



Zeynep TUZCU ^{1, a}
Hasan GENÇOĞLU ^{1, b}
Mehmet TUZCU ^{1, c}
Cemal ORHAN ^{2, d}
Can Ali AĞÇA ^{3, e}
Kazım ŞAHİN ^{2, f}

¹ Fırat Üniversitesi,
Fen Fakültesi,
Biyoloji Bölümü,
Moleküler Biyoloji ve
Genetik Programı,
Elazığ, TÜRKİYE

² Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Hayvan Besleme ve
Beslenme Hastalıkları
Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

³ Bingöl Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi,
Moleküler Biyoloji ve
Genetik Bölümü,
Bingöl, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-5331-4893

^b ORCID: 0000-0002-7716-552X

^c ORCID: 0000-0002-1329-3143

^d ORCID: 0000-0003-4138-7689

^e ORCID: 0000-0002-0244-3767

^f ORCID: 0000-0001-9542-5244

Geliş Tarihi : 24.02.2018
Kabul Tarihi : 24.04.2018

Yazışma Adresi Correspondence

Kazım ŞAHİN
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Hayvan Besleme ve
Beslenme Hastalıkları
Anabilim Dalı,
Elazığ – TÜRKİYE

ksahin@firat.edu.tr

Diyabetik Sıçanlarda Taurinin Kalp Dokusu Antioksidan Düzeyleri ile NF-κB ve Nrf2 Sinyal Yolakları Üzerine Etkisi

Taurin'in, nörotransmitterlerin modülasyonu ve antioksidasyon gibi önemli roller oynadığı kanıtlanmıştır. Bununla birlikte, diyabetle ilişkili kardiyak komplikasyonlarda taurinin olumlu etkisinin mekanizması hakkında çok az şey bilinmektedir. Bu çalışmada, taurinin, sıçan kalp dokusu nükleer faktör-kappa B (NF-κB p65) ve nükleer faktör eritroid 2 (Nrf2) sinyal yolağı üzerine etkileri araştırıldı. Kırk adet (8 haftalık) erkek Wistar sıçan rasgele dört gruba ayrıldı. Gruplar; (i) Kontrol grubu, (ii) taurin uygulanan grup, (iii) streptozotisin (STZ) enjekte edilip diyabet oluşturulan grup, (iv) STZ enjekte edilip diyabet oluşturulan ve diyabetin başlangıcından sonra 8 hafta süreyle taurin (%2 w/v oral yolla, içme suyuna katılarak) uygulanan grup olarak belirlendi. Diyabetik sıçanlarda artan kalp dokusu malondialdehit (MDA) seviyeleri, taurin takviyesi ile anlamlı şekilde azaldı (P<0.001). Diyabetik sıçanlarda kalp dokusu süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktivite düzeyleri azaldı, ancak taurin takviyesi ile bu düzeyler anlamlı şekilde arttı (P<0.001). Diyabetin yol açtığı kalp dokusu NF-κB düzeylerindeki artış ile Nrf2, HO-1, eNOS ve SIRT-1 düzeylerindeki azalış taurin takviyesi ile kısmen önleildi. Sonuç olarak, diyabetin ve buna bağlı komplikasyonların iyileştirilmesinde taurinin kalp dokusundaki NF-κB ve Nrf2/HO-1 yollarını etkileyerek yararlı bir rol oynayabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, taurin, kalp dokusu

Effect of Taurine on Antioxidant Levels and NF-κB ve Nrf2 Signaling Pathways in Heart Tissue of Diabetic Rats

Taurine has been proved to play important roles such as modulation of neurotransmitters and antioxidation. However, little is known about the mechanism of beneficial action of taurine in diabetes-associated cardiac complications. In the present study, we investigated the effects of taurine on nuclear factor-kappa B (NF-κB p65) and nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf2) signaling pathway in heart tissue of rats. Forty (8-week-old) male Wistar rats were randomly divided into four groups; (i) control group, (ii) taurine treated group, (iii) diabetes induced with injection of streptozotocine (STZ) group, (iv) diabetic group treated with taurine (2% w/v, orally, in water) from the day on which STZ was injected or after the onset of diabetes for 8 weeks. The increased heart tissue malondialdehyde levels in diabetic rats were significantly decreased by taurine supplementation (P<0.001). The decreased heart tissue superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) activities in diabetic rats were significantly increased by taurine supplementation (P<0.001). Moreover, diabetes-induced up-regulation of NF-κB and down regulation of Nrf2, HO-1, eNOS, and SIRT-1 in heart tissue were slightly prevented with taurine supplementation. These data suggest that taurine supplementation could play a beneficial role in recovery of diabetes and its associated complications by modulation of NF-κB and Nrf2 /HO-1 pathways in the heart tissue.

Key Words: Diabetes, taurine, heart tissue

Giriş

Kardiyovasküler hastalıkların çoğu ateroskleroz, yüksek miktarda yağ birikimi, kolesterol, inflamatuvar hücreler ve damar duvarındaki bağ dokudan kaynaklanır (1, 2). Diyabet hastalarında serum glukoz ve serbest radikaller artar ve bunlar endotel fonksiyon bozukluğuna neden olur (2, 3). Sıkı glisemik kontrol her ne kadar diyabetik vasküler komplikasyonların başlamasını geciktirip ilerlemesini yavaşlatsa da, bu strateji tüm hastalarda başarılı değildir (3, 4). Diyabetik hayvanlarda çeşitli düz kas hücrelerinde fonksiyonel değişiklikler olduğu gösterilmiştir (5). Oksidatif stres, hem mikrovasküler hem de kardiyovasküler diyabet komplikasyonlarının gelişiminde çok önemli bir rol oynamaktadır. Diyabetin metabolik anormallikleri miyokardiyal endotel hücrelerinde mitokondriyal süperoksitin aşırı üretimine neden olur (5). Artmış süperoksit üretimi, mikrovasküler ve kardiyovasküler patogenezinde rol alan beş ana yolağın aktivasyonuna neden olur. Bunlar: poliyol yolak akışı, ileri glikasyon son ürünlerinin oluşumunun artışı, ileri glikasyon son ürünleri için artmış reseptör ifadesi ve aktive edici ligandlar, protein kinaz-C izoformlarının aktifleştirilmesi ve heksozamin yolağının aşırı aktivitesidir. Aynı zamanda, iki kritik anti-aterosklerotik enzim olan endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve prostasiklin sentazı da doğrudan etkisiz hale getirir. Bu yollarla, artmış hücre içi reaktif oksijen türleri (ROS), iskemiye yanıt olarak hatalı anjiyojenesez neden olur. Sonrasında bir takım proenflamatuvar yolları harekete geçirir ve glisemi

normale döndükten sonra proenflamatuar genlerin kalıcı ekspresyonunu sürükleyen uzun süreli epigenetik değişikliklere yol açar (5, 6).

Diyabette meydana gelen fonksiyonel değişiklikler endotel disfonksiyonuyla ilişkili olabilir. Diyabet ve insülin direnci endotel disfonksiyonu indükler (6). Endotel disfonksiyonu, aterosklerotik kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde erken patolojik evre olarak tanımlanır (7). Birçok çalışma (8-10), endotel disfonksiyonu ve diyabet-ateroskleroz ilişkisi üzerine yoğunlaşmış ancak patogeneze tam olarak anlayışlanmamıştır. Diyabette oluşan vasküler değişimlerin doğasını anlamak için kimyasallarla indüklenen diyabetik hayvan modellerinde birçok çalışma yapılmıştır (11-13). Nitrik oksit, vazodilatasyonda önemli bir rol oynamaktadır. Endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) izoformu aracılığıyla sentezlenen nitrik oksit, fare aortunda vazodilatasyona aracılık ettiği gösterilmektedir (14). Nükleer faktör-kappa B (NF-κB) aktivasyonu diyabette hem oksidatif stres hem de inflammatuar sinyal yolağında önemli bir transkripsiyon faktörüdür. Birçok inflammatuar hastalığın patogenezinde rol oynar (15). Özellikle son yıllarda, antioksidan aktivitesine dair çalışmalar büyük önem kazanmıştır. Nükleer faktör eritroid 2 (Nrf2), Faz II detoksifikasyonun (glutasyon S-transferazlar) indüksiyonunu veya antioksidan enzimleri (heme oksijenaz-1, HO-1) düzenleyerek, oksidatif stresin sebep olduğu sitotoksiteye karşı primer hücre savunması olarak kabul edilen bir diğeri transkripsiyon faktörüdür. Nrf2 vasküler endotel hücrelerinin endotel redoks dengesini düzenleyerek aterosklerotik kapasitesinin korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (16-19). HO-1 antioksidan, anti-inflamatuar, antiapoptotik ve vaskülatür üzerinde vazodilatör etkileriyle vasküler dokuyu koruyan önemli bir faktör olarak kabul edilmiştir. HO-1 oksidatif hasara karşı anahtar savunma mekanizmalarından birini oluşturur ve HO-1'in aktivite artışı diyabette bilinmeyen mekanizmalar aracılığı ile endotel disfonksiyonu, apoptoz ve süperoksit oluşumunu azaltır (20-22). Sirtuin 1, SIRT1 geni tarafından kodlanan enzimatik yapı bir proteindir (23). SIRT1 aktivasyonu metabolik hastalıkların indirgenmesi ile ilişkilidir (24, 25). SIRT1 ekspresyonunda azalma olması insülin direnciyle, kan glukoz düzeylerinin yüksek oluşuyla, yağdan zengin bir diyetle beslenme ve yaşlanmayla ilişkilidir. Oksidatif stres gibi akut oluşan bir strese cevap olarak SIRT1 ekspresyonunun artışı; kısa süreli olarak gerçekleşmekte ve birçok düzenleyici aşamada kontrol edilerek dengelenmektedir (26).

Taurin, insanlar için yarı-esansiyel bir amino asit olup, doğal olarak deniz ürünleri ve ette bulunur (27). Bu amino asidin plazma seviyeleri, gıda içeriğine bağlıdır. Veganlar, omnivorlarla karşılaştırıldığında %50 daha düşük oranda plazma taurin seviyesine sahiptirler (28). Taurin içeren içecekler, atletik ve zihinsel performansın iyileştirilmesi ve sağlıklı yaşam için kullanılmaktadır (29). Taurin, membran stabilizasyonu ve bağışıklık gibi bazı temel biyolojik süreçlerde önemli bir rol oynayan taurin, antioksidan ve antiinflammatuar etkilere sahiptir (30-31). Taurin, memelilerde kalp dokusunda en fazla bulunan aminoasittir (32). Yüksek taurin konsantrasyonlarına

rağmen, kalpte neredeyse hiç taurin biyosentezi yapılmaz. Bu da kalpte çok güçlü bir taurin transporter alım sisteminin varlığını göstermektedir (33-34). Bu nedenle, bu çalışmanın amacı, diyabetik sıçanlarda taurinin kalp dokusunda antioksidan düzeyi ve NF-κB ve Nrf2 sinyal yolları üzerine etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Hayvanlar ve Deneme Düzeni: Bu çalışmada, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinden (FÜDAM) temin edilen 180±20 gram ortalama ağırlık ve 8 haftalık yaşta 40 adet Wistar albino ırkı erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlara günlük 12 saat aydınlık; 12 saat karanlık olacak şekilde bir aydınlatma periyodu uygulandı. Sıçanlar 22±2 °C sıcaklık, %55±5 nisbi nem bulunan ortamda barındırıldı. Ayrıca hayvanlara taze su ve yem *ad libitum* olarak sağlandı. Araştırma Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (FÜDAM) yürütüldü. Deneyde hayvanlara uygulanan tüm işlemler Fırat Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onaylanan rapora uygun şekilde yürütüldü. Bir haftalık ortam adaptasyonu sürecinden sonra her grupta 10'ar adet sıçan olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı: (i) Kontrol: Sıçanlar bazal diyet ile beslendi, (ii) Taurin: Bazal diyetle beslenen sıçanların içme sularına %2 (w/v) oranında taurin karıştırılarak verildi (35), (iii) Diyabet: Bazal diyetle beslenen sıçanlara intraperitoneal enjeksiyon ile 60 mg/kg/CA dozunda Streptozotisin (STZ) tek doz olarak uygulandı, (iv) Diyabet+Taurin: Bazal diyetle beslenen sıçanlara intraperitoneal enjeksiyon ile tek doz STZ (60 mg/kg) uygulandı ve taurin %2 (w/v) oranında içme suyuna karıştırılarak verildi. STZ enjeksiyonu sonrası diyabetin gelişip gelişmediğini tespit etmek için, STZ enjeksiyonundan önce ve 72 saat sonra sıçanların kuyruk damarından kan alındı ve glikoz konsantrasyonları ölçüldü (ACCU-Check Active, Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya). STZ'nin enjeksiyonundan sonra, 140 mg/dL'den daha yüksek açlık glukoz seviyeleri sergileyen hayvanlar diyabetik olarak kabul edildi. Çalışma 8 hafta süresince devam ettirildi. Çalışma sonunda sıçanlar kalp dokuları alınmak üzere anestezi altında dekapite edildi. Analizler yapılmaya kadar örnekler derin dondurucuda -80 °C'de muhafaza edildi.

Laboratuvar Analizleri: Kalp dokusu MDA konsantrasyonu yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC, Shimadzu, Tokyo, Japan) sistemiyle 250 nm'de inertsil 5µ C-18 (15 cm x 4.6 mm) kolonu kullanılarak ölçüldü (36).

Homojenize edilen kalp dokusunda süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutasyon peroksidaz (GPx) aktiviteleri, ticari kitler (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, ABD) kullanılarak kit protokollerine göre plaka okuyucuda (Biotek Instruments, Inc., Vermont, USA) sırasıyla 450, 540, 340 nm absorbanlarda ölçüldü. Sonuçlar; SOD için U/mg protein, CAT için nmol/min/mg protein, GPx için nmol/min/mg protein olarak ifade edildi.

Protein izolasyondan önce kalp dokusu, buz soğukluğunda 1 ml hipotonik tampon [10 mM 4-(2-hidroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid (HEPES,

pH 7.8), 10 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 1 mM dithiothreitol (DTT), 0.1 mM ethylene diaminetetraacetic acid (EDTA), ve 0.1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF)] içinde (%10 w/v) homojenize edildi. Homojenatlara 80 µL %10'luk Nonidet P-40 (NP-40) solüsyonu eklendi ve daha sonra 14.000 g'de 2 dakika santrifüje tabi tutuldu. Süpernatant e-NOS, SIRT-1 ve HO-1 için bir sitozolik fraksiyon olarak toplandı. Pelletler eşit hacimde ilave edilen homojenizasyon solüsyonunda [25 mM Tris-HCl (pH= 7.4), 0.1mM PMSF, %2'lik TritonX-100 ve %1'lik SDS] yeniden süspansiyon edildi. Homojenatlar 5 dakika süreyle 14.800 rpm'de santrifüje tabi tutuldu. Nükleer protein içeren süpernatant NF-κB ve Nrf2 tayini için toplandı. Protein konsantrasyonu Lowry prosedürüne göre ticari bir protein test kiti (Sigma) kullanılarak hesaplandı.

Süpernatanta %2 β-merkaptoetanol içeren SDS-PAGE tamponu ilave edildi. Eşit miktarda protein (50 µg) elektroforezlendi ve daha sonra nitroselüloz membranlara (Schleicher and Schuell Inc., Keene, NH, USA) aktarıldı. Nitroselüloz membranlar, fosfat tamponu (PBS) ile 5 dakikalık süre iki kez yıkandı ve primer antikor uygulanmasından önce 1 saat oda sıcaklığında %1 sığır serumu albümini içeren PBS içerisinde ile bloke edildi. Primer antikor olarak poliklonal mouse NF-κB, Nrf2, e-NOS, SIRT-1 ve HO-1 (Abcam, Cambridge, UK) antikorları kullanıldı. Primer antikor, %0.05 Tween-20 içeren aynı tamponda 1:1000 oranında seyreltildi. Nitroselüloz membran, primer antikor ile gece boyunca 4 °C'de inkübe edildi. Blotlar yıkandı ve horseradish peroxidase-conjugated goat anti-mouse IgG (Abcam) ile inkübe edildi. Protein yüklemesi, β-aktin antikor (Abcam) kullanılarak kontrol edildi. Verilerin tekrarlanabilirliğini doğrulamak için blotlar en az üç kez gerçekleştirildi. Bantlar, bir görüntü analiz sistemi (Image J; National Institute of Health, Bethesda, USA) kullanılarak densitometrik olarak analiz edildi (37).

İstatistiksel Analiz: Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 21 istatistik paket programı kullanıldı (38). Değişkenler ortalama±standart hata olarak gösterildi. Ayrıca parametrik testlerin ön şartlarından varyansların homojenliği "Levene" testi ile kontrol edildi. Normallik varsayımına ise "Shapiro-Wilk" testi ile bakıldı. Üç ve daha fazla grup karşılaştırması için Tek Yönlü Varyans

Analizi ve çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey HSD testi ile sağlanmadığında ise Kruskal Wallis ve çoklu karşılaştırma testlerinden Bonferroni-Dunn testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlı farklılık için sınır değer 0.05 olarak kabul edildi.

Bulgular

Taurin takviyesinin STZ ile indüklenmiş diyabetik sıçanların kalp dokusu örneklerinde MDA düzeyleri ile SOD, CAT ve GPx aktivitesi üzerine etkisine ilişkin sonuçlar Tablo 1'de görülmektedir. Oksidatif hasar göstergesi olan MDA düzeyleri incelendiğinde diyabet grubunun, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı (P<0.001). Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında diyabet+taurin grubu kalp dokusu MDA düzeyleri önemli bir düşüş gösterdi (P<0.001). Kontrol ve taurin grupları arasında kalp dokusu MDA konsantrasyonlarında farklılık tespit edilmedi (P>0.05). Antioksidan enzimler olan SOD, CAT ve GPx aktivite düzeyleri, diyabet grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu (P<0.001). Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında diyabet+taurin grubu kalp dokusu SOD, CAT ve GPx aktivite düzeyleri önemli bir artış gösterdi (P<0.001). Kontrol ve taurin gruplarındaki sıçanlarda kalp dokusu SOD, CAT ve GPx aktivite düzeyleri benzerdi (P>0.05).

Taurin takviyesi, sağlıklı sıçanlarda kalp dokusu Nrf2 (Şekil 1A), HO-1 (Şekil 1B) ve NF-κB (Şekil 1C) düzeylerini etkilemedi (P>0.05). Ancak, diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre kalp dokusu NF-κB düzeylerinde artış görüldü (Şekil 1C; P<0.0001). Taurin uygulaması, diyabetik sıçanlarda NF-κB ekspresyonundaki yükselişi kısmen azalttı (Şekil 1C; P<0.05). Diyabetik sıçanlarda kalp dokusu Nrf2 (Şekil 1A) ve HO-1 (Şekil 1B) düzeylerinde azalma görüldü (P<0.0001). Taurin uygulaması ise, diyabetik sıçanlarda Nrf2 ve HO-1 düzeylerinde artışa neden oldu (Şekil 1A,1B; P<0.001). Diyabet grubunda kalp dokusu eNOS (Şekil 1D) ve SIRT-1 (Şekil 1E) düzeyleri azalırken (P<0.0001), taurin tüketen diyabetik sıçanlarda eNOS (Şekil 1D), SIRT-1 (Şekil 1E) düzeylerinde artış tespit edildi (P<0.001).

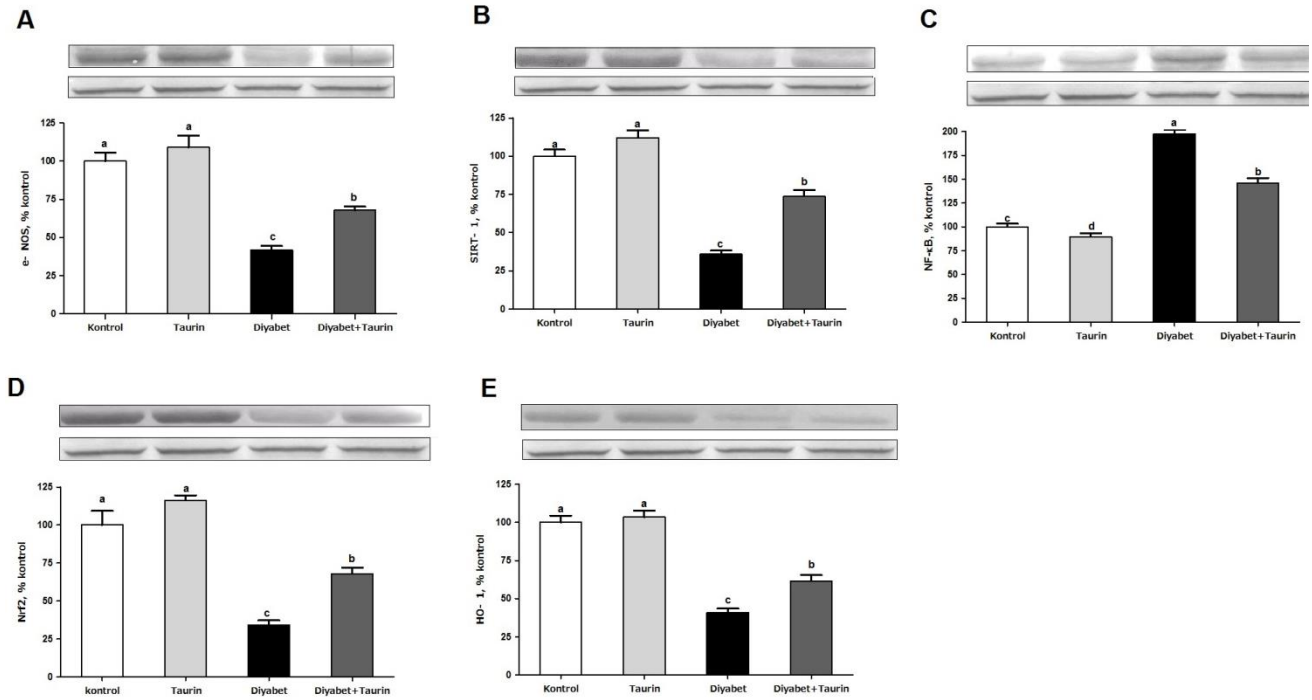
Tablo 1. Taurin uygulamasının diyabetik ratlarda kalp dokusu MDA, SOD, CAT ve GPx konsantrasyonları üzerindeki etkisi

Parametreler	Gruplar				--P--
	Kontrol	Taurin	Diyabet	Diyabet+Taurin	
MDA, nmol/g	135.4±7.6 ^c	129.8±9.3 ^c	195.1±11.6 ^a	160.5±8.1 ^b	<0.001
SOD, U/mg	25.6±1.8 ^a	26.9±2.4 ^a	13.3±2.1 ^c	18.5±1.3 ^b	<0.001
CAT, U/mg	8.9±1.5 ^a	8.6±1.2 ^a	3.1±0.7 ^c	5.7±0.9 ^b	<0.001
GPx, U/mg	6.8±1.7 ^a	7.4±1.3 ^a	2.3±0.5 ^c	4.5±0.8 ^b	<0.001

MDA=Malondialdehit; SOD= Süperoksit dismutaz; CAT=Katalaz; GPx=Glutatyon peroksidaz

Veriler her ortalama ve standart hata olarak ifade edilmiştir (n=10).

Üst simgeler a-c, ortak bir üst simge olmaksızın aynı sırada bulunan parametrelerin önemli ölçüde farklılık gösterdiğini ifade eder (P<0.05).



Şekil 1. Streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabetik sıçanlarda taurin uygulamasının, kalp dokusu (A) Nükleer faktör eritroid 2 (Nrf2), (B) Hemoksijenaz 1 (HO-1), (C) Nükleer faktör-kappa B (NF-κB), (D) Endotel nitrik oksit sentaz (e-NOS) ve (E) Sirtuin-1 (SIRT1) seviyelerine etkisi. Dansitometrik olarak band yoğunlukları, kontrolün yüzdesi olarak hesaplanmıştır. Veriler ortalama ve standart hata olarak ifade edilmiştir. Deney grupları arasında ortak bir üst simge bulunmayan barlar farklıdır ($P<0.05$).

Tartışma

Streptozotosin uygulamasıyla pankreatik β hücrelerinin tahrip edilmesi sonucu hiperglisemi ve serbest oksijen radikalleri oluşur (39). Diyabetik komplikasyonların patogeneğinde oksidatif stresin rolü ya artan serbest oksijen radikali üretimi ya da bastırılmış serbest oksijen radikali temizleme kapasitesiyle bağlantılıdır. Das ve ark. (40), streptozotosin ile indüklenen diyabetin hiperglisemi ve hipoinsülinemiye neden olduğunu, kardiyak hasar belirteçlerini artırdığını ve plazma lipid profilinde değişikliğe neden olduğunu bildirmiştir. Diyabetik sıçanların, antioksidan enzimlerin aktivitesinde azalma ve oksidan enzim aktivitesinde artış olduğu gibi, lipid peroksidasyonu, protein karbonilasyonu, serbest oksijen radikali üretimi, proinflamatuvar sitokinleri serbest bırakma seviyesi de artmıştır. Kronik diyabette miyokard hasarının patogeneğinde ve progresyonunda inflamasyonun rolü iyi bilinmektedir. Kronik diyabetin miyokarddaki zararlı etkisi inflamatuvar sinyalden veya antiinflamatuvar sinyal sistemlerinin düzensizleşmesinden kaynaklanabilir (41). Öte yandan, taurinin serbest oksijen radikallerinin aşırı oluşumunun önlenmesinde, lipid peroksidasyonunun azaltılmasında ve miyokarddaki antioksidan enzim aktivitesinin artırılmasında fayda sağladığı kanıtlanmıştır (22, 42-43). Bu araştırmadaki verilerle uyumlu olarak, Obrosova ve ark. (44), taurin takviyesinin diyabetik sıçanlarda serum MDA konsantrasyonunda düşüşe neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada diyabet

grubunda kalp dokusu SOD, CAT ve GPx antioksidan enzim aktiviteleri azalmıştır (Tablo 1). Bu bullulara benzer olarak, diyabetik sıçanlara taurin desteğinin, plazma MDA ve nitrik oksit konsantrasyonlarını azalttığı ve tedavi edilmemiş diyabetik sıçanlara kıyasla plazma glutatyon seviyesinin arttığı gösterilmiştir (44, 45).

Nrf2 sinyal yolağı, antioksidan savunma mekanizmasının kilit düzenleyicisidir ve streptozotosin ile indüklenen diyabette aktifleştirilir (46-47). HO-1'in indüksiyonu, oksidatif strese karşı adaptif bir hücrel savunma yanıtıdır ve diyabet dahil olmak üzere patofizyolojik durumlardaki hücrelerin korunmasıdır (48). Bu çalışmada elde edilen verilere (Şekil 1A ve B, Tablo 1) benzer şekilde, Kumar ve ark. (49), diyabetik sıçanlarda serum MDA'nın artmasıyla Nrf2 ve HO-1 düzeylerinde azalma olduğunu göstermişlerdir. Taurin takviyesi, Nrf2 ekspresyonunu aktive ederek (Şekil 1A) sitoprotektif antioksidan enzim olan HO-1 ifadesini artırmıştır (Şekil 1B). Normal şartlarda Nrf2, sitoplazmada bulunurken stres koşulları nükleusa geçişine neden olur (46).

Hiperglisemi nedeniyle oluşan serbest oksijen radikali üretimi, inflamasyonla ilgili birçok genin ekspresyonunu kontrol etmeye yardımcı olan transkripsiyon faktörü NF-κB'nin ekspresyonlarını harekete geçirmek için sinyal iletim yolunu uyarır (19, 31). Nükleer faktör-kappa B diyabette inflamasyon ve oksidatif strese eşlik eden önemli bir rol oynamaktadır

(50). Bu çalışmada, kalp dokusunda NF-κB ekspresyonu diyabetik sıçanlarda aktive edilmiştir (Şekil 1C).

Diyabetik sıçan kalp dokusunda eNOS düzeyleri önemli ölçüde azalmıştır (Şekil 1D). Wang ve ark. (12), taurinin deneysel tip 1 diyabetle indüklenen vasküler endotel disfonksiyonunu geliştirdiğini bildirmiştir. Diyabetin fosforile edilmiş eNOS düzeylerini azalttığını varsayabiliriz ki bu da taurin ile tedavi edilerek önenebilir. Taurin, NO-NOS yolağını iyileştirebilir ve böylelikle sıçanlardaki diabetes mellitusta en azından kısmen gelişmekte olan anjiyopatiyi önleyebilir (12). Beslenme kaynaklı metabolik bozukluklarda antioksidanların insülin direncini SIRT1 bağımlı mekanizmaların aktivasyonunu sağlamak suretiyle muhtemelen iyileştirebildiği bildirilmektedir (51, 52). SIRT1 düzeylerinin; diyabet oluşturulan sıçanların kalp dokusunda, kontrol gruplarına kıyasla azaldığı ve antioksidanların diyabetik kalp kasında SIRT1 uyarımını gerçekleştirdiği bildirilmiştir (53). Bu çalışmada

kalp dokusu SIRT1 düzeyleri; diyabet+taurin grubunda, diyabet grubuna oranla belirgin bir biçimde artış göstermiştir (Şekil 1 E). Taurinin hayvan modellerindeki endotel reaktivitede oluşan bir iyileşme ile saptanan vasküler koruyucu etkisi, artan eNOS ve SIRT1 düzeyleri ile ilişkili olabilir.

Sonuç olarak, diyabetik sıçanlarda kalp dokusu oksidatif stres ve NF-κB düzeyleri artarken, Nrf2, HO-1, eNOS ve SIRT-1 düzeyleri azalmıştır. Taurin ise kalp dokusu NF-κB seviyelerini kısmen azaltıp, Nrf2, HO-1, eNOS ve SIRT-1 düzeylerini arttırmıştır. Özetle, taurinin, diyabetik sıçan kalbinde antioksidan savunma sinyali yolunun aktive edilmesi yoluyla oksidatif stres şiddetini azalttığı ve taurinin diyabetin neden olduğu endotel fonksiyon bozukluğunu azaltabildiği söylenilebilir. Bununla birlikte, diyabetle indüklenen endotel fonksiyon bozukluğu üzerine taurin mekanizmalarını ortaya koymak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

- Cooper ME, Bonnet F, Oldfield M, et al. Mechanisms of diabetic vasculopathy: an overview. *Am J Hypertens* 2001; 14: 475-486.
- Senses V, Özyazgan S, Ince E, et al. Effect of 5-aminoimidazole- 4-carbox-amide riboside (AICA-r) on isolated thoracic aorta responses in streptozotocin-diabetic rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2001; 12: 227-248.
- The Diabetic Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329: 977-986.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998; 352: 837-853.
- Ozturk Y, Altan VM, Yildizoglu-Ari N. Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. *Pharmacol Rev* 1996; 48: 69-112.
- Ikubo N, Saito M, Tsounapi P, et al. Protective effect of taurine on diabetic rat endothelial dysfunction. *Biomedical Research* 2011; 32: 187-193.
- Ghosh J, Das J, Manna P, et al. Taurine prevents arsenic-induced cardiac oxidative stress and apoptotic damage: Role of NF-κB, p38 and JNK MAPK pathway. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2009; 240: 73-87.
- De Meyer GRY, Herman AG. Vascular endothelial dysfunction. *Prog Cardiovasc Dis* 1997; 39: 325-342.
- Pepine CJ. Clinical implications of endothelial dysfunction. *Clin Cardiol* 1998; 21: 795-799.
- Cosentino F, Luscher TF. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; 32: 54-61.
- Abebe W. Effects of taurine on the reactivity of aortas from diabetic rats. *Life Sci* 2008; 82: 279-289.
- Wang LJ, Yu YH, Zhang LG, et al. Taurine rescues vascular endothelial dysfunction in streptozocin-induced diabetic rats: correlated with downregulation of LOX-1 and ICAM-1 expression on aortas. *Eur J Pharmacol* 2008; 597: 75-80.
- Forstmann U, Closs EI, Pollock JS, et al. Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension* 1994; 23: 1121-1131.
- Khurana S, Chacon I, Xie G, et al. Vasodilatory effects of cholinergic agonists are greatly diminished in aorta from M3R-/-mice. *Eur J Pharmacol* 2004; 493: 127-132.
- Sahin K, Orhan C, Tuzcu M, et al. Ingested capsaicinoids can prevent low-fat-high-carbohydrate diet and high-fat diet-induced obesity by regulating the NADPH oxidase and Nrf2 pathways. *J Inflamm Res* 2017; 10: 161-168.
- Ding Y, Zhang B, Zhou K, et al. Dietary ellagic acid improves oxidant-induced endothelial dysfunction and atherosclerosis: Role of Nrf2 activation. *International Journal of Cardiology* 2014; 175: 508-514.
- Sahin K, Orhan C, Akdemir F, et al. Mesozeaxanthin protects the liver and reduces cardio-metabolic risk factors in an insulin resistant rodent model. *Food Nutr Res* 2017; 61: 1353360.
- Tuzcu Z, Orhan C, Sahin N, et al. Cinnamon Polyphenol Extract Inhibits Hyperlipidemia and Inflammation by Modulation of Transcription Factors in High-Fat Diet-Fed Rats. *Oxid Med Cell Longev* 2017; 2017: 1583098.
- Sahin K, Pala R, Tuzcu M, et al. Curcumin prevents muscle damage by regulating NF-κB and Nrf2 pathways and improves performance: an in vivo model. *J Inflamm Res* 2016; 9: 147-154.
- Tuzcu M, Sahin N, Orhan C, et al. Impact of chromium histidinate on high fat diet induced obesity in rats. *Nutr Metab (Lond)* 2011; 8:28.
- Abraham NG, Tsenovoy PL, McClung J, et al. Heme oxygenase: a target gene for anti-diabetic and obesity. *Curr Pharm Des* 2008;14: 412-421.
- Wang GG, Li W, Lu XH, et al. Taurine attenuates oxidative stress and alleviates cardiac failure in type I diabetic rats. *Croat Med J* 2013; 54: 171-179.

23. Bagul PK, Dinda AK, Banerjee SK. Effect of resveratrol on sirtuins expression and cardiac complications in diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 468: 221-227.
24. Rizk SM, El-Maraghy SA, Nassar NN. A novel role for SIRT-1 in L-arginine protection against STZ induced myocardial fibrosis in rats. *PLoS One* 2014; 9: e114560.
25. Clark D, Tuor UI, Thompson R, et al. Protection against recurrent stroke with resveratrol: endothelial protection. *PLoS One*. 2012; 7: e47792.
26. Gencoglu H, Tuzcu M, Hayirli A, et al. Protective effects of resveratrol against streptozotocin-induced diabetes in rats by modulation of visfatin/sirtuin-1 pathway and glucose transporters. *Int J Food Sci Nutr*. 2015; 66: 314-320.
27. Zhao X, Lin Y. Taurine content in Chinese food and daily intake of Chinese men. *Adv Exp Med Biol* 1998; 442: 501-505.
28. Rana S, Sanders TA. Taurine concentrations in the diet, plasma, urine and breast milk of vegans compared with omnivores. *Br J Nutr* 1986; 56: 17-27.
29. Alford C, Cox H, Wescott R. The effects of red bull energy drink on human performance and mood. *Amino Acids* 2001; 21: 139-150.
30. Schuller-Levis GB, Park E. Taurine and its chloramine: modulators of immunity. *Neurochem Res* 2004; 29: 117-126.
31. Agca CA, Tuzcu M, Hayirli A, et al. Taurine ameliorates neuropathy via regulating NF- κ B and Nrf2/HO-1 signaling cascades in diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology* 2014; 71: 116-121.
32. Spaeth DG, Schneider DL. Taurine synthesis, concentration, and bile salt conjugation in rat, guinea pig, and rabbit. *Proc Soc Exp Biol Med* 1974; 147: 855-858.
33. Huxtable RJ, Chubb J. Adrenergic stimulation of taurine transport by the heart. *Science* 1977; 198: 409-411.
34. Pisarenko O. Mechanisms of myocardial protection by amino acids: Facts and hypotheses. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1996; 23: 627-633.
35. Yao HT, Lin P, Chang YW, et al. Effect of taurine supplementation on cytochrome P450 2E1 and oxidative stress in the liver and kidneys of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 1703-1709.
36. Barim O, Karatepe M. The effects of pollution on the vitamins A, E, C, betacarotene contents and oxidative stress of the freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus*. *Ecotoxicol Environ Saf* 2010; 73: 138-142.
37. Sahin K, Tuzcu M, Orhan C, et al. Anti-diabetic activity of chromium picolinate and biotin in rats with type 2 diabetes induced by high-fat diet and streptozotocin. *Br J Nutr* 2013; 110: 197-205.
38. IBM SPSS. IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.
39. Shanmugam KR, Mallikarjuna K, Nishanth K, et al. Protective effect of dietary ginger on antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues. *Food Chem* 2011; 124: 1436-1442.
40. Das J, Vasan V, Sil PC. Taurine exerts hypoglycemic effect in alloxan-induced diabetic rats, improves insulin-mediated glucose transport signaling pathway in heart and ameliorates cardiac oxidative stress and apoptosis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 258: 296-308.
41. Drimal J, Knezi V, Navarova J, et al. Role of inflammatory cytokines and chemoattractants in the rat model of streptozotocin-induced diabetic heart failure. *Endocr Regul* 2008; 42: 129-135.
42. Schaffer SW, Shimada K, Jong CJ, et al. Effect of taurine and potential interactions with caffeine on cardiovascular function. *Amino Acids* 2014; 46: 1147-1157.
43. Marcinkiewicz J, Kontny E. Taurine and inflammatory diseases. *Amino Acids* 2014; 46: 7-20.
44. Obrosova IG, Fathallah L, Stevens MJ. Taurine counteracts oxidative stress and nerve growth factor deficit in early experimental diabetic neuropathy. *Exp Neurol* 2001; 172: 211-219.
45. Pandya KG, Patel MR, Lau-Cam CA. Comparative study of the binding characteristics to and inhibitory potencies towards PARP and in vivo antidiabetogenic potencies of taurine, 3-aminobenzamide and nicotinamide. *J Biomed Sci* 2010; 24: S16.
46. Motohashi H, Yamamoto M. Nrf2-Keap1 defines a physiologically important stress response mechanism. *Trends Mol Med* 2004; 10: 549-557.
47. Negi G, Kumar A, Joshi RP, et al. Oxidative stress and Nrf2 in the pathophysiology of diabetic neuropathy: Old perspective with a new angle. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 408: 1-5.
48. Sahin N, Akdemir F, Orhan C, et al. A novel nutritional supplement containing chromium picolinate, phosphatidylserine, docosahexaenoic acid, and boron activates the antioxidant pathway Nrf2/HO-1 and protects the brain against oxidative stress in high-fat-fed rats. *Nutr Neurosci* 2012; 15: 42-47.
49. Kumar A, Negi G, Sharma SS. JSH-23 targets nuclear factor kappa B (NF-kappaB) and reverses various deficits in experimental diabetic neuropathy: effect on neuroinflammation and antioxidant defence. *Diabetes Obes Metab* 2011; 13: 750-758.
50. Baker RG, Hayden MS, Ghosh S. NF-kappaB, inflammation, and metabolic disease. *Cell Metab* 2011; 13: 11-22.
51. Baur JA, Pearson KJ, Price NL, et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a highcalorie diet. *Nature* 2006; 444: 337-342.
52. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell* 2006; 127: 1109-1122.
53. Yar AS, Menevse S, Alp E. The effects of resveratrol on cyclooxygenase-1 and -2, nuclear factor kappa beta, matrix metalloproteinase-9, and sirtuin 1 mRNA expression in hearts of streptozotocin-induced diabetic rats. *Genet Mol Res* 2011; 10: 2962-2975.