

РОЛЬ ЦИНКА В РЕГУЛЯЦИИ БЕЛКОМ A20 NF-κB-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ

(ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Лалетин В.С.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет»
Минздрава России, 664003, Российская Федерация, г. Иркутск, ул. Красного
восстания, д.1.

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический
медицинский университет» Минздрава России, 194100, Российская Федерация,
г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, д.2

e-mail: laletin.vs@yandex.ru

Резюме. Цинк участвует в регуляции воспаления. Противовоспалительные эффекты цинка сопряжены с подавлением активности транскрипционного фактора NF-κB, одного из ключевых регуляторов воспаления. Активация NF-κB-сигнального пути сопровождается индукцией белка A20 (TNFAIP3), который является ключевым отрицательным регулятором NF-κB, действующим по механизму отрицательной обратной связи. Механизмы подавления активности NF-κB белком A20 обусловлены его убиквитин-редактирующей функцией. Белок A20 является, вероятно, главной мишенью для ионов цинка в регуляции активности NF-κB-сигнального пути. Цинк участвует в функционировании A20 как структурный компонент, так и регулятор его экспрессии. В клинических исследованиях гаплонедостаточности A20 и в экспериментах на животных с направленными инактивирующими мутациями показано, что именно ZnF-домен белка A20, содержащий семь цинковых пальцев, играет ключевую роль в регуляции воспалительных процессов. В настоящее время механизмы индукции A20 цинком неизвестны. Исследования на различных линиях клеток и на животных продемонстрировали, что ионы цинка активируют экспрессию A20, действуя через цинк-чувствительные

GPR39 рецепторы и эпигенетические механизмы регуляции. A20 вовлечен в патогенез хронических и острых воспалительных, аутоиммунных, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Роль цинка в регуляции и функционировании A20 и значение A20 в качестве терапевтической мишени позволяет определить направление дальнейших исследований терапевтического потенциала цинка в лечении широкого ряда заболеваний.

Ключевые слова: цинк; воспаление; противовоспалительное действие; провоспалительные цитокины; полиубиквитин; гаплонедостаточность A20; хронические воспалительные заболевания; аутоиммунные заболевания; сердечно-сосудистые заболевания; онкологические заболевания

THE ROLE OF ZINC IN A20/NF- κ B SIGNALING

(REVIEW ARTICLE)

Laletin V.S.^{1,2}

¹*Irkutsk State Medical University of the Ministry of Health of Russia,
664003, Russian Federation, Irkutsk, st. Krasnogo vosstaniya 1*

²*St. Petersburg State Pediatric Medical University, 194100, Russian Federation, St.
Petersburg, Litovskaya str., 2
e-mail: laletin.vs@yandex.ru*

Abstract. Zinc is involved in regulation of inflammation. Anti-inflammatory effects of zinc are associated with inhibition of transcription factor NF- κ B, one of the key regulators of inflammation. Activation of NF- κ B signaling pathway is followed by induction of A20 (TNFAIP3), a critical negative regulator of NF- κ B. The mechanisms of NF- κ B inhibition by A20 are mediated by its ubiquitin-editing functions. A20 is possibly the main target for zinc ions in regulation of NF- κ B signaling pathway. Zinc is involved in A20 functioning both as a structural component and a regulator of A20 expression. Clinical studies of haploinsufficiency A20 and animal models with targeted inactivating mutations demonstrated that A20 ZnF-domain with its seven zinc fingers plays a critical role in regulation of

inflammatory responses. The exact mechanisms of zinc-mediated induction of A20 are still unknown. Experimental cell line and animal studies revealed that zinc ions induce A20 expression by activation of zinc-sensing receptor GPR39 and by epigenetic modifications. A20 is involved in pathogenesis of chronic and acute inflammatory, autoimmune, cardiovascular and oncological diseases. The role of zinc in regulation and functioning of A20 and the importance of A20 as a therapeutic target allow to determine directions of further investigations of zinc therapeutic potential in the treatment of a variety of diseases.

Key words: zinc; inflammation; anti-inflammatory action; proinflammatory cytokines; polyubiquitin; haploinsufficiency A20; chronic inflammatory diseases; autoimmune diseases; cardiovascular diseases; oncological diseases

Введение

Цинк является незаменимым микроэлементом для всех организмов. Еще в 1869 году впервые было показано, что цинк необходим для роста *Aspergillus niger* [1]. В течение длительного времени появлялись данные о значении цинка для различных видов живых организмов. И только в 1961 году стало известно, что цинк незаменим и для человека [2]. В живых организмах цинк выполняет структурные, сигнальные и каталитические функции [3].

Биологическая роль цинка определяется уникальным сочетанием его свойств. Цинк и два других элемента триады 12 группы в отличие от остальных d-металлов не являются переходными элементами, имея полностью заполненную d-оболочку. В живых организмах цинк присутствует только в виде редокс-инертного двухвалентного катиона Zn^{2+} со стабильной замкнутой $3d^{10}$ конфигурацией. Ключевыми характеристиками ионов цинка в живых организмах являются их редокс-инертность и способность взаимодействовать с белками, координируя атомы аминокислотных остатков. Цинк занимает промежуточное положение между жесткими и мягкими комплексообразователями, что позволяет ионам цинка координировать как

мягкие лиганды – атом серы, так и жесткие лиганды – атомы азота и кислорода. Данная широкая специфичность цинка к различным лигандам определяет возможность участия в образовании цинковых кластеров остатков цистеина, гистидина, аспартата и глутамата [4]. Кроме того, промежуточное положение в ряду комплексообразователей определяет менее прочное взаимодействие с атомами серы остатков цистеина по сравнению с двумя другими металлами 12 группы – кадмием и ртутью. По этой причине цинк не является тиоловым ядом и может функционировать в биологических системах.

В 1985 году впервые были описаны связывающие цинк участки в транскрипционном факторе ША *Xenopus*, которые были названы цинковыми пальцами [5]. В настоящее время классификация цинковых пальцев включает более 20 различных мотивов, включая «классические» C₂H₂ цинковые пальцы, образованные боковыми цепями двух остатков цистеина и двух остатков гистидина, а также C₂C₂, C₃H, RING и другие. Считается, что цинк взаимодействует с более чем 3200 белками в организме человека. Анализ протеома человека показал, что более 10% белков содержит цинк-связывающие участки [6, 7]. Количество цинк-зависимых белков значительно больше, что связано со способностью цинка координировать атомы аминокислотных остатков нескольких белков одновременно, участвуя в их межмолекулярном взаимодействии [3].

Антиоксидантные и противовоспалительные эффекты цинка тесно взаимосвязаны [8]. Редокс-инертные ионы цинка являются одним из главных регуляторов редокс-состояния клетки. Цинк координирует реакционно-активные тиольные группы остатков цистеина, изменяя их редокс-потенциал и тем самым защищая их от окисления при изменениях редокс-состояния клетки. Нормальная физиологическая концентрация Zn²⁺ необходима для поддержания редокс-состояния клетки. При развитии окислительного стресса и выраженном изменении редокс-состояния клетки происходит окисление тиольных групп, что сопровождается высвобождением цинка, который в качестве вторичного

посредника влияет на сигнальные пути. Повышение концентрации свободного Zn^{2+} в клетке является сигналом окислительного стресса и активирует защитные механизмы выживания клеток [4, 7, 9].

При этом цинк нельзя назвать антиоксидантом в классическом смысле этого термина. В исследованиях продемонстрировано, что как повышение, так и понижение концентрации цинка приводит к нарушению редокс-регуляции клетки, развитию окислительного стресса и запуску механизмов гибели клеток. Данный эффект позволил сравнить цинк с обоюдоострым мечом. Антиоксидантные и прооксидантные свойства цинка зависят от многих факторов, включающих в том числе концентрацию ионов цинка, тип клеток, их окружение, редокс-состояние, активность сигнал-трансдукторных путей. Эффекты цинка должны соотноситься с его физиологическими концентрациями [7].

Кроме прямой регуляции редокс-статуса клетки противовоспалительное действие ионов цинка обусловлено их сигнальной функцией. Накопление сведений о функциях цинка позволило образно назвать его «кальцием 21 века». Главной сигнальной функцией цинка считается способность свободных ионов цинка выступать в роли вторичного посредника [3]. В регуляции концентрации свободных ионов цинка и распределения цинка в клетке в целом участвуют транспортеры цинка ZnT (ZnT1-ZnT10) и ZIP (Zrt- and Irt-like proteins, ZIP1-ZIP14) и депонирующие цинк металлотионеины (MT). ZnT транспортеры переносят ионы цинка из цитоплазмы во внеклеточное пространство или в органеллы. ZIP транспортеры переносят ионы цинка в обратном направлении, увеличивая их концентрацию в цитоплазме. MT депонируют ионы цинка, связывая их в кластерах образованных остатками цистеина. Весь внутриклеточный цинк подразделяют на три пула: иммобилизованный (прочно связанный с металлопротеинами), лабильный (непрочно связанный с различными лигандами, в том числе с MT) и свободный [6]. Изменение

концентрации свободного внутриклеточного цинка сопровождается метаболическими, функциональными и геномными эффектами.

Помимо внутриклеточной сигнальной функции цинк участвует и в межклеточной регуляции. Цинк, выходя из клеток, специфично связывается и активирует метаботропные рецепторы плазматической мембраны, сопряженные с G-белками, такие как GPR39 и GPR83 (G protein-coupled receptor) [4, 10]. Таким образом, цинк, являясь внутри- и межклеточным регулятором, участвует в регуляции многих сигнал-трансдукторных путей и их ключевых компонентов, в том числе регулирующих процессы воспаления, окислительного стресса и апоптоза, таких как PKC, ERK1/2, p38MAPK, JNK, NF-κB, Nrf2, PI3K/Akt [3, 4].

Каталитические функции определяются способностью цинка как сильной кислоты Льюиса стабилизировать отрицательные заряды. Структурные и/или каталитические функции цинка определяют его участие в работе многих ферментов всех шести классов, в том числе некоторых ключевых антиоксидантных ферментов, например, Cu/Zn-СОД и каталазы [3, 4].

Дефицит цинка

Считается, что около двух миллиардов людей страдают от недостаточности цинка [11]. Дефицит цинка в развивающихся странах является причиной приблизительно 4% общей заболеваемости и смертности детей раннего возраста в мире [12]. Недостаточность цинка сопровождается широким спектром патологических состояний, в том числе ассоциированных с активацией воспалительных процессов [3, 4].

Снижение уровня цинка в плазме крови пациентов наблюдается при хронических воспалительных заболеваниях, атеросклерозе, аутоиммунных заболеваниях, таких как сахарный диабет, астма, атопический дерматит, ревматоидный артрит [13-16]. Недавно описано снижение уровня цинка в плазме крови пациентов при сепсисе и COVID-19, при этом степень снижения коррелирует с тяжестью течения заболевания, длительностью госпитализации и

уровнем смертности [17]. Снижение уровня цинка часто наблюдается при некоторых онкологических заболеваниях [18].

Обычно снижение уровня цинка в плазме крови рассматривается как следствие основного заболевания, сопряженное с повышением потребности в цинке и перераспределением цинка в организме на фоне воспалительного ответа [13, 14, 17]. Модели на животных показывают более сложную роль дефицита цинка в этиологии и патогенезе хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний. Так, в модели сахарного диабета 1 типа на мышах было показано, что добавление сульфата цинка в воду способно предотвратить развитие спонтанного и индуцированного диабета и понижает активность NF-κB-сигнального пути в клетках островков поджелудочной железы в случае индуцированного диабета [19].

Тяжелый дефицит цинка сопряжен с развитием острых и хронических воспалительных заболеваний, тяжелым нарушением работы иммунной системы, подверженностью инфекционным заболеваниям, развитием окислительного стресса и в отсутствие лечения может привести к летальному исходу [4, 8, 9, 20]. Дефицит цинка сопровождается активацией синтеза провоспалительных цитокинов IL-1β, IL-6, и TNF-α. Назначение цинка влияет на данные изменения в дозозависимой манере [14], снижает уровень провоспалительных цитокинов, белков острой фазы и маркеров окислительного стресса [21].

Цинк участвует в регуляции активности NF-κB

Противовоспалительное и антиоксидантное действие цинка сопряжено с подавлением образования провоспалительных цитокинов и активных форм кислорода [22]. Данные эффекты цинка в значительной степени обусловлены регуляцией NF-κB-сигнального пути [2].

Транскрипционный фактор NF-κB (nuclear factor κB) относится к Rel/NF-κB семейству и представляет собой димер. В зависимости от различных субъединиц, образующих димер выделяют различные варианты NF-κB-

сигнального пути. В так называемом каноническом NF-κB-сигнальном пути димер представлен p50/p65 гетеродимером. В цитозоле NF-κB связан с ингибиторной субъединицей IκB (inhibitor of κB), которая подавляет активность NF-κB [23].

Канонический NF-κB-сигнальный путь активируют различные факторы, в том числе фактор некроза опухолей α (TNF-α) через TNFR1 рецепторы; интерлейкин 1β (IL-1β) через IL-1R рецепторы; патогены микроорганизмов, такие как липополисахариды, через TLR рецепторы (Toll-like receptors) [24-26]. Активация рецепторов приводит к запуску сложного механизма активации ИКК (IκB kinase), включающего такие процессы, как образование белковых комплексов, полиубиквитинирование и фосфорилирование. Активированная ИКК фосфорилирует IκB по остаткам серина, после чего IκB убиквитинируется и разрушается в протеасоме. После инкативации IκB происходит высвобождение p50/p65 гетеродимера NF-κB, который транслоцируется в ядро, где связывается с белками CBP/p300 и регуляторными участками ДНК [13].

NF-κB участвует в регуляции экспрессии генов, отвечающих за регуляцию воспаления, иммунного ответа, адгезии клеток, выживания и гибели клеток, дифференцировки и пролиферации клеток, ответа на вирусные инфекции, гипоксию, ишемию/реперфузию. NF-κB-сигнальный путь играет ключевую роль в регуляции экспрессии провоспалительных цитокинов, таких как TNF-α, IL-1β, и IL-6 [26, 27]. Повышение экспрессии NF-κB является показателем хронического воспаления [28].

В отличие от многих транскрипционных факторов NF-κB не имеет цинковых пальцев. Хотя сообщалось, что связывание NF-κB с ДНК является цинк-зависимым, в ряде исследований показано, что хелаторы цинка не подавляют его взаимодействие с ДНК [13]. Данные факты не исключают возможности участия ионов цинка в межмолекулярном взаимодействии NF-κB с регуляторными белками, но позволяют предполагать существование только опосредованного действия ионов цинка на активность NF-κB.

Описано двойственное действие цинка на NF-κB. Цинк способен как активировать, так и ингибировать NF-κB-сигнальный путь [14].

В большинстве исследований цинк описывают как ингибитор активности NF-κB-сигнального пути [4]. Так, например, в параллельных исследованиях *in vivo* и *in vitro*, моделирующих хронический гастрит, было показано, что цинк подавляет активацию NF-κB-сигнального пути, снижает образование провоспалительных цитокинов TNF-α, IL-1β и IL-6, маркеров окислительного стресса и гибели клеток [29]. Добавление цинка в пищу и воду мышей в моделях сахарного диабета 1 типа подавляет активность NF-κB в тканях поджелудочной железы [19]. На эндотелиальных клетках человека показано, что хелатор цинка TPEN (N,N,N',N'-тетракис-(2-пиридил-метил)этилендиамин), проникающий через мембраны, снижает внутриклеточный уровень цинка, что активирует NF-κB и экспрессию показателя эндотелиальной дисфункции - ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1). Введение цинка подавляет активацию NF-κB и эндотелиальную дисфункцию, снижая экспрессию ICAM-1 [30]. В исследовании на мышах показано, что инъекционное введение глюконата цинка до воздействия аллергена снижает активность NF-κB в легких, гиперреактивность дыхательных путей и уровень IgE сыворотки. Параллельное исследование эффектов цинка *in vitro* выявило ингибирование ИКК и подавление активности NF-κB в HL-60 клетках [31]. Сульфат цинка подавляет воспаление, окислительный стресс и активацию экспрессии NF-κB, индуцированные акриламидом в тканях семенников крыс [32].

Ранее была описана роль цинка в одном из механизмов отрицательной обратной связи, участвующих в ауторегуляции NF-κB-сигнального пути. Активированный NF-κB индуцирует синтез транспортера цинка ZIP8, который, локализуясь в плазматической мембране, переносит ионы цинка в цитозоль. Ионы цинка связываются с цинк-связывающим участком ИККβ, ингибируют его и подавляют активность NF-κB-сигнального пути [4].

Реже в литературе описывают противоположный эффект активации цинком NF-κB-сигнального пути. Одним из механизмов реализации данного эффекта является активация цинком PKC/NF-κB-сигнального пути. Протеинкиназа C (PKC) взаимодействует с диацилглицеридами плазматической мембраны с помощью C1 цинк-связывающего домена с двумя C3H цинковыми пальцами, образованными 3 остатками цистеина и 1 гистидина [33]. Увеличение концентрации лабильного внутриклеточного цинка приводит к перемещению PKC к плазматической мембране, взаимодействию с диацилглицеридами и последующей активацией PKC и NF-κB-сигнального пути. Хелатор цинка TPEN подавляет транслокацию PKC к плазматической мембране. Одним из примеров является активация NF-κB-сигнального пути цинком в тучных клетках. Активация высокоаффинных рецепторов IgE (FcεRI) в тучных клетках приводит к открытию кальциевых каналов L-типа (LTCC), локализующихся в мембране эндоплазматического ретикулума. LTCC пропускают ионы цинка, которые по градиенту концентрации перемещаются в цитозоль и активируют PKC и NF-κB, что приводит к дегрануляции тучных клеток. Данный эффект был назван «цинковая волна» [4].

Также, в эксперименте *in vitro* на клетках линии HL-60 показано, что введение токсических доз цинка сопровождается нарушением работы NF-κB- и Nrf2-сигнальных путей, воспалительным ответом и дегрануляцией нейтрофилов [34].

Белок A20 подавляет активность NF-κB

Провоспалительные цитокины активируют NF-κB, который в свою очередь индуцирует их экспрессию. Наличие данной положительной обратной связи с возможностью образования порочного круга определяет значение механизмов ауторегуляции NF-κB-сигнального пути, предотвращающих неконтролируемую активацию воспалительного ответа. Одним из ключевых отрицательных регуляторов NF-κB-активируемых сигнальных каскадов является белок A20 [35].

Белок A20, также известный как TNF- α -индуцируемый белок 3 (TNF- α -induced protein 3; TNFAIP3), убиквитин-редактирующий цитоплазматический белок, играющий ключевую роль в регуляции воспаления и апоптоза [24, 25, 36]. A20 был открыт в 1990 году при исследовании веществ, синтез которых индуцировали воздействием TNF- α на эндотелиальные клетки пупочной вены человека [26].

Для белка A20 характерна разнонаправленная активность, он принимает участие как в деубиквитинировании, так и убиквитинировании белков, что согласуется с его строением. В белке A20 выделяют два домена: (1) N-концевой OTU-домен (ovarian tumor), выполняющий функцию деубиквитинирующей (DUB) сериновой протеазы; (2) C-концевой ZnF-домен (zinc finger), включающий семь C2C2 цинковых пальцев (ZnF1-ZnF7), отвечающий за убиквитинлигазную E3 и убиквитинсвязывающую активность [23, 24]. Анализ генома позволил выявить ещё 15 представителей OTU-семейства (в том числе Cezanne, VCIP135 and Otubain 1) и 10 генов кодирующих белки с A20-подобными цинковыми пальцами (в том числе Rabex5, Znf216 и AWP1) [37].

Функционирование A20 сопровождается его взаимодействием с линейными цепями полиубиквитина различного строения: (1) деубиквитинирование осуществляется путём каталитического отщепления от белков K-63-связанных цепей убиквитина; (2) убиквитинирование – путём каталитического присоединения к белкам K-48-связанных цепей убиквитина; (3) убиквитинсвязывающая активность A20 обусловлена некаталитическим присоединением самого A20 к Met-1-связанным цепям убиквитина [38].

Механизмы регуляции активности NF- κ B белком A20

Ключевой функцией A20 является подавление активности NF- κ B и, тем самым, регуляция интенсивности и длительности активации провоспалительных сигнальных путей [24, 39]. A20 подавляет активность NF- κ B опосредованно, воздействуя на другие ферменты и регуляторные белки.

Исследования последних двадцати лет выявили ряд механизмов влияния белка A20 на NF-κB-сигнальный путь:

1. Одним из путей активации ИКК-комплекса является его опосредованное связывание с TNFR. Активированный TNFR через комплекс LUBAC (linear ubiquitin chain assembly complex) и линейную Met-1-связанную цепь полиубиквитина взаимодействует с компонентом ИКК-комплекса белком NEMO (nuclear factor-κB essential modulator, IKKγ), что приводит к активации ИКК. A20 с помощью цинкового пальца ZnF7 ZnF-домена способен некаталитически взаимодействовать с Met-1-связанными цепями убиквитина как LUBAC, так и NEMO, что блокирует их взаимодействие. Кроме того, A20 соединяясь через Met-1-связанную цепь убиквитина с NEMO образует комплекс, который, связываясь с двумя другими компонентами ИКК-комплекса (IKKα и IKKβ), ингибирует фосфорилирование IKKβ ферментом TAK1, предотвращая активацию ИКК [26, 38, 40].

2. RIPK1 (receptor interacting protein kinase 1) является активатором ИКК-комплекса. RIPK1 и TNFR1 с присоединенными к обоим K-63-связанными цепями убиквитина образуют сигнальный комплекс активирующий ИКК. A20 инактивирует RIPK1 путём последовательного катализа двух реакций. OTU-домен деубиквитинирует RIPK1 путём удаления K-63-связанных цепей убиквитина, тем самым лишая его способности взаимодействия с другими регуляторными белками. ZnF-домен каталитически присоединяет K-48-связанные цепи убиквитина к RIPK1 с его последующей утилизацией в протеасоме [26, 38, 41, 42].

3. Активированные рецепторы IL-1R и TLR через белок TRAF6 (TNF receptor associated factor 6) и K-63-связанные цепи убиквитина активируют NEMO, что приводит к активации ИКК и NF-κB. A20 инактивирует TRAF6 путём удаления K-63-связанных цепей убиквитина, ингибируя ИКК [26].

4. Белок p105 является одновременно ингибитором NF-κB и предшественником p50 – активной субъединицы NF-κB. TNF-α активирует

ограниченный протеолиз p105, лишая его ингибиторной функции и активируя образование p50, который высвобождается в ходе расщепления. A20 ингибирует протеолиз p105, вызванный TNF- α , тем самым подавляя активность NF- κ B-сигнального пути. Показано, что данный механизм опосредован убиквитинлигазной активностью ZnF-домена белка A20 [43].

5. Помимо указанных механизмов ингибирования активации канонического NF- κ B-сигнального пути, описан механизм регуляции неканонического альтернативного NF- κ B-сигнального пути. В альтернативном пути киназа NIK (NF- κ B-inducing kinase) активирует IKK. NIK убиквитинлигазный комплекс убиквитинирует NIK с последующей деградацией в протеасоме. A20 некаталитически через цинковый палец ZnF7 связывается с cIAP1 (cellular inhibitor of apoptosis protein 1), компонентом NIK убиквитинлигазного комплекса, вызывая его диссоциацию, что приводит к активации неканонического NF- κ B-сигнального пути [44].

6. Т-клеточный рецептор опосредованно через комплекс CBM (CARD11-BCL10-MALT1) активирует NF- κ B. A20 подавляет активацию NF- κ B, вызванную CBM комплексом, за счет убиквитинсвязывающей активности ZnF-домена. Адаптерный белок ABIN-1 (A20-binding inhibitors of NF-kappa B activation 1) модулирует данный эффект A20 в широком диапазоне [45].

Из четырех описанных выше путей подавления активности канонического NF- κ B-сигнального пути три связаны с активностью ZnF-домена. Клинические исследования и эксперименты *in vivo* на мышах показали ключевое значение убиквитинсвязывающей активности ZnF-домена A20 в регуляции воспалительного ответа и противовоспалительной и цитопротекторной функциях A20 [46-48].

В литературе описано новое моногенное заболевание, вызванное мутациями в гене, кодирующем белок A20, названное гаплонедостаточность A20 (Haploinsufficiency A20). Встречаются варианты заболевания, вызванные мутациями в участках, кодирующих как OTU-, так и ZnF-домены.

Ретроспективный анализ 89 случаев A20 гаплонедостаточности показал, что в случаях с мутациями, затрагивающими ZnF-домен, заболевание манифестирует в значительно более раннем возрасте и чаще сопровождается патологиями костно-мышечной системы [46].

Двумя группами исследователей проведены эксперименты на мышах с инактивирующими точечными мутациями в различных участках гена A20. Сравнение фенотипических проявлений мутаций в участках гена, кодирующих OTU- и ZnF-домены выявило, что для возникновения симптомов сходных с псориатическим артритом, достаточно мутации в участке гена, кодирующего ZnF7 [47]. Кроме того, было показано, что цинковые пальцы ZnF4 и ZnF7 ZnF-домена, отвечающие за убиквитинсвязывающую активность A20, синергично предотвращают развитие чрезмерного воспаления. Двойная комбинированная мутация в гене A20 в участках, кодирующих цинковые пальцы ZnF4 и ZnF7, сопровождается полиорганным воспалением и приводит к перинатальной гибели [47, 48].

Активность самого A20 регулируется путём фосфорилирования, которое активирует деубиквитинирующую функцию OTU-домена и ускоряет ZnF4-опосредованное убиквитинирование субстратов [49]. Функционирование белка A20 модулируется взаимодействием с рядом адаптерных молекул, регуляторов и ферментов, таких как ABIN-1, ABIN-2, TAX1BP1 (TAX-1 binding protein-1), RNF-11 (ring finger protein-11), RNF-114, Itch [20, 21]. В недавнем исследовании сообщается об обнаружении белка YAP9, который подавляет эффекты поровоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 β и липополисахаридов. При этом сообщается, что YAP9 конститутивно взаимодействует с A20 и один в отсутствие другого не функционирует [50].

Кроме самого A20 в регуляции активности NF- κ B способны участвовать родственные ему белки: деубиквитиназы OTU-семейства (Cezanne), и содержащие A20-подобные цинковые пальцы белки с убиквитинсвязывающей (Znf216) и убиквитинлигазной (Rabex5) функцией [37].

Цинк активирует экспрессию белка A20

Роль цинка в функционировании A20 не ограничивается участием в работе ZnF-домена, но также связана и с сигнальной функцией свободных ионов цинка. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* показано, что цинк способен индуцировать экспрессию A20.

Впервые Prasad и соавторы в 2004 году показали в исследовании на линии клеток HL-60, что цинк подавляет экспрессию провоспалительных цитокинов, индуцируя A20, который подавляет активность NF-κB-сигнального пути [39]. После данной группой исследователей была проведена серия экспериментов на различных клеточных линиях *in vitro*, подтверждающая данный эффект цинка и его потенциал в лечении различных заболеваний. Так, в исследовании *in vitro* на клетках THP-1 и эндотелиальных клетках аорты было показано, что цинк, увеличивая экспрессию A20 и подавляя активацию NF-κB, снижает образование маркеров окислительного стресса и провоспалительных цитокинов TNF-α и IL-1β, вовлечённых в патогенез атеросклероза [21]. В эксперименте на линиях HL-60, SW480 клеток и эндотелиальных клетках пупочной вены было показано, что цинк индуцирует экспрессию A20, который снижает активность IKK-α/NF-κB-сигнального пути, образование провоспалительных цитокинов и маркеров окислительного стресса [51].

Хроническое воспаление вовлечено в патогенез аневризмы аорты. В исследованиях *in vivo* цинк подавлял прогрессирование аневризмы, индуцируя экспрессию A20. На модели аневризмы абдоминальной аорты у крыс показано, что интраперитонеальное введение сульфата цинка подавляло индуцированное хлоридом кальция увеличение диаметра абдоминальной аорты, замедляло разрушение волокон эластина и снижало инфильтрацию стенки аорты макрофагами и лимфоцитами. Данные изменения наблюдались на фоне индукции экспрессии A20 и подавления канонического NF-κB-сигнального пути [52]. Позже другой группой исследователей на модели внутричерепной аневризмы у крыс было продемонстрировано, что интраперитонеальное

введение сульфата цинка индуцировало экспрессию A20 в тканях аневризмы. Данный эффект сопровождался подавлением инфильтрации макрофагами и уменьшением размера аневризмы [53].

На различных моделях *in vitro* продемонстрировано нефропротекторное действие цинка, связанное с индукцией A20. В исследовании *in vivo* на мышах было показано, что TRPC6 (transient receptor potential-6) снижает поражение почек при ишемии/реперфузии. При этом хлорид цинка потенцирует нефропротекторный эффект TRPC6. Параллельно в модели поражения почек ишемией/реперфузией *in vitro* на эпителиальных клетках канальцев нефрона, были исследованы эффекты TRPC6 при введении хлорида цинка и хелатора цинка TPEN на фоне нокдауна и гиперэкспрессии A20. Исследование показало, что нефропротекторное действие TRPC6 обусловлено активацией поступления ионов цинка в эпителиальные клетки с последующей активацией синтеза A20, который подавлял активацию инфламмосомы NLRP3 [54]. Поражение почек при сахарном диабете сопровождается апоптозом эпителиальных клеток канальцев нефрона. В исследовании на линии эпителиальных клеток почечных канальцев показано, что сульфат цинка подавляет апоптоз и активацию NF- κ B, вызванные высоким уровнем глюкозы. Данные эффекты сопряжены с индукцией A20 [55].

Нейропротекторный потенциал индукции A20 цинком продемонстрирован в исследовании на клетках микроглии. На фоне индукции воспалительного ответа липополисахаридами было показано, что сульфат цинка индуцирует A20, подавляет активность NF- κ B-сигнального пути, снижает образование активных форм кислорода и провоспалительных цитокинов TNF- α и IL-6 [56].

Также, эффект индукции A20 цинком описан в исследовании *in vivo* на модели нарушения барьерной функции кишечника, вызванной тепловым стрессом. Добавление соединений цинка в корм курам снижало уровень провоспалительного цитокина IL-1 β в сыворотке, а в тканях тощей кишки

повышало экспрессию мРНК A20, количество самого белка A20, снижало экспрессию мРНК субъединицы p65 NF-κB и металлопротеиназы-2 [57].

Механизмы активации экспрессии белка A20 цинком

В настоящее время механизмы индукции A20 цинком неизвестны. Одним из направлений исследований является изучение роли метаболитных рецепторов плазматической мембраны в реализации данного эффекта. Внеклеточные ионы цинка способны активировать рецепторы плазматической мембраны, примером которых является рецептор GPR39, также называемый цинк-чувствительный рецептор ZnR (zinc sensing receptor) [10].

Впервые участие GPR39 в индукции A20 цинком было описано Voelkl и соавторами в 2018 году [58]. Авторы показали терапевтический потенциал цинка в предотвращении сердечно-сосудистых осложнений при хронической болезни почек, которые в значительной степени обусловлены кальцификацией и остео-/хондрогенной трансдифференцировкой гладкомышечных клеток. В эксперименте *in vitro* на гладкомышечных клетках сосудистой стенки человека показано, что цинк, активируя GPR39 рецепторы, индуцирует A20 и подавляет активность NF-κB. Данный эффект сопряжен с подавлением кальцификации и фосфат-индуцированной остео-/хондрогенной трансдифференцировки гладкомышечных клеток. В параллельном исследовании в моделях *in vivo* на мышах введение сульфата цинка выражено подавляло кальцификацию и остеоиндукцию в стенке аорты, что сопровождалось индукцией экспрессии A20 [58].

Следующее сообщение о роли GPR39 в индукции A20 приводилось в исследовании роли цинка в предотвращении кальцификации сосудистой стенки при сахарном диабете. Повышение уровня глюкозы сопровождается активацией NF-κB в гладкомышечных клетках сосудов с последующей активацией кальцификации сосудистой стенки. В исследовании на гладкомышечных клетках аорты человека показано, что цинк активирует экспрессию A20 и снижает активность NF-κB, подавляя экспрессию остеогенных и хондрогенных

маркеров и кальцификацию. Подавление экспрессии A20 полностью устраняет описанные защитные эффекты цинка. Репрессия цинк-чувствительного рецептора GPR39 предотвращает экспрессию A20 [16].

Описанные эффекты подтверждаются другой группой исследователей в эксперименте на гладкомышечных клетках легочной артерии. Легочная гипертензия сопровождается активацией, миграцией и пролиферацией гладкомышечных клеток сосудистой стенки, развитие которых сопряжено с активацией NF-κB-сигнального пути. В исследовании *in vitro* показано, что цинк индуцирует A20 в гладкомышечных клетках легочной артерии. Кроме того, индукция A20 происходит как при введении цинка, так и действии TC-G-1008, агониста GPR39 рецептора. Параллельно в эксперименте *in vivo* было показано, что интраперитонеальное введение хлорида цинка крысам подавляет прогрессирование легочной гипертензии и активирует экспрессию A20 в тканях легких [59].

Помимо активации GPR39, в индукцию экспрессии A20 цинком вовлечены эпигенетические механизмы регуляции. В единичном исследовании, проведенном на курах, добавление соединений цинка в корм снижало воспаление слизистой тонкого кишечника, тормозя активность NF-κB сигнального пути. Исследование механизма данного эффекта выявило активацию транскрипции A20 и у материнских особей, и у потомства на фоне эпигенетических изменений в промоторе A20, в виде снижения метилирования ДНК и повышения ацетилирования гистонового белка H3 по остатку лизина в 9 положении (H3K9) [60].

Активация цинком экспрессии A20 в исследованиях на различных клеточных линиях и на некоторых моделях *in vivo* позволяет рассматривать белок A20 в качестве перспективной терапевтической мишени.

A20 участвует в патогенезе широкого ряда заболеваний

Терапевтический потенциал белка A20 определяется его участием в патогенезе широкого ряда заболеваний. В клинических исследованиях и

моделях *in vivo* и *in vitro* показано, что A20 вовлечен в патогенез заболеваний, сопровождающихся хроническим и острым воспалением, а также аутоиммунной, сердечно-сосудистой и онкологической патологии.

Наследственные заболевания

Недавно описано новое генетическое заболевание, проявления которого подчеркивают значение A20 в регуляции воспалительных процессов. A20 гаплонедостаточность (Haploinsufficiency A20) – моногенное заболевание, вызванное мутациями в гене кодирующем белок A20 и нарушением ингибирования NF-κB-сигнального пути. Сопровождается возникновением ряда заболеваний и симптомов, таких как: язвы слизистой ротовой полости и желудочно-кишечного тракта, рецидивирующая лихорадка, поражения кожи, аутоиммунные заболевания, аутоиммунный тиреоидит, аутоиммунный гепатит, ревматоидный артрит, сахарный диабет 1 типа, системная красная волчанка, лимфаденопатия, поражение суставов, сердечно-сосудистые заболевания, инфекции дыхательных путей [36, 46, 61-63]. Часто этим пациентам ставят диагноз болезнь Бехчета [46]. Время манифестации и клинические проявления коррелируют с локализацией мутаций в различных участках гена A20, кодирующих OTU- и ZnF-домены [46].

Хронические воспалительные заболевания

Метаанализ позволил выявить варианты однонуклеотидных полиморфизмов гена A20, ассоциированных с системной красной волчанкой [64] и псориазом [65].

В моделях *in vitro* и *in vivo* и ряде клинических исследований показано, что A20 участвует в патогенезе хронических воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата. A20 участвует в патогенезе артрита [26]. Исследование образцов ткани хряща людей, страдающих остеоартритом, выявило снижение экспрессии A20 и активацию экспрессии IL-1β [66]. Активация экспрессии A20 в хондроцитах и синовиоцитах приводит снижению экспрессии провоспалительных цитокинов [66, 67]. Мутации в участке гена

A20, кодирующем седьмой цинковый палец ZnF7 ZnF-домена белка A20, приводят к развитию артрита у мышей [47, 68]. Исследование моноцитов периферической крови, предшественников макрофагов и остеокластов, у пациентов с ревматоидным артритом выявило сниженную экспрессию A20 [69].

Снижение экспрессии A20 наблюдается при анкилозирующем спондилите [70]. Экспрессия A20 компенсаторно активируется в ткани межпозвоночного диска при развитии дегенеративных изменений. В эксперименте на клетках студенистого ядра межпозвоночного диска показано, что активация экспрессии A20 подавляет воспаление и замедляет прогрессирование дегенерации межпозвоночного диска, тогда как нокдаун A20 сопровождается тяжелым воспалением [71]. Подавление экспрессии A20, приводит к активации NF-κB, инфламмасом NLRP3 и апоптоза, ускоряя дегенеративные изменения в межпозвоночном диске и развитие межпозвоночной грыжи [27]. Активация экспрессии A20 снижает болевой синдром в модели грыжи поясничного диска у крыс и подавляет экспрессию NF-κB в ткани студенистого ядра межпозвоночного диска, и активность канонического NF-κB-сингального пути [72].

Повышение экспрессии A20 наблюдается в тканях десны и нейтрофилах у пациентов с периодонтитом. Исследование *in vitro* показало, что воздействие липополисахаридов и никотина активирует экспрессию A20 в клетках периодонтальной связки человека. В среде, содержащей клетки периодонтальной связки, трансфецированные рекомбинантным аденовирусом A20, подавляется дифференцировка макрофагов костного мозга мышей в остеокласты. Данное исследование демонстрирует терапевтический потенциал индукции A20 в лечении воспалительных заболеваний, сопровождающихся деструкцией костной ткани [73].

Исследование роли A20 в развитии фиброза печени выявило, что у пациентов наблюдается компенсаторная активация экспрессии A20 в тканях печени, которая коррелирует со стадией фиброза. Компенсаторный характер

изменений авторы подтверждают индукцией белков, принимающих участие в развитии фиброза, в культуре клеток при подавлении экспрессии A20 и снижением фиброза у мышей при повышенной экспрессии A20 [74].

Заболевания с острым воспалительным процессом

Белок A20 участвует в регуляции воспалительного ответа и при остром воспалении. В клиническом исследовании был обнаружен вариант однонуклеотидного полиморфизма в промоторе A20, при котором снижена экспрессия A20, что сопряжено с повышенным риском системного воспалительного ответа при остром панкреатите [75]. В исследовании липополисахарид-индуцированного воспалительного ответа на клетках мезотелия брюшины крыс было показано, что активация экспрессии A20 снижает активность NF-κB-сигнального пути и экспрессию провоспалительных цитокинов. Данный эффект позволяет предположить участие A20 в регуляции воспалительного ответа мезотелия при перитоните [76]. В модели острого респираторного дистресс синдрома на крысах было показано, что A20 подавляет воспаление, ингибируя NF-κB-сигнальный путь [77].

Аутоиммунные заболевания

Полиморфизмы в гене A20 сопряжены с развитием аутоиммунных заболеваний [24]. Клинические и экспериментальные исследования выявили участие A20 в патогенезе сахарного диабета 1 типа. Развитие сахарного диабета 1 типа связано с апоптозом β-клеток поджелудочной железы. В исследовании *in vitro* на клетках мышей было показано, что A20 подавляет апоптоз β-клеток [78]. Подавление экспрессии A20 приводит к апоптозу клеток островков Лангерганса человека *in vitro* [79]. В клиническом исследовании у детей с сахарным диабетом 1 типа был выявлен аллель гена A20 с однонуклеотидным полиморфизмом, позволяющий прогнозировать снижение остаточной функции β-клеток, нарушение регуляции уровня глюкозы, снижение уровня С-пептида и повышение уровня гликированного гемоглобина через 12 месяцев после начала болезни [78]. В семье с выявленной мутацией в гене A20 с появлением стоп

кодона в ZnF-домене описано развитие сахарного диабета 1 типа [63]. При сахарном диабете гипергликемия вызывает поражение эндотелия сосудов. В эксперименте *in vitro* на эндотелиальных клетках пупочной вены человека повышение экспрессии A20, подавляло активацию NF-κB, адгезию моноцитов и апоптоз эндотелиальных клеток, вызванных гипергликемией [80].

Сердечно-сосудистые заболевания

Экспериментальные исследования показали кардио- и ангиопротекторное действие активации экспрессии белка A20 в патогенезе ряда сердечно-сосудистых заболеваний. Исследование на крысах и кардиомиоцитах в моделях поражения миокарда ишемией/реперфузией выявило кардиопротекторный эффект гинкголида B, опосредованный A20, сопровождавшийся подавлением активности NF-κB-сигнального пути, со снижением объема инфаркта и экспрессии провоспалительных цитокинов [81]. В патогенезе лёгочной гипертензии хроническая гипоксия вызывает гиперплазию интимы и активацию ангиогенеза. В параллельных исследованиях *in vivo* на крысах и *in vitro* на эндотелиальных клетках легочной артерии показано, что в ответ на гипоксию развивается адаптивная транзиторная индукция A20 с активацией отрицательной обратной связи и подавлением активности NF-κB. Репрессия A20 приводит к активации ангиогенеза [82]. При лёгочной гипертензии наблюдается ремоделирование сосудов с неконтролируемой пролиферацией гладкомышечных клеток. В модели на линии мышей продемонстрировано, что на фоне хронической гипоксии снижается экспрессия A20. У мышей трансфицированных A20 аденовирусом наблюдается подавление активности NF-κB-сигнального пути и торможение пролиферации гладкомышечных клеток [83]. В исследовании *in vitro* на эндотелиальных клетках сосудов микроциркуляторного русла крыс повышение экспрессии A20 подавляет экспрессию NF-κB, TNF-α и IL-1β, вызванную гипоксией/реоксигенацией и введением липополисахаридов [84].

Нефропротекторный эффект повышения экспрессии A20 был показан в эксперименте на крысах. Защищая почки от поражения ишемией/реперфузией, A20 подавлял NF-κB-сигнальный путь и апоптоз эпителиальных клеток проксимальных канальцев нефрона [85]. На модели гипоксии/реперфузии у мышей показано компенсаторное повышение экспрессии A20 в гепатоцитах [86].

Онкологические заболевания

Роль A20 в патогенезе и прогрессировании опухолей неоднозначна. Исследования показывают, что A20 способен играть роль супрессора опухолевого роста. Обнаружено, что A20 является супрессором при некоторых В-клеточных лимфомах [24]. В некоторых подтипах В- и Т-клеточных лимфом часто выявляют делеции и мутации инактивирующие ген A20 [35]. В большинстве опухолей наблюдается стойкая индукция NF-κB [87]. Конститутивная активация NF-κB сопряжена с пролиферацией и выживаемостью опухолевых клеток при классической лимфоме Ходжкина. В клетках Рид-Штернберга, полученных биопсией, в большинстве случаев оба аллеля гена TNFAIP3, кодирующего A20, были инактивированы. Секвенирование гена показало различные варианты мутаций. Восстановление дикого типа гена TNFAIP3 в клетках с нарушенной экспрессией A20 подавляло активность NF-κB-сигнального пути и вызывало цитотоксический эффект [88]. Сообщается, что A20 сочетает функции супрессора гепатоцеллюлярной карциномы и гепатопротектора [89]. В исследовании *in vitro* клетки аденоидно-кистозной карциномы слюнных желез трансфецировали кДНК A20 (ген pEGPFN3-A20). Повышенная экспрессия A20, сопряженная с торможением активации NF-κB, сопровождалась подавлением инвазии опухолевых клеток [90].

В то же время сообщается, что A20 вовлечен в развитие лекарственной устойчивости клеток рака прямой кишки [91], молочной железы [92]; устойчивости клеток глиобластомы к TNF-индуцированному апоптозу [93]. Повышенная экспрессия белка A20 в клетках Рид-Штернберга, делает их

устойчивыми к CD30-опосредованному апоптозу [94]. Репрессия A20 повышает цитотоксическое противоопухолевое действие интерферона гамма на клетки гепатоцеллюлярной карциномы [95].

Заключение

Цинк абсолютно необходим для нормального функционирования иммунной системы и регуляции воспалительного ответа. Механизмы противовоспалительного действия цинка связаны с его структурной, сигнальной и каталитической функциями. В качестве структурного компонента, второго посредника и межклеточной сигнальной частицы цинк участвует в функционировании сигнал-трансдукторных путей, модулирующих воспаление. Цинк влияет на активность транскрипционного фактора NF-κB, одного из ключевых регуляторов воспаления. Данный эффект осуществляется опосредованно, преимущественно через белок A20 – главный отрицательный регулятор NF-κB-сигнального пути. Цинк и как структурный компонент, и как регулятор участвует в функционировании белка A20. Противовоспалительные эффекты A20 главным образом связаны с ZnF4 и ZnF7 цинковыми пальцами ZnF-домена, при нарушении функционирования которых развивается тяжелое воспаление и летальный исход. В моделях *in vitro* и *in vivo* показано, что цинк индуцирует экспрессию A20. С активацией экспрессии A20 связывают противовоспалительные и цитопротекторные эффекты цинка. Новые исследования роли A20 в патогенезе различных заболеваний расширяют потенциал A20 в качестве терапевтической мишени и позволяют пересмотреть существующие стратегии и оценить новые потенциальные возможности применения цинка в лечении и профилактике широкого ряда заболеваний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Raulin J. Etudes clinique sur la vegetation. *Ann Sci Natl Botan Biol Veget.* 1869; 11:293-299.
2. Prasad A.S., Halsted J.A., Nadimi M. Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. *Am J Med.* 1961; 31:532-46. doi: 10.1016/0002-9343(61)90137-1.
3. Kambe T., Tsuji T., Hashimoto A., Itsumura N. The Physiological, Biochemical, and Molecular Roles of Zinc Transporters in Zinc Homeostasis and Metabolism. *Physiol Rev.* 2015; 95:749-784. doi:10.1152/physrev.00035.2014.
4. Fukada T., Kambe T., eds. *Zinc Signaling. Second Edition.* Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2019. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-0557-7>.
5. Miller J., McLachlan A.D., Klug A. Repetitive zinc-binding domains in the protein transcription factor IIIA from *Xenopus* oocytes. *EMBO J.* 1985; 4(6):1609-14. doi: 10.1002/j.1460-2075.1985.tb03825.x.
6. Chen B., Yu P., Chan W.N., Xie F., et al. Cellular zinc metabolism and zinc signaling: from biological functions to diseases and therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther.* 2024; 9(1):6. doi: 10.1038/s41392-023-01679-y.
7. Maret W. The Arcana of Zinc. *J Nutr.* 2025; 155(3):669-675. doi:10.1016/j.tjnut.2025.01.004.
8. Prasad A.S., Bao B. Molecular Mechanisms of Zinc as a Pro-Antioxidant Mediator: Clinical Therapeutic Implications. *Antioxidants (Basel).* 2019; 8(6):164. doi: 10.3390/antiox8060164.
9. Hübner C., Haase H. Interactions of zinc- and redox-signaling pathways. *Redox Biol.* 2021; 41:101916. doi: 10.1016/j.redox.2021.101916.
10. Hershfinkel M. The Zinc Sensing Receptor, ZnR/GPR39, in Health and Disease. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(2):439. doi: 10.3390/ijms19020439.
11. Wessells K.R., Brown K.H. Estimating the global prevalence of zinc deficiency: results based on zinc availability in national food supplies and the prevalence of stunting. *PLoS One.* 2012; 7(11):e50568. doi: 10.1371/journal.pone.0050568.

12. Penny M.E. Zinc supplementation in public health. *Ann Nutr Metab.* 2013; 62 Suppl 1:31-42. doi: 10.1159/000348263.
13. McAlpine G., ed. *Focus on signal transduction research.* New York: Nova Science Publishers; 2007.
14. Foster M., Samman S. Zinc and regulation of inflammatory cytokines: implications for cardiometabolic disease. *Nutrients.* 2012; 4(7):676-94. doi: 10.3390/nu4070676.
15. Kanda N., Hoashi T., Saeki H.. Nutrition and Atopic Dermatitis. *J Nippon Med Sch.* 2021; 88(3):171-177. doi: 10.1272/jnms.JNMS.2021_88-317.
16. Henze L.A., Estepa M., Pieske B., Lang F., et al. Zinc Ameliorates the Osteogenic Effects of High Glucose in Vascular Smooth Muscle Cells. *Cells.* 2021; 10(11):3083. doi: 10.3390/cells10113083.
17. Briassoulis G., Briassoulis P., Ilia S., Miliaraki M., et al. The Anti-Oxidative, Anti-Inflammatory, Anti-Apoptotic, and Anti-Necroptotic Role of Zinc in COVID-19 and Sepsis. *Antioxidants (Basel).* 2023; 12(11):1942. doi: 10.3390/antiox12111942.
18. Prasad A.S., Beck F.W., Snell D.C., Kucuk O. Zinc in cancer prevention. *Nutr Cancer.* 2009; 61(6):879-87. doi: 10.1080/01635580903285122.
19. Schott-Ohly P., Lgssiar A., Partke H.J., Hassan M., et al. Prevention of spontaneous and experimentally induced diabetes in mice with zinc sulfate-enriched drinking water is associated with activation and reduction of NF-kappa B and AP-1 in islets, respectively. *Exp Biol Med (Maywood).* 2004; 229(11):1177-85. doi: 10.1177/153537020422901113.
20. Choi S., Liu X., Pan Z. Zinc deficiency and cellular oxidative stress: prognostic implications in cardiovascular diseases. *Acta Pharmacol Sin.* 2018; 39(7):1120-1132. doi: 10.1038/aps.2018.25.
21. Bao B., Prasad A.S., Beck F.W., Fitzgerald J.T., et al. Zinc decreases C-reactive protein, lipid peroxidation, and inflammatory cytokines in elderly subjects: a potential implication of zinc as an atheroprotective agent. *Am J Clin Nutr.* 2010; 91(6):1634-41. doi: 10.3945/ajcn.2009.28836.

22. Prasad A.S. Zinc is an Antioxidant and Anti-Inflammatory Agent: Its Role in Human Health. *Front Nutr.* 2014; 1:14. doi: 27.3389/fnut.2014.00014.
23. Jarosz M., Olbert M., Wyszogrodzka G., Młyniec K., et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of zinc. Zinc-dependent NF- κ B signaling. *Inflammopharmacology.* 2017; 25(1):11-24. doi: 10.1007/s10787-017-0309-4.
24. Verstrepen L., Verhelst K., van Loo G., Carpentier I., et al. Expression, biological activities and mechanisms of action of A20 (TNFAIP3). *Biochem Pharmacol.* 2010; 80(12):2009-20. doi: 10.1016/j.bcp.2010.06.044.
25. Priem D., Devos M., Druwé S., Martens A., et al. A20 protects cells from TNF-induced apoptosis through linear ubiquitin-dependent and -independent mechanisms. *Cell Death Dis.* 2019; 10(10):692. doi: 10.1038/s41419-019-1937-y.
26. Wu Y., He X., Huang N., Yu J., et al. A20: a master regulator of arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2020; 22(1):220. doi: 10.1186/s13075-020-02281-1.
27. Tang P., Liu B. Overactivation of NF- κ B pathway can induce apoptosis by down-regulating glycolysis in human degenerative nucleus pulposus cells. *Heliyon.* 2024; 10(17):e36905. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e36905.
28. Liu T., Zhang L., Joo D., et al. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther.* 2017; 2:17023. doi:10.1038/sigtrans.2017.23.
29. Sun X., Xu S., Liu T., Wu J., et al. Zinc supplementation alleviates oxidative stress to inhibit chronic gastritis via the ROS/NF- κ B pathway in a mouse model. *Food Funct.* 2024; 15(13):7136-7147. doi: 10.1039/d4fo01142b.
30. Bodiga V.L., Inapurapu S.P., Vemuri P.K., Kudle M.R., et al. Intracellular zinc status influences cisplatin-induced endothelial permeability through modulation of PKC α , NF- κ B and ICAM-1 expression. *Eur J Pharmacol.* 2016; 791:355-368. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.09.013.
31. Morgan C.I., Ledford J.R., Zhou P., Page K. Zinc supplementation alters airway inflammation and airway hyperresponsiveness to a common allergen. *J Inflamm (Lond).* 2011; 8:36. doi: 10.1186/1476-9255-8-36.

32. Ajibare A.J., Odetayo A.F., Akintoye O.O., Olayaki L.A. Zinc ameliorates acrylamide-induced oxidative stress and apoptosis in testicular cells via Nrf2/HO-1/NfκB and Bax/Bcl2 signaling pathway. *Redox Rep.* 2024; 29(1):2341537. doi: 10.1080/13510002.2024.2341537.
33. Igumenova T.I. Dynamics and membrane interactions of protein kinase C. *Biochemistry.* 2015; 54(32): 4953-4968. doi:10.1021/acs.biochem.5b00565.
34. Gutierrez D.B., Gant-Branum R.L., Romer C.E., et al. An Integrated, High-Throughput Strategy for Multiomic Systems Level Analysis. *J Proteome Res.* 2018; 17(10):3396-3408. doi:10.1021/acs.jproteome.8b00302.
35. Ma Y., Liao Z., Xu Y., Zhong Z., Wang X., et al. Characteristics of CARMA1-BCL10-MALT1-A20-NF-κB expression in T cell-acute lymphocytic leukemia. *Eur J Med Res.* 2014; 19(1):62. doi: 10.1186/s40001-014-0062-8.
36. Bagyinszky E., An S.S.A. Genetic Mutations Associated With TNFAIP3 (A20) Haploinsufficiency and Their Impact on Inflammatory Diseases. *Int J Mol Sci.* 2024; 25(15):8275. doi: 10.3390/ijms25158275.
37. Enesa K., Evans P. The biology of A20-like molecules. *Adv Exp Med Biol.* 2014; 809:33-48. doi: 10.1007/978-1-4939-0398-6_3.
38. Kim T., Bae S.-C., Kang C. Synergistic activation of NF-κB by TNFAIP3 (A20) reduction and UBE2L3 (UBCH7) augment that synergistically elevate lupus risk. *Arthritis Research & Therapy.* 2020; 22:93. <https://doi.org/10.1186/s13075-020-02181-4>.
39. Prasad A.S., Bao B., Beck F.W., Kucuk O., et al. Antioxidant effect of zinc in humans. *Free Radic Biol Med.* 2004; 37(8):1182-90. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.07.007.
40. Verhelst K., Carpentier I., Kreike M., Meloni L., et al. A20 inhibits LUBAC-mediated NF-κB activation by binding linear polyubiquitin chains via its zinc finger 7. *EMBO J.* 2012; 31(19):3845-55. doi: 10.1038/emboj.2012.240.

41. Wertz I.E., O'Rourke K.M., Zhou H., Eby M., et al. Deubiquitination and ubiquitin ligase domains of A20 downregulate NF-kappaB signalling. *Nature*. 2004; 430:694–9. doi: 10.1038/nature02794.
42. Lu T.T., Onizawa M., Hammer G.E., Turer E.E., et al. Dimerization and ubiquitin mediated recruitment of A20, a complex deubiquitinating enzyme. *Immunity*. 2013; 38(5):896-905. doi: 10.1016/j.immuni.2013.03.008.
43. Lapid D., Lahav-Baratz S., Cohen S. A20 inhibits both the degradation and limited processing of the NF-κB p105 precursor: A novel additional layer to its regulator role. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017; 493(1):52-57. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.09.075.
44. Yamaguchi N., Yamaguchi N. The seventh zinc finger motif of A20 is required for the suppression of TNF-α-induced apoptosis. *FEBS Lett*. 2015; 589(12):1369-75. doi: 10.1016/j.febslet.2015.04.022.
45. Yin H., Karayel O., Chao Y.Y., Seeholzer T., et al. A20 and ABIN-1 cooperate in balancing CBM complex-triggered NF-κB signaling in activated T cells. *Cell Mol Life Sci*. 2022; 79(2):112. doi: 10.1007/s00018-022-04154-z.
46. Chen Y., Ye Z., Chen L., Qin T., et al. Association of Clinical Phenotypes in Haploinsufficiency A20 (HA20) With Disrupted Domains of A20. *Front Immunol*. 2020; 11:574992. doi: 10.3389/fimmu.2020.574992.
47. Razani B., Whang M.I., Kim F.S., Nakamura M.C., et al. Non-catalytic ubiquitin binding by A20 prevents psoriatic arthritis-like disease and inflammation. *Nat Immunol*. 2020; 21(4):422-433. doi: 10.1038/s41590-020-0634-4.
48. Martens A., Priem D., Hoste E., Vettters J., et al. Two distinct ubiquitin-binding motifs in A20 mediate its anti-inflammatory and cell-protective activities. *Nat Immunol*. 2020; 21(4):381-387. doi: 10.1038/s41590-020-0621-9.
49. Wertz I.E., Newton K., Seshasayee D., Kusam S., et al. Phosphorylation and linear ubiquitin direct A20 inhibition of inflammation. *Nature*. 2015; 528(7582):370-5. doi: 10.1038/nature16165.

50. Yang F.M., Shen L., Fan D.D., Bai Y., et al. YAP9/A20 complex suppresses proinflammatory responses and provides novel anti-inflammatory therapeutic potentials. *Front Immunol.* 2022; 13:914381. doi: 10.3389/fimmu.2022.914381.
51. Prasad A.S., Bao B., Beck F.W., Sarkar F.H. Zinc-suppressed inflammatory cytokines by induction of A20-mediated inhibition of nuclear factor- κ B. *Nutrition.* 2011; 27(7-8):816-23. doi: 10.1016/j.nut.2010.08.010.
52. Yan Y.W., Fan J., Bai S.L., Hou W.J., et al. Zinc Prevents Abdominal Aortic Aneurysm Formation by Induction of A20-Mediated Suppression of NF- κ B Pathway. *PLoS One.* 2016; 11(2):e0148536. doi: 10.1371/journal.pone.0148536.
53. Hayashi K., Kataoka H., Minami M., Ikedo T., et al. Association of zinc administration with growth suppression of intracranial aneurysms via induction of A20. *J Neurosurg.* 2020; 134(3):992-998. doi: 10.3171/2020.1.JNS192047.
54. Shen B., Mei M., Ai S., Liao X., et al. TRPC6 inhibits renal tubular epithelial cell pyroptosis through regulating zinc influx and alleviates renal ischemia-reperfusion injury. *FASEB J.* 2022; 36(10):e22527. doi: 10.1096/fj.202200109RR.
55. Chi Y., Zhang X., Liang D., Wang Y., et al. ZnT8 Exerts Anti-apoptosis of Kidney Tubular Epithelial Cell in Diabetic Kidney Disease Through TNFAIP3-NF- κ B Signal Pathways. *Biol Trace Elem Res.* 2023; 201(5):2442-2457. doi: 10.1007/s12011-022-03361-w.
56. Hongxia L., Yuxiao T., Zhilei S., Yan S., et al. Zinc inhibited LPS-induced inflammatory responses by upregulating A20 expression in microglia BV2 cells. *J Affect Disord.* 2019; 249:136-142. doi: 10.1016/j.jad.2019.02.041.
57. Hu Y., Zhang W., Yang K., Lin X., et al. Dietary Zn proteinate with moderate chelation strength alleviates heat stress-induced intestinal barrier function damage by promoting expression of tight junction proteins via the A20/NF- κ B p65/MMP-2 pathway in the jejunum of broilers. *J Anim Sci Biotechnol.* 2024; 15(1):115. doi: 10.1186/s40104-024-01075-8.

58. Voelkl J., Tuffaha R., Luong T.T.D., Zickler D., et al. Zinc Inhibits Phosphate-Induced Vascular Calcification through TNFAIP3-Mediated Suppression of NF- κ B. *J Am Soc Nephrol*. 2018; 29(6):1636-1648. doi: 10.1681/ASN.2017050492.
59. Chen W., Chen A., Lian G., Yan Y., et al. Zinc attenuates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats through upregulation of A20. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2024; 195:24–35. doi.org/10.1016/j.yjmcc.2024.07.003.
60. Li C., Guo S., Gao J., Guo Y., et al. Maternal high-zinc diet attenuates intestinal inflammation by reducing DNA methylation and elevating H3K9 acetylation in the A20 promoter of offspring chicks. *J Nutr Biochem*. 2015; 26(2):173-83. doi: 10.1016/j.jnutbio.2014.10.005.
61. Elhani I., Riller Q., Boursier G., Hentgen V., et al. A20 Haploinsufficiency: A Systematic Review of 177 Cases. *J Invest Dermatol*. 2024; 144(6):1282-1294.e8. doi: 10.1016/j.jid.2023.12.007.
62. Dong X., Liu L., Wang Y., Yang X., et al. Novel Heterogeneous Mutation of TNFAIP3 in a Chinese Patient with Behçet-Like Phenotype and Persistent EBV Viremia. *J Clin Immunol*. 2019; 39(2):188-194. doi: 10.1007/s10875-019-00604-9.
63. Rossi M.N., Federici S., Uva A., Passarelli C., et al. Identification of a Novel Mutation in TNFAIP3 in a Family With Poly-Autoimmunity. *Front Immunol*. 2022; 13:804401. doi: 10.3389/fimmu.2022.804401.
64. Fan Y., Tao J.H., Zhang L.P., Li L.H., et al. The association between BANK1 and TNFAIP3 gene polymorphisms and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Int J Immunogenet*. 2011; 38(2):151-9. doi: 10.1111/j.1744-313X.2010.00990.x.
65. Tejasvi T., Stuart P.E., Chandran V., Voorhees J.J., et al. TNFAIP3 gene polymorphisms are associated with response to TNF blockade in psoriasis. *J Invest Dermatol*. 2012; 132(3 Pt 1):593-600. doi: 10.1038/jid.2011.376.
66. Cui S.B., Wang T.X., Liu Z.W., Yan J.Y., et al. Zinc finger protein A20 regulates the development and progression of osteoarthritis by affecting the activity of NF- κ B p65. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2021; 43(6):713-723. doi: 10.1080/08923973.2021.1970764.

67. Yun Z., Peng H.Z., Wang W., Ma Q., et al. A20 inhibits the release of inflammatory cytokines by suppressing the activation of the nuclear factor-kappa B pathway in osteoarthritic fibroblast-like synoviocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019; 508(3):877-881. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.12.030.
68. Polykratis A., Martens A., Eren R.O., Shirasaki Y., et al. A20 prevents inflammasome-dependent arthritis by inhibiting macrophage necroptosis through its ZnF7 ubiquitin-binding domain. *Nat Cell Biol.* 2019; 21(6):731-742. doi: 10.1038/s41556-019-0324-3.
69. Zhang L., Yao Y., Tian J., Jiang W., et al. Alterations and abnormal expression of A20 in peripheral monocyte subtypes in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2021; 40(1):341-348. doi: 10.1007/s10067-020-05137-w.
70. Zhai Y., Lin P., Feng Z., Lu H., et al. TNFAIP3-DEPTOR complex regulates inflammasome secretion through autophagy in ankylosing spondylitis monocytes. *Autophagy.* 2018; 14(9):1629-1643. doi: 10.1080/15548627.2018.1458804.
71. Zhang Y., Yi W., Xia H., Lan H., et al. A20 regulates inflammation through autophagy mediated by NF- κ B pathway in human nucleus pulposus cells and ameliorates disc degeneration in vivo. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021; 549:179-186. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.02.115.
72. Xie Z., Chen J., Xiao Z., Li Y., et al. TNFAIP3 alleviates pain in lumbar disc herniation rats by inhibiting the NF- κ B pathway. *Ann Transl Med.* 2022; 10(2):80. doi: 10.21037/atm-21-6499.
73. Hong J.Y., Bae W.J., Yi J.K., Kim G.T., et al. Anti-inflammatory and anti-osteoclastogenic effects of zinc finger protein A20 overexpression in human periodontal ligament cells. *J Periodontal Res.* 2016; 51(4):529-39. doi: 10.1111/jre.12332.
74. Zhang H., Shi Z., Guo Y., Wu D., et al. Tumor Necrosis Factor Alpha-Induced Protein-3 Inhibits the Activation of Hepatic Stellate Cells by Regulating the p65 Molecule in the NF- κ B Signaling Pathway. *Altern Ther Health Med.* 2024; 30(2):171-177.

75. Liu Y., Dan G., Wu L., Chen G., et al. Functional effect of polymorphisms in the promoter of TNFAIP3 (A20) in acute pancreatitis in the Han Chinese population. *PLoS One*. 2014; 9(7):e103104. doi: 10.1371/journal.pone.0103104.
76. Zou X.L., Pei D.A., Yan J.Z., Xu G., et al. A20 overexpression inhibits lipopolysaccharide-induced NF- κ B activation, TRAF6 and CD40 expression in rat peritoneal mesothelial cells. *Int J Mol Sci*. 2014; 15(4):6592-608. doi: 10.3390/ijms15046592.
77. Wu D.Q., Wu H.B., Zhang M., Wang J.A. Effects of Zinc Finger Protein A20 on Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Pulmonary Inflammation/Anti-Inflammatory Mediators in an Acute Lung Injury/Acute Respiratory Distress Syndrome Rat Model. *Med Sci Monit*. 2017; 23:3536-3545. doi: 10.12659/msm.901700.
78. Fukaya M., Brorsson C.A., Meyerovich K., Catrysse L., et al. A20 Inhibits β -Cell Apoptosis by Multiple Mechanisms and Predicts Residual β -Cell Function in Type 1 Diabetes. *Mol Endocrinol*. 2016; 30(1):48-61. doi: 10.1210/me.2015-1176.
79. Ratajczak W., Atkinson S.D., Kelly C. A20 controls expression of beta-cell regulatory genes and transcription factors. *J Mol Endocrinol*. 2021; 67(4):189-201. doi: 10.1530/JME-21-0076.
80. Hou C.L., Zhang W., Wei Y., Mi J.H., et al. Zinc finger protein A20 overexpression inhibits monocyte homing and protects endothelial cells from injury induced by high glucose. *Genet Mol Res*. 2011; 10(2):1050-9. doi: 10.4238/vol10-2gmr1102.
81. Zhang R., Xu L., Zhang D., Hu B., et al. Cardioprotection of Ginkgolide B on Myocardial Ischemia/Reperfusion-Induced Inflammatory Injury via Regulation of A20-NF- κ B Pathway. *Front Immunol*. 2018; 9:2844. doi: 10.3389/fimmu.2018.02844.
82. Li J., Zhang L., Zhang Y., Liu Y., et al. A20 deficiency leads to angiogenesis of pulmonary artery endothelial cells through stronger NF- κ B activation under hypoxia. *J Cell Mol Med*. 2016; 20(7):1319-28. doi: 10.1111/jcmm.12816. 26991692

83. Chen M., Ding Z., Zhang F., Shen H., et al. A20 attenuates hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension by inhibiting NF- κ B activation and pulmonary artery smooth muscle cell proliferation. *Exp Cell Res.* 2020; 390(2):111982. doi: 10.1016/j.yexcr.2020.111982.
84. Han D., Fang W., Zhang R., Wei J., et al. Clematichinenoside protects blood brain barrier against ischemic stroke superimposed on systemic inflammatory challenges through up-regulating A20. *Brain Behav Immun.* 2016; 51:56-69. doi: 10.1016/j.bbi.2015.07.025.
85. Wei L., Zhang X., Ye Q., Yang Y., et al. The transfection of A20 gene prevents kidney from ischemia reperfusion injury in rats. *Mol Med Rep.* 2017; 16(2):1486-1492. doi: 10.3892/mmr.2017.6725.
86. Sun J., Sun L., Zhang N., Lu X., et al. A20 is up-regulated in primary mouse hepatocytes subjected to hypoxia and reperfusion. *Cell Biochem Funct.* 2012; 30(8):683-6. doi: 10.1002/cbf.2850.
87. Tang Y.J., Khalaf A.T., Liu X.M., Xu C.X., et al. Zinc finger A20 and NF- κ B correlate with high-risk human papillomavirus of squamous cell carcinoma patients. *Tumour Biol.* 2014; 35(12):11855-60. doi: 10.1007/s13277-014-2416-9.
88. Schmitz R., Hansmann M.L., Bohle V., Martin-Subero J.I., et al. TNFAIP3 (A20) is a tumor suppressor gene in Hodgkin lymphoma and primary mediastinal B cell lymphoma. *J Exp Med.* 2009; 206(5):981-9. doi: 10.1084/jem.20090528.
89. Yi P.S., Shu Y., Bi W.X., Zheng X.B., et al. Emerging role of zinc finger protein A20 as a suppressor of hepatocellular carcinoma. *J Cell Physiol.* 2019; 234(12):21479-21484. doi: 10.1002/jcp.28877.
90. Zhang B., Guan C.C., Chen W.T., Zhang P., et al. A20 inhibits human salivary adenoid cystic carcinoma cells invasion via blocking nuclear factor-kappaB activation. *Chin Med J (Engl).* 2007; 120(20):1830-5.
91. Paul S., Bhardwaj M., Kang S.C. GSTO1 confers drug resistance in HCT-116 colon cancer cells through an interaction with TNF α IP3/A20. *Int J Oncol.* 2022; 61(5):136. doi: 10.3892/ijo.2022.5426.

92. Vendrell J.A., Ghayad S., Ben-Larbi S., Dumontet C., et al. A20/TNFAIP3, a new estrogen-regulated gene that confers tamoxifen resistance in breast cancer cells. *Oncogene*. 2007; 26(32):4656-67. doi: 10.1038/sj.onc.1210269.
93. Bellail A.C., Olson J.J., Yang X., Chen Z.J., et al. A20 ubiquitin ligase-mediated polyubiquitination of RIP1 inhibits caspase-8 cleavage and TRAIL-induced apoptosis in glioblastoma. *Cancer Discov*. 2012; 2(2):140-55. doi: 10.1158/2159-8290.CD-11-0172.
94. Dürkop H., Hirsch B., Hahn C., Foss H.D., et al. Differential expression and function of A20 and TRAF1 in Hodgkin lymphoma and anaplastic large cell lymphoma and their induction by CD30 stimulation. *J Pathol*. 2003; 200(2):229-39. doi: 10.1002/path.1351.
95. Yin L., Fang Z., Shen N.J., Qiu Y.H., et al. Downregulation of A20 increases the cytotoxicity of IFN- γ in hepatocellular carcinoma cells. *Drug Des Devel Ther*. 2017; 11:2841-2850. doi: 10.2147/DDDT.S135993.

REFERENCES

1. Raulin J. Etudes clinique sur la vegetation. *Ann Sci Natl Botan Biol Veget*. 1869; 11:293-299.
2. Prasad A.S., Halsted J.A., Nadimi M. Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. *Am J Med*. 1961; 31:532-46. doi: 10.1016/0002-9343(61)90137-1.
3. Kambe T., Tsuji T., Hashimoto A., Itsumura N. The Physiological, Biochemical, and Molecular Roles of Zinc Transporters in Zinc Homeostasis and Metabolism. *Physiol Rev*. 2015; 95:749-784. doi:10.1152/physrev.00035.2014.
4. Fukada T., Kambe T., eds. *Zinc Signaling. Second Edition*. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2019. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-0557-7>.
5. Miller J., McLachlan A.D., Klug A. Repetitive zinc-binding domains in the protein transcription factor IIIA from *Xenopus* oocytes. *EMBO J*. 1985; 4(6):1609-14. doi: 10.1002/j.1460-2075.1985.tb03825.x.

6. Chen B., Yu P., Chan W.N., Xie F., et al. Cellular zinc metabolism and zinc signaling: from biological functions to diseases and therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther.* 2024; 9(1):6. doi: 10.1038/s41392-023-01679-y.
7. Maret W. The Arcana of Zinc. *J Nutr.* 2025; 155(3):669-675. doi:10.1016/j.tjnut.2025.01.004.
8. Prasad A.S., Bao B. Molecular Mechanisms of Zinc as a Pro-Antioxidant Mediator: Clinical Therapeutic Implications. *Antioxidants (Basel).* 2019; 8(6):164. doi: 10.3390/antiox8060164.
9. Hübner C., Haase H. Interactions of zinc- and redox-signaling pathways. *Redox Biol.* 2021; 41:101916. doi: 10.1016/j.redox.2021.101916.
10. Hershfinkel M. The Zinc Sensing Receptor, ZnR/GPR39, in Health and Disease. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(2):439. doi: 10.3390/ijms19020439.
11. Wessells K.R., Brown K.H. Estimating the global prevalence of zinc deficiency: results based on zinc availability in national food supplies and the prevalence of stunting. *PLoS One.* 2012; 7(11):e50568. doi: 10.1371/journal.pone.0050568.
12. Penny M.E. Zinc supplementation in public health. *Ann Nutr Metab.* 2013; 62 Suppl 1:31-42. doi: 10.1159/000348263.
13. McAlpine G., ed. *Focus on signal transduction research.* New York: Nova Science Publishers; 2007.
14. Foster M., Samman S. Zinc and regulation of inflammatory cytokines: implications for cardiometabolic disease. *Nutrients.* 2012; 4(7):676-94. doi: 10.3390/nu4070676.
15. Kanda N., Hoashi T., Saeki H.. Nutrition and Atopic Dermatitis. *J Nippon Med Sch.* 2021; 88(3):171-177. doi: 10.1272/jnms.JNMS.2021_88-317.
16. Henze L.A., Estepa M., Pieske B., Lang F., et al. Zinc Ameliorates the Osteogenic Effects of High Glucose in Vascular Smooth Muscle Cells. *Cells.* 2021; 10(11):3083. doi: 10.3390/cells10113083.

17. Briassoulis G., Briassoulis P., Ilia S., Miliaraki M., et al. The Anti-Oxidative, Anti-Inflammatory, Anti-Apoptotic, and Anti-Necroptotic Role of Zinc in COVID-19 and Sepsis. *Antioxidants (Basel)*. 2023; 12(11):1942. doi: 18.3390/antiox12111942.
18. Prasad A.S., Beck F.W., Snell D.C., Kucuk O. Zinc in cancer prevention. *Nutr Cancer*. 2009; 61(6):879-87. doi: 19.1080/01635580903285122.
19. Schott-Ohly P., Lgssiar A., Partke H.J., Hassan M., et al. Prevention of spontaneous and experimentally induced diabetes in mice with zinc sulfate-enriched drinking water is associated with activation and reduction of NF-kappa B and AP-1 in islets, respectively. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2004; 229(11):1177-85. doi: 10.1177/153537020422901113.
20. Choi S., Liu X., Pan Z. Zinc deficiency and cellular oxidative stress: prognostic implications in cardiovascular diseases. *Acta Pharmacol Sin*. 2018; 39(7):1120-1132. doi: 10.1038/aps.2018.25.
21. Bao B., Prasad A.S., Beck F.W., Fitzgerald J.T., et al. Zinc decreases C-reactive protein, lipid peroxidation, and inflammatory cytokines in elderly subjects: a potential implication of zinc as an atheroprotective agent. *Am J Clin Nutr*. 2010; 91(6):1634-41. doi: 10.3945/ajcn.2009.28836.
22. Prasad A.S. Zinc is an Antioxidant and Anti-Inflammatory Agent: Its Role in Human Health. *Front Nutr*. 2014; 1:14. doi: 27.3389/fnut.2014.00014.
23. Jarosz M., Olbert M., Wyszogrodzka G., Młyniec K., et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of zinc. Zinc-dependent NF-κB signaling. *Inflammopharmacology*. 2017; 25(1):11-24. doi: 10.1007/s10787-017-0309-4.
24. Verstrepen L., Verhelst K., van Loo G., Carpentier I., et al. Expression, biological activities and mechanisms of action of A20 (TNFAIP3). *Biochem Pharmacol*. 2010; 80(12):2009-20. doi: 10.1016/j.bcp.2010.06.044.
25. Priem D., Devos M., Druwé S., Martens A., et al. A20 protects cells from TNF-induced apoptosis through linear ubiquitin-dependent and -independent mechanisms. *Cell Death Dis*. 2019; 10(10):692. doi: 10.1038/s41419-019-1937-y.

26. Wu Y., He X., Huang N., Yu J., et al. A20: a master regulator of arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2020; 22(1):220. doi: 10.1186/s13075-020-02281-1.
27. Tang P., Liu B. Overactivation of NF- κ B pathway can induce apoptosis by down-regulating glycolysis in human degenerative nucleus pulposus cells. *Heliyon.* 2024; 10(17):e36905. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e36905.
28. Liu T., Zhang L., Joo D., et al. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther.* 2017; 2:17023. doi:10.1038/sigtrans.2017.23.
29. Sun X., Xu S., Liu T., Wu J., et al. Zinc supplementation alleviates oxidative stress to inhibit chronic gastritis via the ROS/NF- κ B pathway in a mouse model. *Food Funct.* 2024; 15(13):7136-7147. doi: 10.1039/d4fo01142b.
30. Bodiga V.L., Inapurapu S.P., Vemuri P.K., Kudle M.R., et al. Intracellular zinc status influences cisplatin-induced endothelial permeability through modulation of PKC α , NF- κ B and ICAM-1 expression. *Eur J Pharmacol.* 2016; 791:355-368. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.09.013.
31. Morgan C.I., Ledford J.R., Zhou P., Page K. Zinc supplementation alters airway inflammation and airway hyperresponsiveness to a common allergen. *J Inflamm (Lond).* 2011; 8:36. doi: 10.1186/1476-9255-8-36.
32. Ajibare A.J., Odetayo A.F., Akintoye O.O., Olayaki L.A. Zinc ameliorates acrylamide-induced oxidative stress and apoptosis in testicular cells via Nrf2/HO-1/Nf κ B and Bax/Bcl2 signaling pathway. *Redox Rep.* 2024; 29(1):2341537. doi: 10.1080/13510002.2024.2341537.
33. Igumenova T.I. Dynamics and membrane interactions of protein kinase C. *Biochemistry.* 2015; 54(32): 4953-4968. doi:10.1021/acs.biochem.5b00565.
34. Gutierrez D.B., Gant-Branum R.L., Romer C.E., et al. An Integrated, High-Throughput Strategy for Multiomic Systems Level Analysis. *J Proteome Res.* 2018; 17(10):3396-3408. doi:10.1021/acs.jproteome.8b00302.
35. Ma Y., Liao Z., Xu Y., Zhong Z., Wang X., et al. Characteristics of CARMA1-BCL10-MALT1-A20-NF- κ B expression in T cell-acute lymphocytic leukemia. *Eur J Med Res.* 2014; 19(1):62. doi: 10.1186/s40001-014-0062-8.

36. Bagyinszky E., An S.S.A. Genetic Mutations Associated With TNFAIP3 (A20) Haploinsufficiency and Their Impact on Inflammatory Diseases. *Int J Mol Sci.* 2024; 25(15):8275. doi: 10.3390/ijms25158275.
37. Enesa K., Evans P. The biology of A20-like molecules. *Adv Exp Med Biol.* 2014; 809:33-48. doi: 10.1007/978-1-4939-0398-6_3.
38. Kim T., Bae S.-C., Kang C. Synergistic activation of NF- κ B by TNFAIP3 (A20) reduction and UBE2L3 (UBCH7) augment that synergistically elevate lupus risk. *Arthritis Research & Therapy.* 2020; 22:93. <https://doi.org/10.1186/s13075-020-02181-4>.
39. Prasad A.S., Bao B., Beck F.W., Kucuk O., et al. Antioxidant effect of zinc in humans. *Free Radic Biol Med.* 2004; 37(8):1182-90. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.07.007.
40. Verhelst K., Carpentier I., Kreike M., Meloni L., et al. A20 inhibits LUBAC-mediated NF- κ B activation by binding linear polyubiquitin chains via its zinc finger 7. *EMBO J.* 2012; 31(19):3845-55. doi: 10.1038/emboj.2012.240.
41. Wertz I.E., O'Rourke K.M., Zhou H., Eby M., et al. Deubiquitination and ubiquitin ligase domains of A20 downregulate NF-kappaB signalling. *Nature.* 2004; 430:694–9. doi: 10.1038/nature02794.
42. Lu T.T., Onizawa M., Hammer G.E., Turer E.E., et al. Dimerization and ubiquitin mediated recruitment of A20, a complex deubiquitinating enzyme. *Immunity.* 2013; 38(5):896-905. doi: 10.1016/j.immuni.2013.03.008.
43. Lapid D., Lahav-Baratz S., Cohen S. A20 inhibits both the degradation and limited processing of the NF- κ B p105 precursor: A novel additional layer to its regulator role. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017; 493(1):52-57. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.09.075.
44. Yamaguchi N., Yamaguchi N. The seventh zinc finger motif of A20 is required for the suppression of TNF- α -induced apoptosis. *FEBS Lett.* 2015; 589(12):1369-75. doi: 10.1016/j.febslet.2015.04.022.

45. Yin H., Karayel O., Chao Y.Y., Seeholzer T., et al. A20 and ABIN-1 cooperate in balancing CBM complex-triggered NF- κ B signaling in activated T cells. *Cell Mol Life Sci.* 2022; 79(2):112. doi: 10.1007/s00018-022-04154-z.
46. Chen Y., Ye Z., Chen L., Qin T., et al. Association of Clinical Phenotypes in Haploinsufficiency A20 (HA20) With Disrupted Domains of A20. *Front Immunol.* 2020; 11:574992. doi: 10.3389/fimmu.2020.574992.
47. Razani B., Whang M.I., Kim F.S., Nakamura M.C., et al. Non-catalytic ubiquitin binding by A20 prevents psoriatic arthritis-like disease and inflammation. *Nat Immunol.* 2020; 21(4):422-433. doi: 10.1038/s41590-020-0634-4.
48. Martens A., Priem D., Hoste E., Vettters J., et al. Two distinct ubiquitin-binding motifs in A20 mediate its anti-inflammatory and cell-protective activities. *Nat Immunol.* 2020; 21(4):381-387. doi: 10.1038/s41590-020-0621-9.
49. Wertz I.E., Newton K., Seshasayee D., Kusam S., et al. Phosphorylation and linear ubiquitin direct A20 inhibition of inflammation. *Nature.* 2015; 528(7582):370-5. doi: 10.1038/nature16165.
50. Yang F.M., Shen L., Fan D.D., Bai Y., et al. YAP9/A20 complex suppresses proinflammatory responses and provides novel anti-inflammatory therapeutic potentials. *Front Immunol.* 2022; 13:914381. doi: 10.3389/fimmu.2022.914381.
51. Prasad A.S., Bao B., Beck F.W., Sarkar F.H. Zinc-suppressed inflammatory cytokines by induction of A20-mediated inhibition of nuclear factor- κ B. *Nutrition.* 2011; 27(7-8):816-23. doi: 10.1016/j.nut.2010.08.010.
52. Yan Y.W., Fan J., Bai S.L., Hou W.J., et al. Zinc Prevents Abdominal Aortic Aneurysm Formation by Induction of A20-Mediated Suppression of NF- κ B Pathway. *PLoS One.* 2016; 11(2):e0148536. doi: 10.1371/journal.pone.0148536.
53. Hayashi K., Kataoka H., Minami M., Ikedo T., et al. Association of zinc administration with growth suppression of intracranial aneurysms via induction of A20. *J Neurosurg.* 2020; 134(3):992-998. doi: 10.3171/2020.1.JNS192047.

54. Shen B., Mei M., Ai S., Liao X., et al. TRPC6 inhibits renal tubular epithelial cell pyroptosis through regulating zinc influx and alleviates renal ischemia-reperfusion injury. *FASEB J.* 2022; 36(10):e22527. doi: 10.1096/fj.202200109RR.
55. Chi Y., Zhang X., Liang D., Wang Y., et al. ZnT8 Exerts Anti-apoptosis of Kidney Tubular Epithelial Cell in Diabetic Kidney Disease Through TNFAIP3-NF- κ B Signal Pathways. *Biol Trace Elem Res.* 2023; 201(5):2442-2457. doi: 10.1007/s12011-022-03361-w.
56. Hongxia L., Yuxiao T., Zhilei S., Yan S., et al. Zinc inhibited LPS-induced inflammatory responses by upregulating A20 expression in microglia BV2 cells. *J Affect Disord.* 2019; 249:136-142. doi: 10.1016/j.jad.2019.02.041.
57. Hu Y., Zhang W., Yang K., Lin X., et al. Dietary Zn proteinate with moderate chelation strength alleviates heat stress-induced intestinal barrier function damage by promoting expression of tight junction proteins via the A20/NF- κ B p65/MMP-2 pathway in the jejunum of broilers. *J Anim Sci Biotechnol.* 2024; 15(1):115. doi: 10.1186/s40104-024-01075-8.
58. Voelkl J., Tuffaha R., Luong T.T.D., Zickler D., et al. Zinc Inhibits Phosphate-Induced Vascular Calcification through TNFAIP3-Mediated Suppression of NF- κ B. *J Am Soc Nephrol.* 2018; 29(6):1636-1648. doi: 10.1681/ASN.2017050492.
59. Chen W., Chen A., Lian G., Yan Y., et al. Zinc attenuates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats through upregulation of A20. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology.* 2024; 195:24–35. doi.org/10.1016/j.yjmcc.2024.07.003.
60. Li C., Guo S., Gao J., Guo Y., et al. Maternal high-zinc diet attenuates intestinal inflammation by reducing DNA methylation and elevating H3K9 acetylation in the A20 promoter of offspring chicks. *J Nutr Biochem.* 2015; 26(2):173-83. doi: 10.1016/j.jnutbio.2014.10.005.
61. Elhani I., Riller Q., Boursier G., Hentgen V., et al. A20 Haploinsufficiency: A Systematic Review of 177 Cases. *J Invest Dermatol.* 2024; 144(6):1282-1294.e8. doi: 10.1016/j.jid.2023.12.007.

62. Dong X., Liu L., Wang Y., Yang X., et al. Novel Heterogeneous Mutation of TNFAIP3 in a Chinese Patient with Behçet-Like Phenotype and Persistent EBV Viremia. *J Clin Immunol.* 2019; 39(2):188-194. doi: 10.1007/s10875-019-00604-9.
63. Rossi M.N., Federici S., Uva A., Passarelli C., et al. Identification of a Novel Mutation in TNFAIP3 in a Family With Poly-Autoimmunity. *Front Immunol.* 2022; 13:804401. doi: 10.3389/fimmu.2022.804401.
64. Fan Y., Tao J.H., Zhang L.P., Li L.H., et al. The association between BANK1 and TNFAIP3 gene polymorphisms and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Int J Immunogenet.* 2011; 38(2):151-9. doi: 10.1111/j.1744-313X.2010.00990.x.
65. Tejasvi T., Stuart P.E., Chandran V., Voorhees J.J., et al. TNFAIP3 gene polymorphisms are associated with response to TNF blockade in psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2012; 132(3 Pt 1):593-600. doi: 10.1038/jid.2011.376.
66. Cui S.B., Wang T.X., Liu Z.W., Yan J.Y., et al. Zinc finger protein A20 regulates the development and progression of osteoarthritis by affecting the activity of NF- κ B p65. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2021; 43(6):713-723. doi: 10.1080/08923973.2021.1970764.
67. Yun Z., Peng H.Z., Wang W., Ma Q., et al. A20 inhibits the release of inflammatory cytokines by suppressing the activation of the nuclear factor-kappa B pathway in osteoarthritic fibroblast-like synoviocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019; 508(3):877-881. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.12.030.
68. Polykratis A., Martens A., Eren R.O., Shirasaki Y., et al. A20 prevents inflammasome-dependent arthritis by inhibiting macrophage necroptosis through its ZnF7 ubiquitin-binding domain. *Nat Cell Biol.* 2019; 21(6):731-742. doi: 10.1038/s41556-019-0324-3.
69. Zhang L., Yao Y., Tian J., Jiang W., et al. Alterations and abnormal expression of A20 in peripheral monocyte subtypes in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2021; 40(1):341-348. doi: 10.1007/s10067-020-05137-w.

70. Zhai Y., Lin P., Feng Z., Lu H., et al. TNFAIP3-DEPTOR complex regulates inflammasome secretion through autophagy in ankylosing spondylitis monocytes. *Autophagy*. 2018; 14(9):1629-1643. doi: 10.1080/15548627.2018.1458804.
71. Zhang Y., Yi W., Xia H., Lan H., et al. A20 regulates inflammation through autophagy mediated by NF- κ B pathway in human nucleus pulposus cells and ameliorates disc degeneration in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*. 2021; 549:179-186. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.02.115.
72. Xie Z., Chen J., Xiao Z., Li Y., et al. TNFAIP3 alleviates pain in lumbar disc herniation rats by inhibiting the NF- κ B pathway. *Ann Transl Med*. 2022; 10(2):80. doi: 10.21037/atm-21-6499.
73. Hong J.Y., Bae W.J., Yi J.K., Kim G.T., et al. Anti-inflammatory and anti-osteoclastogenic effects of zinc finger protein A20 overexpression in human periodontal ligament cells. *J Periodontal Res*. 2016; 51(4):529-39. doi: 10.1111/jre.12332.
74. Zhang H., Shi Z., Guo Y., Wu D., et al. Tumor Necrosis Factor Alpha-Induced Protein-3 Inhibits the Activation of Hepatic Stellate Cells by Regulating the p65 Molecule in the NF- κ B Signaling Pathway. *Altern Ther Health Med*. 2024; 30(2):171-177.
75. Liu Y., Dan G., Wu L., Chen G., et al. Functional effect of polymorphisms in the promoter of TNFAIP3 (A20) in acute pancreatitis in the Han Chinese population. *PLoS One*. 2014; 9(7):e103104. doi: 10.1371/journal.pone.0103104.
76. Zou X.L., Pei D.A., Yan J.Z., Xu G., et al. A20 overexpression inhibits lipopolysaccharide-induced NF- κ B activation, TRAF6 and CD40 expression in rat peritoneal mesothelial cells. *Int J Mol Sci*. 2014; 15(4):6592-608. doi: 10.3390/ijms15046592.
77. Wu D.Q., Wu H.B., Zhang M., Wang J.A. Effects of Zinc Finger Protein A20 on Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Pulmonary Inflammation/Anti-Inflammatory Mediators in an Acute Lung Injury/Acute Respiratory Distress Syndrome Rat Model. *Med Sci Monit*. 2017; 23:3536-3545. doi: 10.12659/msm.901700.

78. Fukaya M., Brorsson C.A., Meyerovich K., Catrysse L., et al. A20 Inhibits β -Cell Apoptosis by Multiple Mechanisms and Predicts Residual β -Cell Function in Type 1 Diabetes. *Mol Endocrinol.* 2016; 30(1):48-61. doi: 10.1210/me.2015-1176.
79. Ratajczak W., Atkinson S.D., Kelly C. A20 controls expression of beta-cell regulatory genes and transcription factors. *J Mol Endocrinol.* 2021; 67(4):189-201. doi: 10.1530/JME-21-0076.
80. Hou C.L., Zhang W., Wei Y., Mi J.H., et al. Zinc finger protein A20 overexpression inhibits monocyte homing and protects endothelial cells from injury induced by high glucose. *Genet Mol Res.* 2011; 10(2):1050-9. doi: 10.4238/vol10-2gmr1102.
81. Zhang R., Xu L., Zhang D., Hu B., et al. Cardioprotection of Ginkgolide B on Myocardial Ischemia/Reperfusion-Induced Inflammatory Injury via Regulation of A20-NF- κ B Pathway. *Front Immunol.* 2018; 9:2844. doi: 10.3389/fimmu.2018.02844.
82. Li J., Zhang L., Zhang Y., Liu Y., et al. A20 deficiency leads to angiogenesis of pulmonary artery endothelial cells through stronger NF- κ B activation under hypoxia. *J Cell Mol Med.* 2016; 20(7):1319-28. doi: 10.1111/jcmm.12816. 26991692
83. Chen M., Ding Z., Zhang F., Shen H., et al. A20 attenuates hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension by inhibiting NF- κ B activation and pulmonary artery smooth muscle cell proliferation. *Exp Cell Res.* 2020; 390(2):111982. doi: 10.1016/j.yexcr.2020.111982.
84. Han D., Fang W., Zhang R., Wei J., et al. Clematichinenoside protects blood brain barrier against ischemic stroke superimposed on systemic inflammatory challenges through up-regulating A20. *Brain Behav Immun.* 2016; 51:56-69. doi: 10.1016/j.bbi.2015.07.025.
85. Wei L., Zhang X., Ye Q., Yang Y., et al. The transfection of A20 gene prevents kidney from ischemia reperfusion injury in rats. *Mol Med Rep.* 2017; 16(2):1486-1492. doi: 10.3892/mmr.2017.6725.

86. Sun J., Sun L., Zhang N., Lu X., et al. A20 is up-regulated in primary mouse hepatocytes subjected to hypoxia and reperfusion. *Cell Biochem Funct.* 2012; 30(8):683-6. doi: 10.1002/cbf.2850.
87. Tang Y.J., Khalaf A.T., Liu X.M., Xu C.X., et al. Zinc finger A20 and NF- κ B correlate with high-risk human papillomavirus of squamous cell carcinoma patients. *Tumour Biol.* 2014; 35(12):11855-60. doi: 10.1007/s13277-014-2416-9.
88. Schmitz R., Hansmann M.L., Bohle V., Martin-Subero J.I., et al. TNFAIP3 (A20) is a tumor suppressor gene in Hodgkin lymphoma and primary mediastinal B cell lymphoma. *J Exp Med.* 2009; 206(5):981-9. doi: 10.1084/jem.20090528.
89. Yi P.S., Shu Y., Bi W.X., Zheng X.B., et al. Emerging role of zinc finger protein A20 as a suppressor of hepatocellular carcinoma. *J Cell Physiol.* 2019; 234(12):21479-21484. doi: 10.1002/jcp.28877.
90. Zhang B., Guan C.C., Chen W.T., Zhang P., et al. A20 inhibits human salivary adenoid cystic carcinoma cells invasion via blocking nuclear factor-kappaB activation. *Chin Med J (Engl).* 2007; 120(20):1830-5.
91. Paul S., Bhardwaj M., Kang S.C. GSTO1 confers drug resistance in HCT-116 colon cancer cells through an interaction with TNF α IP3/A20. *Int J Oncol.* 2022; 61(5):136. doi: 10.3892/ijo.2022.5426.
92. Vendrell J.A., Ghayad S., Ben-Larbi S., Dumontet C., et al. A20/TNFAIP3, a new estrogen-regulated gene that confers tamoxifen resistance in breast cancer cells. *Oncogene.* 2007; 26(32):4656-67. doi: 10.1038/sj.onc.1210269.
93. Bellail A.C., Olson J.J., Yang X., Chen Z.J., et al. A20 ubiquitin ligase-mediated polyubiquitination of RIP1 inhibits caspase-8 cleavage and TRAIL-induced apoptosis in glioblastoma. *Cancer Discov.* 2012; 2(2):140-55. doi: 10.1158/2159-8290.CD-11-0172.
94. Dürkop H., Hirsch B., Hahn C., Foss H.D., et al. Differential expression and function of A20 and TRAF1 in Hodgkin lymphoma and anaplastic large cell lymphoma and their induction by CD30 stimulation. *J Pathol.* 2003; 200(2):229-39. doi: 10.1002/path.1351.

95. Yin L., Fang Z., Shen N.J., Qiu Y.H., et al. Downregulation of A20 increases the cytotoxicity of IFN- γ in hepatocellular carcinoma cells. *Drug Des Devel Ther.* 2017; 11:2841-2850. doi: 10.2147/DDDT.S135993.