

Antioksidan redoks sistemi üzerinde metallotionin ve çinko ilişkisinin önemi

Importance of relationship metallothioneins and zinc
on the antioxidant redox system

Özet

Metallotioninler (MT), stres yanıtına katılan, ağır metal bağlayıcı ve sisteinden zengin küçük proteinlerdir. İçerdikleri sülfür grupları sayesinde hücreleri oksidan ve elektrofilik moleküllerin etkilerinden korurlar. Esas rolleri tanımlanmamış MT proteinlerinin, işlevlerinin keşfi için yapılan çalışmalar devam etmektedir. İlk olarak, at böbreği korteksinden izole edip tanımlan bu proteinlerin, bütün canlı organizmalarda bulunduğu ve yaygın özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu proteinlerin hayati rolleri, kadmiyum, civa gibi çevresel toksik metalleri bağlamaları ve çinko (Zn) ve bakır gibi fizyolojik önemi olan metallerin iyonize formlarını düzenlemeleridir. Zn'nin emilimi, hücre içi taşınması, mobilizasyonu, depolanması ve transferinde temel düzenleyici olarak rol alan MT'ler, serbest radikallerin yakalanmasında da önemli etkilere sahiptirler.

Anahtar Kelimeler: metallotionin; serbest radikaller; çinko; oksidatif stres; tiyol; antioksidan.

Abstract

Metallothioneins (MT), participating in the stress response, and heavy metal-binding cysteine-rich small proteins. They protect cells the effects from oxidant and electrophilic molecules through sulfur group contents. For the discovery of functions of essential roles undefined MT proteins, studies are ongoing. They were firstly isolated and identified from horse kidney cortex proteins. Today they are present in all living organisms and have been determined to have common characteristics. The vital role of these proteins, such cadmium and mercury connect as the environmental toxic metals and zinc (Zn) and copper as well as the physiological significance of the metals are regulation of ionized forms. In the absorption of Zn, intracellular transport, mobilization, storage and transfer of Zn, which acts as a major regulator of MTs, have a major impact. The MTs have also important role in scavenge of free oxygen radicals.

Keywords: metallothionein; free radicals; zinc; oxidative stress; thiol; antioxidant.

* Betül Yazğan
** Yener Yazğan

* Selçuk Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD,
Konya

** Süleyman Demirel Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Biyofizik AD,
Isparta

Yazışma Adresi:
Betül Yazğan
Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi
E Blok, Fizyoloji Anabilim Dalı,
Selçuklu / Konya
Tel: + 90 332 261 04 28
Fax: +90 332 261 04 28
e-mail: yener8275@hotmail.com

Giriş

MT'ler, içerdikleri zengin tiyol grupları sayesinde, başta antioksidan süreçler olmak üzere birçok fizyolojik ve patolojik olayda rol alan proteinlerdir. Hg, Cd ve kurşun (Pb) gibi ağır metallerin detoksifikasyonunun sağlanması, Cu ve Zn gibi esansiyel metallerin düzenlenmesi, oksijen radikallerine karşı antioksidan etki ve DNA'yı hasara karşı koruma, hücrelerin canlılığının sürdürülmesi, anjiyogenez, apoptozis ve bununla birlikte çoğalma fonksiyonları gibi birçok önemli olayda rol oynarlar (1). MT'lerin rolleri dört ana başlık altında incelenebilir:

- 1- Zn ve Cu gibi eser elementlerin depolanması ve hücre bölümlerine dağıtılması.
2. Zn - proteinlerin, enzimlerin ve Zn bağımlı transkripsiyon faktörlerinin biyosentezinin düzenlenmesi.
3. Reaktif oksijen türleri, iyonize radyasyon, elektrofilik-antikanser ilaçlar, metaller ve her türlü mutajen etkenin yol açtığı toksik etkilerden dokuların korunması.
4. Ağır metallerin detoksifiye edilmesi.

MT'lerin tüm bu işlevlerinin, içerdikleri metal-tiyolat kümelerinin redoks aktivitesine dayandığı kabul edilmektedir (2).

Metallotioninlerin Yapısı ve İzofomları

MT ilk olarak 1957 yılında at böbreği korteksinden bir Cd bağlayıcı protein olarak izole edilmiş ve yüksek sülfür ve metal içeriğine sahip bir protein olarak tanımlanmıştır (1). MT'ler insan, bakteri, bitki, vertebral ve vertebrasız tüm canlılarda bulunmaktadır (3). MT'nin X-Ray Kristallografi ve NMR Spektroskopisi gibi üç boyutlu yöntemlerle yapılan incelemelerinde memeli MT proteininin 61-68 aminoasit içerdiği Zn ve Cu gibi esansiyel metaller ile Cd ve Hg gibi toksik metalleri bağlayabildiği gösterilmiştir (4, 5). MT'nin N-Terminal ucunu oluşturan beta bölgesi, 9 sistein aminoasidi bulundurur ve 3 sülfür atomunun oluşturduğu köprüler sayesinde 3 divalent metal iyonu bağlarken, C- Terminal ucunu oluşturan alfa bölgesi de C-terminal uçta bulunan 11 sistein aminoasidinin 5 sülfür köprüsü sayesinde 4 divalent metal iyonu bağlamaktadır (6).

Memeli MT'nin 4 izoformu vardır. MT-I ve MT-II memelilerde tüm dokularda eksprese edilen en yaygın formudur (7) ve sentezi metaller, hormonlar, glukokortikoidler, sitokinler ve oksidatif stresle indüklenmektedir. MT-III en fazla beyin dokusunda olmak üzere, kalp, böbrek ve reproduktif organlarda MT-IV ise oral epitel, özofagus, mide üst bölgesi, kuyruk, ayak tabanı ve stratifiye squamöz epitel hücrelerinde tespit edilmiştir (8). İnsanlarda MT 16q13 kromozomu üzerinde bulunan ailesel bir gen tarafından kodlanmaktadır. MT-III ve MT-IV proteinleri tek bir gen tarafından kodlanırken; MT-I proteini birçok gen tarafından kodlanan (MT-IA, IB, IE, IF, IG, IH, IM, IX) alt tiplere, MT-II ise MT-II ve MT-IIA alt tiplerine ayrılmıştır (9). Farklı formları temel olarak post-translasyonel modifikasyonlarla oluşmakta, primer yapılarındaki küçük değişiklikler bağlayacağı metal iyonlarının tipi ve bozulma hızını belirlemektedir. Formlarının fiziksel-kimyasal yapılarının benzerliğine rağmen, rolleri ve dokulardaki çeşitliliği istatistiksel olarak anlamlı derecede çeşitlilik göstermektedir (3).

Çinko Homeostazisi

Zn'nin canlılığın devamı, çoğalması ve immün sistemin faaliyetlerinin sürdürülmesinde elzem bir elementtir (10, 11). Sistemik ve hücrel Zn dengesinin kontrolü tüm biyolojik sistemler için hayati önem taşımaktadır. Zn dengesi; Zn taşıyıcılar ve Zn bağlayan moleküllerle sağlanır (12). Hücrel Zn'nin çoğu yüksek bir afiniteyle proteinlere, MT'lere, Glutasyon'a (GSH) sistein, histidin ve difosfat molekülleri içeren diğer hücrel komponentlere bağlı olup aktif formu olan serbest hücrel Zn nispeten daha azdır. (13-15). Memelilerde Zn'nin hücre zarlarından taşınmasını sağlayan, ZnT (SLC30) ve ZIP (SLC39) olarak adlandırılan iki taşıyıcı protein ailesi vardır (16). ZIP ailesinin 10 ve ZnT ailesinin 14 üyesi mevcuttur. ZnT ailesi Zn'nin hücre dışına, organellere veya sekretuar vezikül ve granüllere taşınması ile ilgili iken; ZIP ailesi çoğunlukla hücre zarında yerleşimlidir ve Zn'nin hücre içine taşınmasını ve sitozolik Zn miktarının artışı sağlamakla görevlidir (17). ZnT1 ve ZnT5 hücre zarında bulunur, ZnT1 hücre içi Zn miktarını azaltırken, ZnT5 arttırmaktadır (18). Diğer ZnT ailesi üyelerinin tamamı hücrel organeller üzerinde yerleşimlidir ve Zn'nin sitozolden organellere taşınmasında görevlidir

(15). Zn düzeylerindeki değişiklikler, hormonlar ve sitokinler bu taşıyıcıların ekspresyonlarını düzenler (19, 20). Bu taşıyıcılarda oluşan mutasyonlar ve ekspresyonlarında veya fonksiyonlarında meydana gelen düzensizlikler, birçok hastalığın ortaya çıkması ile ilişkili bulunmuştur (21).

Çinko ve MT

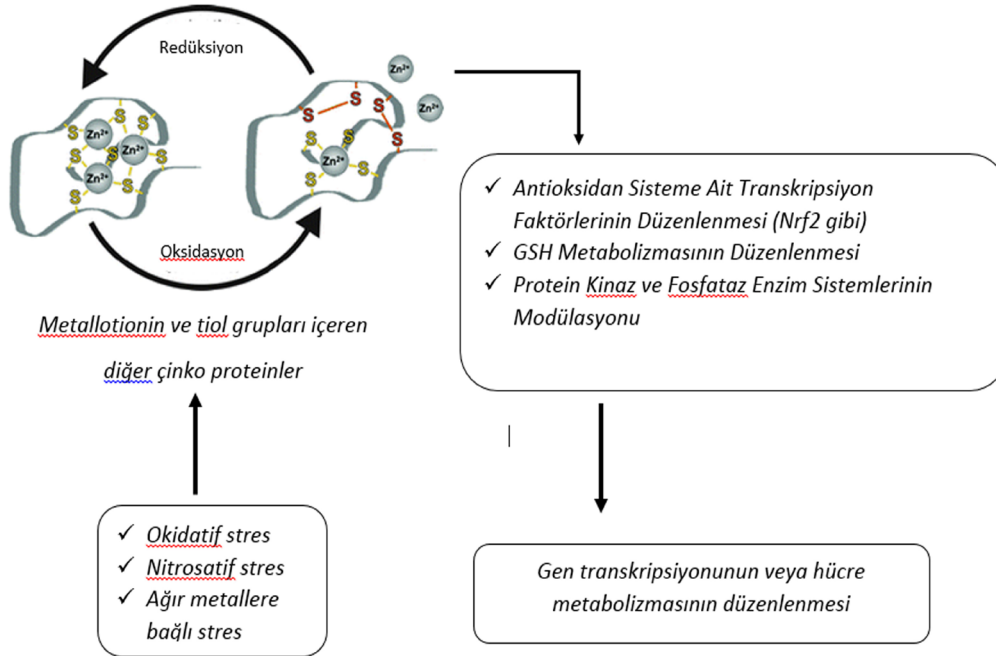
MT'ler Zn'nin bağırsaklardan emiliminin düzenlenmesi (22) ve hücre içinde Zn'nin depolanması veya serbest bırakılması gibi rolleriyle Zn homeostazisinde oldukça önemli proteinlerdir. Diyetle alınan Zn miktarı arttığında bağırsak epitel hücrelerinde MT ekspresyonu indüklenir ve Zn emilimi azaltılır (22, 23). MT'ler en önemli hücre içi Zn depolarıdır ve MT'lerdeki Zn, birçok durumda ihtiyaç duyulan miktarda hücre bölümlerinde dinamik bir şekilde yer değiştirir (24). MT I ve II geninden yoksun farelerde, MT I ve II'nin genetik olarak eksikliği toksisiteye ve Zn eksikliğine karşı duyarlılığı arttırmıştır (24, 25). Zn eksikliğinin oksidatif stresle ilişkili olduğu, buna

karşılık Zn takviyesinin oksidatif hasardan koruduğu çeşitli hücre ve dokularla yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (26, 27). Zn eksikliğinde antioksidan savunma sistemi zayıflar (28) ve doku oksidatif parametreleri artar (28, 29). Aynı zamanda hücre içi serbest Zn konsantrasyonunun aşırı artması da hücre için toksiktir (30) ancak MT ekspresyonu Zn artışıyla indüklenerek serbest Zn'yi bağlar ve oluşturacağı toksiste önlenir (31).

Zn'nin ve Zn-MT ilişkisinin antioksidan sistemde üstlendikleri merkezi rolleri şöyle özetlenebilir;

i. Zn'nin GSH metabolizmasında önemli rolü olduğu ve GSH yetersizliğinin Zn eksikliği ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir, (28, 32, 33). Antioksidan enzim genlerinin transkripsiyonunu düzenleyen faktör'ün (Nrf2) Zn'ye bağlı olarak aktive olduğu ve GSH sentezini arttırdığı belirlenmiştir (34).

ii. Zn proteinler, metaller, serbest radikaller ve okside GSH gibi serbest radikal üreten moleküllere maruz kaldıklarında, içerdikleri sülfür kümelerine bağlı Zn'yi serbest bırakır (46, 64) ve Zn'nin aktif formu olan bu serbest Zn, antioksidan sinyalini düzenleyici olarak görev alır (Şekil 1).



Şekil 1: Çinko tarafından redoks sinyalinin düzenlenmesi

iii. Zn, sülfür ve nitrojen atomları ile istikrarlı kompleksler yaparak protein, steroid ve nükleik asitleri biyolojik olarak kararlı halde tutulmasını sağlar (35).

iv. Zn, hücre zarlarındaki bağlanma bölgeleri için redox-aktif metallere (Fe, Cu) yarışarak hücre komponentlerini oksidatif hasardan korur. (36).

v. Zn, MT sentezini, Metal regulatory transcription factor 1 (MTF-1) yapımını indükleyerek artırır. Serbest Zn seviyelerindeki artışa direkt yanıt veren bu protein, MT geninin metal duyarlı bölgesini bağlar ve MT transkripsiyonunu başlatır (9) . Hücre içi Cd veya Hg gibi ağır metallerin veya serbest radikallerin seviyesi arttığında, MT'ye bağlı Zn serbest bırakılır ve serbest Zn MTF-1'e bağlanarak MT sentezini artırır (37).

vi. MT hidroksil radikali, superoksid anyonu ve peroksinitrit gibi serbest radikalleri yakalar, DNA ve doku hasarını önler, MT'nin bu etkileri GSH'den 800 kat daha fazladır. (38, 39). İn vivo çalışmalarda, fare MT ekspresyonunun artması ile iskemi-reperfüzyon hasarını azalttığı belirlenmiştir (40).

vii. Zn, beyin dokusunda Cu ve mangandan daha yüksek konsantrasyonda bulunur. En yüksek konsantrasyonu da serebellum, hipokampus, retina ve pineal bezdedir. Serbest Zn, sülfidril (-SH) içeren antioksidan enzimlerinin en güçlü inhibitörüdür ve Zn beyinde en fazla MT'ye bağlanmaktadır (41, 42). Bu bağlanma enzim inhibisyonunu azaltmaktadır.

viii. Oksidatif stres süresince beyinde GSH önemli derecede azalır. Karmustinin indüklediği hipokampal toksidite MT'nin, GSH redüktaz inhibisyonunu ve GSH yetersizliğini önlediği, TNF- α , MDA, ve caspase-3 aktivitesini azalttığı sıçanlarda gösterilmiştir (43, 44). Bu bulgular MT'nin nörodejeneratif hastalıklarda ve diğer bozukluklarda önemini göstermektedir.

ix. İmmünohistokimyasal çalışmalar hızlı hücre çoğalması durumunda MT ekspresyonunun sitoplazmada ve çekirdekte arttığını göstermiştir. Çekirdekteki artışın DNA'nın oksidatif hasardan korunması veya Zn içeren enzimler ve transkripsiyon faktörlerinin sentezi için olabileceği tahmin edilmektedir (45).

x. MT'ler, biyolojik sistemlerde toksik etkileri olan Cd ve Hg gibi ağır metallerin toksik etkilerinden dokuları korur. MT Cd'nin bağırsaktan absorpsiyonunda minimal etkilere sahipken, dokulardaki Cd retansiyonunda önemli rol oynamakta ve Cd'nin safraya atılmasını azaltmaktadır (46, 47). Metal yer değiştirme çalışmaları 7 adet Zn iyonu bağlı MT Zn7-MT'deki Zn iyonlarının, Cd⁺² ve Hg⁺² metallerin düzeylerinin artması durumlarında bu metallerle yer değiştirdiğini ve serbest kalan Zn'nin MT ekspresyonunu indüklediğini göstermiştir (6).

MT ve Zn çok önemli antioksidanlardır. Bunlara ilaveten MT'nin bilinen çok sayıda hastalığın fizyopatolojisinde rol aldığı bilinmektedir. Çeşitli hastalıklarla MT ilişkisi, çok sayıda insan hayvan ve çalışmasında araştırılmıştır. Literatürde yer alan bazı araştırmalar ve sonuçları Tablo.1'de özetlenmiştir:

Tablo.1 Bazı Patolojik durumlarda MT ve çinkonun etkileri

Patoloji	Zn ve MT'nin Etkileri	Referanslar
MT- Diyabet	1.Zn, diyabete bağlı renal hasarı MT ekspresyonunu artırıp oksidatif süreci düzenleyerek azalttı. 2.Zn, diyabette kalp fonksiyonlarını MT sentezini uyararak düzeltti.	1.(31, 48, 49) 2. (50-52)
MT-Cd,Pb,Hg toksisitesi	1.Zn Cd yol açtığı testis hasarını MT sentezindeki artışa paralel olarak önledi 2. Zn Cd ve Hg'nin yol açtığı böbrek ve KC hasarını MT sentezindeki artışa paralel olarak önledi.	1.(53, 54) 2.(55, 56)
MT-Kanser	1. Meme ve prostat kanserlerinde MT'nin bazı izoformları ve mesane kanserinde MT-III ekspresyonu arttı. 2. Nazofarangeal kanser ve nazal polip hücrelerinde MT overekspresyonu belirlendi.	1.(57) 2.(58, 59)
MT-SSS	MT-1 ve MT-2 delesyonu bulunan farelerde hafıza fonksiyonları ve uzamsal öğrenme süreçleri bozuldu.	(60)
MT-Gen Polimorfizmi	1. İnsan MT-IA, MT-IB polimorfizmi ile Tip-2 Diyabet ve Kardiyovasküler hastalık gelişimi riski arttı 2. MT-IB polimorfizmi ile sigara içenlerde hepatosellüller karsinom gelişimi riski arttı.	1.(61, 62) 2. (63)

Sonuç

Oksidatif stres, bilinen hastalıkların çoğunun gelişim seyri sırasında görülen bir durumdur. Oksidatif stresi baskılayan antioksidan savunma sisteminin güçlendirilmesi çok sayıda araştırmaya konu olmaktadır. MT'ler, fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde ve stresin önlenmesinde önemli rollere sahiptirler. Antioksidan savunma sisteminde merkezi bir rol üstlenen Zn'yi yüksek bir afiniteyle bağlayarak, önemli bir hücre içi Zn deposu olmasının yanında oksidatif stres sırasında Zn'yi salarak Zn'nin antioksidan rollerine aracılık eder.

MT'ler, Zn dengesinin sürdürülmesindeki merkezi rolleri, ağır metalleri detoksifiye etmeleri ve reaktif türlerin toplayıcısı olmaları hasebiyle üzerinde çok çalışılan proteinlerdir. MT'lerin potansiyeli tam olarak anlaşılammış olmasına rağmen yayınlanmış veriler, bu proteinlerin tedavi stratejileri için bir hedef olarak seçilebileceğini göstermektedir. MT'lere dair mevcut literatürün zenginliği, bu alanda düzeyli çalışmalar yapmaya olanak sağlamaktadır.

Kaynaklar

1. Thirumorthy N, Shyam Sunder A, Manisenthil Kumar K, Senthil Kumar M, Ganesh G, Chatterjee M. A review of metallothionein isoforms and their role in pathophysiology. *World journal of surgical oncology*. 2011;9:54.
2. Ruttkay-Nedecky B, Nejdil L, Gumulec J, Zitka O, Masarik M, Eckschlagler T, et al. The role of metallothionein in oxidative stress. *International journal of molecular sciences*. 2013;14(3):6044-66.
3. Villarreal L, Tio L, Capdevila M, Atrian S. Comparative metal binding and genomic analysis of the avian (chicken) and mammalian metallothionein. *The FEBS journal*. 2006;273(3):523-35.
4. Maret W. Fluorescent probes for the structure and function of metallothionein. *Journal of chromatography B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*. 2009;877(28):3378-83.
5. Kassim R, Ramseyer C, Enescu M. Oxidation reactivity of zinc-cysteine clusters in metallothionein. *Journal of biological inorganic chemistry : JBIC : a publication of the Society of Biological Inorganic Chemistry*. 2013;18(3):333-42.
6. Fowle DA, Stillman MJ. Comparison of the structures of the metal-thiolate binding site in Zn(II)-, Cd(II)-, and Hg(II)-metallothioneins using molecular modeling techniques. *Journal of biomolecular structure & dynamics*. 1997;14(4):393-406.
7. Coyle P, Philcox JC, Carey LC, Rofe AM. Metallothionein: the multipurpose protein. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2002;59(4):627-47.
8. Gonzalez-Iglesias H, Alvarez L, Garcia M, Petrash C, Sanz-Medel A, Coca-Prados M. Metallothioneins (MTs) in the human eye: a perspective article on the zinc-MT redox cycle. *Metallomics : integrated biometal science*. 2014;6(2):201-8.
9. Moleirinho A, Carneiro J, Matthiesen R, Silva RM, Amorim A, Azevedo L. Gains, losses and changes of function after gene duplication: study of the metallothionein family. *PloS one*. 2011;6(4):e18487.
10. Baltaci AK, Mogulkoc R. Leptin and zinc relation: In regulation of food intake and immunity. *Indian journal of endocrinology and metabolism*. 2012;16(Suppl 3):S611-6.
11. Ozturk A, Baltaci AK, Mogulkoc R, Oztekin E, Kul A. The effects of zinc deficiency and testosterone supplementation on leptin levels in castrated rats and their relation with LH, FSH and testosterone. *Neuro endocrinology letters*. 2005;26(5):548-54.
12. Foster M, Samman S. Zinc and redox signaling: perturbations associated with cardiovascular disease and diabetes mellitus. *Antioxidants & redox signaling*. 2010;13(10):1549-73.
13. Bozym RA, Thompson RB, Stoddard AK, Fierke CA. Measuring picomolar intracellular exchangeable zinc in PC-12 cells using a ratiometric fluorescence biosensor. *ACS chemical biology*. 2006;1(2):103-11.
14. Dittmer PJ, Miranda JG, Gorski JA, Palmer AE. Genetically encoded sensors to elucidate spatial distribution of cellular zinc. *The Journal of biological chemistry*. 2009;284(24):16289-97.
15. Xu Z, Zhou J. Zinc and myocardial ischemia/reperfusion injury. *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*. 2013;26(6):863-78.
16. Liuzzi JP, Cousins RJ. Mammalian zinc transporters. *Annual review of nutrition*. 2004;24:151-72.
17. Schweigel-Rontgen M. The families of zinc (SLC30 and SLC39) and copper (SLC31) transporters. *Current topics in membranes*. 2014;73:321-55.

18. Valentine RA, Jackson KA, Christie GR, Mathers JC, Taylor PM, Ford D. ZnT5 variant B is a bidirectional zinc transporter and mediates zinc uptake in human intestinal Caco-2 cells. *The Journal of biological chemistry*. 2007;282(19):14389-93.
19. Begum NA, Kobayashi M, Moriwaki Y, Matsumoto M, Toyoshima K, Seya T. Mycobacterium bovis BCG cell wall and lipopolysaccharide induce a novel gene, BIGM103, encoding a 7-TM protein: identification of a new protein family having Zn-transporter and Zn-metalloprotease signatures. *Genomics*. 2002;80(6):630-45.
20. Liuzzi JP, Lichten LA, Rivera S, Blanchard RK, Aydemir TB, Knutson MD, et al. Interleukin-6 regulates the zinc transporter Zip14 in liver and contributes to the hypozincemia of the acute-phase response. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(19):6843-8.
21. Kambe T, Hashimoto A, Fujimoto S. Current understanding of ZIP and ZnT zinc transporters in human health and diseases. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2014.
22. Cousins RJ. Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiological reviews*. 1985;65(2):238-309.
23. Tran CD, Butler RN, Howarth GS, Philcox JC, Rofe AM, Coyle P. Regional distribution and localization of zinc and metallothionein in the intestine of rats fed diets differing in zinc content. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 1999;34(7):689-95.
24. Kelly EJ, Quaife CJ, Froelick GJ, Palmiter RD. Metallothionein I and II protect against zinc deficiency and zinc toxicity in mice. *The Journal of nutrition*. 1996;126(7):1782-90.
25. Lazo JS, Kondo Y, Dellapiazza D, Michalska AE, Choo KH, Pitt BR. Enhanced sensitivity to oxidative stress in cultured embryonic cells from transgenic mice deficient in metallothionein I and II genes. *The Journal of biological chemistry*. 1995;270(10):5506-10.
26. Aimo L, Cherr GN, Oteiza PI. Low extracellular zinc increases neuronal oxidant production through nadph oxidase and nitric oxide synthase activation. *Free radical biology & medicine*. 2010;48(12):1577-87.
27. Andreini C, Banci L, Bertini I, Rosato A. Zinc through the three domains of life. *Journal of proteome research*. 2006;5(11):3173-8.
28. Oteiza PL, Olin KL, Fraga CG, Keen CL. Oxidant defense systems in testes from zinc-deficient rats. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine Society for Experimental Biology and Medicine*. 1996;213(1):85-91.
29. Bicer M, Gunay M, Baltaci AK, Uney K, Mogulkoc R, Akil M. Effect of zinc supplementation on lipid peroxidation and lactate levels in rats with diabetes induced by streptozotocin and subjected to acute swimming exercise. *Bratislavske lekarske listy*. 2012;113(4):199-205.
30. Ayaz M, Turan B. Selenium prevents diabetes-induced alterations in [Zn2+]i and metallothionein level of rat heart via restoration of cell redox cycle. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2006;290(3):H1071-80.
31. Ozcelik D, Naziroglu M, Tuncdemir M, Celik O, Ozturk M, Flores-Arce MF. Zinc supplementation attenuates metallothionein and oxidative stress changes in kidney of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biological trace element research*. 2012;150(1-3):342-9.
32. Baltaci AK, Sunar F, Mogulkoc R, Oztekin E. The effects of zinc deficiency and supplementation on lipid peroxidation in bone tissue of ovariectomized rats. *Toxicology*. 2004;203(1-3):77-82.
33. Kraus A, Roth HP, Kirchgessner M. Supplementation with vitamin C, vitamin E or beta-carotene influences osmotic fragility and oxidative damage of erythrocytes of zinc-deficient rats. *The Journal of nutrition*. 1997;127(7):1290-6.
34. Cortese MM, Suschek CV, Wetzel W, Kroncke KD, Kolb-Bachofen V. Zinc protects endothelial cells from hydrogen peroxide via Nrf2-dependent stimulation of glutathione biosynthesis. *Free radical biology & medicine*. 2008;44(12):2002-12.
35. Arcasoy A. Çinko ve çinko eksikliği. *Ankara Thalassemia Derneği Yayınları*. 2001;2.Baskı: 1-23.
36. Zago MP, Verstraeten SV, Oteiza PI. Zinc in the prevention of Fe2+-initiated lipid and protein oxidation. *Biological research*. 2000;33(2):143-50.
37. Zhang B, Georgiev O, Hagmann M, Gunes C, Cramer M, Faller P, et al. Activity of Metal-Responsive Transcription Factor 1 by Toxic Heavy Metals and H2O2 In Vitro Is Modulated by Metallothionein. *Molecular and Cellular Biology*. 2003;23(23):8471-85.
38. Abel J, de Ruiter N. Inhibition of hydroxyl-radical-generated DNA degradation by metallothionein. *Toxicology letters*. 1989;47(2):191-6.

39. Cai L, Klein JB, Kang YJ. Metallothionein inhibits peroxynitrite-induced DNA and lipoprotein damage. *The Journal of biological chemistry*. 2000;275(50):38957-60.
40. Kang YJ, Li Y, Sun X, Sun X. Antiapoptotic effect and inhibition of ischemia/reperfusion-induced myocardial injury in metallothionein-overexpressing transgenic mice. *The American journal of pathology*. 2003;163(4):1579-86.
41. Sharma S, Rais A, Sandhu R, Nel W, Ebadi M. Clinical significance of metallothioneins in cell therapy and nanomedicine. *International journal of nanomedicine*. 2013;8:1477-88.
42. Nakajima K, Suzuki K. Immunochemical detection of metallothionein in brain. *Neurochemistry international*. 1995;27(1):73-87.
43. Helal GK, Aleisa AM, Helal OK, Al-Rejaie SS, Al-Yahya AA, Al-Majed AA, et al. Metallothionein induction reduces caspase-3 activity and TNFalpha levels with preservation of cognitive function and intact hippocampal neurons in carmustine-treated rats. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2009;2(1):26-35.
44. Pastore A, Piemonte F. S-Glutathionylation signaling in cell biology: progress and prospects. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*. 2012;46(5):279-92.
45. Cherian MG, Apostolova MD. Nuclear localization of metallothionein during cell proliferation and differentiation. *Cellular and molecular biology*. 2000;46(2):347-56.
46. Pirev E, Calles C, Schroeder P, Sies H, Kroncke KD. Ultraviolet-A irradiation but not ultraviolet-B or infrared-A irradiation leads to a disturbed zinc homeostasis in cells. *Free radical biology & medicine*. 2008;45(1):86-91.
47. Klaassen CD, Liu J, Diwan BA. Metallothionein protection of cadmium toxicity. *Toxicology and applied pharmacology*. 2009;238:215-20.
48. Li B, Tan Y, Sun W, Fu Y, Miao L, Cai L. The role of zinc in the prevention of diabetic cardiomyopathy and nephropathy. *Toxicology mechanisms and methods*. 2013;23(1):27-33.
49. Tang Y, Yang Q, Lu J, Zhang X, Suen D, Tan Y, et al. Zinc supplementation partially prevents renal pathological changes in diabetic rats. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2010;21(3):237-46.
50. Itoh N, Kimura T. [Cytokine-induced metallothionein expression and modulation of cytokine expression by metallothionein]. *Yakugaku zasshi : Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*. 2007;127(4):685-94.
51. Kang YJ. The antioxidant function of metallothionein in the heart. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine Society for Experimental Biology and Medicine*. 1999;222(3):263-73.
52. Karagulova G, Yue Y, Moreyra A, Boutjdir M, Korichneva I. Protective role of intracellular zinc in myocardial ischemia/reperfusion is associated with preservation of protein kinase C isoforms. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2007;321(2):517-25.
53. Amara S, Abdelmelek H, Garrel C, Guiraud P, Douki T, Ravanat JL, et al. Preventive effect of zinc against cadmium-induced oxidative stress in the rat testis. *The Journal of reproduction and development*. 2008;54(2):129-34.
54. Bonda E, Wlostowski T, Krasowska A. Testicular toxicity induced by dietary cadmium is associated with decreased testicular zinc and increased hepatic and renal metallothionein and zinc in the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*. 2004;17(6):615-24.
55. Peixoto NC, Serafim MA, Flores EM, Bebianno MJ, Pereira ME. Metallothionein, zinc, and mercury levels in tissues of young rats exposed to zinc and subsequently to mercury. *Life sciences*. 2007;81(16):1264-71.
56. Sabolic I, Breljak D, Skarica M, Herak-Kramberger CM. Role of metallothionein in cadmium traffic and toxicity in kidneys and other mammalian organs. *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*. 2010;23(5):897-926.
57. Cherian MG, Jayasurya A, Bay BH. Metallothioneins in human tumors and potential roles in carcinogenesis. *Mutation research*. 2003;533(1-2):201-9.
58. Jayasurya A, Bay BH, Yap WM, Tan NG. Correlation of metallothionein expression with apoptosis in nasopharyngeal carcinoma. *British Journal of Cancer*. 2000;1198-203.
59. Dutsch-Wicherek M, Tomaszewska R, Lazar A, Strek P, Wicherek L, Piekutowski K, et al. The evaluation of metallothionein expression in nasal polyps with respect to immune cell presence and activity. *BMC immunology*. 2010;11:10.
60. Levin ED, Perraut C, Pollard N, Freedman JH. Metallothionein expression and neurocognitive function in mice. *Physiology & behavior*. 2006;87(3):513-8.

61. Kayaalti Z, Mergen G, Soylemezoglu T. Effect of metallothionein core promoter region polymorphism on cadmium, zinc and copper levels in autopsy kidney tissues from a Turkish population. *Toxicology and applied pharmacology*. 2010;245(2):252-5.
62. Cipriano C, Malavolta M, Costarelli L, Giacconi R, Muti E, Gasparini N, et al. Polymorphisms in MT1a gene coding region are associated with longevity in Italian Central female population. *Biogerontology*. 2006;7(5-6):357-65.
63. Wong RH, Huang CH, Yeh CB, Lee HS, Chien MH, Yang SF. Effects of metallothionein-1 genetic polymorphism and cigarette smoking on the development of hepatocellular carcinoma. *Annals of surgical oncology*. 2013;20(6):2088-95.
64. Kang YJ. Metallothionein redox cycle and function. *Experimental biology and medicine*. 2006;231(9):1459-67.