса животиња и у болесника са инсулин независним дијабетес мелитусом. Simon са сар. (2001) упоређује ефекте исхране дефицитарне у цинку и примене суплемената цинка код дијабетичних мишева током шест недеља. Група дијабетичних мишева која је добијала цинк показала је сигнификантно ниже вредности гликемије напште у односу на групу дијабетичних мишева храњених оброком дефицитарним у цинку, као и ниже вредности инсулина у крви у односу на контролну групу (12). Налази Sharafetdinov-а и сар. (2004) указују на повољне ефекте цинк-спирулине (7,5 mg цинка/дан), на постпрандијалну гликемију, и серумску концентрацију холестерола и триглицерида у болесника са инсулин независним дијабетес мелитусом (13). Новија истраживања Rep-а и сар. (2006) показала су да примена цинка у кунића (1g/kg) подвргнутих атерогеној дијети (1% холестерол) током осам недеља, сигнификантно смањује величину атероматозног плака, у односу на групу која је подвргнута само атерогеној дијети. Концентрација цинка у атероматозном плаку била је слична у обе групе, међутим, концентрација гвожђа била је значајно повећана у атероматозном плаку кунића подвргнутих само атерогеној дијети. Ови налази подржавају концепт да цинк своје антиатерогене ефекте можда остварује смањивањем нивоа гвожђа у лезији, што вероватно води инхибицији гвожђем-катализујућих реакција реактивних кисеоничних врста (14). У том погледу значајни су и резултати Hernandez-а и сар. (2006), који испитују ефекте цинка на липидни статус у инсулин независних дијабетичара подвргнутих стандардној терапији глибенкламидом (5 mg/12h). Примењен у дози од 100 mg, током 12 месеци, цинк је испољио значајне ефекте, у смислу смањења концентрације холестерола и триглицерида, и повећања HDL холестерола, у пацијената са инсулин независним дијабетес мелитусом (15).

Према америчком Комитету за храну и лекове (Food and Drug Administration, FDA), препоручена дневна доза цинка за одрасле мушкарце износи 15 mg, а у дијабетесу може бити повећана на 50 mg. Истраживања спроведена у SAD, показала су да уобичајена исхрана Американаца обезбеђује нешто више од половине препоручене дневне количине, односно око 8,5 mg цинка.

Иако је, у већини, студија подношљивост препарата цинка у дози до 30 mg/дан била веома добра, издваја се студија Candan-а и сар. (2001) који су испитивали ефекте *vitamina C* (250 mg/дан) и цинка (20 mg/дан) на осмотску фрагилност еритроцита и показатеље инхибиције липидне пероксидације, у цинк-дефицитарних пацијената на хемодијализи. Иако је ефикасност *vitamina C* и цинка била подједнака, током три месеца терапије, забележена су нежељена дејства (мука, повраћање, слабост, бол у мишићима) у болесника који су добијали препарате цинка (16).

Поред чињенице да је оксидациони стрес пратећи феномен у развоју компликација у дијабету, он се

сматра и непосредним фактором ризика за настанак дијабетес мелитуса. Недавно је доказано да апоптоза бета-ћелија панкреаса покренута цитокинима макрофага (IL-1b, IFN-g и TNF-a) настаје као последица »up« или »down« регулације различитих гена одговорних за: смањену продукцију ATP-а, деструкцију DNK и пад концентрације NAD<sup>+</sup>, пораст концентрације индуцибилне азот моноксид синтазе и активацију фактора транскрипције NF-kB (17).

Подаци који доводе у везу оксидациони стрес и развој инсулин независног дијабетес мелитуса, односе се на могуће узроке настанка инсулинске резистенције у условима повећане продукције реактивних кисеоничних врста (ROS), што резултује смањеном осетљивошћу периферних ткива, пре свега масног и мишићног ткива, на деловање инсулина. У *in vitro* експериментима показано је да индукцијом оксидационог стреса различитим системима који генеришу ROS долази до смањења активације инсулинских рецептора, посебно  $\beta$ -субјединице која поседује тирозин киназну активност тј. до смањења интернализације инсулина, као и смањене ауто-фосфорилације инсулинских рецептора, при чему је капацитет везивања инсулина за рецепторе био очуван. Изгледа да фосфорилација серинских резидуа  $\beta$ -субјединице инсулинских рецептора од стране активираних протеин киназа Ц спречава њихову аутофосфорилацију. Генетска експресија трансмембранских протеина (GLUT-1 до GLUT-5) који омогућавају олакшану дифузију глукозе у ткива може бити модификована оксидационим стресом, што представља један од разлога за инсулинску резистенцију током развоја инсулин независног дијабетес мелитуса. Механизам ове модификације је сложен и непознат до детаља, али зависи од интензитета и трајања оксидационог »инсулта«. Смањена концентрација iRNK за GLUT-4 (протеин присутан у масном ткиву и мишићима) резултат је оксидационе модификације нуклеарних протеина који тако измењени поседују смањен афинитет за IRE (insulin responsive element) присутан у промотеру GLUT-4 гена (18).

Скорашње експерименталне студије указују да примена суплемента цинка инхибише активацију фактора транскрипције NF-kB у панкреасу и смањује експресију индуцибилне азот моноксид синтазе, »down« регулацијом NF-kB гена (19). Претпоставља се да је модулација активације фактора транскрипције NF-kB, кључни механизам протективног деловања цинка у дијабетесу и да може бити значајан критеријум при избору дијететске стратегије у превенцији дијабетес мелитуса. У прилог томе иду и налази о улози цинка у модулацији активације инсулинских рецептора, који поседују тирозин киназну активност, у скелетним мишићима мишева код којих је експериментално изаван дијабетес (20). Примена препарата цинка, као дијететског суплемента (30 mg/ kg), испољила је значајне ефекте и у смислу смањења садржаја реактивних супстанци тиобарбитурне киселине (TBARS) у плазми болесника са инсулин независним дијабетес мелитусом (21).

Поред повећане продукције ROS-а, оксидациони стрес је у дијабетесу последица и смањења активности ензима одговорних за уклањање ROS-а. Иако цинк није антиоксиданс, као витамин Е, он је кофактор у син-

тези антиоксидационих ензима, попут супероксид-дисмутаза, каталазе и пероксидазе (9). Дефицит цинка би тиме могао додатно да допринесе даљем развоју патолошких промена и компликација које прате дијабетес.

Значај поремећене хомеостазе цинка у дијабетичара, наводи на оправданост истраживања која доносе корисне информације о унапређењу стандардне терапије инсулин независног дијабетес мелитуса дијететским суплементима цинка.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Thompson K.H., Godin D.V.: Micronutrients and antioxidants in the progression of diabetes mellitus. *Nutrition Research*, 1995; 15(9):1377-1410.
2. Eman M.A., Suhad M.B., Waqar H.A., Nabeel Al-ama, Gordon A.A.E.: Trace element status in Saudi patients with established atherosclerosis. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2006; 20:10514.
3. Domitrović R., Milil Ć.: Биохемија цинка. *Biochemica Medica* 2000; 10(1-2):21-7.
4. Tasić N.M., Radak Đ., Cvetković Z., Marijan M., Tasić D., Radak S., Nešković A.N., Đorđević-Denić G.: Cink i ateroskleroza karotidnog plaka. *Scr Med* 2005; 1(1):48.
5. Rosenthal M.J., Hwang I.K.: Effects of arachidonic acid and cyclo (his-pro) on zinc transport across small intestine and muscle tissues. *Life Sciences* 2001; 70:33748.
6. Tallman D.L., Taylor C.G.: Potential interactions of zinc in the neuroendocrine-endocrine disturbances of diabetes mellitus type 2. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 1999; 77(12):912-33.
7. Yoshikawa Y., Ueda E., Kojima Y., Sakurai H.: The action mechanism of zinc(II) complexes with insulinomimetic activity in rat adipocytes. *Life Sciences* 2004; 75:74151.
8. Brandão-Neto J., Silva C., Rezende A., Almeida M., Sales V., Marchini J.: Zinc pharmacokinetics in insulin-dependent diabetes mellitus patients after oral zinc tolerance test. *Nutrition Research* 2003; 23:14150.
9. Kaji M.: Zinc in Endocrinology. *International Pediatrics* 2001; 16(3):1-7.
10. Brandão-Neto J., Silva C., Shuhama T., Silva J., Oba L.: Renal handling of zinc in insulin-dependent diabetes mellitus patients. *BioMetals* 2001; 14:7580.
11. Chausmer A.B.: Zinc, Insulin and Diabetes. *Journal of American College of Nutrition* 1998; 17(2):109-15.
12. Simon SF, Taylor CG.: Dietary zinc supplementation attenuates hyperglycemia in db/db mice. *Exp Biol Med (Maywood)* 2001; 226(1):43-51.
13. Sharafetdinov Kh.Kh., Meshcheriakov V.A., Plotnikova O.A., Mazo V.K., Gmoshinskii I.V., Aleshko-Ozhevskii Iu.P., Sheviakova L.V., Makhova NN.: [Effect of a zinc-enriched diet on the clinical and metabolic parameters in type 2 diabetic patients]. *Vopr Pitan.* [Article in Russian] 2004; 73(4):17-20.
14. Ren M, Rajendran R, Ning P, Kwong Huat BT, Nam O, Watt F, Jenner A, Halliwell B.: Zinc supplementation decreases the development of atherosclerosis in rabbits. *Free Radical Biology & Medicine* 2006; (in press).
15. Partida-Hernandez G., Arreola F., Fenton B., Cabeza M., Roman-Ramos R., Revilla-Monsalve M.C.: Effect of zinc replacement on lipids and lipoproteins in type 2-diabetic patients. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2006; (in press).
16. Candan F., Gültekin F., Candan F.: Effect of vitamin C and zinc on osmotic fragility and lipid peroxidation in zinc-deficient haemodialysis patients. *Cell Biochemistry and Function* 2001; 20(2):95-8.
17. Eizirik D.L., Mandrup-Poulsen T.: A choice of death the signal-transduction of immune mediated beta-cell apoptosis. *Diabetologia* 2001; 44:2115-33.
18. Pavlović D., Đorđević V., Kocić G.: Ćelijska transdukcija-modulacija slob. radikalima. *Jug. Med. Biohem.* 2002; 21:6984.
19. Ho E., Quan N., Tsai Y.H., Lai W., Bray T.M.: Dietary zinc supplementation inhibits NF-kB activation and protects against chemically induced diabetes in CD1 mice. *Exp Biol Med (Maywood)* 2001; 226:10311.
20. Quraishi I., Collins S., Pestaner J.P., Harris T., Bagasra O.: Role of zinc and zinc transporters in the molecular pathogenesis of diabetes mellitus. *Medical Hypotheses* 2005; 65:88792.
21. Roussel A.M., Kerkeni A., Zouari N., Mahjoub S., Matheau J.M., Anderson R.A.: Antioxidant effects of zinc supplementation in Tunisians with type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Nutr.* 2003; 22(4):316-21.