



T.C.

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARENİN KARACİĞERİNDE VE BEYNİNDE MSRB1,
KASPAZ-3 VE GADD45 EKSPRESYONUNA
SELENYUM METİYONİNİN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hatice Sema POLAT

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Bülent TURHAN

AKSARAY-2024



T.C.

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARENİN KARACİĞERİNDE VE BEYNİNDE MSRB1,
KASPAZ-3 VE GADD45 EKSPRESYONUNA
SELENYUM METİYONİNİN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hatice Sema POLAT

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Bülent TURHAN

2. DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Paulina VAITKIENE

AKSARAY-2024

Aksaray Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Hatice Sema Polat tarafından savunulan Farenin Karaciğerinde ve Beyninde MsrB1, Kaspaz-3 ve Gadd45 Ekspresyonuna Selenyum Metiyoninin Etkisi isimli çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Aydın RÜSTEMOĞLU

.....

Tıbbi Biyoloji

Aksaray Üniversitesi

Onaylıyorum ☐ Onaylamıyorum ☐

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi SOYADI

.....

Tıbbi Biyoloji

Aksaray Üniversitesi

Onaylıyorum ☐ Onaylamıyorum ☐

Üye: Prof. Dr. Akın Yılmaz

.....

Tıbbi Biyoloji

Hitit Üniversitesi

Onaylıyorum ☐ Onaylamıyorum ☐

Üye: Unvanı Adı SOYADI

.....

..... Üniversitesi

Onaylıyorum ☐ Onaylamıyorum ☐

Üye: Unvanı Adı SOYADI

.....

..... Üniversitesi

Onaylıyorum ☐ Onaylamıyorum ☐

Bu tez, Aksaray Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu 18.01.2024 tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Doç Dr. Funda ÇETİNKAYA

Enstitü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinalliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim. Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Hatice Sema POLAT



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde ve tez çalışmalarımız süresince laboratuvar analizleri, değerlendirilmesi ve tez yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve daima yanımda olan danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Bülent TURHAN'a, ve laboratuvar analizleri aşamasında bilgi ve birikimlerinden çok şeyler öğrendiğim ikinci tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Paulina VAITKIENE'ye, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr.Mehmet TAŞPINAR'a ve Sayın Prof.Dr.Aydın RÜSTEMOĞLU'na, Yine ders ve laboratuvar analizleri aşamasında bilgi ve birikimlerinden çok şeyler öğrendiğim Sayın Giedre MİNİOTAİTE'ye Yine tez çalışmamı sürdürebilmem için bana her türlü konuda yardımcı olan Litvanya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Laboratuvar Direktörü Dr. Rima NAGİNIENE'ye Yine çalışmalarım sırasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Hatice Sema POLAT
AKSARAY, 2024

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Selenyum	3
2.1.1. Keşfi ve Tarihçesi.....	3
2.1.2. Biyokimyası.....	4
2.1.3. Metabolizması.....	5
2.1.4. Selenometiyoninin Tedavideki Rolü	7
2.2. Metiyonin sülfoksit redüktaz B1 (MsrB1) Geni.....	11
2.2.1. Kanserde MsrB1 'in Rolü.....	13
İnsan Hepatoselüler Karsinomu (HCC)	15
2.2.2. Karaciğer Hasarında MsrB1 'in Rolü	15
2.2.3. Nörodejeneratif Hastalıkta MsrB1 'in Rolü	16
2.3. Gadd45 Geni.....	17
2.3.1. Kanserde Gadd45' in Rolü.....	19
2.3.1.1. Gadd45'in Kansere Tedavisindeki Rolü	22
2.3.2. Bağışıklıkta Gadd45'in Rolü.....	22
2.4. Kaspaz-3 Geni (CASP3)	23
2.4.1. Kanserde Kaspaz-3'ün Rolü	26
2.4.2. Nörodejeneratif Hastalıkta Kaspaz-3'ün Rolü.....	29
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	30
3.1. Araştırmanın Tipi:	30
3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı:.....	30
3.3. Fare karaciğerinden ve beyninden RNA saflaştırması	30
3.4. Kopya DNA (cDNA) sentezi.....	32
3.5. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR).....	33
3.6. İstatiksel Analiz.....	34

4. BULGULAR.....	35
4.1. Farenin Beyninde ve Karaciğerinde Metiyonin sülfoksit redüktaz B1 ‘in (MsrB) Gen Ekspresyon Sonucu	35
4.2. Farenin Beyninde ve Karaciğerinde Gadd45‘in Gen Ekspresyon Sonucu	36
4.3. Farenin Beyninde ve Karaciğerinde Kaspaz-3‘ün Gen Ekspresyon Sonucu	38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	41
KAYNAKLAR	46



YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARE KARACİĞERİNDE VE BEYNİNDE MSRB1, KASPAZ-3 VE GADD45 EKSPRESYONUNA SELENİYUM METİYONİNİN ETKİSİ

Hatice Sema Polat

Aksaray Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr.Ahmet Bülent TURHAN

ÖZET

Seleniyum (Se), esas olarak antioksidan özellikleri nedeniyle normal beyin fonksiyonunu koruyan önemli bir eser elementtir. Araştırmalar Se'nin karaciğeri koruma yeteneği de dahil olmak üzere çeşitli biyoaktivitelere sahip olduğunu göstermektedir. Doğal bir organik Se bileşiği olan selenometiyonin (Se-Met), Se'nin ana kimyasal formudur ve yüksek biyoyararlanım, düşük toksisiteye sahip olması nedeniyle de son yıllarda Se çalışmalarında daha çok kullanılmaktadır. Bu çalışmada farenin karaciğerinde ve beyinde MsrB1, Caspase-3 ve Gadd45 genlerinin ekspresyonuna Se metioninin etkisi incelendi. Genlerin ekspresyonunu analiz etmek için SYBR Green gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi kullanıldı. İstatistiksel veri analizi grafiğini GraphPad Software Inc. Prism 6 yazılımlı bir bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. Araştırmamızın bulgularına göre SeMet'in farenin karaciğerinde ve beyinde bu genlerin ekspresyonunda anlamlı değişiklikler tespit edilmiştir. Farenin karaciğerinde ve beyinde bu genlerin ekspresyonuna SeMet'in etkisi ilk kez incelenmiştir. Elde ettiğimiz verilerin revize edilmesi daha geniş çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler : Seleniyum; Selenometiyonin, MsrB1, Kaspaz-3, Gadd45, gen ekspresyonu.

Ocak, 2024; 58 sayfa

MASTER'S THESIS

EFFECT OF SELENIUM METHIONINE ON MSRB1, CASPASE-3 AND GADD45 EXPRESSION IN MOUSE LIVER AND BRAIN

Hatice Sema Polat

Aksaray University

Institute of Health Sciences

Department of Medical Biology

Supervisor: Dr. Ahmet Bülent TURHAN

ABSTRACT

Selenium (Se) is an important trace element that maintains normal brain function, mainly due to its antioxidant properties. Research shows that Se has a variety of bioactivities, including the ability to protect the liver. Selenomethionine (Se-Met), a natural organic selenium compound, is the main chemical form of Se and has been used more in Se studies in recent years due to its high bioavailability and low toxicity. In this study, the effect of selenium methionine on the expression of MsrB1, Caspase-3 and Gadd45 genes in the liver and brain of mice was examined. SYBR Green real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) method was used to analyze the expression of genes. Statistical data analysis chart by GraphPad Software Inc. It was done using a computer program with Prism 6 software. According to the findings of our research, significant changes were detected in the expression of these genes in the liver and brain of mice using SeMet. The effect of SeMet on the expression of these genes in the liver and brain of mice was examined for the first time. The data we obtained need to be revised and confirmed with larger studies.

Key Words: Selenium; Selenomethionine, MsrB1, Caspase-3, Gadd45, gene expression.

January, 2024; 59 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Memelilerde Selenosistein Biyosentezi	4
Şekil 2. Selenyum Absorpsiyonu, Metabolizması ve Yıkımı.....	6
Şekil 3. MsrB katalitik mekanizması.....	12
Şekil 4. MsrB1'in fizyolojik önemi.....	13
Şekil 5. GADD45 aracılı hücre döngüsü durması ve apoptoz	18
Şekil 6. GADD45 proteinleri ve hücre sağkalımı	19
Şekil 7. Apoptoz Mekanizmaları.....	25
Şekil 8 . Kaspaz Aktivasyonu ve İnhibisyonu Mekanizmalarının Şematik Diyagramı	26
Şekil 9. Memeli dokudan RNA Saflaştırması	30
Şekil 10. Farenin beyinde kontrol grubu, SeMet'in 0,2 mg/kg ve SeMet'in 0,4 mg/kg dozlarından etkilenen MsrB1'in gen ekspresyon sonuçları . İstatistiksel anlamlılık yıldız işaretleriyle gösterilmiştir: $p > 0.05 = ns$ (anlamsız) , $p \leq 0.05 = *$ (anlamlı), $p \leq 0.01 = **$ (çok anlamlı), $p \leq 0.001 = ***$ (yüksek derecede anlamlı) , $p \leq 0,0001 = ****$	35
Şekil 11. Farenin karaciğerinde kontrol grubu, SeMet'in 0,2 mg/kg ve SeMet'in 0,4 mg/kg dozlarından etkilenen MsrB1'in gen ekspresyon sonuçları . İstatistiksel anlamlılık yıldız işaretleriyle gösterilmiştir: $p > 0.05 = ns$ (anlamsız) , $p \leq 0.05 = *$ (anlamlı), $p \leq 0.01 = **$ (çok anlamlı), $p \leq 0.001 = ***$ (yüksek derecede anlamlı) , $p \leq 0,0001 = ****$	36
Şekil 12. Farenin beyinde kontrol grubu, SeMet'in 0,2 mg/kg ve SeMet'in 0,4 mg/kg dozlarından etkilenen Gadd45'in gen ekspresyon sonuçları . İstatistiksel anlamlılık yıldız işaretleriyle gösterilmiştir: $p > 0.05 = ns$ (anlamsız) , $p \leq 0.05 = *$ (anlamlı), $p \leq 0.01 = **$ (çok anlamlı), $p \leq 0.001 = ***$ (yüksek derecede anlamlı) , $p \leq 0,0001 = ****$	37
Şekil 13. Farenin karaciğerinde kontrol grubu, SeMet'in 0,2 mg/kg ve SeMet'in 0,4 mg/kg dozlarından etkilenen Gadd45'in gen ekspresyon sonuçları . İstatistiksel anlamlılık yıldız işaretleriyle gösterilmiştir: $p > 0.05 = ns$ (anlamsız) , $p \leq 0.05 = *$ (anlamlı), $p \leq 0.01 = **$ (çok anlamlı), $p \leq 0.001 = ***$ (yüksek derecede anlamlı) , $p \leq 0,0001 = ****$	38
Şekil 14. Farenin beyinde kontrol grubu, SeMet'in 0,2 mg/kg ve SeMet'in 0,4 mg/kg dozlarından etkilenen Kaspaz-3'ün gen ekspresyon sonuçları . İstatistiksel	

anlamlılık yıldız işaretleriyle gösterilmiştir: $p > 0.05 = \text{ns}$ (anlamsız) , $p \leq 0.05 = *$ (anlamlı), $p \leq 0.01 = **$ (çok anlamlı), $p \leq 0.001 = ***$ (yüksek derecede anlamlı) , $p \leq 0,0001 = ****$ 39

Şekil 15. Farenin karaciğerinde kontrol grubu, SeMet'in 0,2 mg/kg ve SeMet'in 0,4 mg/kg dozlarından etkilenen Kaspaz-3'ün gen ekspresyon sonuçları . İstatistiksel anlamlılık yıldız işaretleriyle gösterilmiştir: $p > 0.05 = \text{ns}$ (anlamsız) , $p \leq 0.05 = *$ (anlamlı), $p \leq 0.01 = **$ (çok anlamlı), $p \leq 0.001 = ***$ (yüksek derecede anlamlı) , $p \leq 0,0001 = ****$ 40



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Selenyumun Oksidasyon Durumları ve Selenyum Bileşiklerine Örnekler...	3
Tablo 2. Selenoproteinler.....	5
Tablo 3. Farklı Hastalıkların Tedavisinde SeMet'in Etkisi.....	9
Tablo 4. MsrB1'in Kanserdeki Etkisi	15
Tablo 5. Gadd45'in Kanserdeki Etkisi.....	21
Tablo 6. Kaspaz-3'ün Kansere Etkisi	28
Tablo 7. cDNA sentez içeriği	32
Tablo 8. Termal döngüleyici için program.....	32
Tablo 9. RT-PCR reaksiyon içeriği.....	33
Tablo 10. RT-PCR reaksiyonunun sıcaklık koşulları	34

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD : Amerika Birleşik Devletleri
AD : Alzheimer hastalığı
ALD : X'e bağlı adrenolökodistrofi hastalığı
ALI : Akut karaciğer hastalığı
Apaf-1 : Apoptotik proteaz aktive edici faktör 1
APAP : Asetaminofen
APP : Amiloid öncü proteini
A β : β amiloid peptid
Bcl : Kronik lenfositik lösemi
Ca : Kalsiyum
Cdc2 kinaz : Siklin bağımlı kinaz
CNS : Merkezi sinir sistemi
COX2 : Siklooksijenaz-2
CRC : Kolorektal kanser
Cys, C : Sistein C
DNA : Deoksiribonükleik asit
EF1-a : Uzama faktörü 1-alfa
ESCC : Özofagus skuamöz hücreli karsinom
Gadd45 : Büyüme durması ve DNA hasarıyla indüklenebilir
GBM : Glioblastoma multiforme
GCA : Gastrik kardiyak adenokarsinomu
GPx : Glutasyon- S- transferaz
GSH : Glutasyon
H₂O₂ : Hidrojen peroksit
H₂Se : Hidrojen selenid
HCC : Hepatoselüler karsinom
HL-60 : Promyelositik lösemi
HNC : Baş ve boyun kanseri
IL-1 β : İnterlökin-1 Beta
İnos : Nitrik oksit sentaz
LPS : Lipopolisakkarit
LSMU: Litvanya Sağlık Bilimleri Üniversitesi

MDA: Malondialdehit
Met : Metiyonin
MetO : Metiyonin sülfoksit
MSC : Se-metilselenosistein
Msr : Metiyonin sülfoksit redüktaz
MsrB1 : Metiyonin sülfoksit redüktaz B1
NADPH : Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NF-κB : Nuclear factor kappa B
NSAIDS : Non steroidal antienflamatuar ilaçlar
NSC : Endojen nöral kök hücreleri
NSLC : Küçük hücre dışı akciğer kanseri
OA : Osteoartrit
PCNA : Proliferatif hücre nükleer antijeni
PD : Parkinson hastalığı
PDAC : Pankreas duktal adenokarsinomu
PGE2 : Prostaglandin E2
PS1 : Presenilin 1
RNA : Ribonükleik asid
ROS : Reaktif oksijen türleri
RT-PCR : Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
S : Kükürt
Se: Selenyum
Sec, Secys : Selenosistein
Sel 15 : 15 kDa Selenoprotein
Sel N : Selenoprotein N
Sel P: Selenoprotein P
Sel P: Selenoprotein P
Sel R : Selenoprotein R
Sel W : Selenoprotein W
Sel Y : Selenoprotein Y
SelH : Selenoprotein H
SelI : Selenoprotein I
SelK : Selenoprotein K
SelM : Selenoprotein M

SelO : Selenoprotein O
SelS : Selenoprotein S
SelT : Selenoprotein T
SelV : Selenoprotein V
SeMet : Selenometiyonin
SPS2 : Seleno-fosfat sentetaz
Tau : Nörodejeneratif bir hastalık
TMZ : Temozolomid
Tr : Tioredoksin ditiyotreitol
tRNA : Taşıyıcı RNA
TrxR : Tioredoksin Redüktaz
TXNRD : Tioredoksin redüktaz
3xTg : Üçlü transgenik

1. GİRİŞ

Selenyum (Se), uzun bir geçmişi olan büyüleyici bir elementtir. Önceleri toksik olduğu düşünülen Se'un esansiyel bir eser element olduğu ve bizim içinde ne kadar önem taşıdığını yapılan çalışmalarda görmekteyiz (Barceolux, 1999; Oien vd., 2009). Se, insan vücudunda antioksidan savunma, kardiyovasküler, üreme ve bağışıklık sistemi gibi çeşitli sistemlerde yer almaktadır (Mckenzie vd., 2002).

Son yıllarda Se'un insanların, diğer tüm memelilerin ve diğer birçok yaşam formunun beslenmesinde temel bir unsur olduğu bulunmuştur (Petra vd., 2021). Se'a yeni bir bakış açısı da Se'un çok düşük diyet konsantrasyonlarında temel bir besin olduğunu Schwarz ve Foltz'un 1957 yılında yaptıkları çalışmalarıyla ortaya konmuştur.. Düşük konsantrasyonlarda Se'un , Torula mayası ve E vitamininden yoksun diyet tüketen sıçanlarda karaciğer nekrozunu önlediği gösterilmiştir (Lucia vd.,2006).

Se gıdalarda temel olarak selenosistein (Secys) ve selenometiyonin (SeMet) (organik form) olarak bulunurken, selenit veya selenat (inorganik formlar) gıda maddelerinde yalnızca çok küçük miktarlarda bulunmaktadır. Se'un biyolojik önemi, yapısı benzersiz amino asit Secys içeren selenoproteinlere dayanmaktadır (Saito, 2021). Se çoğu hayvan ve insan dokularında SeMet formundadır. Doğal Se amino asidi olan SeMet, biyolojide daha egzotik bir yer tutar ve SeMet, tartışmaya değer gerçekten şaşırtıcı ve heyecan verici bazı özellikleri bir araya getirir. SeMet bitkilerde ve mantarlarda üretilir ve birçok organizmada kelimenin tam anlamıyla kükürt analogu metionin (Met) yerine proteinlere ve enzimlere sızarak bu proteinlere ekstra redoks aktivitesi verir (Le vd., 2008).

Se'un biyolojik etkileri ve insan sağlığı üzerindeki etkisi büyük ölçüde selenoproteinlere bağlı olduğundan, selenoproteinlerin bu diyet faktörü tarafından nasıl düzenlendiğini aydınlatmak bilim insanları tarafından ilgi çekici olmuştur. Selenoprotein metiyonin- R -sülfoksit redüktazın (MsrB1) diyetteki Se durumuna yanıt verdiği bulunmuştur (Novoselov vd.,2005; Oien vd., 2009). Bu protein, oksitlenmiş metionin kalıntılarını tekrar metioninlere indirgeyebilen enzimlerden biridir (Brot, Weissbach, 1983). Proteinlerdeki birçok amino asit, oksidatif

modifikasyonlara duyarlıdır, ancak kükürt içeren amino asitlerin, sistein ve metiyoninin oksidasyonu özellikle önemlidir (Vogt,1995).

Se'un organik formlarından biri olan SeMet'nin ise antikanser etkileri olduğu bildirilmiştir (Ip vd., 1994; Stewart vd., 1999). Son zamanlarda, SeMet'in kemopreventif mekanizması in vitro çalışmalarla araştırılmıştır. Organik SeMet bileşiklerinin, tümör baskılayıcı p53'ü aktive ettiği bildirilmiştir ve bu aktivasyon, organik Se'un aracılık ettiği alternatif kemopreventif mekanizmalardan biridir (Seo vd., 2002). Gadd45 veya Gadd45a, (büyümeyi durduran ve DNA hasarına neden olan gen), iyi bilinen ve p53 tarafından düzenlenen bir gendir. Gadd45'in DNA hasarı tepkisinin önemli bir aracı olduğu düşünülmektedir ve ekspresyonu, DNA hasarı veya yaşlanması ile indüklenir (Liu vd., 2009; Hoffman ve Liebermann 2009). Başka bir çalışmada bu genin ekspresyonunun SeMet tarafından azaldığı gösterilmiştir (Rao vd., 2001).

Se, oksidatif strese karşı kemoterapide kritik roller oynayan temel bir eser element olarak yerini almış olmasına rağmen yüksek Se konsantrasyonlarına bağlı, toksik ve oksidatif etkilere de neden olduğu gösterilmiştir (Mertens vd., 2015; Week vd., 2012). Birkaç organik seleno bileşik, önemli kemopreventif aktiviteler göstermiştir (Ganther, 1999). Hücre intiharının programlanmış bir süreci olan apoptoz, selenobileşiklerin kemopreventif aktiviteleri için en makul mekanizma olarak öne sürülmüştür (Taeho vd., 2001). Kaspazların çeşitli sistemlerde apoptozu yürüttüğü bilinmektedir. Kaspazlar, hücre farklılaşması, yeniden şekillenme ve ölüm dahil olmak üzere birçok hücrel işlevin gerçekleştirilmesinde etkili olan bir proteaz sınıfıdır (Snigdha vd., 2012).

SeMet ile ilgili araştırmaların çoğu tiroid hastalığı, kanser ve kalp hastalıklarının önlenmesine odaklanmıştır. Literatürde fare karaciğerinde ve beyinde MsrB1, Caspase-3 ve Gadd45 genlerinin ekspresyonuna SeMet'in etkisine ilişkin herhangi çalışmaya ve bir veriye şu ana kadar rastlanılmamıştır.

Bu çalışmamızda SeMetle beslenen farelerin karaciğer ve beyinde MsrB1, Gadd45 ve Kaspaz-3 genlerinin ekspresyonlarındaki artış ve azalışlarını ortaya koyarak bu araştırmamızın sonucunda konuyla ilgili bir yorumlanma yapmayı düşündük.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Selenyum

Se, periyodik tablonun dördüncü periyodunda, 6A grubunda yer alır ve atom numarası 34 olan temel bir eser elementtir. Kükürt (S) (komşusu) ile benzer kimyasal davranış ve reaksiyonlara sahiptir. Se, insanlar ve hayvanlar için en gerekli mikro besin maddelerinden biridir. Se'un dört farklı oksidasyon durumu vardır (Barceolux, 1999). Bu oksidasyon durumları Tablo 1 de gösterilmiştir.

Tablo 1. Selenyumun Oksidasyon Durumları ve Selenyum Bileşiklerine Örnekler

Oksidasyon Durumu + 6	Selenyum trioksit	Selenat	Selenik asit
Oksidasyon Durumu + 4	Selenyum dioksit	Selenöz asit	Selenit
Oksidasyon Durumu 0	Elemental Selenyum	Selenodiglutasyon	Selenyum sülfidler
Oksidasyon Durumu - 2	Hidrojen selenid	Dimetilselenid	Sodyum selenid

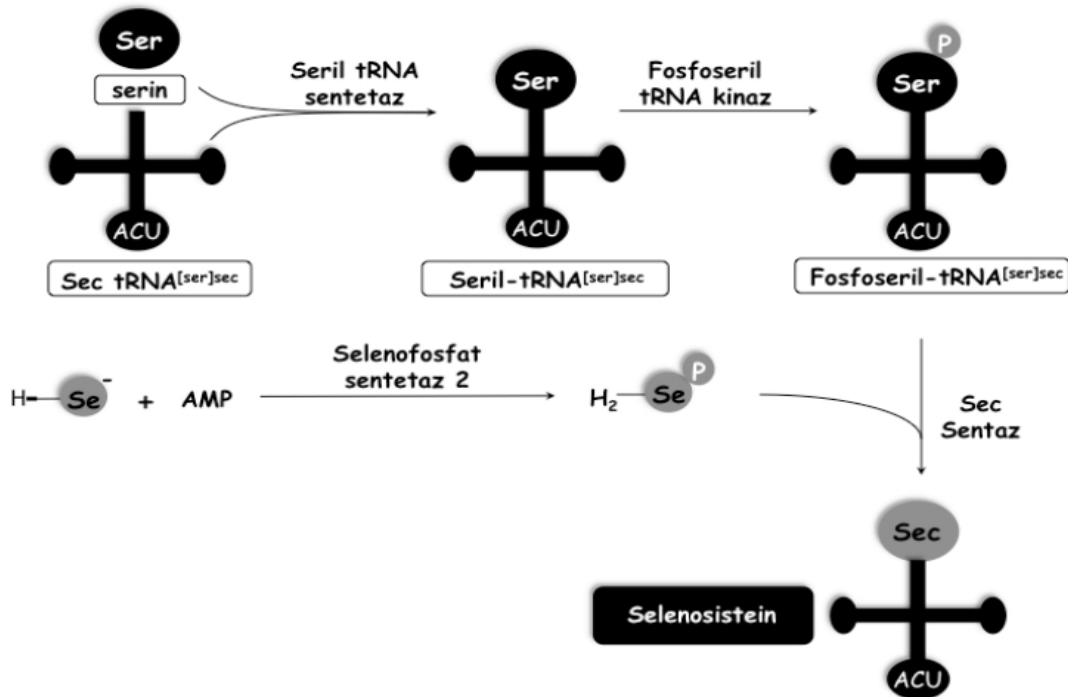
2.1.1. Keşfi ve Tarihçesi

Se elementi 1817'de İsveçli kimyager Jöns Jacob Berzelius tarafından keşfedilmiştir (Berzelius, 1818). Keşfinden bir yıl sonra araştırıldığında bir element olduğu kanıtlanmış ve Yunanca bir sözcük olan ve “ay” anlamına gelen ‘*selen*’ ismi ile adlandırılmıştır (Flohe L vd., 2000). Se keşfedildiğinden beri çözülmesi gereken bir bulmaca olmuştur. Se, uzun yıllar boyunca, insanlar üzerinde potansiyel zararlı etkileri olan, besi hayvanlarını çevresel olarak zehirleyen bir madde olarak kabul edilmiştir (Weekley and Harris, 2013). 1842 yılından beri Se'nin biyolojik rolü, toksik ve karsinogenik etkileri, Se eksikliği gibi konular çalışılmaktadır ve Se'un önemi 1957'de vurgulanmıştır. Buna rağmen 1973 yılına kadar canlı bünyesindeki rolü tam olarak anlaşılamamıştır. Se'un glutasyon peroksidaz enziminin yapısında keşfedilmesi, yiyeceklerdeki ve sağlıktaki öneminin anlaşılması yönüyle temel bir başlangıç olmuştur (Arthur, 1996). Böylelikle Se, insan sağlığı ve hastalığındaki önemli rolünü gösteren çok sayıda bilimsel araştırmanın konusu olmuştur (El-Bayoumy, 2001).

2.1.2. Biyokimyası

Amerika Birleşik Devletleri'nin Maryland eyaletindeki Montgomer bölgesinin güneyindeki Bethesda'da Dünya Sağlık Örgütüne göre 14 yaşın üzerindeki bireyler için önerilen ortalama günlük alım miktarı 55 µg iken, daha küçük çocuklarda ihtiyaç 15-40 µg/gün arasında değişmektedir (Mikko and Chengjuan, 2018).

Se'u bitkiler topraktan selenat olarak alır ve bunlar daha sonra SeMet ve selenosistein (Sec, SeCys) organik formlarına dönüştürülür (Longchamp vd., 2013; Khanam ve Platel, 2016). SeMet bitkilerde ana Se bileşiğidir. Memeliler ve insanlar gibi daha yüksek organizmalar SeMet'i sentezleyemez. Bu nedenle insan vücuduna diyetle alınması zorunludur. Vücuda diyetle alınımından sonra vücudun kullanabildiği ve daha iyi absorbe edebildiği L-Selenometiyonin izomeridir. D- SeMet ise inorganik Se formlarına dönüştürülerek inorganik Se havuzuna katılır ve diyetle Se alımı durduğunda bu havuzdan organizmaya Se sağlanır (Dumont vd., 2006; Schomburg vd., 2004). Sec sisteinin Se içeren bir analogudur ve Se'un biyolojik olarak aktif formudur. Sistein amino asidindeki kükürt (S) yerine Se geçmiştir. Sec ribozom aracılı protein sentezi ile proteinlere katılmak için kendisine ait bir kodon taşımaktadır. Genetik koddaki 21. amino asit olan Sec, UGA kodonu tarafından kodlanmaktadır.



Şekil 1. Memelilerde Selenosistein Biyosentezi

Başlangıçta ilk olarak selenosisteil-tRNA'sı seril tRNA sentetaz tarafından katalizlenen bir tepkimeyle seril-tRNA'sına dönüştürülür. Seril-tRNA kompleksi fosforillenir ve selenofosfat sentetaz 2 tarafından katalizlenen tepkime ile fosforillenen hidrojen selenid bu kompleks ile birleşirken selenosistein sentezlenmiş olur (Gromer vd., 2005).

Se aynı zamanda metiyoninden kükürdü çıkartarak yerine geçer ve SeMet oluşur. Hem SeMet hem de Sec Se'un biyolojik olarak protein ve enzimlere bağlanıp yapılarına katılarak fonksiyon göstermesini sağlar (Gromer vd., 2005).

Se insan vücudunda proteinlere katılarak ve bazı enzimlerin yapısında kofaktör olarak işlev görür. Bugüne kadar tanımlanmış yaklaşık 25-33 selenoprotein bulunmaktadır (Schomburg vd.,2004; Papp vd., 2010). Bunların işlevlerine göre sınıflandırılması Tablo 2 de gösterilmiştir.

Tablo 2. Selenoproteinler

Biyolojik Fonksiyon	Selenoprotein
Antioksidan Enzimler	GPx1 (karaciğer), GPx2 (plazma), GPx3 (plazma), GPx4 (gastrointestinal), GPx6, SelK, SelW, SelR
Redoks Sinyalleri	TrxR1, TrxR2, TrxR3
Tiroid Hormon Metabolizması	DIO1, DIO2, DIO3
Sec Biyosentezi	SPS 2
Se Transportu ve Depolanması	SelP
Protein Katlanmaları	Sel15, SelN, SelM, SelS
Fonksiyonu Bilinmeyenler	SelH, SelI, SelO, SelT, SelV

2.1.3. Metabolizması

Bitkilerde, Se'un %90 kadarı SeMet formunda bulunur. Selenosistein, SeMet ve selenat emilimi (%70-90) oldukça etkilidir. Se, kan dolaşımında dolaşan selenoproteini (SePP) sentezleyen ve ihraç eden karaciğer tarafından alınır. SePP, çoklu Sec kalıntıları ile Se'u diğer dokulara ve organlara nakleder ve taşınan Se, hücre içi Se metabolik yollarıyla selenofosfata dönüştürülür. Se, sıralı metilasyon tarafından oluşturulan küçük moleküllü metabolitler şeklinde ekshalasyon ve idrar yoluyla atılır.

metil grupları ekler, sonra nefes ve feçes yoluyla atılan dimetilselenide, ardından trimetilselonyuma dönüşür (Longchamp vd., 2013).

2.1.4. Selenometiyoninin Tedavideki Rolü

SeMet'nin bilim tarihindeki keşfinden bu yana karaciğer, tiroid, Alzheimer, kanser ve kalp hastalıklarının önlenmesi konusunda birçok çalışma yapılmıştır (Lambert vd., 2017).

Karaciğer, Se metabolizmasının düzenlenmesinde ve vücuttaki seviyesinin korunmasında yer alan önemli bir organdır. Se'un aşırı seviyelerinin, hücrelerin redoks durumunu bozduğunu, oksidatif stresi arttırdığını ve organ ve dokularda hasara yol açan reaktif oksijen türlerini (ROS) ürettiği bilinmektedir. Se'un karaciğeri koruma yeteneği de dahil olmak üzere çeşitli biyoaktivitelere de sahip olduğu bilinmektedir. Yüksek seviyelerde serbest radikallerin veya ROS'un, membran lipidlerinin zincir peroksidasyon reaksiyonlarını doğrudan başlatmaktadır; bu nedenden dolayı, hücrelerdeki oksidatif stres seviyesi, nihai lipid peroksidasyon ürünü malondialdehit (MDA) miktarındaki değişikliklerle ve ayrıca antioksidan enzim aktivitesindeki ve gen ekspresyonundaki değişikliklerle belirlenebilir (Ayala vd., 2014).

Laboratuvardaki deney fareleri, anatomi ve fizyoloji açısından insanlarla benzer özellik gösterirler. Biyomedikal araştırmalar ve karşılaştırmalı tıp çalışmaları için ideal hayvan modelleri sunmaktadırlar. Fare ve insan genomları yüksek oranda benzerdir; bu da, fareyi insan fizyolojisi ve patofizyolojisini modellemek için mükemmel bir sistem yapmaktadır (Lambert vd., 2017; Bryda, 2013). Hem Se fazlalığı hem de eksikliği, insanlarda ve farelerde sağlık riski ile ilişkilendirilmiştir.

SeMet, oksidatif stresi ve bağışıklık sistemini düzenleyerek DNA stabilitesini, hücre proliferasyonunu ve apoptotik hücre ölümünü etkilediği için hücre büyümesini de etkileyebileceği bilim insanları tarafından düşünülmüştür (Vinceti vd., 2014). Alkolik karaciğer hasarının gelişimi, ROS birikimi ile yakından ilişkilendirilmiş olup, yapılan in vitro hücre kültürü modellerine ve in vivo fare modellerine dayanan bir çalışma da, farenin karaciğerinde SeMet takviyesiyle yapılan karaciğer korumasına katkısı incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda SeMet takviyesinin, lipid metabolizmasını düzenlediği ve oksidatif stresi azaltarak farelerde karaciğer hasarını en aza indirdiği görülmüştür. Bu da bilim dünyasına SeMet'in , potansiyel terapötik özelliklere sahip

olduğunu ve oksidatif stresin baskılanması yoluyla ALD'yi tedavi etmek için kullanılabileceğini göstermiştir (Lin vd., 2021).

Sinir sistemi bütünlüğünün ve fonksiyonunun korunması, Alzheimer hastalığı (AD) gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde nihai hedef olmuştur. Nörogenez, sinirsel ve bilişsel işlevlerin korunmasında tamamlayıcı bir rol oynar ve nörojenezin işlev bozukluğu, Alzheimer'daki bilişsel bozulmanın ana nedeni olarak kabul edilmiştir. Ayrıca, endojen nöral kök hücreleri (NSC'ler) hedefleyerek nörojenezin indüklenmesi, en umut verici tedavi stratejilerinden biri olarak kabul edilmiştir (Lin vd., 2021).

SeMet öncelikle beyinde, karaciğerde, pankreasta ve böbrekte bulunmaktadır. Zhang vd.'nin yaptığı bir çalışmada Se-Met'in β amiloid peptid ($A\beta$) ve hidrojen peroksitin neden olduğu nöronal hasara karşı koruma sağlayabildiğini göstermişlerdir (Zhang vd., 2014). 2003 yılında yapılan bir çalışma da Se-Met tedavisinin, üçlü transgenik (3xTg) AD farelerinde (APP/PS1/Tau) beyin antioksidan kapasitesini artırmanın yanı sıra öğrenmeyi ve hafızayı önemli ölçüde geliştirebildiği bulunmuştur (Oddo, 2003). Bu arada, SeMet tedavisi $A\beta$ 'yı ve Tau hiperfosforilasyonunun birikmesini azaltabilmiş, 3xTg AD'lı farenin beyindeki sinaptik yaralanmaları hafifletebilmiştir. Burada bahsedilenler Se-Met'in nöroprotektif özelliklerini ortaya koymuştur. 2016 da Zhang vd.,'leri Se-Met'in hipokampal nörogenezin düzenlenmesinde de rol oynayıp oynamadığını araştırmaya karar vermiştir. Bunun üzerine ilk olarak Se-Met tedavisinin NSC'lerin çoğalması üzerindeki etkileri üzerinde araştırma yapmışlardır. Se-Met'in düşük konsantrasyonlarda (10 μ M) NSC'lerin çoğalmasını teşvik ettiğini ve yüksek konsantrasyonlarda çoğalmayı inhibe ettiğini bulmuşlardır. Ayrıca mevcut çalışmalarında Se-Met'in AD farelerinde hipokampal NSC proliferasyonunu desteklediğini ve in vitro NSC proliferasyonunu ve nöronal farklılaşmayı kolaylaştırdığını keşfetmişlerdir (Zhang vd., 2016).

Kolorektal kanser, ABD'de kanser ölümlerinin ikinci sırasında yer alan bir kanser türü olmaya devam etmektedir (Jemal vd., 2004). İnsan klinik deneylerinde, yüksek Se içeren maya formundaki Se'un, bir faz II çalışmasının ikincil analizinde, kolon kanserinin görülme sıklığını ve mortalitesini azalttığı gösterilmiştir ve laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan deneyler, çeşitli Se bileşiklerinin kolorektal karsinogenezi inhibe ettiği vurgulanmıştır (Clark vd., 1996). SeMet selenleştirilmiş

mayadaki ana Se bileşimidir. Ancak SeMet'in etki mekanizması belirsizliğini korumaktadır(Clark vd., 1996).

Chigbrow ve Nelson tarafından 2001 yılında yapılan bir çalışmada, SeMet'in belirli kontrol noktalarında hücre döngüsü ilerlemesini bloke edebildiği gösterilmiş; bu, siklin B ve Cdc2 kinaz aktivitesindeki bir azalmayla açıklanmıştır (Chigbrow ve Nelson, 2001). Diğer gruplar tarafından yapılan çalışmalarda, 500 µM'lik bir konsantrasyonda SeMet, prostat tümör hücrelerinde hücre döngüsü durmasını ve Tyr-15'te Cdc2'nin fosforilasyonunu indüklemiştir (Menter vd., 2000) . 150 µM'de SeMet'in aynı zamanda LNCaP büyümesini inhibe edebildiği ve G1 fazının durmasıyla ilişkilendirilen siklin D1 ve siklin D3'ü azaltabildiği de gösterilmiştir (Ni vd., 2003). Chigbrow vd., 2005'te yaptığı in vitro çalışmasında düşük dozda çoklu tedavi protokolü geliştirmişlerdir. Çalışmalarında SeMet'in kolon kanseri hücrelerinin büyümesini apoptoz yoluyla değil, hücre döngüsü blokajı (S–G2/M fazı) yoluyla inhibe ettiğini göstermişlerdir(Chigbrow vd., 2005).

Tablo 3. Farklı Hastalıkların Tedavisinde SeMet'in Etkisi

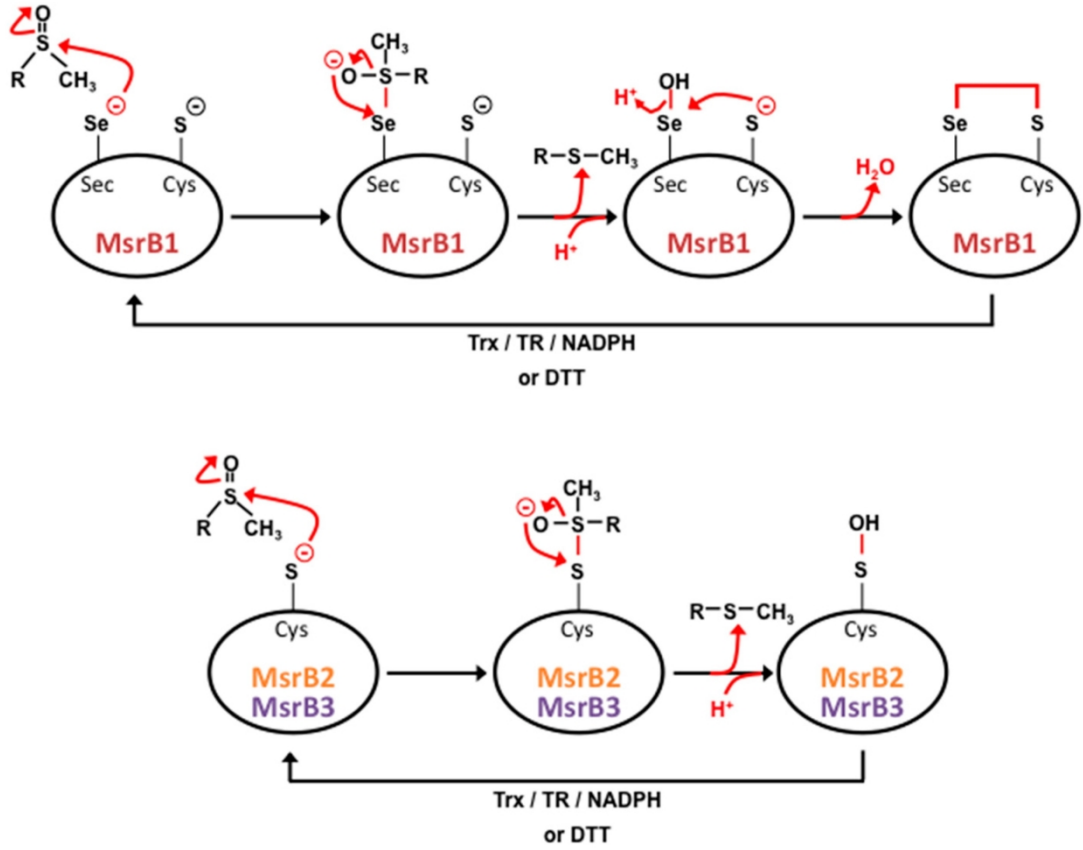
Hastalık	Sonuç	Kaynak
Alzheimer hastalığı (AD)	SeMet, Alzheimer hastalığının bir fare modelinde PI3K-Akt-GSK3β-Wnt yolu yoluyla hipokampal nörojenezi destekledi,	Rui vd., 2017
Alkole Bağlı Karaciğer Hastalığı (ALD), Akut karaciğer hasarı (ALI)	SeMet, lipid metabolizmasını düzenledi ve oksidatif stresi azaltarak farelerde karaciğer hasarını en aza indirdi, SeMet'in hayatta kalma oranını uzattı, serum ALT ve AST'yi azalttı, karaciğer nekrozunu hafifletti ve hepatosit apoptozunu inhibe etti	Lin vd., 2021 ; Chunliang vd., 2022
Yaşlanmayla İlişkili Akciğer Hastalığı	Se-Met ile yapılan ön tedavinin PM2.5'e maruz kalan A549 hücrelerinde cGAS/STING/NF-κB yolunu engelleyerek inflamatuvar yanıtı inhibe edebildiğini ve hücre yaşlanmayı önleyebildi,	Xiaofei vd., 2022

	İn vivo C57BL/6J fare modeli, Se-Met tedavisinden sonra cGAS ekspresyonunun azalmasıyla PM2.5'in neden olduğu fare akciğer dokusunun yaşlanması hafifledi	
Endometrit Hastalığı (Rahim İçi İltihabı)	SeMet, inflamasyonu ve nekroptozu inhibe ederek E.coli'nin neden olduğu endometritise karşı korudu	Lu vd., 2023
Parkinson hastalığı (PD)	Glu-SeMet'in C. elegans PD modelinde PD'ye karşı nöroprotektif etkiye sahip olduğunu ve Glu-SeMet'in anti-PD etkilerinin SKN-1/Nrf2 ve TRXR-1 ile ilişkili olduğu bulundu	Chang vd., 2021
Kanser	SeMet ile tedavi edilen hücrelerde siklin A'da hafif bir artış ve siklin B'de belirgin bir artış gözlemlendi, SeMet, p53'ü DNA hasarından bağımsız bir redoks mekanizmasıyla aktive etti, Adenoviral MET geni/SeMET tedavisi ayrıca kemirgenlerde tümör büyümesini inhibe etti ve hayatta kalmalarını önemli ölçüde uzattı	Chingbrow vd., 2005; Young vd., 2002; Miki vd., 2001
Tiroid hastalığı	SeMet alan kişilerin %31,3'ünün tiroid fonksiyonları düzeldi, Tiroglobuline saldıran bağışıklık proteinlerinde (antikorlar) daha yüksek bir azalma gösterdi, SeMet grubunda bebeğin doğumunu takiben genellikle enfeksiyondan sonra vücut tarafından üretilen bir antikor türü olan otoantikorlarda da azalma görüldü	Pirola vd., 2016; Kyrgios vd., 2019; Mantovani vd., 2019

2.2. Metiyonin sülfoksit redüktaz B1 (MsrB1) Geni

Bu gen, aktif bölgesinde bir selenosistein (Sec) kalıntısı içeren bir selenoproteini kodlar. Sec, normalde çevirinin sonlandırıldığını işaret eden UGA kodonu tarafından kodlanır. Selenoprotein genlerinin 3' UTR'si, UGA'nın bir durdurma sinyali yerine bir Sec kodonu olarak tanınması için gerekli olan ortak bir kök döngü yapısına, sec yerleştirme dizisine (SECIS) sahiptir. Bu gen tarafından kodlanan protein, yüksek oranda karaciğer ve böbrekte eksprese edilir ve hücre çekirdeği ve sitozolde lokalize olur. Bu protein, proteinlerdeki oksitlenmiş metiyonin kalıntılarını azaltan onarım enzimlerini içeren metiyonin sülfoksit redüktaz (Msr) protein ailesine aittir. Bu ailenin üyeleri, metiyonin-R-sülfoksitlerin metiyoninlere indirgenmesini katalize ederek proteinleri oksidatif strese koruyan onarım enzimleri olarak işlev görmektedir.

Met, R- ve S -diastereomerler olarak mevcut olan metiyonin sülfoksit (MetO) oksitlenebilir . Yaşamın her üç alanında da mevcut olan metiyonin sülfoksit redüktazlar (MSR) , MetO'yu tekrar Met'e indirgeyen enzimlerdir . Bunlar arasında en çok karakterize edilenler, sırasıyla MetO'nun S- ve R -diastereomerleri için kesinlikle stereospesifik olan MSRA ve MSRB'dir . MSR'lerin çoğunluğu substratlarını azaltmak için katalitik bir Cys kullanırken, bazıları selenosistein kullanır . Bu, başlangıçta selenoprotein olarak keşfedilen memeli MSRB1'in durumudur. SELR veya SELX ve sonraki sürümlerin bir MSRB aktivitesi sergilediği bulunmuştur (Tarrago vd., 2022).

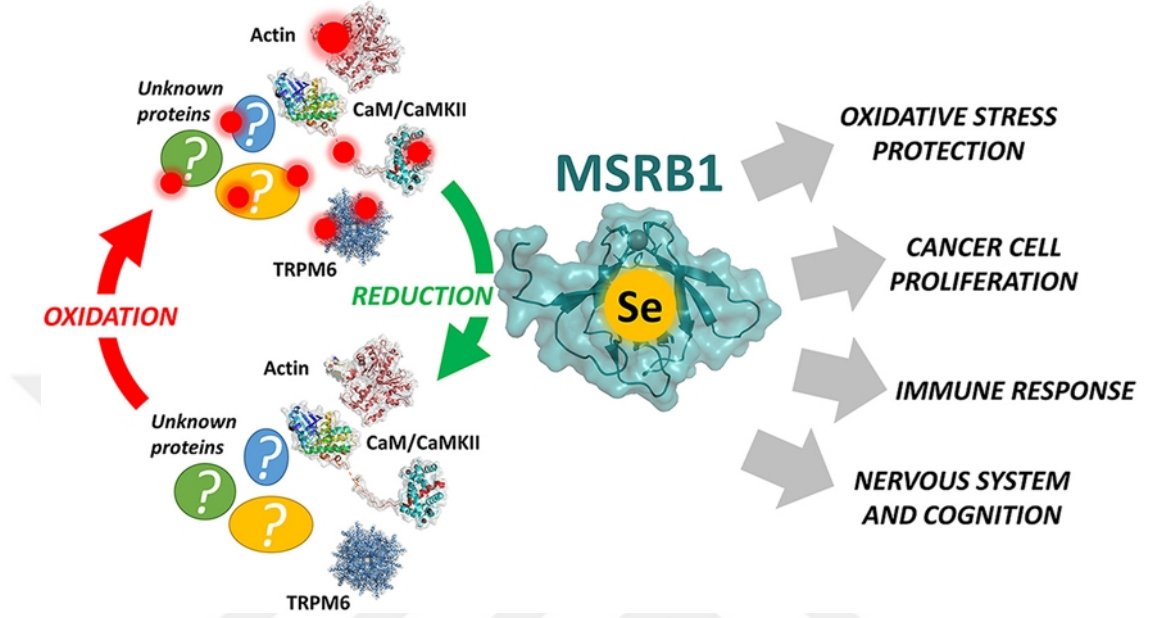


Şekil 3. MsrB katalitik mekanizması

MsrB1 durumunda (şeklin üst kısmı), metiyonin sülfoksit indirgemesi, selenosistein'in (Sec) substratın kükürt atomuna nükleofilik saldırısıyla başlar ve kararsız bir ara ürünün oluşumuna yol açmaktadır. İyonik yeniden düzenleme, bir metionin molekülünün eşzamanlı salınımıyla birlikte bir selenik asit ara maddesinin oluşumuna yol açmaktadır. Geri dönüşüm sisteinin (Cys) bu selenik asit ara maddesine nükleofilik saldırısı, daha sonra tioredoksin (Trx)/tioredoksin redüktaz (TR)/NADPH rejenerasyon sistemi veya ditiyotreitol (DTT) tarafından indirgenen molekül içi bir selenenilsülfid bağının oluşumuna yol açar. Buna karşılık, metionin salınımından sonra Cys üzerinde oluşan MsrB2 ve MsrB3'ün (şeklin alt kısmı) sülfenik ara maddesi, bu mekanizmalardan biri ile doğrudan tam aktif durumuna indirgenebilir (Kim ve Gladyshev, 2005; Lowther vd., 2002).

Genomik analizler çoğu hayvan soyunda ortaya çıktığını göstermiş ve biyokimyasal ve yapısal analizler katalitik mekanizmasını ortaya çıkarmıştır. Yapılan çalışmalarla transgenik farelerin ve memeli hücre kültürünün kullanımı, bunun oksidatif strese karşı koruma, nöronal hücrelerin bakımı, biliş, kanser hücresi çoğalması ve bağışıklık tepkisine karşı korunmadaki fizyolojik önemini ortaya çıkarmıştır. Met

oksitleyici MICAL enzimlerinin keşfiyle aynı zamana denk gelen, hücre iskeleti aktinin geri dönüşümlü stereospesifik Met-R-oksidasyonu yoluyla doğuştan gelen bağışıklık tepkisini düzenleyen MSRB1'in son bulguları, MSRB1'in biyolojik önemi ve hastalıktaki rolü için yeni yollar ortaya koydu (Radak vd., 2011; Li vd., 2013).



Şekil 4. MsrB1'in fizyolojik önemi

MSRB1 ile ilişkili hastalıklar arasında Stafiloenterotoksemi ve Keshan Hastalığı bulunur . Önceki çalışmalar MsrB1'in yaşlanma, nörodejeneratif hastalık ve diyabet gibi oksidatif hasara bağlı hastalık veya bozukluklarla yakın ilişkisi olduğunu doğruladı (Radak vd., 2011; Li vd., 2013).

2.2.1. Kanserde MsrB1'in Rolü

MsrB1'in çeşitli kanserli hücre dizilerinde kanserin ilerlemesini etkilediği gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda MsrB1'in farklı kanser türlerinde spesifik roller oynadığını ortaya çıkarmıştır (Li vd., 2018; He vd., 2018).

Tümör oluşumu, DNA üzerindeki oksidatif hasarın, poligenik hastalıkların oluşumuna doğrudan katılan gen mutasyonuna yol açtığı karmaşık bir süreçtir. Bir antioksidan olarak vurgulanan MsrB1, DNA dahil biyolojik moleküllerdeki oksidatif hasarın onarımına katılmaktadır (Drazic ve Winter, 2014). Chen vd.,'ne göre; Metil, DNA sentezi için gerekli olduğundan ve MsrB1, MetO'yu Met'e katalize edebildiğinden, MsrB1'in kanser hücrelerinde DNA sentezini/hücre çoğalmasını etkilediğini savunmuşlardır (Chen vd., 2021). Aslında birkaç çalışma, MsrB1'in tümör gelişiminde spesifik roller oynadığını ortaya çıkarmıştır bu da MsrB1'in tümör

oluşumunda keşfedilmemiş özelliklerine işaret etmektedir (Li vd., 2018; He vd., 2018). Kolorektal kanser (CRC) dünya çapında en sık görülen kanserlerden biridir ve her yıl yarım milyon insanın ölümüne sebep olmaktadır. Çoklu çevresel ve yaşam tarzı faktörleriyle ilişkili olduğu rapor edilmiştir. MsrB1'in insan kolorektal kanser (CRC) gelişimindeki rolü hakkında çok az şey bilinmesinden dolayı Chen vd., CRC dokusunda ve hücre hatlarında MsrB1'in ekspresyon seviyesini tespit etmişlerdir (Chen vd., 2021). MsrB1'in CRC dokularında ve hücre hatlarında yüksek düzeyde eksprese edildiğini ve hücre çoğalmasının, göçünün ve istilasının önemli ölçüde inhibe edildiğini tespit etmişlerdir. Tespitlerinin sonucunda MsrB1'in kolon tümörünün ilerlemesinde onkogen olarak çalışabileceğini bulmuşlardır ve MsrB1'in bir biyobelirteç olarak potansiyel rolü belirlenmiş ve CRC'nin klinik tedavisi için yeni bir hedef sağlayabileceği sonucuna ulaşmışlardır (Chen vd., 2021).

Hepatoselüler karsinom (HCC), dünya çapında beşinci sırada yer alan bir karaciğer kanseridir. MsrB1 bu kanserin tedavisinde de incelenmiştir. Kanser hücreleri artan düzeyde aerobik glikoliz (Warburg etkisi olarak adlandırılır) ve yüksek düzeyde reaktif oksijen türleri (ROS) sergilerken, normal hücreler oksidatif fosforilasyona bağımlıdır (Kim, 2013). ROS regülasyonu tümör gelişimi, metastaz ve antikanser tedavilerine verilen yanıtlarda önemli bir faktördür. ROS, doğrudan veya dolaylı olarak tümör oluşumu ve metastazla bağlantılı birçok sinyal yolunu düzenlemektedir. Oksidatif stres indüksiyonu, kanser hücrelerinin tercihli olarak öldürülmesine yol açabilir. 2018 de He vd.,'nin Hepatoselüler karsinom (HCC) hücreleri üzerinde yaptığı çalışmada, MsrB1'in müdahale ettiği HCC hücrelerinde proliferasyon ve metastazın azaldığı görülmüştür ve bu kanser çalışmasının sonucu da bu faktörün tümör tedavisi için biyolojik bir hedef olabileceğini bilim insanlarını düşündürmektedir (He vd.,2018).

Tablo 4. MsrB1'in Kanserdeki Etkisi

Kanser	Sonuç	Kaynak
İnsan Hepatoselüler Karsinomu (HCC)	İn vivo olarak MsrB1'in yıkılması, tümör büyümesini etkili bir şekilde inhibe etti	He vd., 2018
Meme Kanseri	Sp1 transkripsiyon faktörünün ekspresyonunda merkezi bir rol oynayabileceğinin keşfi de dahil olmak üzere, insan MsrB1 geninin transkripsiyonel düzenlemesine ilişkin ilk bilgileri sağlar.	Luca vd., 2007

2.2.2. Karaciğer Hasarında MsrB1'in Rolü

Asetaminofen (N -asetil- p -aminofenol, APAP) dünya çapında analjezik ve antipiretik bir ilaç olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, APAP doz aşımı, toplam başarısızlık ve ölüm de dahil olmak üzere ciddi akut karaciğer hasarına neden olabilir (Rumack; 2004). Amerika Birleşik Devletleri ve Birleşik Krallık da dahil olmak üzere birçok ülkede ilaca bağlı karaciğer hasarının en yaygın nedeni olarak gösterilmiştir (Rumack; 2004). Karaciğerde APAP'ın biyotransformasyonu yoluyla üretilen reaktif metabolit N -asetil- p -benzokinon imin, glutasyonu (GSH) tüketir, proteinlerin tiyol gruplarına kovalent olarak bağlanır ve ROS üretimini indükleyerek sonuçta hepatotoksisite oluşturur . APAP doz aşımı hastaları için etkili bir tedavi , hepatik GSH düzeylerini artırmak ve dolayısıyla ROS düzeylerini azaltmak için GSH (veya N –asetilsistein) tedavisidir (Rumack; 2004).

MsrB1 karaciğerde yüksek düzeyde eksprese edilir ve ana hepatik MsrB enzimini temsil eder (Fomenko vd., 2009; Novoselov vd., 2010). Nakavt farelerde MsrB1, karaciğer ve böbrekte artmış protein oksidasyonu, lipid peroksidasyonu ve

oksidlenmiş GSH seviyeleri sergiler (Novoselov vd., 2010). MsrB1'in bu detoksifiye edici organlarda antioksidan bir rol oynadığını öne sürmektedir. Memeli hücrelerinde MsrB1'in yıkılması, ROS üretimini ve oksidatif stres kaynaklı hücre ölümünü artırır, aşırı ekspresyonu ise oksidatif stres koşulları altında hücrenin hayatta kalmasını artırır (Fomenko vd., 2009).

Bu bilgilerin ışığında Kim vd., MsrB1 nakavt fareleri ve primer hepatositleri kullanarak, ana hepatik MsrB enzimi olan MsrB1'in APAP kaynaklı hepatotoksositeye karşı koruyucu rolünü göstermişlerdir. Çalışmalarında MsrB1 eksikliğinin, sırasıyla farelerde ve hepatositlerde APAP kaynaklı karaciğer hasarını ve sitotoksositeyi arttırdığını gözlemlemişlerdir (Kim vd., 2017). GSH tükenmesi ile artan oksidatif stresin, APAP'ın hepatotoksositeyi indüklediği önemli bir mekanizma olduğu düşünülmektedir (Saito vd., 2010). MsrB1 eksikliği, lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu gibi APAP kaynaklı oksidatif stres süreçlerinde artışa yol açmıştır (Kim vd., 2017). MsrB1'in antioksidan fonksiyonunun, hepatik hücrelerin APAP kaynaklı toksisiteden korunmasında anahtar rol oynadığını göstermektedir (Kim vd., 2017).

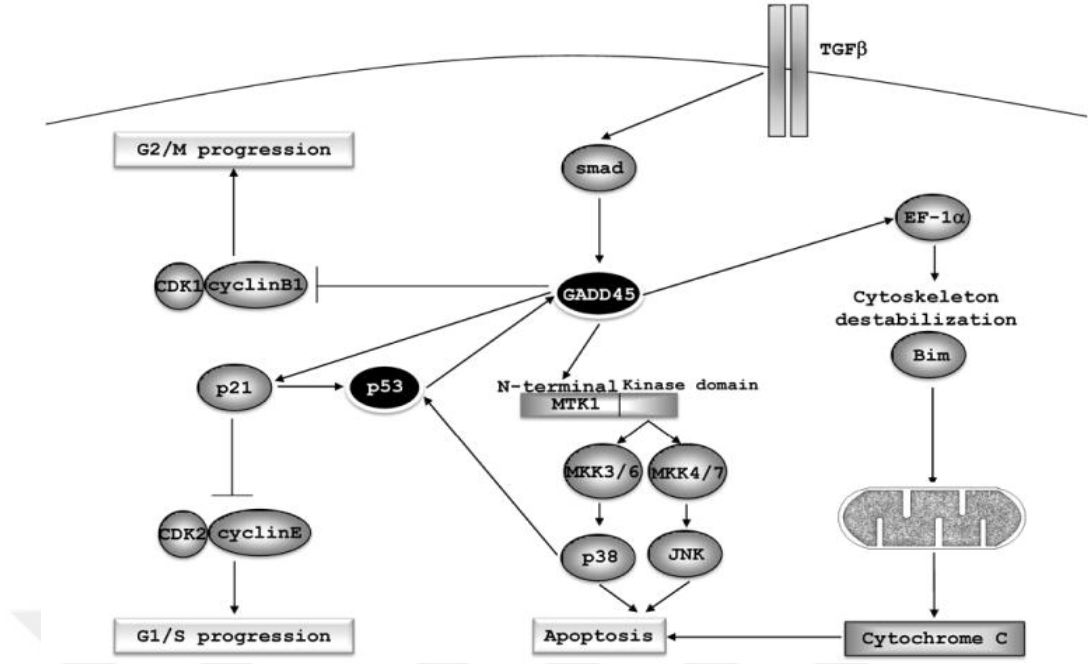
2.2.3. Nörodejeneratif Hastalıkta MsrB1'in Rolü

Bilim insanları tarafından yapılan çalışmalarda MsrB1'in nörodejeneratif hastalıklarla yakından ilişkisi olduğunu biliyoruz. Bunun üzerine Shi vd., , MsrB1'in merkezi sinir sisteminde önemli bir rol oynayabileceğini varsaydılar. MsrB1 nakavtının beyin gelişimi veya öğrenme davranışı üzerinde herhangi bir etkisinin olup olmadığını incelemek için, MsrB1 eksikliği olan farelerin beyinleri üzerinde histolojik çalışma gerçekleştirdiler ve ayrıca Morris su labirenti ve elektrofizyolojik yöntemler kullanarak bu farelerin uzaysal öğrenme yeteneğini ve uzun vadeli sinaptik plastisitesini test etmişlerdir. Sonuç olarak MsrB1 kaybının, merkezi sinir sisteminin genel gelişimini bozmadığı, ancak farelerin uzaysal öğrenmede yetersiz kalmasına ve beyin dilimlerinin CA1'inde LTP/LTD ekspresyonunda ciddi bozulmalara neden olduğu gözlemlenmiştir (Shi vd., 2019). Sonuç olarak, MsrB1'in kaybı farelerin beyinde astrogliosis (merkezi sinir sistemindeki (CNS) hasara bağlı hastalık) ile sonuçlanmıştır (Shi vd., 2019).

2.3. Gadd45 Geni

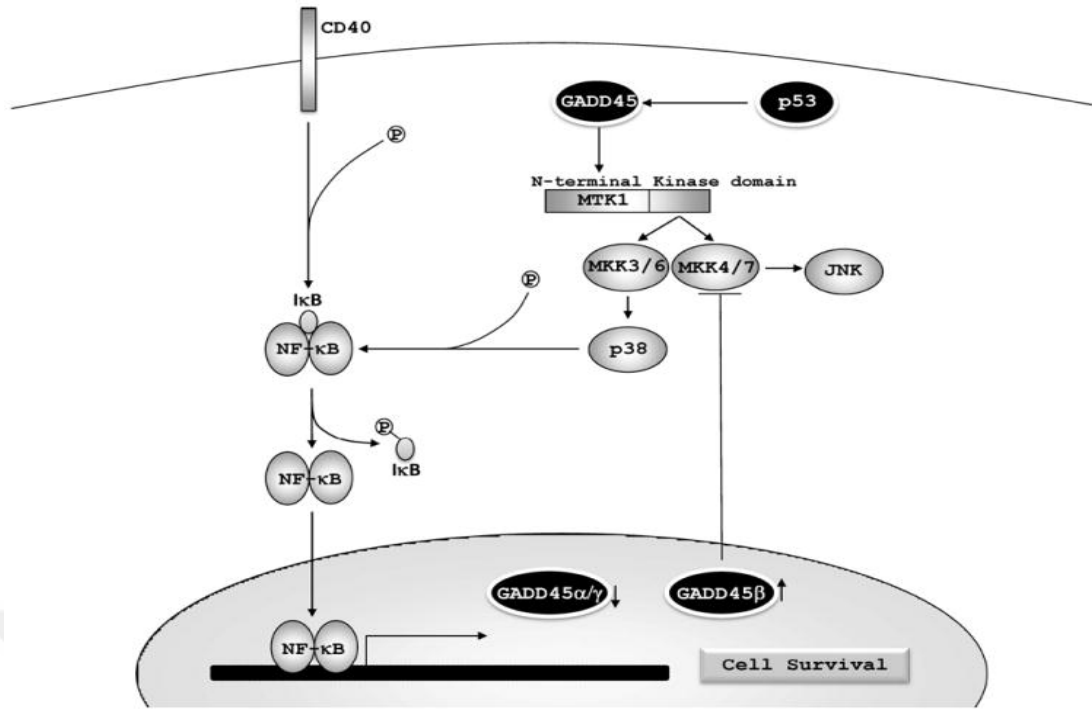
Büyüme durması ve DNA hasarıyla indüklenebilir (GADD) gen GADD45, DNA'ya zarar veren ve/veya büyümenin durmasına neden olan ajanlar tarafından indüklenen bir grup genin bir üyesidir. Gadd45 gen ailesi üç adet oldukça homolog (amino asit seviyesinde %55-58 genel özdeşlik), küçük, asidik, nükleer proteini kodlayan genleri oluşturmaktadır: GADD45a, GADD45 β (MyD118) ve GADD45 γ (CR6, sitokin tepki geni 6). İnsanlarda GADD45 proteinleri normal yetişkin ve fetal dokularda, özellikle de hareketsiz hücresel popülasyonlarda her yerde tespit edilir ve hücre döngüsünün G1 fazı sırasında yüksek oranda eksprese edilir, S fazı sırasında ise protein ekspresyonu önemli ölçüde azalır (Kearsey vd., 1995). Çeşitli fare dokularındaki GADD45 protein seviyelerinin analizi, böbrek ve iskelet kasında yüksek oranda, dalak, kalp, akciğer, beyin ve karaciğerde orta düzeyde, testiste ise düşük düzeyde eksprese edilmiştir (Zhang vd., 1999).

Gadd45 genleri, hücre döngüsünün durması, DNA onarımı, hücrenin hayatta kalması ve yaşlanması veya apoptozla sonuçlanan çeşitli fizyolojik veya çevresel stres etkenlerine karşı stres sinyalleme yanıtlarında rol oynar. Bugüne kadar elde edilen bulgular Gadd45 proteinlerinin stres sensörleri olarak işlev gördüğünü, hücre döngüsü düzenlemesinde ve hücrelerin strese tepkisinde rol oynayan diğer hücresel proteinlerle fiziksel etkileşimlerin karmaşık etkileşimi yoluyla aktivitelerine aracılık ettiğini göstermektedir. Bunlar PCNA, p21, cdc2/siklinB1 ve p38 ve JNK stres tepkisi kinazlarını içerir (Zhang vd., 1999).



Şekil 5. GADD45 aracılı hücre döngüsü durması ve apoptoz

GADD45, CDK1/CyclinB1 kompleksinin kinaz aktivitesini inhibe eder ve G2/M tutuklanmasını destekler; p21^{waf/cip/mda-6} ile etkileşim G1/S'nin tutuklanmasına katkıda bulunur. GADD45 proteinlerinin MTK1'in N-terminal alanı ile etkileşimi, oto-inhibitör alanının ortadan kalkmasına ve hem p38 hem de JNK yollarını aktive eden ve apoptozu indükleyen kinaz alanının aktivasyonuna yol açar. GADD45 proteinleri ayrıca EF1-a ile etkileşime girerek mitokondri aracılı apoptoza katılır, bu da hücre iskeletinin dengesizleşmesine ve Bim'in salınmasına yol açar. Sonuç olarak Bim, sitokrom-c salınımıyla apoptozun indüklenmesi ile sonuçlanır. GADD45 proteinlerinin inhibisyonu, NF-κB aracılı hücre hayatta kalmasında önemli bir adımdır (Zhang vd., 1999).



Şekil 6. GADD45 proteinleri ve hücre sağkalımı

NF-κB, GADD45α ve GADD45γ'yi baskımlarken, GADD45β ifadesini indükler. NF-κB, hücrenin hayatta kalmasına ve MKK4/7 ve JNK aracılı apoptozun inhibisyonuna yol açan GADD45β aktivasyonuna aracılık eder. GADD45 proteinleri aynı zamanda IκB'nin bozulmasını ve NF-κB yolunun aktivasyonunu teşvik eden p38'in indüksiyonu yoluyla hücrenin hayatta kalmasında da rol oynayabilir.

Gadd45 ile ilişkili hastalıklıkların çoğu kanser üzerinde toplanmıştır. Aynı zamanda bağışıklık hastalıklığıyla da ilişkilendirilmiştir (Zhang vd., 1999).

2.3.1. Kanserde Gadd45' in Rolü

GADD45 proteinleri, stres sensörleri ve tümör baskılayıcılar olarak görev yapan hücrel genotoksik ve genotoksik olmayan stres yanıtlarında önemli roller oynar. Kemoterapötik ajanların ve steroidal olmayan antiinflatuar ilaçların (NSAIDS) anti-kanser aktivitesinin, tümör hücrelerinde hücre döngüsünün durdurulması ve apoptozun indüksiyonu için GADD45 yukarı regülasyonuna dayandığına dair kanıtlar da sağlanmıştır (Rishi vd., 1999; Zerbini vd., 2006). Tümör baskılayıcı gen ürünü p53'ün hücre döngüsü kontrol noktalarının temel bileşenlerinden biri olduğu belirtilmektedir. p53, p21^{WAF1/CIP1/SDI1} (p21) ve GADD45 dahil olmak üzere bir dizi önemli hücre döngüsü modüle edici geni yukarı regüle eden bir transkripsiyon faktörüdür. p21, siklin/CDK ailesinin her üyesinin aktivitesini in vitro olarak inhibe

edebilen ve aşırı eksprese edildiğinde hücre büyümesini inhibe edebilen sikline bağımlı bir kinaz inhibitörüdür (Xiong vd., 1993). DNA'ya zarar veren ajanların G1/S kontrol noktasını tetikleme yeteneği, en azından kısmen p53'e bağımlı p21 aktivasyonundan kaynaklanır (Xiong vd., 1993).

İnsan karsinogenezi sırasında yapılan bir çalışmada yaygın bir olay olan p53'ün etkisizleştirilmesi DNA hasarından sonra G1/S kontrol noktasının kaybıyla sonuçlanmıştır (Kastan vd., 1992). İnsan tümörlerinde nadir görülen bir olay olan p21 fonksiyonundan yoksun hücreler aynı zamanda G1/S kontrol noktasında da eksiktir ve bununla birlikte, p53 eksikliği olan farelerin aksine, p21 eksikliği olan fareler normal gelişime ve normal apoptotik tepkiye sahiptir ve spontan malignitelerin sıklığında artış olmadığı bulunmuştur (Donehower vd., 1992; Deng vd., 1995).

Glioblastoma multiforme (GBM) en agresif kanserlerden biridir. Multimodal tedavilerdeki son gelişmelere rağmen yüksek dereceli glioma ölümcül olmaya devam etmektedir. Temozolomid (TMZ), GBM'nin klinik tedavisinde dünya çapında kullanılan bir alkilleyici ajandır. Bunların üzerine Wang vd., 2017 yılında yaptığı çalışmada GADD45A'nın hem hücre döngüsü hem de apoptoz dizilerinde TMZ tarafından yukarı doğru düzenlendiğini bulmuşlardır. Burada TMZ'nin proliferasyonu inhibe ettiğini ve GBM hücrelerinin G2/M tutuklanmasını indüklediğini buldular ve bu nedenle TMZ'den etkilenen hücre döngüsü ve apoptozla ilişkili genleri tanımlamak için mikrodiziler gerçekleştirmişlerdir (Donehower vd., 1992; Deng vd., 1995).

GADD45'in ekspresyonundaki değişiklikler, çeşitli tümör tiplerinde (Tablo 5)'de gösterilmiştir; hepatoselüler karsinomda (HCC) yanı sıra yumurtalık, akciğer, meme, hipofiz ve mide kanserlerinde ekspresyonda azalma ve multipl miyelom, pankreas duktal adenokarsinomu, kolanjiyokarsinom ve glioblastomada artan ekspresyon tespit edilmiştir. Bu nedenle GADD45'in karsinogenezde benzersiz roller oynayabileceğini bizlere göstermiştir(Donehower vd., 1992; Deng vd., 1995).

5. Gadd45'in Kanserdeki Etkisi

Kanser Türü	GADD45 analiz yöntemi	Bulgular	Kaynak
Yumurtalık kanseri	qRT-PCR	Normal deneklerin yumurtalık dokularına kıyasla yumurtalık tümör dokularında GADD45A azalması	Yuan vd., (2015)
Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (NSLC)	qRT-PCR	NSLC tümör dokularında bitişik normal dokuya kıyasla azalmış GADD45A	Higashi vd., (2006)
Meme kanseri	Northern blot	Normal meme kültürlerine kıyasla meme kanseri dokularında G ADD45A ekspresyonunun azalması	Wang vd., (2005)
Gastrik kardiya adenokarsinomu (GCA)	RT-PCR, qRT-PCR, IHC	GADD45A ve GADD45G ekspresyonunda azalma, komşu normal mide dokusuyla karşılaştırıldığında GCA dokusunda GADD45B'de değişiklik yok	Guo vd., (2013a)
		GADD45A veya GADD45G'nin negatif ifadesi, kötü hayatta kalma ile ilişkilidir	
Glioblastoma	qRT-PCR, IHC	Normal beyin dokusuna kıyasla glioblastoma dokularında GADD45A'nın artan ekspresyonu	Reddy vd., (2008)
Pankreas duktal adenokarsinomu (PDAC)	qRT-PCR, IHC	Normal pankreas dokusuna kıyasla PDAC'de artan GADD45A	Schneider vd., (2006)
Özofagus	RT-PCR,	GADD45A artışı, GADD45G	Guo vd.,

skuamöz hücreli karsinom (ESCC)	qRT-PCR, IHC	azalması, eşleşen normal özofagus dokusuyla karşılaştırıldığında ESCC dokusunda GADD45B'de değişiklik yok	(2013b)
---------------------------------------	-----------------	---	-----------

IHC İmmünohistokimya, qRT-PCR kantitatif gerçek zamanlı ters transkriptaz-PCR, RT-PCR ters transkriptaz-PCR

2.3.1.1. Gadd45'in Kanser Tedavisindeki Rolü

GADD45'in ekspresyonunda, çeşitli katı tümörlerde ve ayrıca bu proteinlerin karsinogenez ve tedavi yanıtındaki destekleyici ve inhibe edici rollerinde değişiklikler çalışmalarla tespit edilmiştir. Çeşitli kemoterapötik ilaçlar , transkripsiyonu teşvik ederek veya transkriptleri stabilize ederek GADD45 proteinlerinin in vivo ve in vitro ekspresyonunu indükler ; bu, hücre büyümesi ve hayatta kalma üzerinde gözlenen ilaç etkisine katkıda bulunabilir (Guo vd., 2013b).

2.3.2. Bağışıklıkta Gadd45'in Rolü

Gadd45 proteinleri, hücre içi sinyal ağlarının önemli bileşenleridir. Bir takım sitokinler ve bakteriyel lipopolisakkaritler tarafından indüklenirler. Doğuştan gelen bağışıklık sistemi içinde Gadd45 proteinleri, miyeloid hücrelerin farklılaşmasının yanı sıra granülositlerin ve makrofajların işlevi için de çok önemlidir. Uyarlanabilir bağışıklık ile ilgili olarak Gadd45 proteinleri özellikle T hücrelerinde iyi karakterize edilmiştir. Gadd45, T hücresi reseptörünün aşağı akışında p38 kinaz aktivasyonunu inhibe eder. Bağışıklık sistemindeki birçok işlevi nedeniyle Gadd45 proteinlerindeki eksiklik, otoimmün hastalıklara ve daha az etkili tümör immün gözetimine neden olur (Guo vd., 2013b).

Yapılan bir çalışmada Gadd45'in yokluğuna bakılmıştır ve kemik iliği hücrelerinin in vitro farklılaşması makrofaj veya granülosit soyları, bu hücre tiplerinin sıklığının azalmasıyla sonuçlanmıştır (Gupta vd., 2006). Bu, farklılaşma sırasında artan apoptoz ve Gadd45α ve Gadd45β eksikliği olan hücrelerin klonojenitesinin azalması ile ilişkilendirilmiştir. Miyeloid hücrelerin intraperitoneal 5-florourasil enjeksiyonu ile ablasyona tabi tutulması durumunda in vivo olarak miyeloid farklılaşmasında azalma gözlenmiş ve enjeksiyondan 10 gün sonra iyileşme gözlenmiştir (Gupta vd., 2006) . Bu nedenle Gadd45 protein ekspresyonu, miyeloid hücrelerin terminal farklılaşmasını destekleyebilceği ve aynı zamanda bu terminal olarak farklılaşmış

hücrelerin proliferasyonunu inhibe edebileceği düşünülmüştür. Başka bir çalışma , bir fare modelinde, Gadd45 α eksikliği olan ve Gadd45 β eksikliği olan fareler, LPS enjeksiyonu üzerine miyeloid hücrelerin periton boşluğuna alımında bozulma sergilemiştir (Salerno vd., 2012). Gadd45 α eksikliği olan ve Gadd45 β eksikliği olan makrofajların fago sitik kapasitesi büyük ölçüde bozulmuştur (Salerno vd., 2012). Mekanik olarak bu, Gadd45 proteinleri tarafından p38 ve JNK mitojenle aktive edilen protein kinaz sinyalinin düzenlenmesine atfedildi. Özetle, Gadd45 proteinleri miyeloid hücrelerin farklılaşması, çoğalması ve fonksiyonunda çok önemli bir rol oynamaktadır (Salerno vd., 2012).

2.4. Kaspaz-3 Geni (CASP3)

Kaspaz-3, programlanmış bir hücre ölümü süreci olan apoptozda çok önemli rol oynayan bir enzimdir. Birincil işlevi, bir hücre içindeki çeşitli proteinleri parçalamak veya parçalayarak hücrenin kontrollü bir şekilde parçalanmasına yol açmaktır. Bu süreç, doku homeostazisinin sürdürülmesi, hasarlı veya enfekte hücrelerin ortadan kaldırılması ve çeşitli gelişimsel süreçlerin düzenlenmesi için gereklidir. Kaspaz-3 aktivasyonu, apoptozun yürütme aşamasında önemli bir adımdır; burada hücrenin yapısal bileşenlerinin parçalanmasına yardımcı olur ve hücrenin kendi kendini yok etmesini sağlayan diğer enzimleri aktive eder (Gervais vd., 1999).

CASP3 proteini sistein - aspartik asit proteaz (kaspaz) ailesinin bir üyesidir . Bu gen tarafından kodlanan protein, hücre apoptozunun yürütme aşamasında merkezi bir rol oynayan bir sistein-aspartik asit proteazıdır. Kodlanan protein,(ADP-riboz) polimerazı parçalayıp etkisiz hale getirirken, sterol düzenleyici element bağlayıcı proteinlerin yanı sıra 6, 7 ve 9 kaspazlarını da parçalayıp aktive eder. Bu proteinin kendisi de 8, 9 ve 10 numaralı kaspazlar tarafından işlenir. Alzheimer hastalığında nöron ölümüyle ilişkili olan amiloid-beta 4A öncü proteininin bölünmesinde rol oynayan baskın kaspazdır (Gervais vd., 1999). Bu genin alternatif eklenmesi, aynı proteini kodlayan iki transkript varyantıyla sonuçlanır(Gervais vd., 1999).

Kaspaz-3 aktivasyonunun mekanizması ve apoptozdaki rolü şu şekilde özetlenebilir:

1. **Başlatma** : Apoptoz, DNA hasarı, büyüme faktörünün çekilmesi veya bağışıklık sistemi sinyalleri gibi çeşitli sinyallerle tetiklenir. Bu sinyaller, Kaspaz-8 veya Kaspaz-9 gibi başlatıcı kaspazların farklı yollardan aktivasyonuna yol açar.

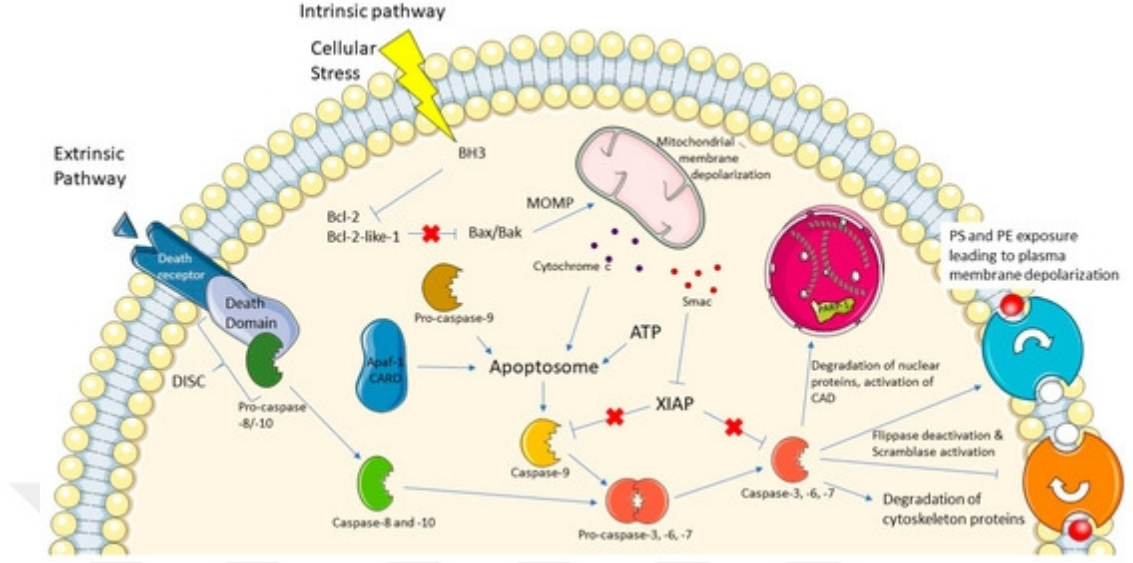
2. **Kaspaz-3'ün Aktivasyonu** : Başlatıcı kaspazlar aktive edildikten sonra Kaspaz-3'ü parçalayıp aktive ederler. İçsel yolda (mitokondriyal yol), mitokondriyal hasara yanıt olarak Kaspaz-9 aktive edilir. Ekstrinsik yolda (ölüm reseptörü yolu), kaspaz-8, ölüm ligandlarının hücre yüzeyindeki ölüm reseptörlerine bağlanması üzerine aktive edilir. Her iki yol da sonunda Kaspaz-3 aktivasyonuna yol açar.
3. **Yürütme Aşaması** : Aktive edilen Kaspaz-3, uygulayıcı kaspaz görevi görür. Yapısal proteinler ve DNA onarım enzimleri dahil olmak üzere çeşitli hücre proteinleri parçalar. Bu bölünme süreci hücrenin yapısal bileşenlerini parçalara ayırarak hücrenin büzülmesine ve parçalanmasına yol açar.
4. **Hücreyel Değişiklikler** : Anahtar hücreyel proteinlerin Kaspaz-3 tarafından bölünmesi, apoptotik hücrelerde DNA parçalanması, membran taşması ve apoptotik cisimlerin oluşumu gibi karakteristik değişikliklere yol açar.
5. **Fagositoz** : Apoptotik hücre ve onun parçaları daha sonra tanınır ve komşu hücreler veya fagositik bağışıklık hücreleri tarafından yutulur, böylece zararlı hücreyel içeriklerin çevredeki dokuya salınması önlenir.
6. **İnflamasyonun Önlenmesi** : Kaspaz-3 gibi kaspazların aracılık ettiği apoptoz, inflamasyonu tetiklemeyen, doku bütünlüğünü korumak ve inflamasyona bağlı hasarı önlemek için çok önemli olan düzenli bir süreçtir.

Özetle Kaspaz-3, apoptotik yolda merkezi bir oyuncudur; burada, iltihaplanmaya neden olmadan kontrollü hücre parçalanmasını sağlamak için çeşitli hücreyel proteinleri parçalayarak bir uygulayıcı olarak görev yapar. Bu süreç normal gelişim, doku homeostazisi ve hasarlı veya istenmeyen hücrelerin vücuttan uzaklaştırılması için gereklidir (Gervais vd., 1999).

Maddeler halinde anlatılan Kaspaz-3'ün mekanizması ve apoptozdaki rolü aşağıda Şekil 7' de gösterilen Apoptoz mekanizmasını anlamamıza kolaylık sağlayacaktır.

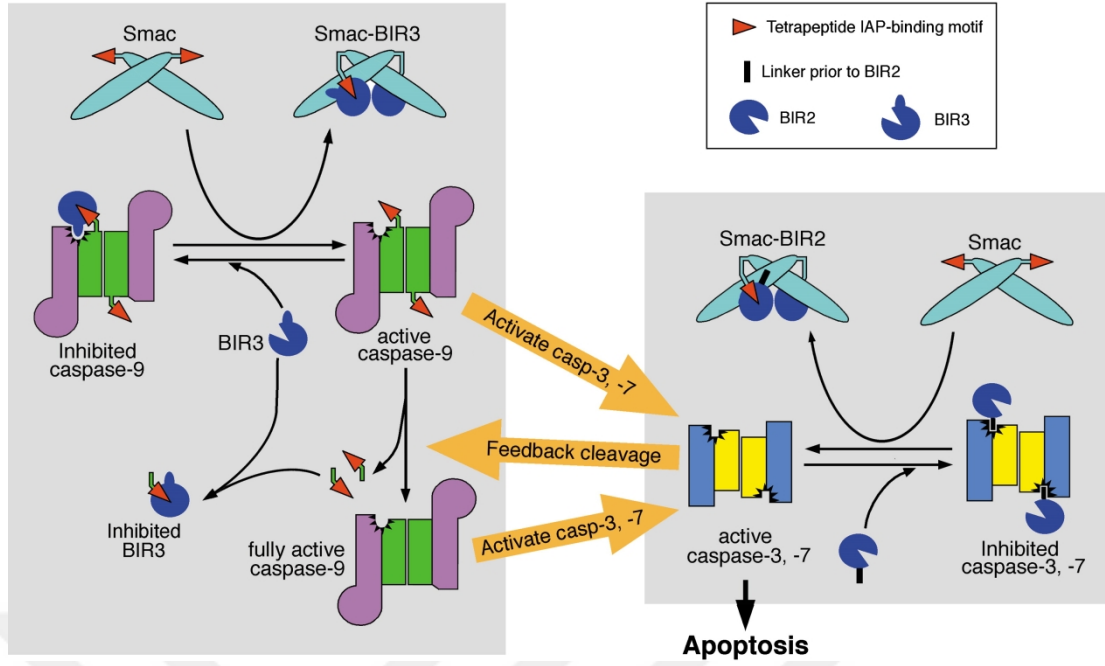
Apoptoz iki farklı dışsal ve içsel yollarla aktive edilebilirler. İlki, ölüm reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla tetiklenir ve başlatıcı kaspaz-8'i aktive eden bir olaylar dizisini başlatır. İçsel yol, hücre stres altındayken indüklenebilir; bu, mitokondriyal membranın depolarizasyonuna ve ardından başlatıcı kaspaz-9 aktivasyonunun kökeninde proapoptotik moleküllerin salınmasına yol açar (Şekil 7).

Bu aktive edilmiş başlatıcı kaspazlar, uygulayıcı kaspazları-3, -6 ve -7'yi başlatır; kaspaz-3 ve -7'nin yedek rolleri vardır (McComb vd., 2019; Riedl ve Shi , 2004) .



Şekil 7. Apoptoz Mekanizmaları

Ekstrinsik yolda, ölüm reseptörleri aktive edilir ve başlatıcı kaspaz-8 ve -10'un aktivasyonuna yol açar. İçsel yolda hücrel stres, normalde Bax ve Bak proteinlerini inhibe eden antiapoptotik proteinler Bcl-2 ve Bcl-2-benzeri-1'i devre dışı bırakan yalnızca Bcl-2 homoloji 3 (BH3) proteinlerinin aktivasyonuna yol açar. Bu, mitokondriyal membranın geçirgenleşmesiyle sonuçlanır, mitokondriyal membran depolarizasyonuna ve sitokrom c ve Smac proteinlerinin salınmasına neden olur. Sitokrom c, apoptozom oluşumunu indükler ve bunu başlatıcı kaspaz-9'un aktivasyonu takip eder. Her iki yolda da başlatıcı kaspazlar efektör kaspazları aktive ederek hücre içi materyalin parçalanmasını ve hücrenin ölümünü başlatır(McComb vd., 2019; Riedl ve Shi , 2004) .



Şekil 8 . Kaspaz Aktivasyonu ve İnhibisyonu Mekanizmalarının Şematik Diyagramı

Apoptozun düzensizliği çeşitli koşullara yol açabilir. Örneğin Alzheimer hastalığı veya Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar, genellikle aşırı apoptoz yoluyla nöron kaybıyla karakterize edilir (Singh vd., 2019). Ek olarak apoptoz, iskemik kalp hastalığı gibi hastalıkların ana etkenleri arasındadır. Aksine, kanserin ayırt edici özellikleri arasında kanserli hücrelerin apoptozdan kaçma yeteneği vardır (Hanahan ve Weinberg, 2011). Bu nedenle yaygın bir tedavi stratejisi, kaspaz kaskadının aktivasyonu yoluyla tümörlerde apoptozun indüklenmesidir (Hanahan ve Weinberg, 2011).

2.4.1. Kanserde Kaspaz-3'ün Rolü

Kaspaz-3 kanserde karmaşık ve bağlama bağlı bir rol oynar. Rolü, kanser gelişiminin evresine, kanserin türüne ve tümörde mevcut olan spesifik genetik ve moleküler değişikliklere bağlı olarak değişmektedir (Chen ve Wong, 2009).

Kanser hücrelerinde şu ana kadar üç baskın apoptotik yol açıklanmıştır: ölüm reseptörünün aracılık ettiği dışsal yol, mitokondrinin aracılık ettiği içsel yol ve endoplazmik retikulum stresinin aracılık ettiği apoptotik oksidatif stres yolu (Chen ve Wong, 2009). Apoptoz, proapoptotik proteazlardan ve mitokondriyal değişikliklerden oluşan karmaşık bir mekanizmayı tetikleyen, spesifik endonükleazların aktivasyonuna ve DNA fragmentasyonuna yol açan hücre dışı ve hücre içi sinyaller tarafından başlatılabilir (Shi 2002; Brookes vd., 2004).

Mitokondri proapoptotik sinyallere maruz kalırsa mitokondriyal sitokrom c salınır. Salınan sitokrom c, Apaf-1'e bağlanır ve ardından kaspaz-9 aktivasyonuna katılır. Aktive edilmiş kaspaz-9 sonuç olarak kaspaz-3'ü aktive edebilir, bu da kaspazla aktifleşen DNaz proteinini parçalayarak kaspazla aktifleşen DNaz'ın bir inhibitöründen kaspazla aktifleşen bir DNaz'ı aktive eder (Yoon vd., 2002) . Bu süreç, apoptozda belirleyici bir olay olan DNA bozulmasına yol açar. Strese bağlı çeşitli uyarılar, reaktif oksijen türleri (ROS) dahil olmak üzere apoptotik faktörleri aktive eder. Son çalışmalar H_2O_2 gibi ROS'un Oksidatif strese bağlı çeşitli bozukluklarla ilişkili olarak oluşan bu hücreler hücre ölümüyle ilişkili olabilir ve dolayısıyla apoptozda önemli rol oynayabilir (Halliwell 2006; Nazıroğlu 2007a) .

Se, birçok biyolojik süreçte kritik rol oynayan önemli bir eser mineral olarak iyi bilinmektedir; ve dolayısıyla optimal insan sağlığı için bu elementin yeterli miktarları gereklidir (Rayman 2000). Aslında Se, öncelikle glutatyon peroksidazın (GSH-Px) bir bileşeni olarak antioksidan aktivitesi ve terapötik yönlerden kemopreventif, antiinflamatuvar ve antiviral özellikleriyle de bilinir (Rayman 2000) .

Se'nin farklı konsantrasyonlarının hücresel hayatta kalma ve ölüm üzerindeki düzenleyici etkileri açıklığa kavuşturulmadığından, Uğuz vd.,'leri Se'un hücre canlılığı ve hücre içi depolardan Ca^{2+} salınımındaki rolünü kontrol ederek insan promyelositik lösemi HL-60 hücrelerindeki ikili etkisini araştırmışlardır (Uğuz vd., 2009). Çalışılan kanser hücresi tiplerinin çoğunda kaspazlar, Se'nin neden olduğu apoptotik hücre ölümünün ana uygulayıcıları olarak görev yapmaktadır. Ayrıca başka bir Se çalışmasında, kaspaz-3 yokluğunda ve p53 ve p38 yollarının katılımıyla tipik nükleer parçalanma olmadan kaspazdan bağımsız apoptozu indüklediği de bulunmuştur (Jiang vd., 2004).

Çalışmalar, selenit ve SeMet'in, süperoksit aşırı üretiminin aracılık ettiği p53 ve kaspaz aktivasyonunun katılımıyla insan prostat kanseri hücrelerinde apoptozu indüklediğini göstermiştir (Jiang vd., 2004; Zhao vd., 2006). Kaspaza bağımlı veya bağımsız apoptotik yolların indüksiyonu, Se'nin kimyasal formlarına ve ilgili hücre tiplerine bağlıdır. Bildiğimiz kadarıyla Se konsantrasyonlarının oksidatif strese bağlı kaspaz aktiviteleri ve apoptoz üzerindeki etkilerine dair bir rapor bulunmamaktadır. Uğuz vd.,bu çalışmada yüksek konsantrasyonlarda Se'nin HL-60 hücrelerinde kaspaz-3- ve -9'a bağlı apoptozu indüklediğini gözlemlemişlerdir. Dolayısıyla bu

gözlemler Se'un bir antiapoptotik sinyali aktive ederek hücrenin hayatta kalmasını sağladığını göstermiştir (Uğuz vd., 2009).

Tablo 6. Kaspaz-3'ün Kansere Etkisi

Kanser Türü	Bulgular	Kaynak
Akciğer Kanseri	Kaspaz-3'ün aktivitesi ve ifadesi önemli ölçüde arttı	Liao vd., 2023
Baş ve boyun kanseri (HNC)	Kaspaz 3'teki artışın malignitenin OPMD'den HNC'ye ilerlemesini destekledi	Fábio vd., 2022
Kolorektal Kanser (CRC)	Kaspaz 3, gen ekspresyon düzeyinin kolorektal kanserli hastalar ile ilişkili olduğunu gösterdi	Zainab , 2023
Meme Kanseri	Yüksek Kaspaz-3 ekspresyonunun, olumsuz meme kanserine özgü sağkalım ile önemli ölçüde ilişkili olduğu saptandı	Xuan vd., 2017
Kanser Kaşeksisi	Kaspaz-3, tümör kaşeksisi sürecinde kas proteini tüketiminde anahtar bir faktör olabileceği ihtimali arttı	Zheng vd., 2014
Farede Meme Kanseri	Kaspaz-3 ekspresyonu arttı	Mustofa vd., 2018
Sıçanlarda Beyin dokusunun iskemi-reperfüzyon (IR) hasarı	Apostain ve kaspaz-3 ile boyanmış apoptotik hücreler tedavi grubunda anlamlı derecede azaldı	Özbal vd., 2008
İnsan Promiyelositik lösemi (HL-60)	Se-metilselenosisteinin (MSC) insan promiyelositik lösemi (HL-60) hücrelerinde kaspaz aktivasyonu yoluyla apoptozu indükler	Taeho vd., 2001

2.4.2. Nörodejeneratif Hastalıkta Kaspaz-3'ün Rolü

Ölüme aracılık eden proteazlar olarak kaspazlar ve özellikle kaspaz-3'ün nörodejeneratif süreçlerde, yaşlanmada ve AD'da rol oynadığı gösterilmiştir. Ancak ortaya çıkan kanıtlar, hücre ölümündeki klasik rollerine ek olarak kaspazların, sinaptik fonksiyonun modüle edilmesinde de anahtar bir role sahip olduğunu göstermektedir (Gillardon vd., 1999; Du vd., 1997).

Kaspaz aracılı hücre ölümünün genel mekanizması, korteks, hipokampus ve beyincik gibi beyin yapılarındaki nöronlar da dahil olmak üzere farklı hücre tiplerinde yüksek oranda korunur (Gillardon vd., 1999; Du vd., 1997). Kaspazlar hücrelerde inaktif zimojenler olarak sentezlenir. Proteoliz üzerine kaspaz-8, -9, -10 ve -2 gibi başlatıcı kaspazlar, yürütücü kaspazları-3, -6 ve -7'yi ayırır. Cellat kaspazlar arasında kaspaz-3'ün aktivasyonu, nöronal apoptozda son derece önemli bir rol oynar ve hücre ölümünden önceki terminal olay olarak kabul edilir. Kaspaz-3 öncelikle kaspazlar 9 ve 8 tarafından yönlendirilen iki başlatıcı yol tarafından aktive edilmektedir (Gillardon vd., 1999; Du vd., 1997).

Nöronal hücrelerdeki bir hayatta kalma/plastisite anahtarının, nöronlardaki kaspaz-3 aktivasyonunun nihai etkisini düzenlediği görülmektedir. Yaygın kaspaz aktivasyonuna sahip hücrelerde kaspazlar apoptozu başlatır. Lokalize kaspaz-3 aktivasyonu olan genç hücrelerde, Kaspazlar dal budamasına aracılık eder ve sağlıklı yetişkinlerde Hebbian ve homeostatik plastisitenin normal bakımı için kaspaz-3 aktivasyonu gereklidir. Bu nedenle AD kaspaz düzensizliği gibi nörodejeneratif durumlarda, hem normal plastisite fonksiyonunun kaybı hem de sinaptik ve hücrel bozulmanın indüklenmesi yoluyla iki kat zararlı etkiye sahip olabileceği düşünülmüştür. Kaspazların patolojik etkilerini tam kaspaz inhibisyonu yoluyla azaltmaya çalışmak, dolayısıyla normal fizyolojik kaspaz fonksiyonlarının kaybına neden olabileceği düşünülenler arasındadır (Gillardon vd., 1999; Du vd., 1997).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi:

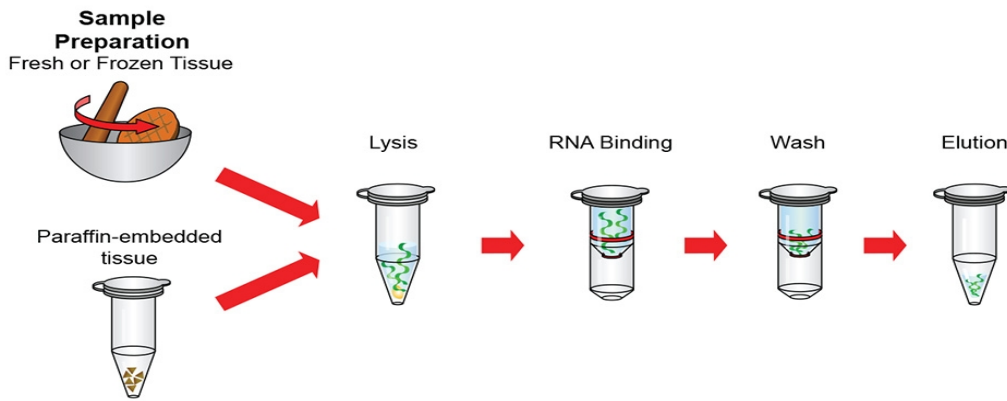
Araştırma deneysel (in vitro) bir çalışmadır. 4-6 haftalık dişi laboratuvar fareleri deney örnekleri olarak kullanılmıştır. Çalışmamızda kontrol grubunu oluşturan ve normal beslenen 6+6 iki gruba ayrılmış toplam 12 fare, çalışma grubunda ise çalışma süresince günlük iki kez musluk suyunda eritilerek verilen 0,4 mg/kg k.m. doz selenometiyonin ile beslenen 13 fare ile 0,2 mg/kg k.m. doz selenometiyonin ile beslenen 14 dişi farenin karaciğer ve beyin doku örnekleriyle çalışılmıştır. Bulgular bölümünde belirttiğimiz grafiklerde de görüleceği üzere farelerin karaciğer ve beyin dokuları her bir gen için iki farklı grupta incelendiler ve her bir genin farklı SeMet dozuna ve kontrol grubuna göre anlamlandırıldılar.

3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı:

Bu araştırma Kasım 2022 ile Kasım 2023 tarihleri arasında Litvanya Sağlık Bilimleri Üniversitesi (LSMU) Nörobilim Enstitüsü Moleküler Nörobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.3. Fare karaciğerinden ve beyninden RNA saflaştırması

GeneJet RNA saflaştırma kiti (Thermo Scientific, kat. no. #K0731, #K0732), fare karaciğerinden ve beyninden RNA saflaştırması için kullanıldı. RNA Saflaştırma aşamaları basitçe Şekil 9 da gösterilmiştir.



Şekil 9. Memeli dokudan RNA Saflaştırması

1) İşleme başlamadan önce Lizis Tamponu ve Proteinaz K solüsyonu yapıldı:

- 20 uL B-merkaptoetanol, her 1 mL Lizis Tamponuna eklendi;
- 590 uL TE tamponuna (10 mM Tris HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA) 10 uL Proteinaz K eklendi.

- 2) Yaklaşık 30 mg donmuş doku, sıvı nitrojen içerisinde yerleştirildi ve bir havan tokmağı ile iyice ezildi ve 1.5 mL'lik bir tüpe aktarıldı.
- 3) Daha sonra doku ile birlikte tüpe 300 uL Lizis Tamponu eklendi. Topak kalmayacak şekilde iyice vortekslendi.
- 4) Vorteksin ardından 600 µL Proteinase K solüsyonu ilave edilerek tekrardan vortekslenerek karıştırıldı. Tüp 50 °C sıcaklıkta 10 dakika inkübe edildi.
- 5) Tüp 10 dakika 12000 x g'de santrifüjlendi. Süpernatant daha sonra yeni bir RNaz içermeyen mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.
- 6) 450 uL %96 etanol eklendi ve pipetleme ile karıştırıldı.
- 7) Ayrıca, toplama tüpüne yerleştirilen GeneJET RNA Saflaştırma Kolonuna 700 µL'ye kadar lizat aktarıldı. Kolon 12000 x g'de 1 dakika santrifüjlendi. Akışkan atıldı ve saflaştırma kolonu tekrar toplama tüpüne yerleştirildi.
- 8) 7 numaralı adım lizatın tamamı kolona aktarılıp santrifüj edilene kadar tekrar edildi. Akışkan solüsyonu içeren toplama tüpü atıldı. GeneJET RNA Saflaştırma Kolonu 2 mL'lik yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
- 9) Daha sonra GeneJET RNA Saflaştırma Kolonuna 700 µL Wash Buffer 1 eklendi ve 12000 x g'de 1 dakika santrifüjlendi. Akış atıldı ve saflaştırma kolonu tekrar toplama tüpüne yerleştirildi.
- 10) Sonra GeneJET RNA Saflaştırma Kolonuna 600 uL Yıkama Tamponu 2 eklendi ve 12000 x g'de 1 dakika santrifüjlendi. Akış atıldı ve saflaştırma kolonu tekrar toplama tüpüne yerleştirildi.
- 11) GeneJET RNA Saflaştırma Kolonuna 250 uL Wash Buffer 2 eklendi ve 12000 x g'de 2 dakika santrifüjlendi. Akış solüsyonunu içeren toplama tüpü atıldı ve GeneJET RNA Saflaştırma Sütunu steril bir 1,5 mL RNaz içermeyen mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.
- 12) Ayrıca GeneJET RNA Saflaştırma Kolonu zarının merkezine 20 µL (beyin numuneleri için) veya 50 µL (karaciğer numuneleri için) nükleaz içermeyen Su ilave edildi. 1 dakika inkübe edildi ve ardından RNA'yı elute etmek için 12000 x g'de 1 dakika santrifüjlendi. Saflaştırma kolonu atıldı.
- 13) Ardından "NanoDrop 2000" ile RNA konsantrasyonu ölçüldü ve kullanılabilecek kadar -80 °C'de saklandı.

3.4. Kopya DNA (cDNA) sentezi

Kopya DNA sentezi için yüksek kapasiteli bir cDNA ters transkripsiyon kiti (Thermo Scientific, kat. no. 4373966) kullanıldı.

- 1) İlk önce kit bileşenleri buz üzerinde çözüldü ve gerekli reaksiyon sayısını hazırlamak için gerekli bileşenlerin hacmi hesaplandı.
- 2) 7 numaralı tablodaki bileşenler kullanılarak master mix karıştırıldı.

Tablo 7. cDNA sentez içeriği

Bileşen	Bir bileşen için hacim, µl
10X RT Tamponu	2
25X dNTP Mix (100 mM)	0,8
10X RT Rastgele Primerler	2
MultiScribe™ Ters Transkriptaz	1
RNaz İnhibitörleri	1
Nükleaz İçermeyen H ₂ O	3,2
Toplam	10

- 3) Daha sonra 10 µl ana karışım 0.2 ml'lik tüplere eklendi.
- 4) Tekrar aynı 0.2 ml'lik tüplere 10 µl 0,1 µg/µl RNA örneği eklendi. Her şey vortekslendi ve santrifüjlendi.
- 5) Tüpler termal döngüleyiciye yerleştirildi ve cDNA sentezini gerçekleştirmek için 8 numaralı tabloda yazan program kullanıldı.

Tablo 8. Termal döngüleyici için program

Ayarlar	1. Adım	2. Adım	3. Adım	4. Adım
Sıcaklık (°C)	25	37	85	4
Zaman	10 dk	120 dk	5 dk	-

- 6) cDNA sentezi tamamlandıktan sonra numuneler 5 ng/µl konsantrasyona seyreltildi ve kullanılabilecek kadar -80 °C 'de saklandı.

3.5. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR)

Araştırmada, genlerin ekspresyonunu analiz etmek için SYBR Green gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi kullanıldı. Literatür gözden geçirildikten sonra selenyum metiyonin ile etkilenen farelerin karaciğer ve beyinlerinde MsrB1, Gadd45 ve Caspase-3 ekspresyonunun araştırılmasına karar verildi. Bu yöntem kullanılarak, numuneler dahili kontrol geni - β -aktin'in ekspresyonunu analiz etmek için de kullanıldı. Reaksiyonların güvenilirliğini doğrulamak için nükleaz içermeyen suyun negatif kontrolü kullanıldı.

1) Tablo 9'da listelenen reaktiflerle önce RT-PCR için karışım yapıldı. Listelenen tüm reaktifler 1,5 mL'lik bir tüpe eklendi, vorteksenerek karıştırıldı ve ardından santrifüjlendi.

Tablo 9. RT-PCR reaksiyon içeriği

Bileşenler, μ l	Bir bileşen için hacim, μ l
2X SYBR Green/ROX Master Mix	6
Forward Primers	0,5
Reverse Primers	0,5
5 ng/ μ l mRNA cDNA	3
Nükleaz İçermeyen H ₂ O	2
Toplam	12

2) Daha sonra hazırlanan ana karışımdan 9 μ l her RT-PCR plakası kuyucuğuna yerleştirildi.

3) Sonraki 3 μ l cDNA numunesi, RT-PCR plaka kuyularına döküldü. Numuneler üç kopya halinde eklendi.

4) Daha sonra RT-PCR reaksiyonu sırasında ortamdan kontaminasyonu ve çözeltinin buharlaşmasını önlemek için plaka özel bir şeffaf film ile kaplanır.

5) Plaka, duvarlardan damlacıkların toplanması için santrifüjlendi, RT-PCR termal döngüleyici "7500 Fast Real Time PCR System" içine yerleştirildi ve "7500 Software" bilgisayar programında ayarlanan koşullara göre gerçekleştirildi (ayrıntılı RT-PCR termocycler programı Tablo 10'da listelenmiştir).

Tablo 10. RT-PCR reaksiyonunun sıcaklık koşulları

Aşama	Sıcaklık ,°C	Zaman	Döngü sayısı
Depolama Aşaması	95	10 dk	1
Döngülerin Aşaması	95	15 s	40
	59	30 s	

6) RT-PCR gerçekleştirildikten sonra, elde edilen β -aktin, Kaspaz-3, Gadd45 ve MsrB1 ekspresyon verileri ile 96 oyuklu plakalar, seçilen numunelerin Ct değerlerine göre karşılaştırıldı.

7) Standart sapması 0,25'i aşan örnekler RT-PCR yöntemiyle yeniden analiz edildi veya ileri hesaplama ve analizlerin dışında tutuldu.

8) Test edilen genlerin her birinin Ct değerleri incelenip, elde edilen referans β -aktin 'ne göre normalleştirilir. Ct değerleri: $\Delta Ct = Ct (\text{incelenen gen}) - Ct (\beta\text{-aktin})$.

9) Daha fazla işlenmiş veri, istatistiksel analiz için kullanıldı.

3.6. İstatiksel Analiz

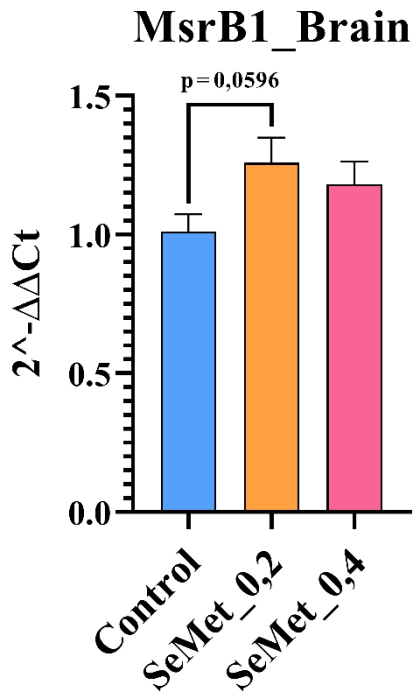
İstatistiksel veri analizi GraphPad Software Inc. Prism 6 yazılımlı bir bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. İki farklı SeMet dozu (0,2 ve 0,4 mg/kg k.m.) ile fare karaciğeri ve beyinde ayrı ayrı Gadd45, Kaspaz-3 ve MsrB1 genlerinin ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişki Pearson korelasyon katsayısı r hesaplandı. Parametrik Öğrenci t-testi ile ilişkileri saptandı. Son olarak tek yönlü ANOVA ile tek yönlü varyans analizi ile değerlendirildi. İstatistiksel hipotezleri test etmek için $p \leq 0,05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Farenin Beyninde ve Karaciğerinde Metiyonin sülfoksit redüktaz B1 'in (MsrB1) Gen Ekspresyon Sonucu

Beyin ve karaciğer dokusunda gerçekleştirilen MsrB1 enziminin gen ekspresyon sonuçlarının GraphPad Prism 9 programı kullanılarak istatistik hesaplamaları t-test analizi ile değerlendirildi, sonuçlar kontrol gruplarıyla kıyaslandı ve değişiklikler anlamlandırıldı. Çizilen grafikler Şekil 10 ve 11'de verildi.

Beyin MsrB1 ekspresyon seviyesinde kontrole kıyasla SeMet 0,2 mg/kg ile SeMet 0,4 mg/kg uygulanan grupta belirli bir artış göstermesine rağmen istatistiksel anlamda bir değişiklik gözlenmedi ($p=0,0596$).

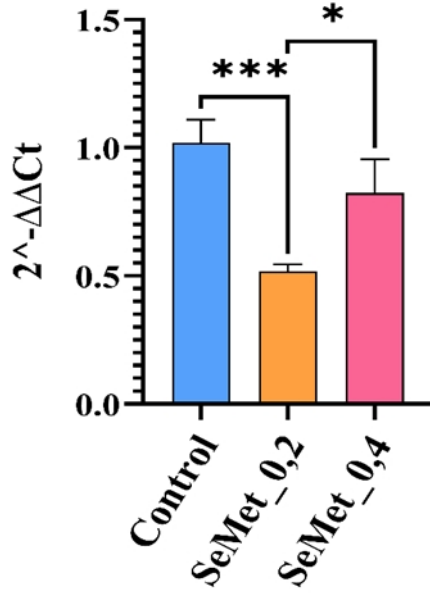


Şekil 10. Farenin beyninde kontrol grubu, SeMet'in 0,2 mg/kg ve SeMet'in 0,4 mg/kg dozlarından etkilenen MsrB1'in gen ekspresyon sonuçları . İstatistiksel anlamlılık yıldız işaretleriyle gösterilmiştir: $p > 0.05$ = ns (anlamsız) , $p \leq 0.05$ = * (anlamlı), $p \leq 0.01$ = ** (çok anlamlı), $p \leq 0.001$ = *** (yüksek derecede anlamlı) , $p \leq 0,0001$ = ****.

Karaciğer MsrB1 ekspresyon seviyesi kontrole kıyasla SeMet 0,2 mg/kg uygulanan grupta istatistiksel olarak çok anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p < 0,01$), yine kontrol grubuna kıyasla SeMet 0,4 mg/kg uygulanan grupta azalma gözlemlendi fakat istatistiksel

olarak bir anlam bulunamadı. SeMet 0,2 mg/kg uygulanan grup ile SeMet 0,4 mg/kg uygulanan grupta ise istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p \leq 0,05$).

Msrb1_Liver



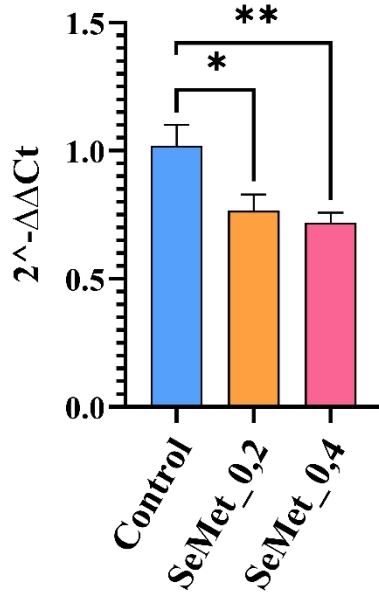
Şekil 11. Farenin karaciğerinde kontrol grubu, SeMet'in 0,2 mg/kg ve SeMet'in 0,4 mg/kg dozlarından etkilenen Msrb1'in gen ekspresyon sonuçları . İstatistiksel anlamlılık yıldız işaretleriyle gösterilmiştir: $p > 0.05$ = ns (anlamsız) , $p \leq 0.05$ = * (anlamlı), $p \leq 0.01$ = ** (çok anlamlı), $p \leq 0.001$ = *** (yüksek derecede anlamlı) , $p \leq 0,0001$ = ****.

4.2. Farenin Beyninde ve Karaciğerinde Gadd45'in Gen Ekspresyon Sonucu

Beyin ve karaciğer dokusunda gerçekleştirilen Gadd45 enziminin gen ekspresyon sonuçlarının GraphPad Prism 9 programı kullanılarak istatistik hesaplamaları t-test analizi ile değerlendirildi, sonuçlar kontrol gruplarıyla kıyaslandı ve değişiklikler anlamlandırıldı. Çizilen grafikler Şekil 12 ve 13'de verildi.

Beyin Gadd45 ekspresyon seviyesi kontrol grubu ile SeMet 0,2 mg/kg uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p \leq 0,05$), SeMet 0,4 mg/kg ile kontrol uygulanan grupta istatistiksel olarak çok anlamlı bir azalma gözlemlendi. ($p < 0,01$).

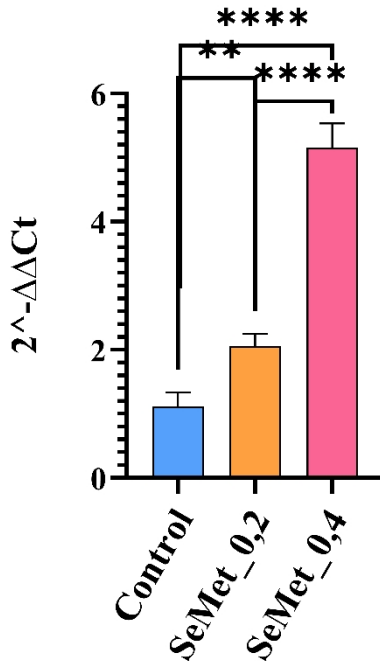
Gadd45_Brain



Şekil 12. Farenin beyinde kontrol grubu, SeMet'in 0,2 mg/kg ve SeMet'in 0,4 mg/kg dozlarından etkilenen Gadd45'in gen ekspresyon sonuçları . İstatistiksel anlamlılık yıldız işaretleriyle gösterilmiştir: $p > 0.05 = ns$ (anlamsız) , $p \leq 0.05 = *$ (anlamlı), $p \leq 0.01 = **$ (çok anlamlı), $p \leq 0.001 = ***$ (yüksek derecede anlamlı) , $p \leq 0,0001 = ****$.

Karaciğer Gadd45 ekspresyon seviyesi kontrol grubu ile SeMet 0,2 mg/kg uygulanan grupta istatistiksel olarak çok anlamlı bir artış gözlemlendi ($p \leq 0.01$) , yine kontrol grubu ile SeMet 0,4 mg/kg uygulanan grupta istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı artış gözlemlendi ($p \leq 0,0001$) ve son olarak da SeMet 0,2 mg/kg uygulanan grup ile SeMet 0,4 mg/kg uygulanan grupta çok anlamlı artış gözlemlendi ($p \leq 0,0001$).

Gadd45_Liver

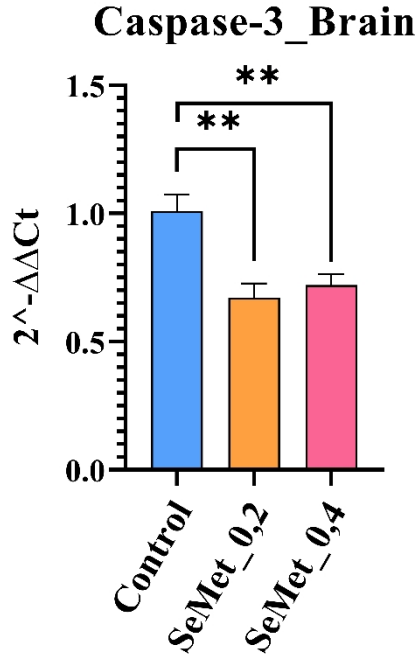


Şekil 13. Farenin karaciğerinde kontrol grubu, SeMet'in 0,2 mg/kg ve SeMet'in 0,4 mg/kg dozlarından etkilenen Gadd45'in gen ekspresyon sonuçları . İstatistiksel anlamlılık yıldız işaretleriyle gösterilmiştir: $p > 0.05 = ns$ (anlamsız) , $p \leq 0.05 = *$ (anlamlı), $p \leq 0.01 = **$ (çok anlamlı), $p \leq 0.001 = ***$ (yüksek derecede anlamlı) , $p \leq 0,0001 = ****$.

4.3. Farenin Beyninde ve Karaciğerinde Kaspaz-3'ün Gen Ekspresyon Sonucu

Beyin ve karaciğer dokusunda gerçekleştirilen Kaspaz-3 enziminin gen ekspresyon sonuçlarının GraphPad Prism 9 programı kullanılarak istatistik hesaplamaları t-test analizi ile değerlendirildi, sonuçlar kontrol gruplarıyla kıyaslandı ve değişiklikler anlamlandırıldı. Çizilen grafikler Şekil 14 ve 15'de verildi.

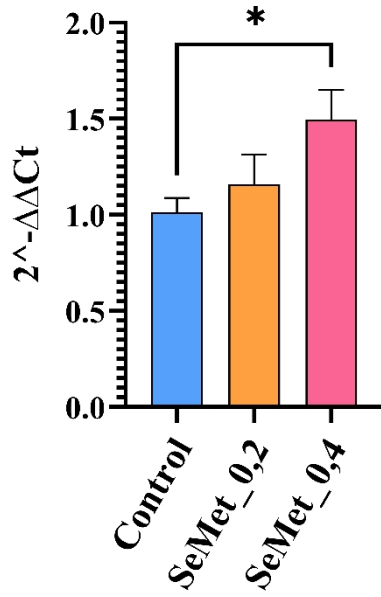
Beyin Kaspaz-3 ekspresyon seviyesi kontrol grubu ile SeMet 0,2 mg/kg uygulanan grupta istatistiksel çok anlamlı azalma gözlemlendi ($p \leq 0.01$), kontrol grubunun SeMet 0,4 mg/kg uygulanan grubu ile de istatistiksel çok anlamlı bir azalma gözlemlendi. ($p \leq 0.01$).



Şekil 14. Farenin beyinde kontrol grubu, SeMet'in 0,2 mg/kg ve SeMet'in 0,4 mg/kg dozlarından etkilenen Kaspaz-3'ün gen ekspresyon sonuçları . İstatistiksel anlamlılık yıldız işaretleriyle gösterilmiştir: $p > 0.05 = \text{ns}$ (anlamsız) , $p \leq 0.05 = *$ (anlamlı), $p \leq 0.01 = **$ (çok anlamlı), $p \leq 0.001 = ***$ (yüksek derecede anlamlı) , $p \leq 0,0001 = ****$.

Karaciğer Kaspaz-3 ekspresyon seviyesi kontrol grubu ile SeMet 0,4 mg/kg uygulanan grupta istatistiksel anlamlı artış gözlemlendi ($p \leq 0.05$), Kaspaz-3 ekspresyon seviyesi kontrol grubu ile SeMet 0,2 mg/kg uygulanan grupta artış gözlemlendi fakat istatistiksel bir anlam bulunamadı.

Caspase-3_Liver



Şekil 15. Farenin karaciğerinde kontrol grubu, SeMet'in 0,2 mg/kg ve SeMet'in 0,4 mg/kg dozlarından etkilenen Kaspaz-3'ün gen ekspresyon sonuçları . İstatistiksel anlamlılık yıldız işaretleriyle gösterilmiştir: $p > 0.05 = ns$ (anlamsız) , $p \leq 0.05 = *$ (anlamlı), $p \leq 0.01 = **$ (çok anlamlı), $p \leq 0.001 = ***$ (yüksek derecede anlamlı) , $p \leq 0,0001 = ****$.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Eser mineral Se, insan sağılığı için temel öneme sahip temel bir besindir. Se, çeşitli temel metabolik aktivitelerde yer alan önemli bir eser elementtir: oksidatif hasara karşı korumada, bağışıklık ve tiroid fonksiyonunun düzenlenmesinde ve doğurganlıkta yer almaktadır (Liu vd., 2012; Moon vd., 2012). Şiddetli Se eksikliği, kardiyovasküler hastalık, kanser, romatoid artrit, Alzheimer hastalığı, HIV enfeksiyonu ve Kashin-Beck hastalığı gibi hastalıklara yatkınlık açısından olumsuz sonuçlara yol açabilirken, Se takviyesi insanları bu hastalıklara karşı koruyabildiği gösterilmiştir (Rayman, 2000). Yapılan birçok çalışmada, epidemiyoloji, genetik ve transgenik hayvan çalışmalarına dayalı olarak Se'un osteoartritte (OA) potansiyel olarak koruyucu rolü bildirilmiştir (Meulenbelt vd., 2008; Downey vd., 2009). Bazı in vitro çalışmalar da Se'un koruyucu bir etkisi olduğunu ileri sürülmüştür. Örneğin Se, kültürlenmiş makrofajlarda lipopolisakkarit (LPS) uyarımına yanıt olarak indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz-2 (COX2) gen ekspresyonlarını değiştirmektedir (Prabhu vd., 2002; Vunta vd., 2008). 2005 yılında Andriamanalijaona vd., kondrositlerin in vitro SeMet'e maruz bırakılmasının, kırıldak matriks makromolekülünün (kollajen II ve agrekan) sentezinin IL-1 β aracılı inhibisyonunu bloke edebildiğini gösterdi. Son zamanlarda Cheng ve ark., antioksidan SeMet'in, birincil insan kondrositlerinde iNOS ve COX2 gen ekspresyonunun modülasyonu yoluyla IL 1 β ile indüklenen NO ve PGE2 üretimini inhibe ettiğini bildirmişlerdir (Cheng vd., 2011).

Karaciğer, Se metabolizmasının düzenlenmesinde ve vücuttaki seviyesinin korunmasında görev alan önemli bir organdır. Hepatik Se'nin çoğu selenoproteinlerin sentezi için kullanılmaktadır (Rayman, 2005). Böyle bir protein-selenoprotein P - karaciğerden kan dolaşımına girer, ekstrahepatik dokulara ulaşır, böylece hücrelere Se sağlar (Kipp vd., 2015). Se aynı zamanda motor aktiviteyi, bilişi, koordinasyonu ve hafızayı sürdürmede hayati bir rol oynadığı için normal beyin fonksiyonunun korunmasında da özellikle önemlidir (Solovyev vd., 2015). Se'un sinir dokusuna girişi, aşırılığından kaynaklanan toksisitesini önlemek için sıkı bir şekilde kontrol edilmelidir, ancak kan seviyeleri düşük olsa bile beyinde eksikliği genellikle meydana gelmez (Solovyev vd., 2021).

Se ve karaciğer sağılığı ile ilgili bazı çalışmalar da bulunmaktadır. Karaciğer ve böbreklerin Se biriktirme kapasitesi en yüksek olan organlar olduğu bildirilmiştir

(Navarro-Alarcon 2008 ve Cabrera-Vique, 2008; Zwolak ve Zaporowska,2012). Üstelik düşük Se alımı, yüksek karaciğer hastalığı riskiyle ilişkilendirilmiştir. Se, hepatit, yağlı karaciğer veya siroz hastalarında eser elementleri destekleyerek karaciğer hücrelerinin onarımını ve yenilenmesini destekleyebilir(Navarro-Alarcon 2008 ve Cabrera-Vique, 2008). Se içeren proteinler ve düşük moleküler Se bileşikleri, transgenik farelerde hepatokarsinogenezi etkili bir şekilde inhibe edebilir(Novoselov vd., 2005). Bildirildiğine göre, Se eksikliği olan hastalarda karaciğer hücrelerindeki hasar ve nekroz, aşırı alkol tüketiminin neden olduğu hasar ve nekrozla benzerlik bildirilmiştir(Navarro-Alarcon vd., 2002). Se, karaciğer hastalıkları da dahil olmak üzere antioksidan aktiviteye bağlı hastalıklara karşı faydalı etkileri nedeniyle bilimsel ilgiyi çekmiştir.

Yeterli dozlarda alındığında, esas olarak selenosistein formundaki Se, antioksidan selenoproteinlerin yapısına eklenir ve antioksidan aktivitesini gösterir (Steinbrenner vd., 2016). Bu arada, supra nütrisyonel dozlarda, organik SeMet ve inorganik Se toksik olabilir, dolayısıyla prooksidan aktivitesini açığa çıkararak beyin bozuklukları, endokrin sistem bozulması ve kanser riskinin artmasına neden olur (Barchielli, 2022; Navarro-Alarcon 2008 ve Cabrera-Vique, 2008). Aşırı Se seviyelerinin, daha sonra hücrelerin redoks durumunu bozan reaktif oksijen türlerini (ROS) ürettiği bilinmektedir , bu da oksidatif stresin artmasına ve organ ve dokularda hasara neden olur (Brodin vd., 2015; Nandi vd., 2019). Yüksek düzeydeki serbest radikallerin veya ROS'un, membran lipidlerinin zincir peroksidasyon reaksiyonlarını doğrudan başlattığı bilinmektedir ; dolayısıyla hücrelerdeki oksidatif stres düzeyi, son lipid peroksidasyon ürünü malondialdehid (MDA) miktarındaki değişikliklerin yanı sıra antioksidan enzim aktivitesi ve gen ekspresyonundaki değişikliklerle de belirlenebilir (Ayala vd., 2014).

Laboratuvar fareleri, anatomi ve fizyoloji açısından insanlarla pek çok benzerliğe sahip olmaları nedeniyle biyomedikal araştırmalar ve karşılaştırmalı tıp çalışmaları için ideal hayvan modelleri sunmaktadır. Fare ve insan genomları yaklaşık % 85 aynıdır ve genlerin nasıl kontrol edildiğine ilişkin prensipler türler arasında benzerdir; bu, fareyi insan fizyolojisi ve patofizyolojisini modellemek için mükemmel bir sistem haline getirir (Lambert vd., 2017; Bryda, 2013). Hem Se fazlalığı hem de eksikliği insanlarda ve farelerde sağlık riski ile ilişkilidir (Yim vd., 2019) .

Yaptığımız çalışmada MsrB1, Caspase-3 ve Gadd45 genlerinin ekspresyonları araştırılmıştır. Erişilebilir tüm literatür incelendiğinde SeMet'ten etkilenen bu genlerin farenin karaciğerinde ve beyinde yapılan gen ekspresyon sonuçlarına dair herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu bağlamda yaptığımız bu çalışmanın ilk kez bizim tarafımızdan yapıldığını söyleyebiliriz.

Selenoprotein MsrB1 diyetteki Se durumuna duyarlı olduğu bildirilmiştir (Novoselov vd., 2005; Oien ve Moskovitz, 2009). Bu protein, oksitlenmiş metionin kalıntılarını tekrar metioninlere indirgeyebilen enzimlerden biridir (Brot ve Weissbac, 1983; Kryukov vd., 2002; Vogt, 1995). Proteinlerdeki birçok amino asit oksidatif modifikasyonlara karşı hassastır ancak kükürt içeren amino asitler olan sistein ve metioninin oksidasyonu özellikle önemlidir (Brot ve Weissbac, 1983; Vogt, 1995). Metiyonin sülfoksit indirgemesinin, hayvanlarda yaşam süresi ve nörolojik bozuklukların ilerlemesi dahil olmak üzere çok sayıda biyolojik sürecin düzenlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Stadtman vd., 2005). Son çalışmalar, metiyonin sülfoksit azalmasının hayvanlarda yaşam süresinin düzenlenmesinde olası bir rolünü ortaya çıkarmıştır (Koc vd., 2005; Moskovitz vd., 2001; Ruan vd., 2002; Salmon vd., 2009). 2017 yılında Lee vd.,'nin yaptığı çalışmada Se içeren bir MsrB1'in, bağışıklıkla aktifleşen makrofajlarda yüksek düzeyde eksprese edildiğini ve hücrel ve organizmasal bağışıklık tepkilerinin şekillenmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmalarımız sonucunda farenin beyinde MsrB1 geninin ekspresyon seviyesi sonucu kontrole kıyasla SeMet 0,2 mg/kg uygulanan grupta belirli bir artış göstermesine rağmen istatistiksel anlamda bir değişiklik gözlenmedi ($p=0,0596$). Farenin karaciğerinde ise MsrB1 geninin ekspresyon seviyesi sonucu SeMet 0,2 mg/kg kıyasla SeMet 0,4 mg/kg uygulanan gruplarda ise istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p \leq 0,05$), SeMet 0,2 mg/kg ile kontrol uygulanan grupta istatistiksel olarak çok anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Yaptığımız çalışmalarımızın sonucu SeMet ile beslenen farelerin, MsrB1 proteininin beyin üzerinde daha yüksek nöroprotektif etkiye sahip olduğunu, ancak kontrol farelerinin daha yüksek düzeyde MsrB1 proteini ifade etmesi nedeniyle karaciğerde oksidatif strese karşı daha düşük koruma sağladığını göstermiştir.

Programlanmış bir hücre ölümü süreci olan apoptoz, selenobileşiklerin kemopreventif aktiviteleri için en makul mekanizma olarak önerilmiştir. Son zamanlarda Se üzerine yapılan çalışmalar onun kemopreventif aktivitesine

odaklanılmıştır (Ganther, 1999). 2001 yılında Kim vd.,'nin yaptığı çalışmada Se-metilselenosisteinin (MSC) insan promyelositik lösemi (HL-60) hücrelerinde kaspaz aktivasyonu yoluyla apoptozu indüklediği görülmüştür Kaspaza bağımlı veya bağımsız apoptotik yolların indüksiyonu, Se'nin kimyasal formlarına ve ilgili hücre tiplerine bağlıdır. Çalışmalar, selenit ve SeMet'in, süperoksit aşırı üretiminin aracılık ettiği kaspaz aktivasyonu ve p53 katılımıyla insan prostat kanseri hücrelerinde apoptozu indüklediğini göstermiştir (Jiang vd., 2004; Zhao vd., 2006). 2021 yılında Kaur ve ark.,larının fareler üzerinde yaptığı çalışmada, Se takviyesinin Kaspaz-3 geni ile oksidatif stresi ve apoptozu modüle ederek farelerde venlafaksin hidroklorürün neden olduğu testis hasarını hafiflettiği bulunmuştur. Bizde çalışma sonuçlarımıza göre kıyasladığımızda farenin beyinde Kaspaz-3 geninin ekspresyon seviyesi kontrol grubu ve SeMet 0,2 mg/kg uygulanan grupta istatistiksel çok anlamlı azalma gözlemlendi ($p \leq 0.01$), kontrol grubunun SeMet 0,4 mg/kg uygulanan grubu ile de istatistiksel olarak çok anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p \leq 0.01$). Farenin karaciğerinde ise Kaspaz-3 geninin ekspresyon seviyesi sonucu kontrol grubu ve SeMet 0,4 mg/kg uygulanan grupta istatistiksel anlamlı artış gözlemlendi ($p \leq 0.05$). Kaspaz-3 ekspresyon seviyesi kontrol grubu ile SeMet 0,2 mg/kg uygulanan grupta artış gözlemlendi fakat istatistiksel bir anlam bulunamadı ($p > 0.05$). Kaspaz-3 nöron ölümünden sorumludur ve beyinde Kaspaz-3 ekspresyonunun düşük olması (inaktive olması), daha az nöron ölümü anlamına gelir. SeMet 0,2 mg/kg ile beslenen fareler en iyi etkiye sahiptir. Ancak fareler daha fazla selenyum aldıkça karaciğerde Kaspaz-3'ün ekspresyonu artıyor. Bu, daha fazla Kaspaz-3 aktivasyonuna neden olduğu ve hepatositlerin apoptozunu arttırabileceği anlamına gelmektedir.

Gadd45 ve p21 (Waf1/Cip1, bir sikline bağımlı kinaz inhibitörü), p53 tarafından düzenlenen iki iyi yapılandırılmış gendir. p53'ün ekspresyonu, DNA hasarına neden olan hücresel stresler tarafından indüklenir ve p53 ekspresyonundaki bu artış, hücre döngüsünün durdurulmasını veya DNA onarımını teşvik eder (Lane, 1992). p53'ün SeMet tarafından aktivasyonunun, hücrelerin ultraviyole (UV) ışınımının neden olduğu DNA hasarına karşı korunmasında rol oynadığı ileri sürülmüştür (Seo vd., 2002).

Jung vd.,'nin 2013 yılında yaptığı çalışmada Gadd45a'nın onarım proteinleri ile p53'e bağımlı etkileşiminin, organik Se bileşiği SeMet'e yanıt olarak BER'in aktivasyonunda rol oynadığına dair ilk kanıtları sağlamışlardır. Bunun üzerine Jung

vd.,'nin çalışmaları antioksidan Se'nin yeni bir kemopreventif özelliğini tanımlamıştır. Bizim çalışmalarımız sonucunda farenin beyinde Gadd45 geninin ekspresyon seviyesi sonucu kontrol grubu ve SeMet 0,2 mg/kg uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p \leq 0,05$), SeMet'in 0,4 mg/kg ile kontrol grubunda istatistiksel olarak çok anlamlı bir azalma gözlenmiştir. ($p < 0,01$).

Farenin karaciğerinde Gadd45 geninin ekspresyon seviyesi kontrol grubu ile SeMet'in 0,2 mg/kg uygulanan grubunda istatistiksel olarak çok anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p \leq 0,01$), yine kontrol grubu ile SeMet 0,4 mg/kg uygulanan grupta istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı artış görülmüştür ($p \leq 0,0001$) ve son olarak da SeMet 0,2 mg/kg uygulanan grup ile SeMet 0,4 mg/kg uygulanan grupta istatistiksel olarak çok anlamlı bir artış olduğu ortaya konmuştur. ($p \leq 0,0001$). Farenin beyinde SeMet ile beslenen farelerde Gadd45 ekspresyonunda kontrole kıyasla anlamlı bir fark yoktu ve bu, bu proteinin yönlendirdiği nöronal fonksiyonların değişmediğini gösteriyor. Bununla birlikte, farenin karaciğerinde SeMet ile beslenen fareler, hepatoprotektif SeMet etkisine işaret eden Gadd45 geninin yüksek ekspresyonuna sahiptir.

Se'nun kanser kemopreventif özellikleri 20 yılı aşkın bir süredir araştırılmaktadır. Se bileşiklerinin hem inorganik hem de organik formlarının antikanser aktivitesi incelenmiştir. Se'nin organik formları arasında SeMet antikanser etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir. Bizim de bu çalışmamız sonucunda literatürle benzer ve uyumlu bir şekilde SeMet'in MsrB1, Kaspaz-3 ve Gadd45 genleriyle oluşturduğu bu ekspresyonlar anlamlı değişiklikler bulunmuştur.

Tüm literatür incelendiğinde yaptığımız çalışmada farenin karaciğerinde ve beyinde MsrB1, Kaspaz-3 ve Gadd45 ekspresyonuna selenyum metiyoninin etkileri ilk kez bizim çalışmamızla incelenmiştir. Araştırmada farenin karaciğerinde ve beyinde SeMet'in, in vitro ortam koşullarında, doza ve gene bağımlı olarak değiştiğini ve farenin karaciğeri ile beyinde bu genlerin SeMet ile büyük ölçüde korele olduğu ortaya konmuştur.

Elde ettiğimiz bulguların kanser, bağışıklık sistemi, karaciğer, tiroid, alzheimer ve benzer hastalıklarla ileri çalışma yapacak araştırmacılara ışık tutacağını düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

- Abdülhadi Cihangir Uğuz, Mustafa Nazıroğlu, Javier Espino, 2009. Selenium Modulates Oxidative Stress-Induced Cell Apoptosis in Human Myeloid HL-60 Cells Through Regulation of Calcium Release and Caspase-3 and -9 Activities *Journal of Membrane Biology* volume 232, 15–23.
- Andriamanalijaona R, Kypriotou M, Bauge C, Renard E, Legendre F, Raoudi M, Boumediene K, Gatto H, Monginoux P, Pujol JP, 2005. Comparative effects of 2 antioxidants, selenomethionine and epigallocatechin-gallate, on catabolic and anabolic gene expression of articular chondrocytes. *J Rheumatol* 32(10):1958–196
- Anne-Christine Goulet, Marianne Chigbrow, Peter Frisk, Mark A. Nelson, 2005. Selenomethionine induces sustained ERK phosphorylation leading to cell-cycle arrest in human colon cancer cells Pages 109–117.
- Antonella De Luca, Paolo Sacchetta, Paolo Sacchetta, Marzia Nieddu, 2007. Important roles of multiple Sp1 binding sites and epigenetic modifications in the regulation of the methionine sulfoxide reductase B1 (MsrB1) promoter 39.
- Arthur, J.R., et al., 1996. Regulation of Selenoprotein Gene Expression and Thyroid Hormone Metabolism. *Biochem. Soc. Trans.*, 24: 384-388,
- Ayala, A.; Muñoz, M.F.; Argüelles, 2014. S. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 360438.
- Ayala, A.; Munoz, MF; Argüelles, 2014. S. Lipid peroksidasyonu: malondialdehit ve 4-hidroksi-2-nonenal'in üretimi, metabolizması ve sinyal mekanizmaları. *Ok-sit. Med. Hücre. Longev.*, 360438.
- B.H. Rumack, 2004. Acetaminophen misconceptions *Hepatology*, pp. 10-15
- Barceolux DG. 1999. Selenium. *Clinical Toxicology*; 37(2):145-172
- Barchielli, G.; Capperucci, A.; Tanini, 2022. The role of selenium in pathologies: An updated review. *Antioxidants*, 11, 251.
- Berzelius J.J. 2000. Undersökning af en ny Mineral-kropp, funnen i de orenare sorterna af det I Falun tillverkade svafv et. *Afhandlingar Fysik Kemi Och Mineral*. 1818;6:42.
- Brodin, O.; Eksborg, S.; Wallenberg, M.; Asker-Hagelberg, C.; Larsen, E.H.; Mohlkert, D.; Lenneby-Helleday, C.; Jacobsson, H.; Linder, S.; Misra, S., 2015. Pharmacokinetics and toxicity of sodium selenite in the treatment of patients with carcinoma in a phase I clinical trial: The SECAR study. *Nutrients* 7, 4978–4994.

- Brookes PS, Yoon Y, Robotham JL, Anders MW, Sheu SS, 2004. Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle. *Am J Physiol* 287:C817–C833.
- Brot N. Weissbach H., 1983. Biochemistry and physiological role of methionine sulfoxide residues in proteins. *Arch Biochem Biophys*, 223:271–281.
- Bryda, E.C., 2013. The Mighty Mouse: The impact of rodents on advances in biomedical research. *Mo. Med.*, 110, 207–211.
- Byung Cheon Lee, Sang-Goo Lee, Min-Kyung Choo, Ji Hyung Kim, Hae Min Lee, Sorah Kim, Dmitri E. Fomenko, Hwa-Young Kim, Jin Mo Park & Vadim N. Gladyshev., 2017. Selenoprotein MsrB1 promotes anti-inflammatory cytokine gene expression in macrophages and controls immune response in vivo. *Pages*; 7
- C X Deng, P M Zhang, J W Harper, S J Elledge, P Leder, 1995. *Cell* 82, 675–684.
- C. Saito, C. Zwingmann, H. Jaeschke., 2010. Novel mechanisms of protection against acetaminophen hepatotoxicity in mice by glutathione and N-acetylcysteine *Hepatology*, 51, pp. 246-254
- Chen T, Wong YS, 2009. Selenocystine induces caspase-independent apoptosis in MCF-7 human breast carcinoma cells with involvement of p53 phosphorylation and reactive oxygen species generation. *Int J Biochem Cell Biol* 41:666–676.
- Cheng AW, Stabler TV, Bolognesi M, Kraus VB, 2011. Selenomethionine inhibits IL-1beta inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase 2 (COX2) expression in primary human chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage* 19(1):118–125.
- Chigbrow,M. and Nelson,M., 2001. Inhibition of mitotic cyclin B and cdc2 kinase activity by selenomethionine in synchronized colon cancer cells. *Anticancer Drugs* , 12 , 43 –50.
- Chun-Han Chang, Chia-Cheng We, Chi Tang Ho., 2021. N-γ-(L-glutamyl)-L-selenomethionine shows neuroprotective effects against Parkinson's disease associated with SKN-1/Nrf2 and TRXR-1 in *Caenorhabditis elegans*, 15.
- Chunliang Liu, Zerong Wang , Wei Wang , Lei Zheng , Ming Li., 2022. Positive effects of selenium supplementation on selenoprotein S expression and cytokine status in a murine model of acute liver injury, 20.
- Clark,L.C., Combs,G.F. Jr, Turnbull,B.W. et al ., 1996. Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. *J. Am. Med. Assoc.* , 276 , 1957 –1963.
- D.E. Fomenko, S.V. Novoselov, S.K. Natarajan, B.C. Lee, A. Koc, B.A. Carlson, T.H. Lee, H.Y. Kim, D.L. Hatfield, V.N. Gladyshev. MsrB1 (methionine-R-sulfoxide reductase 1) knock-out mice: roles of MsrB1 in redox regulation

and identification of a novel selenoprotein form *J. Biol. Chem.*, 2009. pp. 5986-5993.

Downey CM, Horton CR, Carlson BA, Parsons TE, Hatfield DL, Hallgrímsson B, Jirik FR, 2009. Osteo-chondroprogenitor-specific deletion of the selenocysteine tRNA gene, *Trsp*, leads to chondronecrosis and abnormal skeletal development: a putative model for Kashin-Beck disease. *PLoS Genet* 5(8):e1000616.

Drazic A, Winter J., 2014. The physiological role of reversible methionine oxidation. *Biochim Biophys Acta.*;1844(8):1367–1382.

Du Y, Bales KR, Dodel RC, Hamilton-Byrd E, Horn JW, Czilli DL, et al., 1997. Activation of a caspase 3-related cysteine protease is required for glutamate-mediated apoptosis of cultured cerebellar granule neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A.*;94(21):11657–11662.

Dumont E, Vanhaecke F, Cornelis R. Selenium Speciation from Food Source to Metabolites : A critical Review. *Anal Bioanal Chem.* 2006; 385: 1304-1323.

El-Bayoumy, 2001. The protective role of selenium on genetic damage and on cancer. *Mutat. Res.* 475, 123–139.

Fábio França Vieira e Silva, Lorenzo-Pouso, Paula Saavedra-Nieves, 2022. Caspase 3 and Cleaved Caspase 3 Expression in Tumorigenesis and Its Correlations with Prognosis in Head and Neck Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis 23(19), 11937.

Flohe L, Andreessen JR, Flohe-Brigelius R, Maiorino M ve ark. Selenium, the Element of the Moon, in *Life on Earth*. *IUBMB Life* 2000; 49: 411-420.

Ganther,H.E., 1999. Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase. *Carcinogenesis* , 20, 1657–1666.

Gervais FG, Xu D, Robertson GS, Vaillancourt JP, Zhu Y, Huang J, LeBlanc A, Smith D, Rigby M, Shearman MS, Clarke EE, Zheng H, Van Der Ploeg LH, Ruffolo SC, Thornberry NA, Xanthoudakis S, Zamboni RJ, Roy S, Nicholson DW, 1999. "Involvement of caspases in proteolytic cleavage of Alzheimer's amyloid-beta precursor protein and amyloidogenic A beta peptide formation". *Cell.* 97 (3): 395–406.

Gillardon F, Kiprianova I, Sandkuhler J, Hossmann KA, Spranger M., 1999. Inhibition of caspases prevents cell death of hippocampal CA1 neurons, but not impairment of hippocampal long-term potentiation following global ischemia. *Neuroscience.*;93(4):1219–1222.

Gromer S, Eubel JK, Lee BL, Jacob J., 2005. Human Selenoproteins at a Glance. *Cell.Mol.Life Sci.* ; 62:2414-2437.

- Guo W, Dong Z, Guo Y, Chen Z, Kuang G, Yang Z, 2013a. Methylation-mediated repression of GADD45A and GADD45G expression in gastric cardia adenocarcinoma. *Int J Cancer* 133:2043–2053
- Guo W, Zhu T, Dong Z, Cui L, Zhang M, Kuang G, 2013b. Decreased expression and aberrant methylation of Gadd45G is associated with tumor progression and poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Exp Metastasis* 30:977–992.
- Gupta SK, Gupta M, Hoffman B, Liebermann DA, 2006. Hematopoietic cells from gadd45a-deficient and gadd45b-deficient mice exhibit impaired stress responses to acute stimulation with cytokines, myeloablation and inflammation. *Oncogene* 25:5537–5546.
- H. Y. Kim, 2013. The methionine sulfoxide reduction system: selenium utilization and methionine sulfoxide reductase enzymes and their functions, *Antioxidants & Redox Signaling*, vol. 19, no. 9, pp. 958–969.
- Halliwell B, 2006. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem* 97:1634–1658
- Hanahan, D.; Weinberg, R.A., 2011. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144, 646–674.
- He Q, Li H, Meng F, Sun X, Feng X, Chen J, Li L, Liu J. 2018. Methionine sulfoxide reductase b1 regulates hepatocellular carcinoma cell proliferation and invasion via the mitogen-activated protein kinase pathway and epithelial-mesenchymal transition. *Oxid Med Cell Longev*. 2018:5287971.
- Higashi H, Vallbohmer D, Warnecke-Eberz U, Hokita S, Xi H, Brabender J, 2006. Down-regulation of Gadd45 expression is associated with tumor differentiation in non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 26(3A):2143–2147.
- Hoffman B, Liebermann DA, 2009. Gadd45 modulation of intrinsic and extrinsic stress responses in myeloid cells. *J Cell Physiol* 218(1):26–31.
- Hwa Jin Jung ,Hye Lim Kim,Yeo Jin Kim,Jong-Il Weon,and Young Rok Seo., 2013. A novel chemopreventive mechanism of selenomethionine: Enhancement of APE1 enzyme activity via a Gadd45a, PCNA and APE1 protein complex that regulates p53-mediated base excision repair..1581–1586.
- Ip C, el-Bayoumi K, Upadhyaya P, Ganther H, Vadhanavikit S, Thompson H., 1994. Comparative effect of inorganic and organic selenocyanate derivatives in mammary cancer chemoprevention. *Carcinogenesis*. 15:187–192.
- İmam Mustofa, Erma Safttri, Sunarni Zakaria, 2018. Meme Kanseri olan Farelerde Kaspaz 9, Kaspaz 3 ve Apoptosis artışı üzerine 55(SI): 51-58.

- Jemal,A., Murray,T., Samuels,A., Ghafoor,A. and Thomas,M.J., 2004. Cancer Statistics 2004. *CA Cancer J. Clin.* , 54 , 8 –29.
- Jiang C, Hu H, Malewicz B, Wang Z, Lü J, 2004. Selenite-induced p53 Ser-15 phosphorylation and caspase-mediated apoptosis in LNCaP human prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther* 3:877–884.
- K Miki, M Xu, A Gupta, Y Ba, Y Tan, W Al-Refaie, M Bouvet, M Makuuchi, A R Moossa, R M Hoffman., 2001. Methioninase cancer gene therapy with selenomethionine as suicide prodrug substrate. 15;61(18).
- Kearsey JM, Coates PJ, Prescott AR, Warbrick E, Hall PA., 1995. Gadd45 is a nuclear cell cycle regulated protein which interacts with p21Cip1. *Oncogene*. 2;11(9):1675–83.
- Khanam, A.; Platel, K., 2016. Bioaccessibility of selenium, selenomethionine and selenocysteine from foods and influence of heat processing on the same. *Food Chem*. 194, 1293–1299.
- Ki Young Kim, Geun-Hee Kwak, Mahendra Pratap Singh, Vadim N. Gladyshev, Hwa-Young Kim, 2017. Selenoprotein MsrB1 deficiency exacerbates acetaminophen-induced hepatotoxicity via increased oxidative damage, Pages 69-75.
- Kim, H.Y.; Gladyshev, V.N., 2005. Different catalytic mechanisms in mammalian selenocysteine- and cysteine-containing methionine-R-sulfoxide reductases. *PLoS Biol*. 3, E375.
- Kipp, A.P.; Strohm, D.; Brigelius-Flohé, R.; Schomburg, L.; Bechthold, A.; Leschik-Bonnet, E.; Heseker, H., 2015. German Nutrition Society (DGE). Revised reference values for selenium intake. *J. Trace Elem. Med. Biol*. 32, 19–29.
- Klaus Schwarz and Calvin M. Foltz, 1957. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration.
- Koc A. Gasch AP. Rutherford JC. Kim HY. Gladyshev VN.< 2004. Methionine sulfoxide reductase regulation of yeast lifespan reveals reactive oxygen species-dependent and -independent components of aging. *Proc Natl Acad Sci USA*. 101:7999–8004.
- Kryukov GV. Kumar RA. Koc A. Sun Z. Gladyshev VN., 2002. Selenoprotein R is a zinc-containing stereo-specific methionine sulfoxide reductase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 99:4245–4250.
- Kyrgios I, Giza S, Kotanidou EP, 2019. l-selenomethionine supplementation in children and adolescents with autoimmune thyroiditis: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *J Clin Pharm Ther*. 44(1):102-108.
- L A Donehower, M Harvey, B L Slagle, M J McArthur, C A Montgomery, J S Butel, 1992.A Bradley *Nature (London)* 356, 215–221.

- Lambert, L.J.; Muzumdar, M.D.; Rideout, W.M.; Jacks, T., 2017. Basic Science Methods for Clinical Researchers; Academic Press: Cambridge, MA, USA, pp. 291–312.
- Lane DP., 1992. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature*. 358:15.
- Le, D.T.; Liang, X.; Fomenko, D.E.; Raza, A.S.; Chong, C.-K.; Carlson, B.A.; Hatfield, D.L.; Gladyshev, V.N., 2008. Analysis of Methionine/Selenomethionine Oxidation and Methionine Sulfoxide Reductase Function Using Methionine-Rich Proteins and Antibodies against Their Oxidized Forms†. *Biochemistry* 47, 6685–6694.
- Li H, He Q, Meng F, Feng X, Chen J, Li L, Liu J., 2018. Methionine sulfoxide reductase B1 regulates proliferation and invasion by affecting mitogen-activated protein kinase pathway and epithelial-mesenchymal transition in u2os cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 496(3):806–813.
- Li Y, Jia Y, Zhou J, Huang K., 2013. Effect of methionine sulfoxide reductase B1 silencing on high-glucose-induced apoptosis of human lens epithelial cells. *Life Sci*. 92(3):193–201.
- Liao, Wanrong 1 ; Fang, Wang 2 ; Xu, Juan 3 ; Tripterine enhances regulatory effect of TNF- α on Caspase-3 and induces apoptosis of lung cancer cell August 2023, pp. 1339-1345(7).
- Lin Gao , Jiawei Yuan , Yuhuan Cheng , Mengling Chen , Genhua Zhang , Jihong Wu . Selenomethionine-Dominated Selenium-Enriched Peanut Protein Ameliorates Alcohol-Induced Liver Disease in Mice by Suppressing Oxidative Stress. 2021 Dec 3;10(12):2979.
- Lin Gao, Jiawei Yuan, Yuhuan Cheng, Mengling Chen, Genhua Zhang and Jihong Wu Jihong: Selenomethionine-Dominated Selenium-Enriched Peanut Protein Ameliorates Alcohol-Induced Liver Disease in Mice by Suppressing Oxidative Stress. 2021, 1-2.
- Lionel Tarrago, Alaattin Kaya, Hwa-Young Kim, Bruno Manta, Byung-Cheon Lee, Vadim N. Gladyshev The selenoprotein methionine sulfoxide reductase B1 (MSRB1) 2022 Pages 228-240
- Liu B, Suyeoka G, Papa S, Franzoso G, Neufeld AH (2009) Growth arrest and DNA damage protein 45b (x45b) protects retinal ganglion cells from injuries. *Neurobiol Dis* 33(1):104–110.
- Liu H, Bian W, Liu S, Huang K (2012) Selenium protects bone marrow stromal cells against hydrogen peroxide-induced inhibition of osteoblastic differentiation by suppressing oxidative stress and ERK signaling pathway. *Biol Trace Elem Res* 150(1–3):441–450.

- Longchamp, M.; Angeli, N.; Castrec-Rouelle, M. Selenium uptake in Zea mays supplied with selenate or selenite under hydroponic conditions. *Plant Soil* 2013, 362, 107–117.
- Lowther, W.T.; Weissbach, H.; Etienne, F.; Brot, N.; Matthews, B.W. The mirrored methionine sulfoxide reductases of *Neisseria gonorrhoeae* pilB. *Nat. Struct. Biol.* 2002, 9, 348–352.
- Lu Cao , Shouyang Gao , Junbao Liu , Junrong Wang , Rui Qin. Selenomethionine protects against *Escherichia coli*-induced endometritis by inhibiting inflammation and necroptosis via regulating the PPAR- γ /NF- κ B pathway. 2023, 379.
- Lucia Letavayová , Viera Vlčková , Jela Brozmanová, Selenium: From cancer prevention to DNA damage, 3 October 2006, Pages 1-14.
- M B Kastan, Q Zhan, W S El-Deiry, F Carrier, T Jacks, W V Walsh, B S Plunkett, B Vogelstein, A J Fornace *Cell* 71, 587–597 (1992).
- Mantovani G, Isidori AM, Moretti C, et al. Selenium supplementation in the management of thyroid autoimmunity during pregnancy: results of the "SERENA study", a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Endocrine*. 2019;66(3):542-550.
- McComb, S.; Chan, P.K.; Guinot, A.; Hartmannsdottir, H.; Jenni, S.; Dobay, M.P.; Bourquin, J.-P.; Bornhauser, B.C. Efficient apoptosis requires feedback amplification of upstream apoptotic signals by effector caspase-3 or -7. *Sci. Adv.* 2019, 5, eaau9433.
- Mckenzie RC, Arthur JR, Beckett GJ. Selenium and the Regulation of Cell Signaling, Growth, and Survival : Molecular and Mechanistic Aspects. *Antioxidants & Redox Signaling* 2002 ; 4(2):339-351.
- Menter,D.G., Sabichi,A.L. and Lippman,S.M. (2000) Selenium effects on prostate cell growth. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* , 9 , 1171 –1182.
- Mertens K, Lowes DA, Webster NR, et al. Low zinc and selenium concentrations in sepsis are associated with oxidative damage and inflammation. *Br J Anaesth.* 2015;114:990–99.
- Meulenbelt I, Min JL, Bos S, Riyazi N, Houwing-Duistermaat JJ, van der Wijk HJ, Kroon HM, Nakajima M, Ikegawa S, Uitterlinden AG, van Meurs JB, van der Deure WM, Visser TJ, Seymour AB, Lakenberg N, van der Breggen R, Kremer D, van Duijn CM, Kloppenburg M, Loughlin J, Slagboom PE (2008) Identification of DIO2 as a new susceptibility locus for symptomatic osteoarthritis. *Hum Mol Genet* 17(12):1867–1875
- Mikko J. Lammi and Chengjuan Qu , Selenium-Related Transcriptional Regulation of Gene Expression 2018:1-2.

- Moon HJ, Ko WK, Han SW, Kim DS, Hwang YS, Park HK, Kwon IK (2012) Anti-oxidants, like coenzyme Q10, selenite, and curcumin, inhibited osteoclast differentiation by suppressing reactive oxygen species generation. *Biochem Biophys Res Commun* 418(2):247–253.
- Moskovitz J. Bar–Noy S. Williams WM. Requena J. Berlett BS. Stadtman ER. Methionine sulfoxide reductase (MsrA) is a regulator of antioxidant defense and lifespan in mammals. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98:12920–12925.
- Nandi, A.; Yan, L.J.; Jana, C.K.; Das, N. Role of catalase in oxidative stress- and age-associated degenerative diseases. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019, 9613090.
- Navarro-Alarcon, M.; Cabrera-Vique, C. Selenium in food and the human body: A review. *Sci. Total Environ.* 2008, 400, 115–141.
- Navarro-Alarcón, M.; López-Ga de la Serrana, H.; Pérez-Valero, V.; López-Martínez, M.C. Selenium concentrations in serum of individuals with liver diseases (cirrhosis or hepatitis): Relationship with some nutritional and biochemical markers. *Sci. Total Environ.* 2002, 291, 135–141.
- Nazıroğlu M (2007a) New molecular mechanisms on the activation of TRPM2 channels by oxidative stress and ADP-ribose. *Neurochem Res* 32:1990–2001.
- Ni,J., Chen,M., Zhang,Y., Li,R., Huang,J. and Yeh,S. (2003) Vitamin E succinate inhibits human prostate cancer cell growth via modulating cell cycle regulatory machinery. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* , 300 , 357 –363.
- Novoselov, S.V.; Calvisi, D.F.; Labunskyy, V.M.; Factor, V.M.; Carlson, B.A.; Fomenko, D.E.; Moustafa, M.E.; Hatfield, D.L.; Gladyshev, V.N. Selenoprotein deficiency and high levels of selenium compounds can effectively inhibit hepatocarcinogenesis in transgenic mice. *Oncogene* 2005, 24, 8003–8011.
- Oddo, S., et al., Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. *Neuron*, 2003. 39(3): p. 409-21.
- Oien DB. Moskovitz J. Selenium and the methionine sulfoxide reductase system. *Molecules*. 2009;14:2337–2344.
- Papp LV, Holmgren A, Khanna KK. Selenium and Selenoproteins in Health and Disease. *Antioxidants&Redox Signaling* 2010; 12(7): 793-795.
- Petra A. Tsuji, Didac Santesmasses, Byeong J. Lee, Vadim N. Gladyshev and Dolph L. Hatfield. Historical Roles of Selenium and Selenoproteins in Health and Development: The Good, the Bad and the Ugly. 2021 \ 23.
- Pirola I, Gandossi E, Agosti B, Delbarba A, Cappelli C. Selenium supplementation could restore euthyroidism in subclinical hypothyroid patients with autoimmune thyroiditis. *Endokrynol Pol.* 2016;67(6):567-571.

- Prabhu KS, Zamamiri-Davis F, Stewart JB, Thompson JT, Sordillo LM, Reddy CC (2002) Selenium deficiency increases the expression of inducible nitric oxide synthase in RAW 264.7 macrophages: role of nuclear factor-kappaB in up-regulation. *Biochem J* 366(Pt 1):203–209.
- Qiang He, Hui Li, Fanzhi Meng, Xiangjun Sun, Xu Feng, Jiang Chen, Libo Li, and Jinghua Liu Methionine Sulfoxide Reductase B1 Regulates Hepatocellular Carcinoma Cell Proliferation and Invasion via the Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway and Epithelial-Mesenchymal Transition 2018.
- Radak Z, Zhao Z, Goto S, Koltai E. Age-associated neurodegeneration and oxidative damage to lipids, proteins and DNA. *Mol Aspects Med.* 2011;32(4-6):305–315.
- Rao L, Puschner B, Prolla TA (2001) Gene expression profiling of low selenium status in the mouse intestine: transcriptional activation of genes linked to DNA damage, cell cycle control and oxidative stress. *J Nutr* 131(12):3175–3181.
- Rayman MP (2000) The importance of selenium to human health. *Lancet* 356:233–241.
- Rayman, M.P. Selenium in cancer prevention: A review of the evidence and mechanism of action. *Proc. Nutr. Soc.* 2005, 64, 527–542.
- Reddy SP, Britto R, Vinnakota K, Aparna H, Sreepathi HK, Thota B et al (2008) Novel glioblastoma markers with diagnostic and prognostic value identified through transcriptome analysis. *Clin Cancer Res* 14(10):2978–2987
- Riedl, S.J.; Shi, Y. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2004, 5, 897–907.
- Rishi AK, Sun RJ, Gao Y, et al. Post-transcriptional regulation of the DNA damage-inducible gadd45 gene in human breast carcinoma cells exposed to a novel retinoid CD437. *Nucleic Acids Res.* 1999 Aug 1;27(15):3111–9.
- Ruan H. Tang XD. Chen ML. Joiner ML. Sun G. Brot N. Weissbach H. Heinemann SH. Iverson L. Wu CF. Hoshi T. High-quality life extension by the enzyme peptide methionine sulfoxide reductase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99:2748–2753.
- Rui Zheng, Zhong-Hao Zhang, Yao Chen, Shi-Zheng Jia, Qiong Liu, Jia-Zuan Ni, Guo-Li Song. Selenomethionine promoted hippocampal neurogenesis via the PI3K-Akt-GSK3 β -Wnt pathway in a mouse model of Alzheimer's disease. 2017, Pages 6-15
- S Snigdha, ED Smith, GA Prieto, and CW Cotman, Caspase-3 activation as a bifurcation point between plasticity and cell death, *Neurosci Bull.* 2012 Feb; 28.

- S.V. Novoselov, H.Y. Kim, D. Hua, B.C. Lee, C.M. Astle, D.E. Harrison, B. Friguet, M.E. Moustafa, B.A. Carlson, D.L. Hatfield, V.N. Gladyshev/ Regulation of selenoproteins and methionine sulfoxide reductases A and B1 by age, calorie restriction, and dietary selenium in mice/ *Antioxid. Redox Signal*, 12 (2010), pp. 829-838.
- Saito, Y. Selenium transport mechanism via selenoprotein P—Its physiological role and related diseases. *Front. Nutr.* 2021, 8, 685517.
- Salerno DM, Tront JS, Hoffman B, Liebermann DA (2012) Gadd45a and Gadd45b modulate innate immune functions of granulocytes and macrophages by differential regulation of p38 and JNK signaling. *J Cell Physiol* 227:3613–3620.
- Salmon AB, Pérez VI, Bokov A, Jernigan A, Kim G, Zhao H, Levine RL, Richardson A. Lack of methionine sulfoxide reductase A in mice increases sensitivity to oxidative stress but does not diminish life span. *FASEB J.* 2009;23:3601–3608.
- Sarvnrinder Kaur, Amarjit Kaur, Nisha Jaswal, Anika Anika, Shilpa Sadwal, Sanjay Bharati. Selenium attenuates venlafaxine hydrochloride-induced testicular damage in mice via modulating oxidative stress and apoptosis. 2021 Jul;53.
- Schneider G, Weber A, Zechner U, Oswald F, Friess HM, Schmid RM et al (2006) GADD45alpha is highly expressed in pancreatic ductal adenocarcinoma cells and required for tumor cell viability. *Int J Cancer* 118(10):2405–2411.
- Schomburg L, Schweizer U, Köhrle J. Selenium and Selenoproteins in Mammals : Extraordinary, Essential, Enigmatic. *Cell. Mol. Life Sci.* 2004 ; 61 : 1988-1995.
- Seda Özbal , Güven seda , Çetin Pek , Sıçanlarda serebral iskemi-reperfüzyon hasarına karşı selenyumun etkiler 38 (2008) 265–2.
- Seo YR, Kelley MR, Smith ML. Selenomethionine regulation of p53 by a ref1-dependent redox mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99:14548–14553.
- Shi Y (2002) Apoptosome: the cellular engine for the activation of caspase-9. *Structure* 10:285–288.
- Singh, R.; Letai, A.; Sarosiek, K. Regulation of apoptosis in health and disease: The balancing act of BCL-2 family proteins. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2019, 20, 175–193.
- Solovyev, N.; Drobyshev, E.; Blume, B.; Michalke, B. Selenium at the neural barriers: A review. *Front. Neurosci.* 2021, 15, 630016.
- Solovyev, N.D. Importance of selenium and selenoprotein for brain function: From antioxidant protection to neuronal signalling. *J. Inorg. Biochem.* 2015, 153, 1–12.

- Stadtman ER, Van Remmen H, Richardson A, Wehr NB, Levine RL. Methionine oxidation and aging. *Biochim Biophys Acta*. 2005;1703:135–140.
- Steinbrenner, H.; Speckmann, B.; Klotz, L.O. Selenoproteins: Antioxidant selenoenzymes and beyond. *Arch. Biochem. Biophys*. 2016, *595*, 113–119.
- Stewart MS, Spallholtz JE, Neldner KH, Pence BC. Selenium compounds have disparate abilities to impose oxidative stress and induce apoptosis. *Free Radic Biol Med*. 1999;26:42–48.
- Taeho Kim, Uhee Jung, Dae-Yeon Cho, An-Sik Chung, Se-Methylselenocysteine induces apoptosis through caspase activation in HL-60 cells 2001, Pages 559–565,
- Tengrui Shi , Yujie Yang , Zhonghao Zhang , Lei Zhang , Jianxi Song. Loss of MsrB1 perturbs spatial learning and long-term potentiation/long-term depression in mice 2019, 107104.
- Vinceti, M.; Dennert, G.; Crespi, C.M.; Zwahlen, M.; Brinkman, M.; Zeegers, M.P.A.; Horneber, M.; D’Amico, R.; Del Giovane, C. Selenium for preventing cancer. *Cochrane Database Syst. Rev*. 2014, 2014, CD005195.
- Vogt W. Oxidation of methionyl residues in proteins: Tools, targets, and reversal. *Free Radic Biol Med*. 1995;18:93–105.
- Vunta H, Belda BJ, Arner RJ, Channa Reddy C, Vanden Heuvel JP, Sandeep Prabhu K (2008) Selenium attenuates proinflammatory gene expression in macrophages. *Mol Nutr Food Res* 52(11):1316–1323.
- Wang HH, Chang TY, Lin WC, Wei KC, Shin JW (2017) GADD45A plays a protective role against temozolomide treatment in glioblastoma cells. *Sci Rep* 7(1):8814.
- Wang W, Huper G, Guo Y, Murphy SK, Olson JA Jr, Marks JR (2005) Analysis of methylation-sensitive transcriptome identifies GADD45a as a frequently methylated gene in breast cancer. *Oncogene* 24(16):2705–2714.
- Week BS, Hanna MS, Cooperstein D. Dietary selenium and selenoprotein function. *Med Sci Monit*. 2012;18:RA127–32.
- Weekley, C. M. and Harris, H. H. (2013) Which form is that? The importance of selenium speciation and metabolism in the prevention and treatment of disease. *Chem. Soc. Rev.* 42, 8870–8894.
- Xiaofei Wang , Wenzun Lu , Xuanyi Xia , Yuchen Zhu , Chunmei Ge , Selenomethionine mitigate PM2.5-induced cellular senescence in the lung via attenuating inflammatory response mediated by cGAS/STING/NF-κB pathway. 2022 Dec 1;247:114266.

- Xiao-Yu Chen, Sheng-Yong Yang, Xiao-Jie Ruan, Hong-Yue Ding, Ning-Xi Wang, Fang Liu, Jia-Chu Li MsrB1 Promotes Proliferation and Invasion of Colorectal Cancer Cells via GSK-3 β / β -catenin Signaling Axis 2021.1
- Xin Wei Wang, Qimin Zhan, Jill D. Coursen. GADD45 induction of a G2/M cell cycle checkpoint. 1999 \ 96.
- Xuan Pu, Sarah J. Storr, Yimin Zhang, Caspase-3 and caspase-8 expression in breast cancer: caspase-3 is associated with survival 22, pages 357–368 (2017)
- Y Xiong, G J Hannon, H Zhang, D Casso, R Kobayashi, D Beach *Nature (London)* **366**, 701–704 (1993).
- Yim, S.H.; Clish, C.B.; Gladyshev, V.N. Selenium deficiency is associated with longevity mechanisms. *Cell Rep.* 2019, 27, 2785–2797.
- Yoon SO, Kim MM, Park SJ, Kim D, Chung J, Chung AS (2002) Selenite suppresses hydrogen peroxide-induced cell apoptosis through inhibition of ASK1/JNK and activation of PI3-K/Akt pathways. *FASEB J* 16:111–113.
- Young R. Seo, Mark R. Kelley, and Martin L. Smith, Selenomethionine regulation of p53 by a ref1-dependent redox mechanism. 2022 99 (22) 14548-14553.
- Yuan C, Liu X, Liu X, Yang N, Liu Z, Yan S et al (2015) The GADD45A (1506T>C) polymorphism is associated with ovarian cancer susceptibility and prognosis. *PLoS One* 10(9):e0138692.
- Zainab Nizar Cevad, Molecular detection of caspase 3, 8, 9 genes and ADIPOR1 (rs2275738) polymorphism in colorectal cancer .2023 .5365–68 .
- Zerbini LF, Czibere A, Wang Y, et al. A novel pathway involving melanoma differentiation associated gene-7/interleukin-24 mediates nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced apoptosis and growth arrest of cancer cells. *Cancer Res.* 2006 Dec 15;66(24):11922–31.
- Zhang W, Bae I, Krishnaraju K, et al. CR6: A third member in the MyD118 and Gadd45 gene family which functions in negative growth control. *Oncogene.* 1999 Sep 2;18(35):4899–907.
- Zhang, Z.H., et al., Selenomethionine reduces the deposition of beta-amyloid plaques by modulating beta-secretase and enhancing selenoenzymatic activity in a mouse model of Alzheimer's disease. *Metallomics*, 2016. 8(8): p. 782-9.
- Zhao R, Domann FE, Zhong W (2006) Apoptosis induced by selenomethionine and methioninase is superoxide mediated and p53 dependent in human prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther* 5:3275–3284.
- Zheng Yueyong , Liu Hong, Li Cong, Wang Qiang, Tang Hua, Fare Tumor kaseksi-sinde Caspase-3'ün kas proteinindeki rolü, 2014, 40.
- Zwolak, I.; Zaporowska, H. Selenium interactions and toxicity: A review. *Cell Biol. Toxicol.* 2012, 28, 31–46.

EKLER



LITHUANIAN UNIVERSITY OF HEALTH SCIENCES
NEUROSCIENCE INSTITUTE
LABORATORY OF MOLECULAR NEUROBIOLOGY

16 January 2023

All the procedures were performed, and mice tissues handled in strict accordance with the rules defined by the European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (Republic of Lithuania, License of State Veterinary Service for working with laboratory animals No. G2-203).

