

# ENDOTOKSEMİ MODELİNDE TAURİNİN BEYİN DOKUSU ENERJİ DURUMU VE MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİNE ETKİSİ

## Effect of Taurine on Brain Energy Status and Malondialdehyde Levels in Endotoxemia Model

Gonca OZAN<sup>1</sup>, Nurten TÜRKÖZKAN<sup>2</sup>, Filiz Sezen BİRCAN<sup>3</sup>, Barbaros BALABANLI<sup>3</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Taurin pek çok memeli dokusunda ve plazmasında milimolar konsantrasyonlarda bulunan, kükürt içeren bir  $\beta$ -amino asittir. Çok sayıda in vivo ve in vitro çalışmada hücre koruyucu etkilere sahip olduğu gösterilmiş ve bu etkileri genellikle antioksidan rolüne bağlanmıştır. Bu çalışmada, endotoksemi oluşturulan kobayların beyin dokularında, taurinin enerji metabolizması ve lipit peroksidasyonu üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** 40 adet yetişkin erkek kobay; kontrol, taurin, endotoksemi ve endotoksemi+taurine olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır (n=10). Endotoksemi modeli tek doz 4 mg/kg intraperitoneal lipopolisakkarit (LPS) enjeksiyonu ile gerçekleştirilmiş, taurin gruplarına eş zamanlı olarak tek doz 300 mg/kg ip taurin uygulanmıştır. Uygulamadan 6 saat sonra, hayvanlar anestezi altında feda edilerek beyin dokuları alınmıştır. Doku ATP, ADP, malondialdehit (MDA) ve taurin düzeyleri yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile analiz edilmiştir.

**Bulgular:** Beyin dokusu ATP/ADP oranı hem endotoksemi hem de endotoksemi+taurine gruplarında, kontrol ve taurin grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, tüm grupların MDA seviyeleri yüksek bulunmuş olup, bunlardan taurin grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Endotoksemi grubunun taurin düzeylerinin ise, kontrol grubu ile kıyaslandığında belirgin bir azalma gösterdiği tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Endotoksemisinin beyin dokusu ATP/ADP oranı ve taurin düzeylerinde önemli bir azalmaya neden olduğu bulunmuştur. Taurin uygulaması ise herhangi bir antioksidan etki göstermemekle birlikte, beklenen aksine bu dozda nöronal hasara katkı sağlamıştır. Bu verilere göre, beyin dokusunun korunması için taurinin daha düşük dozda uygulanması yararlı olabilir ya da taurin uygulaması tüm dozlarda nörotoksik etki gösteriyor olabilir.

**Anahtar Sözcükler:** Endotoksemi; Malondialdehit; Taurine; Beyin

### ABSTRACT

**Objectives:** Taurine is a sulfur-containing  $\beta$ -amino acid that is found in milimolar concentrations in most mammalian tissues and plasma. It was shown to have cytoprotective effects in many in vitro and in vivo studies and these actions are often attributed to an antioxidant mechanism. The aim of the present study was to determine the effects of taurine on brain energy metabolism and lipid peroxidation under conditions of experimental endotoxemia.

**Material and Methods:** Forty adult male guinea pigs were divided into four groups: control, taurine, endotoxemia, and endotoxemia plus taurine. Taurine (300 mg/kg), lipopolysaccharide (LPS, 4 mg/kg), or taurine plus LPS was administered intraperitoneally. After 6 h of incubation, the animals were killed and brain tissue samples were collected. Tissue ATP, ADP, taurine and malondialdehyde (MDA) levels were measured using high performance liquid chromatography methods.

**Results:** The ATP/ADP ratio decreased in endotoxemia and endotoxemia+taurine group significantly. MDA levels increased in all groups compared to control group. Also taurine group MDA levels were significantly increased in compared to control group. In endotoxemia group, LPS administration significantly decreased taurine levels compare to control group.

**Conclusion:** Endotoxemia decreased brain tissue ATP/ADP ratio and taurine levels. Taurine did not exhibit any antioxidant effect; moreover, it may contribute to neuronal damage at this dose. Thus, we can suggest that lower dose of taurine administration may be beneficial for neuronal protection or adversely taurine administration may have neurotoxic effect at all doses.

**Keywords:** Endotoxemia; Malondialdehyde; Taurine; Brain

<sup>1</sup>Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

<sup>3</sup>Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Gonca OZAN Yrd. Doç. Dr.  
Nurten TÜRKÖZKAN Prof. Dr. ,  
Filiz Sezen BİRCAN, Dr.  
Barbaros BALABANLI, Doç. Dr.

### İletişim:

Dr. Filiz Sezen BİRCAN  
Adres: Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi,  
Biyoloji AD, Teknikokullar, Ankara  
Tel: 0312 2021217  
e-mail:  
fsbircan@yahoo.com

Geliş tarihi/Received: 21.04.2017  
Kabul tarihi/Accepted: 15.09.2017

Bozok Tıp Derg 2018;8(1):11-7  
Bozok Med J 2018;8(1):11-7

## Giriş

Endotoksemi (Sepsis), enfeksiyona karşı gelişen sistemik inflamatuvar yanıt sendromu olup, dünya genelinde yüksek insidansa ve mortalite oranlarına sahiptir ve henüz etkili bir tedavi şekli bulunamamıştır (1). Gram(-) bakteri endotoksinlerinin temel bileşeni olan lipopolisakkaritin (LPS), endotoksemide çoklu organ hasarına sebep olan önemli etkenlerden biri olduğu bilinmektedir. LPS'nin sebep olduğu organ hasarları genellikle reaktif oksijen ve azot türevlerinin (RONS) oluşumu ile ilişkilendirilir. LPS etkisi ile oluşan bu reaktif türler, biyolojik makromoleküllerle reaksiyona girip, lipid peroksidasyonuna, DNA mutasyonlarına yol açıp, proteinleri inaktive edebilirler (1,2). Merkezi sinir sistemi (MSS), LPS ve LPS aracılığıyla oluşan oksidatif stresten en çok etkilenen yapılardan biridir. Beyin dokusu fazla oksijen kullanımı, yüksek düzeyde metal içeriği ve antioksidan savunma mekanizmalarının zayıf olması dolayısıyla oksidan strese karşı son derece duyarlıdır. Ayrıca, nöron membranları kolaylıkla okside olabilen doymamış yağ asitleri açısından da zengindir (2,3). LPS'nin deneysel olarak sistemik kullanımı MSS'nin oksidatif dengesini değiştirmekte, çok sayıda farklı serbest radikal üretimini tetikleyerek, bu dokuda fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır (4-6).

Taurin (2-aminoetansülfonik asit), metiyonin ve sistein metabolizmasından türevlenen, 125 kDa molekül ağırlığında, kükürt içeren bir  $\beta$ -amino asittir. Diğer amino asitlerden farklı olarak karboksil grubu (-COOH) yerine bir sülfonik asit grubuna (-SO<sub>3</sub>H) sahiptir. Protein sentezinde kullanılmaz, bunun yerine hücrelerde serbest olarak bulunur ya da bazı basit peptitlerin yapısına katılmaktadır (7). Taurin pek çok hayvansal dokuda mevcut olup, MSS'de başta serebral korteks ve serebellum olmak üzere tüm nöronal ve astroglial hücrelerde yoğun konsantrasyonlarda bulunmaktadır (8). MSS'de bulunan taurinin hipoksi, hipoglisemi, iskemi ve oksidatif stres gibi nöronal harabiyete neden olabilecek durumlarda osmoregülatör/nöromodülatör rol oynadığı, kalsiyum dengesini sağlayarak nöronal dokuları oksidanlara karşı koruyucu bir rol üstlendiği bilinmektedir (9,10). Ayrıca, taurinin, nöronların yapısal gelişimi ve fonksiyonlarının sürdürülebilmesi için gerekli temel süreçlerden biri olan enerji homeostazını düzenlediği, kalsiyum düzenleyici etkisi yoluyla

mitokondri fonksiyonlarını geliştirdiği gösterilmiştir (11).

Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda, LPS aracılığıyla endotoksemi oluşturulan kobayların beyin dokularında LPS'nin enerji metabolizması ve membran lipidleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi; akut taurin uygulamasının muhtemel koruyucu rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### Kimyasallar

LPS (0111:B4 from Escherischia coli) ve taurin ( $\geq 99\%$ ) Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ABD)'ten alınmıştır. Deneylerde kullanılan diğer tüm kimyasallar (aksi belirtilmedikçe) Sigma-Aldrich veya Merck'ten (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir.

### Hayvanlar ve Çalışma Planı

Çalışmada, GATA Araştırma ve Geliştirme Merkezi-Deney Hayvanları kısmından temin edilen 500-600 g ağırlığında, toplam 40 adet yetişkin erkek Dunkin Hartley kobay (guinea pig) kullanılmış olup, çalışma için GATA Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan onay alınmıştır (Karar No: 04/74). Hayvanlar çalışma süresince standart sıçan yemi ile beslenmiştir. İçme suyu olarak tüm gruplara çeşme suyu verilmiş, hayvanların su ve yem tüketimine kısıtlama getirilmemiştir.

Hayvanlar her grupta 10 adet olacak şekilde kontrol, taurin, endotoksemi ve endotoksemi+taurin olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır (n=10). Kontrol grubu hayvanlara intaraperitoneal (ip) olarak tek doz serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır. Taurin grubu hayvanlara serum fizyolojik içinde hazırlanmış tek doz 300 mg/kg taurin ip olarak uygulanırken, endotoksemi modeli yine serum fizyolojikle hazırlanan tek doz 4 mg/kg ip LPS ile oluşturulmuştur (12). Endotoksemi+taurin grubundaki hayvanlara ise eş zamanlı olarak belirtilen dozlarda taurin ve LPS uygulanmıştır. Uygulamadan 6 saat sonra, endotoksin ve taurin düzeyleri kandaki en yüksek düzeylerine ulaştığında, hayvanlar ketamin (60 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) anestezisi altında feda edilerek beyin dokuları alınmış, analizlere kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Taurin dozunun belirlenmesinde, daha önce anlamlı antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin görüldüğü endotoksemi çalışmaları dikkate alınmıştır (13).

#### Dokularda MDA Tayini

Dokulardaki MDA düzeyleri Türközkan ve ark.'nın yöntemine göre HPLC ile tayin edildi (14). 0.2 g total beyin dokusu, 1.8 ml %1.15'lik KCl içinde homojenize edildi. Proteinlere bağlı MDA'nın alkali hidrolizi için süpernatana 200 µl 6M NaOH eklendi ve numuneler 60°C'de 45 dk inkübasyona bırakıldı. Ardından, 1 ml numuneye eşit miktarda asetonitril ilave edilip, 12.000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. 250 µl süpernatana derivatizasyon amacıyla 25 µl DNPH ilave edilip, 10 dk karanlıkta inkübe edildikten sonra hemen HPLC sistemine verildi. Analizde ODS C18 analitik kolon (125x4 mm) ve asetonitril/distile su/asetik asit (38:62:0.2, v/v/v)'ten oluşan mobil faz kullanıldı. UV dedektör 310 nm, akış hızı ise 1 ml/dk olarak ayarlandı. Dokuların MDA konsantrasyonlarının hesaplanmasında 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 nmol/ml'lik standartlardan çizilen eğri kullanıldı ve sonuçlar nmol/g doku olarak verildi.

#### Dokularda Taurin Tayini

Dokulardaki taurin düzeyleri McMahan ve Nusetti'nin yöntemlerine göre HPLC ile tayin edildi (15,16). 0.1 g total beyin dokusu 0.1 N perklorik asitle homojenize edildikten sonra 6.000 g'de 10 dk +4°C'de santrifüj edildi. Ardından, 10 µl süpernatana asetonitril ilave edilerek 3.500 g'de 10 dk tekrar santrifüj edildi. Süpernatana 50 µl 10 mM borat tamponu (pH 9.2) ve eşit hacimde 5 mM 'fluorescamine' eklendikten sonra hemen HPLC sistemine verildi. Analizde bondclone C18 analitik kolon (300x3.9 mm) ve tetrahidrofuran/asetonitril/fosfat tamponu (15 mM, pH 3.5) (4:24:72, v/v/v)'ndan oluşan mobil faz kullanıldı. UV dedektör 385 nm, akış hızı ise 1 ml/dk olarak ayarlandı. Dokuların taurin konsantrasyonlarının hesaplanmasında 2.5, 5, 10, 20 µg/ml'lik standartlardan çizilen eğri kullanıldı ve sonuçlar µg/g doku olarak verildi.

#### Dokularda ATP ve ADP Tayini

Dokulardaki ATP ve ADP düzeyleri Szabo ve ark.'nın yöntemine göre HPLC ile tayin edildi (17). 0.15 g total beyin dokusu, 1.5 ml buz gibi soğuk 0.6 N perklorik asit

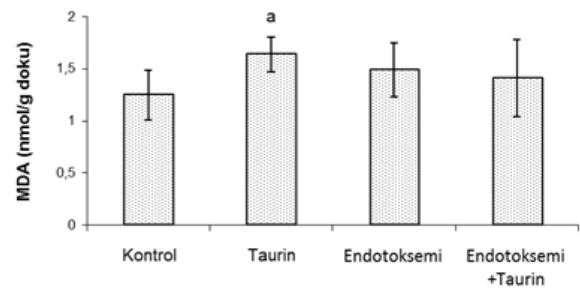
ile homojenize edildikten sonra, 1 saat buz üzerinde inkübasyona bırakıldı. 1 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ile nötralizasyonu takiben, 10.000 g'de 10 dk +4°C'de santrifüj edildi ve süpernatana filtre edildikten sonra HPLC sistemine verildi. Analizde Allosphere ODS-2, C18 analitik kolon (4.6x250 mm) ve 160 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 100 mM KCl (pH 6.5)'den oluşan mobil faz kullanıldı. UV dedektör 254 nm, akış hızı ise 1 ml/dk olarak ayarlandı. Dokuların ATP ve ADP konsantrasyonlarının hesaplanmasında 2.5, 5, 10, 50, 100 µmol/L'lik standartlardan çizilen eğri kullanıldı ve sonuçlar ATP/ADP oranı olarak verildi.

#### İstatistiksel Değerlendirme

Bulguların değerlendirilmesinde One Way ANOVA testi kullanılmıştır. Tüm değerler aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiş ve p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

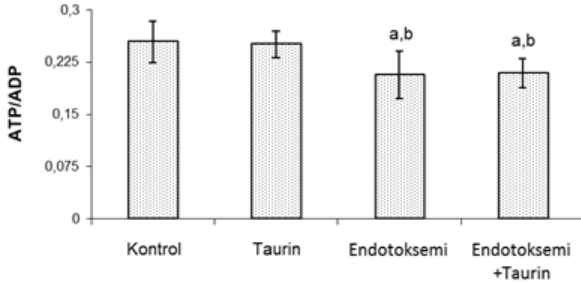
#### BULGULAR

Dokulardaki MDA düzeyleri Şekil 1'de verilmiştir. Endotoksemi grubunun MDA düzeyi, kontrol grubuna göre artış göstermekle birlikte, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yine kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, taurin grubunun MDA seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği tespit edilmiştir (p<0.05).



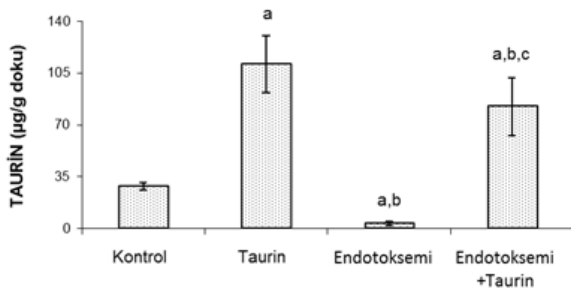
Şekil 1. Beyin dokusu MDA düzeyleri a p<0.05 kontrol grubuyla karşılaştırıldığında

Dokulardaki ATP/ADP oranları değerlendirildiğinde, hem endotoksemi hem de endotoksemi+taurin gruplarındaki ATP/ADP oranının, kontrol ve taurin gruplarına kıyasla belirgin bir şekilde azaldığı gözlenmiştir ( $p<0.05$ , Şekil 2).



**Şekil 2.** Beyin dokusu ATP/ADP oranları  
a  $p<0.05$  kontrol grubuyla karşılaştırıldığında  
b  $p<0.05$  taurin grubuyla karşılaştırıldığında

Dokulardaki taurin konsantrasyonları tüm gruplarda istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmuştur (Şekil 3). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, endotoksin uygulamasının dokulardaki taurin konsantrasyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşürdüğü, taurin uygulamasının ise arttırdığı gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). En yüksek taurin konsantrasyonu ise, taurin grubunda tespit edilmiştir ( $111.1\pm 19.47$   $\mu\text{g/g}$  doku).



**Şekil 3.** Beyin dokusu taurin düzeyleri  
a  $p<0.05$  kontrol grubuyla karşılaştırıldığında  
b  $p<0.05$  taurin grubuyla karşılaştırıldığında  
c  $p<0.05$  endotoksemi grubuyla karşılaştırıldığında

## TARTIŞMA

Beyin dokusu, yüksek konsantrasyonda oksijen tüketimi ve güçlü bir antioksidan sisteme sahip olmayışı nedeni ile RONS etkilerine karşı çok duyarlıdır (3). Uzun yıllar beyin dokusunun, dolaşımdaki LPS'ye karşı kan-beyin bariyeri tarafından korunduğu kabul edilmiş olmakla birlikte, daha sonra yapılan çalışmalarda, kan-beyin bariyerinde LPS için özel reseptörlerin bulunduğu gösterilmiştir. LPS'nin bu reseptör kompleksine bağlanarak nöronlarda inflamatuvar sitokinlerin, adezyon moleküllerinin, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS)'ın ve diğer genlerin ekspresyonunu artırıp, oksidatif hasara katkıda bulunduğu bilinmektedir (18,19). Beyinde LPS-aracılıklı inflamasyon reaksiyonları sırasında NO oluşumu merkezi bir rol oynamaktadır. iNOS indüksiyonu beyin birçok bölgesinde görülmekte ve nöronların ve glial hücrelerin ölümüne neden olmaktadır (20). Beyinde LPS-aracılıklı serbest radikal oluşum mekanizmalarından diğeri de fizyolojik etkileri sırasında serbest radikal oluşturan glutamat ve aspartat gibi eksitator amino asitlerin salınımının artması şeklinde açıklanmaktadır. Diğer bir mekanizma da LPS-aracılıklı mitokondriyal kalsiyum mobilizasyonu oluşması ve bunun da araşidonik asit yıkımını hızlandırarak serbest radikal üretimine katkıda bulunmasıdır (3,5).

Daha önce yapılan çalışmalarda, inflamasyon kaynaklı hastalıklarda, deneysel olarak oluşturulan inflamasyon modellerinde veya endotoksin verilmesini takiben, beyin hücrelerinin doymamış yağ asitlerinden zengin olmasına bağlı olarak, beyin lipid peroksidasyonuna sıkça maruz kaldığı gözlenmiştir (21,22). Bu çalışmada, LPS uygulamasını takiben beyin dokusunda lipid peroksidasyon ürünü olan MDA miktarının artış gösterdiği bulunmuştur, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bizim verilerimizden farklı olarak, endotoksin verilmesinin beyin dokusundaki MDA düzeylerini anlamlı derecede arttırdığını gösteren çalışmalar bulunmakla birlikte (23,24), sonucumuzla uyumlu yayınlar da bulunmaktadır. Sani ve ark., inflamasyon şartlarında beyin dokusu MDA seviyesinin fazla artmadığını, bunun da beyinde yüksek miktarlarda bulunan çinko ve melatonin gibi antioksidanların etkisiyle sağlandığını ifade etmişlerdir (25).

Beyin fonksiyonları ATP'ye oldukça bağımlıdır ve

bu hücrel enerji büyük bir kısmı iç mitokondri membranında yer alan çeşitli solunum enzim komplekslerinin gerçekleştirdiği oksidatif fosforilasyon yoluyla sağlanır (26). Endotokseminin beyin mitokondriyelerinde yapısal ve fonksiyonel hasarlara neden olduğu bilinmektedir. Bu durum bozulmuş oksidatif fosforilasyona, sonuçta ATP üretiminin sınırlanmasına ve ATP depolarının hızla tüketilmesine yol açmaktadır (5). Çalışmamızda LPS uygulaması, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında beyin dokusu ATP/ADP oranını istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaltmıştır. Bu sonucumuzla uyumlu olarak Kheir-Eldin ve ark. ip tek doz 2 mg/kg LPS uygulamasının beyin dokusunda ATP düzeylerini azaltırken, ADP düzeylerini arttırdığını ve enerji dengesinde bozulmaya neden olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar, ATP düzeylerindeki bu azalmanın LPS uygulamasıyla oluşan oksidatif stresin mitokondri membran fonksiyonlarını değiştirmesine ve/veya oksidatif fosforilasyonu inhibe etmiş olmasına bağlamışlardır (5).

Diğer taraftan, çalışmamızda, beyinde glutamattan sonra en bol bulunan amino asit olan taurini tek başına ve endotoksin ile birlikte deney hayvanlarına ip tek doz olarak uyguladık ve endotoksin-aracılıklı oluşan oksidatif strese taurinin olası antioksidan rolünü araştırmayı amaçladık. Taurinin beyinde osmoregülatör, glutamatin oluşturduğu toksisiteye karşı önemli bir nöron koruyucu ve oksidatif strese karşı antioksidan rolleri olduğu bilinmektedir. Taurin, beyne kan-beyin bariyerindeki Na<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup>-bağımlı bir taşıma sistemi aracılığıyla (aktif taşıma ile) geçmektedir. Birçok çalışma hipoksi, iskemi gibi oksidatif stresi artırarak hücre harabiyetine neden olan durumlarda hipokampüsten taurin salındığını göstermektedir (27). Taurin ayrıca, hipokampüsteki glial hücrelerden osmolaritedeki değişimlere karşı da salınmaktadır. Bütün bu koruyucu amaçlı mekanizmalar beyinde fizyolojik olarak son derece önemlidir (28).

Bu çalışmada, tek başına taurin uyguladıktan sonra MDA miktarının, endotoksin uygulanan grubun değerlerine göre daha çok arttığını tespit ettik. Ayrıca, endotoksemi+taurin grubunda ise, MDA düzeylerinin gruplar arasındaki en yüksek düzeye ulaştığını saptadık. Bu bulgularımız, taurinin bilinen antioksidan ve nöron

koruyucu özelliklerine tamamen ters düşmektedir. Bununla birlikte, Garcia Dopico ve ark. çalışmalarında bizim bulgularımızı destekler sonuçlar elde etmişlerdir. Bu çalışmada, substantia nigra ve beyin diğer bölgelerinde taurin ve glutamat arasında yakın bir ilişkinin olduğunu, taurin uygulanmasının glutamatın hücre dışı konsantrasyonunu bazal seviyenin %150'sine kadar arttırabileceğini belirtmişlerdir. Ve taurinin bu etkisinin membran fosfolipitleri üzerinde olduğu ve substantia nigra taurin reseptörlerinin olmadığı, bu fonksiyonunu glisin reseptörleri aracılığıyla yaptığı bildirilmiştir (29). Buna dayanarak çalışmamızda taurinin MDA seviyelerinde yaptığı artış, taurin etkisiyle artan glutamatın toksik etkisine bağlanabilir. Ayrıca çalışmamızda, endotoksin ile birlikte taurin uyguladıktan sonra ölçülen parametrelerin miktarının daha da arttığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar da hem endotoksin hem de taurinin etkisiyle salınan glutamatın, serbest oksijen ve azot radikallerini artırmasıyla yakından ilişkili olabilir.

Daha önceki çok sayıda çalışmada, taurinin ATP sentezinden sorumlu olan elektron taşıma zincirinin fonksiyonlarını geliştirdiği, (30) mitokondriyal proteinlerin ekspresyon ve translasyonlarının doğru şekilde gerçekleşmesinde önemli rol oynadığı (31), mitokondriyal Ca<sup>++</sup> homeostazını sağladığı ve mitokondriyelerdeki anti-oksidatif enzim aktivitelerini uyararak oksidatif stresi azalttığı (32) gösterilmiştir. Taurinin mitokondri koruyucu bu fonksiyonları, beyin gibi oksidatif strese ve enerji krizine karşı duyarlı olan bir organ için son derece önemlidir. Bu nedenle, beyin dokusundaki taurin düzeyleri diğer organlarla kıyaslandığında oldukça fazladır (32,33). Çalışmamızda bu doğrultuda, LPS enjeksiyonundan önce tek doz taurin uygulamasının beyin dokusundaki enerji düzeyi üzerinde etkisi olup olmadığı incelendi. Ancak, taurin LPS'nin neden olduğu azalmış ATP/ADP oranının düzenlenmesi konusunda etkili bulunmamıştır. Bu konuda yine çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Xu ve ark. kortikal nöronlarla yaptıkları çalışmalarında taurin uygulamasının hücrelerdeki mitokondriyal DNA içeriğini ve ATP üretimini arttırdığını, mitokondriyal membran potansiyelini düzenlediğini göstermişlerdir (32). Buna karşılık, Panatto ve ark. ise wistar sıçanlarda beyin serebellum, serebral korteks ve hipokampus

bölgelerinde, elektron taşıma zincirinin bileşenleri olan kompleks 1 ve IV'te oluşturulan kimyasal indüklü hasara karşı, 50 mg/kg taurin uygulamasının koruyucu herhangi bir etkisinin gözlenmediğini belirtmişlerdir (26). Bu durum, taurinin mitokondri fonksiyonları ve enerji düzeyleri üzerindeki etkisinin doz bağımlı olduğunu, beynin spesifik bölgelerine göre değişiklik gösterebileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızın son bölümünde, taurinin bütün gruplarda hücre içi konsantrasyonu HPLC ile ölçülmüştür. Taurinin biyolojik etkilerinin, hücre içi konsantrasyonuna bağlı olduğu bilinmektedir (34). Biz tek başına taurin uygulanan grupta, kontrol grubuna kıyasla beyin taurin miktarının anlamlı derecede arttığını bulduk. Taurin hücre içinde hücre dışına göre 600'e 1 gibi çok büyük oranda bulunmaktadır. Organizmadaki taurin havuzu taurinin diyetle alınımı, de novo sentezi ve böbreklerden reabsorbsiyonu gibi başlıca üç yolla oluşturulmaktadır. Beyinde ise, hücre içi yüksek taurin konsantrasyonu de novo sentezinden ziyade, ekzojen kaynaklardan alınan taurin ile sağlanmaktadır (35). Farklı dozlarda ip taurin uygulanmasından sonra beyinde hücre içi taurin konsantrasyonunun arttığını gösteren çalışmalar bu durumu desteklemektedir (8). Lee ve ark. parenteral yolla uygulanan taurinin net taşınmasının kandan beyine doğru olduğunu ve kan-beyin bariyerinden aktif taşıma ile geçerek hücre içine girdiğini bildirmişlerdir (27). Bu sonuçlar, bizim taurin uyguladığımız gruptaki sonuçlarımızı desteklemektedir. Çalışmamızda endotoksin uyguladığımız grupta, taurin miktarının önemli derecede azaldığını tespit ettik. Bu bulgularımız, diğer araştırmaların sonuçlarına paralellik göstermektedir. Endotoksin verilmesini takiben, beyin hücrelerindeki antioksidan depolarının artan oksidatif strese bağlı olarak önemli derecede azaldığı bildirilmiştir (5). Egan ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise, serum taurin konsantrasyonunun sepsisli hastalarda oldukça azaldığı gösterilmiş olup, taurin düzeylerindeki bu azalma, taurinin endotokseminin kontrolünde önemli bir role sahip olmasına bağlanmıştır (13).

Sonuç olarak, endotoksinler beyin dokusunda biyomembranları ve enerji metabolizmasını etkileyerek nöronal harabiyete neden olabilirler. Çalışmada kullanılan taurin dozunun LPS-aracılıklı

lipit hasarı ve enerji metabolizması üzerindeki olumsuz etkilerine karşılık herhangi bir koruyucu etkisi bulunamamıştır. Hatta beklenenin aksine, LPS-aracılıklı nöronal harabiyete katkıda bulunduğu gözlenmiştir. Bu durum, taurinin daha düşük dozlarda kullanılması gerektiğini veya beyindeki endojen taurin miktarının nöronal koruma için yeterli olabileceğini ve ekzojen uygulanan her taurin dozunun nörotoksik etki yapabileceğini düşündürmektedir. Bu mekanizmaların aydınlatılabilmesi için, taurin dozu ve süresi ile ilgili daha kapsamlı çalışmaların yapılması uygun olacaktır.

#### KAYNAKLAR

1. Khodir AE, Ghoneim HA, Rahim MA, Suddek GM. Montelukast attenuates lipopolysaccharide-induced cardiac injury in rats. *Hum Exp Toxicol* 2016;35(4):388-397.
2. Cemeli E, Smith IF, Peers C, et al. Oxygen-induced DNA damage in freshly isolated brain cells compared with cultured astrocytes in the Comet assay. *Teratog Carcinog Mutagen* 2003;2:43-52.
3. Facheris M, Bretta S, Ferrarese C. Peripheral markers of oxidative stress and excitotoxicity in neurodegenerative disorders: Tools for diagnosis and therapy. *J Alzheimer's Dis* 2004;6(2):177-184.
4. Nolan Y, Vereker E, Lynch Ailen M, Lynch Marina A. Evidence that lipopolysaccharide-induced cell death is mediated by accumulation of reactive oxygen species and activation of p38 in rat cortex and hippocampus. *Exp Neurol* 2003;184(2):794-804.
5. Kheir-Eldin AA, Motawi TK. Protective effect of vit E,  $\beta$ -carotene and N-acetylcysteine from brain oxidative stress induced in rats by LPS. *Int J Biochem* 2001;33(5):475-482.
6. Qin L, Wu X, Block ML, et al. Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Glia* 2007;55(5):453-462.
7. Lourenco R, Camilo ME. Taurine: A conditionally essential amino acid in humans?. *Nutr Hosp* 2002;17(6):262-270.
8. Lallemand F, Witte PD. Taurine concentration in the brain and in the plasma following intraperitoneal injection. *Amino Acids* 2004;26(2):111-116.
9. Saransaari P, Oja SS. Taurine and neural cell damage. *Amino Acids* 2000;19(3-4):509-526.
10. Schuller-Levis GB, Park E. Taurine and its chloramine: Modulators of immunity. *Neurochem Res* 2004;29(1):117-126.
11. El Idrissi A, Trenkner E. Taurine regulates mitochondrial calcium homeostasis. *Adv Exp Med Biol* 2003;526:527-536.
12. Duffy AJ, Nolan B, Sheth K, Collette H, De M, Bankey PE. Inhibition of alveolar neutrophil immigration in endotoxemia is macrophage in inflammatory protein 2 independent. *J Surg Res* 2000;90(1):51-57.
13. Egan BM, Abdih H, Kelly CJ, Condrion C, Bouchier-Hayes DJ. Effect of intravenous taurine on endotoxin-induced acute lung injury in sheep. *Eur J Surg* 2001;167(8):575-580.
14. Türközkan N, Seven I, Erdamar H, Çimen B. Effect of vitamin A pretreatment on Escherichia coli-induced lipid peroxidation and

level of 3-nitrotyrosine in kidney of guinea pig. *Mol Cell Biochem* 2005;278(1-2):33-37.

15. McMahon GP, Kennedy R, Kelly MT. High performance liquid chromatographic determination of taurine in human plasma using extraction and derivatization. *J Pharm Biomed Anal* 1996;14(8-10):1287-1294.

16. Nusetti S, Obregon F, Quintal M, Benzo Z, Lima L. Taurine and zinc modulate outgrowth from goldfish retinal explants. *Neurochem Res* 2005;30(12):1483-1492.

17. Szabo C, Saunders C, O'Connor M, Salzman AL. Peroxynitrite causes energy depletion and increases permeability via activation of poly (ADP-ribose) synthetase in pulmonary epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;16(2):105-109.

18. Phares TW, Fabis MJ, Brimer CM, Kean RB, Hooper DC. A peroxynitrite-dependent pathway is responsible for blood-brain barrier permeability changes during a central nervous system inflammatory response: TNF-alpha is neither necessary nor sufficient. *J Immunol* 2007;178(11):7334-7343.

19. Czapski GA, Cakala M, Chalimoniuk M, Gajkowska B, Strosznajder B. Role of nitric oxide in the brain during lipopolysaccharide-evoked systemic inflammation. *J Neurosci Res* 2007;85(8):1694-1703.

20. Anaeigoudari A, Soukhtanloo M, Reisi P, Beheshti F, Hosseini M. Inducible nitric oxide inhibitor aminoguanidine, ameliorates deleterious effects of lipopolysaccharide on memory and long term potentiation in rat. *Life Sci* 2016;158:22-30.

21. Casado A, Encarnacion Lopez-Fernandez M, Concepcion Casado M, de La Torre R. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in vascular and Alzheimer dementias. *Neurochem Res* 2007;33(3):450-458.

22. Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci P. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radic Biol Med* 2005;39(7):841-852.

23. Anaeigoudari A, Shafei MN, Soukhtanloo M, et al. Lipopolysaccharide-induced memory impairment in rats is preventable using 7-nitroindazole. *Arq Neuropsiquiatr* 2015;273(9):784-790.

24. Ahmad MP, Hussain A, Siddiqui HH, Wahab S, Adak M. Effect of methanolic extract of *Asparagus racemosus* Willd. on lipopolysaccharide induced-oxidative stress in rats. *Pak J Pharm Sci* 2015;28(2):509-513.

25. Sani M, Sebai H, Gadacha W, Boughattas NA, Reinberg A, Ben Attia M. Catalase activity and rhythmic patterns in mouse brain, kidney and liver. *Comp Biochem Physiol* 2006;145(3-4):331-337.

26. Panatto JP, Jeremias IC, Ferreira GK, et al. Inhibition of mitochondrial respiratory chain in the brain of rats after hepatic failure induced by acetaminophen. *Mol Cell Biochem* 2011;350(1-2):149-154.

27. Lee NY, Kang YS. The brain-to-blood efflux transport of taurine and changes in the blood-brain barrier transport system by tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Brain Res* 2004;1023(1):141-147.

28. Martinez RAE, Vargas RBC, Rodriguez AIC, Perez BGA, Arancibia RS. Antioxidant effects of taurine, vitamin C, and vitamin E on oxidative damage in hippocampus caused by the administration of 3-nitropropionic acid in rats. *J Neurosci* 2007;114(9):1133-1145.

29. Garcia Dopico J, Diaz JP, Alonso TJ, Hernandez TG, Fuentes RC, Diaz MG. Extracellular taurine in the substantia nigra: Taurine-glutamate interaction. *J Neurosci Res* 2004;76(4):528-538.

30. Lu CL, Tang S, Meng ZJ, et al. Taurine improves the spatial learning and memory ability impaired by sub-chronic manganese exposure. *J Biomed Sci* 2014;21:51.

31. Prentice H, Modi JP, Wu J. Mechanisms of neuronal protection against excitotoxicity, endoplasmic reticulum stress, and mitochondrial dysfunction in stroke and neurodegenerative diseases. *Oxid Med Cell Longev* 2015;2015:964518.

32. Xu S, He M, Zhong M, et al. The neuroprotective effects of taurine against nickel by reducing oxidative stress and maintaining mitochondrial function in cortical neurons. *Neurosci Lett* 2015;590:52-57.

33. Schaffer SW, Ramila KC, Jong CJ, et al. Does taurine prolong lifespan by improving heart function?. *Adv Exp Med Biol* 2015;803:555-570.

34. Tappaz ML. Taurine biosynthetic enzymes and taurine transporter: Molecular identification and regulation. *Neurochem Res* 2004;29(1):83-96.

35. Kang YS. Taurine transport mechanism through the blood-brain barrier in spontaneously hypertensive rats. *Biomed Life Sci* 2006;483:321-324.