

TAURİN TEDAVİSİNİN DENEYSSEL MİYOZİT OLUŞTURULMUŞ RATLAR ÜZERİNDEKİ YARARLI ETKİLERİ

Beneficial Effects of Taurine Treatment on Experimental Myositis-induced Rats

Nadide TORLAK KOCA¹  Tuğba ÖZÜDOĞRU ÇELİK² 

¹ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Kliniği, ANKARA, TÜRKİYE

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Bilkent Şehir Hastanesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Bölümü, ANKARA, TÜRKİYE

ÖZ

ABSTRACT

Amaç: Taurin iskelet kasında bol miktarda bulunan bir amino asittir. Hücre zarının korunması, anti-inflamatuar ve anti-apoptotik etkiler dahil olmak üzere sitoprotektif özelliklere sahiptir. Bildiğimiz kadarıyla, bu çalışma, taurinin asetik asit ile deneysel olarak oluşturulan miyozitteki kas hasarı ve inflamasyonu azaltmadaki faydalı etkilerini araştırmak amacıyla ilk kez yapılmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya 20 haftalık 24 adet Wistar albino türü sıçan dahil edildi. Sıçanlar kontrol grubu (n=8), %1 asetik asit (miyozit) grubu (n=8) ve miyozit + taurin 500 mg/kg/gün grubu (n=8) olmak üzere üç gruba ayrıldı. Miyozit indüksiyonu için %1 asetik asit kullanıldı. Taurin tedavisi 15 gün süreyle yapıldı ve ratlar sakrifiye edildi. Gastrocnemius kası histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Bulgular: Gruplar arasında konjesyon, dejenerasyon, nekroz, inflamasyon ve dezorganizasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p<0.01). Kaspaz3'te de istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. Bu fark histopatolojik karşılaştırmadaki sonuçlara benzer şekilde asetik asit ve taurin grupları arasında p<0.01 idi.

Sonuç: Taurinin anti-inflamatuar ve antioksidan özellikleri, kas hasarının ve inflamasyonun hafifletilmesine önemli katkılarda bulunabilir. Bu çalışmada, asetik asit ile miyozit oluşturulan sıçanlarda yapılan taurin tedavisinin, kas hasarının ve inflamasyonun belirgin bir şekilde azaldığını ve apoptozun baskılandığını gözlemledik. Bu sonuçlar, Taurinin inflamatuvar kas hasarını azaltma konusundaki potansiyel faydalı etkilerini desteklemektedir.

Objective: Taurine is an amino acid abundantly present in skeletal muscle, and it possesses cytoprotective properties, including the preservation of cell membrane integrity, anti-inflammatory, and anti-apoptotic effects. To the best of our knowledge, this study was conducted for the first time to investigate the potential beneficial effects of taurine in reducing muscle damage and inflammation in experimentally induced myositis using acetic acid.

Material and Methods: The study included 24 Wistar albino rats aged 20 weeks. The rats were divided into three groups: a control group (n=8), an acetic acid (myositis) group (n=8), and a myositis + taurine 500 mg/kg/day group (n=8). Acetic acid at a concentration of 1% was used for myositis induction. Taurine treatment was administered for 15 days, after which the rats were sacrificed. The gastrocnemius muscle was evaluated histopathologically and immunohistochemically, and the results were compared statistically.

Results: Significant differences were observed between the groups in terms of congestion, degeneration, necrosis, inflammation, and disorganization (p<0.01). There was also a statistically significant difference in caspase-3 levels. This difference was consistent with the histopathological findings, with p<0.01 between the acetic acid and taurine groups.

Conclusion: Taurines anti-inflammatory and antioxidant properties may significantly contribute to mitigating muscle damage and inflammation. In this study, we observed a marked reduction in muscle damage and inflammation, along with the suppression of apoptosis, in rats with myositis induced by acetic acid following taurine treatment. These findings support the potential beneficial effects of taurine in reducing inflammatory muscle damage.

Anahtar Kelimeler: Taurin, asetik asit, deneysel miyozit, apoptozis, kas hasarı

Keywords: Taurin, acetic acid, experimental myositis, apoptosis, muscle damage



Yazışma Adresi / Correspondence:
Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Kliniği,
ANKARA, TÜRKİYE
Tel / Phone: +905376843434
Geliş Tarihi / Received: 02.11.2023

Dr. Nadide TORLAK KOCA

E-posta / E-mail: nadide.koca@gmail.com
Kabul Tarihi / Accepted: 25.11.2023

GİRİŞ

Miyozit, kas dokusunda inflamasyon ve hasara neden olan iltihaplanma veya enfeksiyon gibi çeşitli faktörler sonucu kaslarda gelişebilen bir durumdur. Kas ağrısı, sertliği ve güçsüzlüğe neden olabilen bu durum, birçok etiyolojik faktörün etkisi altında gelişebilir. Miyozit genellikle otoimmün nedenlerden kaynaklanır ve kas güçsüzlüğü en belirgin belirtisidir (1-3). Bu hastalığın çeşitli tipleri ve nedenleri vardır. Juvenil miyozit, dermatomiyozit ve polimiyozit gibi otoimmün bozukluklar bu hastalık grubuna dahildir. Kas hasarı ve inflamasyon, insanların günlük yaşamlarını olumsuz yönde etkileyebilir ve aynı zamanda klinik koşulların bir sonucu olarak ortaya çıkabilir (1-4). Bu kompleks patolojinin anlaşılması ve potansiyel tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi için birçok araştırmacı deneysel modeller kullanmaktadır (4-6).

Deneysel miyozit, laboratuvar ortamında, kas hasarı ve inflamasyonun kontrollü bir şekilde oluşturulmasını sağlar. Bu miyozit modelleri, kas hastalıkları, inflamasyon mekanizmaları ve tedavi stratejileri hakkında daha fazla bilgi edinmek için kullanılabilir. İnsan hastalıklarının tamamına sahip olmayan bu modeller, inflamatuvar kas hastalığının patofizyolojik mekanizmaları hakkında fikir verebilirler (5,6).

İnsan miyoziti için kullanılan hayvan modelleri arasında spontan, indüklenmiş ve transgenik modeller bulunmaktadır (4-7). Ayrıca, kas dokusunda hasar ve inflamasyon oluşturmak için bir kimyasal madde kullanarak deneysel miyozit modeli oluşturulabilir. Örneğin kimyasal madde olarak asetik asit kullanılabilir. Asetik asit, kas hücrelerinin zarını tahrip eder ve hücre içi bileşenlerin dışarı sızmasına ve hücrelerin ölmesine neden olarak kas dokusunda inflamasyona yol açar. Bu durum, bağışıklık sisteminin zarar görmüş kas dokusunu algılamasına ve inflamatuvar yanıtı tetiklemesine neden olur. İmmün hücreler, kas dokusuna göç eder ve inflamasyonu artırır. Asetik asidin sebep olduğu hücrel hasar ve inflamasyon sonucunda kas dokusu da zarar görür (8,9).

Miyozit tedavisi, miyozitin etyopatogenezine ve şiddetine göre değişir. Bağışıklık sistemini baskılayan

ilaçlar, antiinflamatuvar ilaçlar, antibiyotikler ve miyozitin nedenine bağlı olarak, diğer ilaçlar da kullanılabilir (10,11). Örneğin, dermatomiyozit gibi otoimmün bir hastalıktan kaynaklanan miyozitte, immün sistemi baskılayan ilaçlar kullanılabilir. Miyozit tedavisinde kullanılan tedaviler; fizik tedavi, iş terapisi ve bazı durumlarda miyozitli kasların cerrahi olarak çıkarılması olabilir. Miyozit tedavisinde kullanılan ilaçlar ve tedaviler ile gösterebilen potansiyel ve yararlı etkiler; kas ağrısını ve iltihaplanmayı azaltmak, kas gücünü, hareketliliği ve yaşam kalitesini iyileştirmektir (10-12).

Taurin (2-aminoetansülfonik asit), vücuttaki en bol bulunan kükürt içeren serbest amino asitlerden biridir ve bir dizi biyolojik işlevi vardır. Hem vücut tarafından sentezlenebilir hem de diyet yoluyla alınabilir ve kas, beyin, karaciğer, retina, kardiyovasküler sistemi ve üreme sistemi gibi önemli organ ve sistemlerde çeşitli kilit roller üstlenir. Taurin, safra asidi konjugasyonundan, kalsiyum dengesinin korunmasına, osmoregülasyona ve hücrel membran stabilizasyonuna kadar pek çok temel biyolojik süreçte önemli bir işleve sahiptir (13-15). Taurin aynı zamanda hücrel gelişim ve düzenleme, hücrel hacmin kontrolü, stres tepkilerine karşı antioksidan savunma ve kalsiyum dengesinin sağlanması gibi bir dizi önemli hücrel süreçte de etkili bir rol oynar. Ayrıca, apoptozun zayıflaması ve antioksidan aktivitesi, taurinin sitoprotektif etkileri için çok önemli görünmektedir. Taurinin anti-inflamatuvar ve antioksidan özellikleri, kas hasarının ve inflamasyonun hafifletilmesine yardımcı olabileceğini düşündürmektedir (14-16).

Taurinin antioksidan özelliklere sahip olduğu ve oksidatif stresi azaltabileceği öne sürülmüştür. Bu nedenle, inflamatuvar hücreler gibi oksidanlara maruz kalan dokularda taurinin potansiyel olarak anti-inflamatuvar etkilere sahip olabileceği düşünülmektedir (16). Bu çalışmanın amacı, asetik asit ile miyozit oluşturulan sıçanlarda, kas hasarının iyileştirilmesine potansiyel katkıda bulunabilecek taurinin etkilerini histopatolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle incelemektir. Bu çalışma, taurinin miyozit tedavisindeki

yararlı etkilerini ilk kez deneysel bir modelde immunhistokimya ile araştırmaktadır ve bu çalışma aynı zamanda immunhistokimyanın bu bağlamdaki ilk uygulamasını sunmaktadır. Bu da yeni tedavi stratejileri geliştirme konusunda önemli bir adım olabilir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hüsnü Sakal Deneysel ve Klinik Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Deneysel protokoller için Yerel Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan 724/2023 protokol numarası ile onaylı etik izin belgesi alınmıştır. Deneyde kullanılan Wistar Albino ratlar, Saki Yenillli Tıbbi Deney Hayvanları Merkezi'nden (Ankara, Türkiye) temin edilmiştir. Ratların bakımı ve uygulamaları ulusal (Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Kılavuzu) ve uluslararası (Hayvanlar ile yapılan Biyotıp Araştırmalarında Uluslararası Rehber İlkeler) yasal düzenlemelere tam uygunluk göstermektedir.

Deney Tasarımı

Çalışmada kullanılan ratlar, daha önce herhangi bir deneyde yer almamışlardır. Araştırma öncesinde hayvanlar, laboratuvarın iklim kontrolü sağlanmış standart hayvan barındırma koşullarında, en az on dört gün süresince bu koşullara uyum sağlamaları için tutulmuşlardır. Ratların hepsi günlük periyodik aralıklarla bir veteriner hekim tarafından fiziksel olarak muayene edilmiştir. Her bir kafeste 2-3 hayvanın bulunduğu odalarda, 12 saatlik aydınlık (06:00 - 18:00) ve 12 saatlik karanlık döngüsüne tabi tutulmuşlardır. Bu odalarda, 20-23°C sıcaklık ve %65-70 nem seviyesini sağlayan standart laboratuvar koşulları oluşturulmuştur. Ratların beslenmesinde herhangi bir yem veya su kısıtlaması uygulanmamış ve standart pellet yem ile taze su, ad libitum (istedikleri kadar) prensibiyle sağlanmıştır.

Deneysel model olarak, 250-350 gram ağırlığında ve 20 haftalık olan 24 yetişkin Wistar albino türü rat çalışmaya dahil edilmiştir. Ratlar, kontrol ve tedavi gruplarındaki rat ağırlıklarının dağılımına mümkün olduğunca yakın olacak şekilde gruplandırılmıştır. Çalışmada, kontrol

(n=8), asetik asit ile indüklenmiş tedavisiz miyozit (miyozit) (n=8) ve miyozit+taurin (n=8) olmak üzere üç grup bulunmaktadır. Kontrol grubunda (Grup 1), hiçbir işlem yapılmamış ve 14 gün sonra kas dokusu çıkarılmıştır. Miyozit grubunda (Grup 2), miyozit modelini oluşturmak için %1'lik konsantrasyonda asetik asit (Norateks®, Derkim Lab, İstanbul, Türkiye) kullanılarak 0.2 ml hacimde intramusküler olarak verilmiştir. Son olarak, miyozit+taurin grubunda (Grup 3), %1'lik asetik asit intramusküler olarak verilmiş ve 500mg/kg/gün dozunda 0.5 ml taurin salin ile seyreltilerek 14 gün boyunca uygulanmıştır. Taurin tozu (Farmatek Kimya, İstanbul/Türkiye-TR-34-K062203), orogastrik uygulama öncesinde salin ile ölçek başına 3 g oranında seyreltilmiştir.

Bu çalışmada kullanılan %1 asetik asit ve taurin dozları, Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu gereklilikleri doğrultusunda yürütölen yayınlanmamış bir ön çalışma ile belirlenmiştir. Ratlarda gastroknemius kasında miyozit oluşturuldu. Miyoziti tetiklemek için, hayvanın sağ arka ekstremitesinin dorsal bölgesi traşlandı ve bu bölgeye asepsi yapıldı. Daha sonra insülin şırıngası ile 0.2 ml hacminde %1'lik asetik asit, sağ arka ekstremitedeki gastroknemius kasına intramusküler olarak enjekte edildi. Miyozit yalnızca bir kez tetiklendi (17).

Çalışma bitiminde analiz için numune elde etmek amacıyla hayvanlara 15. günde ötenazi yapıldı. Tüm gruplardaki hayvanlar yüksek doz anestezi Xylazine (Rompun®, Bayer, İstanbul, Türkiye) uygulanarak servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edildi. Hemen ardından histopatolojik ve immünhistokimyasal inceleme için gastroknemius kas dokusu örnekleri alınarak deney sonlandırıldı.

Histopatolojik Değerlendirme

Gastroknemius kas dokuları, %10 nötral tamponlu formalin (pH 7.2-7.4) içinde fikse edildi ve rutin patoloji protokolüne uygun olarak işlendi. Dokular alkolde dehidrate edilerek şeffaflık elde etmek için ksilol ile işlendi ve parafin bloklara gömüldü. Bloklar, oda sıcaklığında donduruldu ve buzdolabında soğutuldu.

Soğutma işlemi sonrasında mikrotom ile beş µm kalınlığında kesitler alındı ve deparafinize edildi. İlk üç ve her onuncu kesit Leica RM 2125 RT ile lam'lara monte edildi. Kesitler, alkol ve ksilol serilerinden geçirildi ve Hematoksilen ve Eozin boyası (H&E) ile boyandı. Tüm boyalı kesitler, bir veteriner patolog tarafından Işık mikroskobu (Olympus BX-50, Tokyo, Japonya) altında x 40-400 büyütmede incelendi ve skorlandı. Çizgili kas dokusu histopatolojik olarak kas liflerinin dejenerasyonu, vasküler konjesyon, kas liflerinde nekroz belirtileri (liflerde düzensiz eozinofili, lifler arasındaki bağlantıların kaybı), kas liflerinin düzensizliği (çizgilerin kaybı, kas lifleri arasındaki bağ dokusunda artış) ve enflamasyon belirtileri (mononükleer hücre infiltrasyonu) açısından değerlendirildi. Bulgular, yarı kantitatif bir skorlama sistemi kullanılarak değerlendirildi ve 0 (Normal, yapısal değişiklik yok) ile 3 (Şiddetli yapısal değişiklikler) arasında puanlandı (Şekil 1) (18).

İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Kas kesitlerinde Kaspaz3 (Caspase3) reseptör aktivitesi immünohistokimyasal yöntemlerle incelendi. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler hazırlandı ve Avidin Biotin Kompleks (ABC) tekniği uygulandı. Antijen retrieval işlemi mikrodalga fırında 700 W gücünde ve pH 6.0 sitrat tampon solüsyonunda 10 dakika süresinde gerçekleştirildi. Dokulardaki endojen peroksidadz aktivasyonu metanol içinde 0.01 mol/l Fosfat Tamponlu Salin (PBS) içinde %0.3 hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 15 dakika boyunca bloke edildi. Kesitlerin primer antikor uygulanmadan önce protein blokajı %5 normal keçi serumu ile 20 dakika süresince yapıldı. Kesitler, Kaspaz3 (1:50) primer antikorları ile bir saat süresince inkübe edildi. Bağlanmamış primer antikor uzaklaştırıldıktan sonra kesitler biotinlenmiş sekonder antikor ile 30 dakika boyunca reaksiyona sokuldu. Daha sonra, kesitler 5 dakika süresince DAB kromajen ile inkübe edildi. Son olarak, kesitlerin arka planı hematoksilen ile boyandı. Tüm adımlar nemlendirilmiş bir odada 37°C'de gerçekleştirildi ve tüm yıkamalar PBS kullanılarak yapıldı.

Histolojik preparatların immünoreaktivitesi, modifiye edilmiş yarı kantitatif bir ölçek kullanılarak boyanma derecesine göre değerlendirildi [(-): İmmün boyama yok, (+): Zayıf boyama, (++) Orta derecede boyama, (++++): Yoğun boyama]. Kesitler, Olympus BX-50 model ışık mikroskobu ile görüntüldü (Şekil 2).

İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen veriler, analiz için Statistical Package for Social Sciences for Windows SPSS 24.0 (SPSS sürüm 24.0, SPSS Inc., Chicago, IL) yazılımı kullanılarak bilgisayar ortamında işlendi. Çalışma verilerinin sayısal dağılımları, Shapiro-Wilks testi ile normal dağılıma uygunluk açısından değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin tanımlayıcı istatistiklerini sunmak için medyan (minimum; maksimum) kullanıldı. Ortalama±standart sapma değerleri ek bilgi olarak sunuldu.

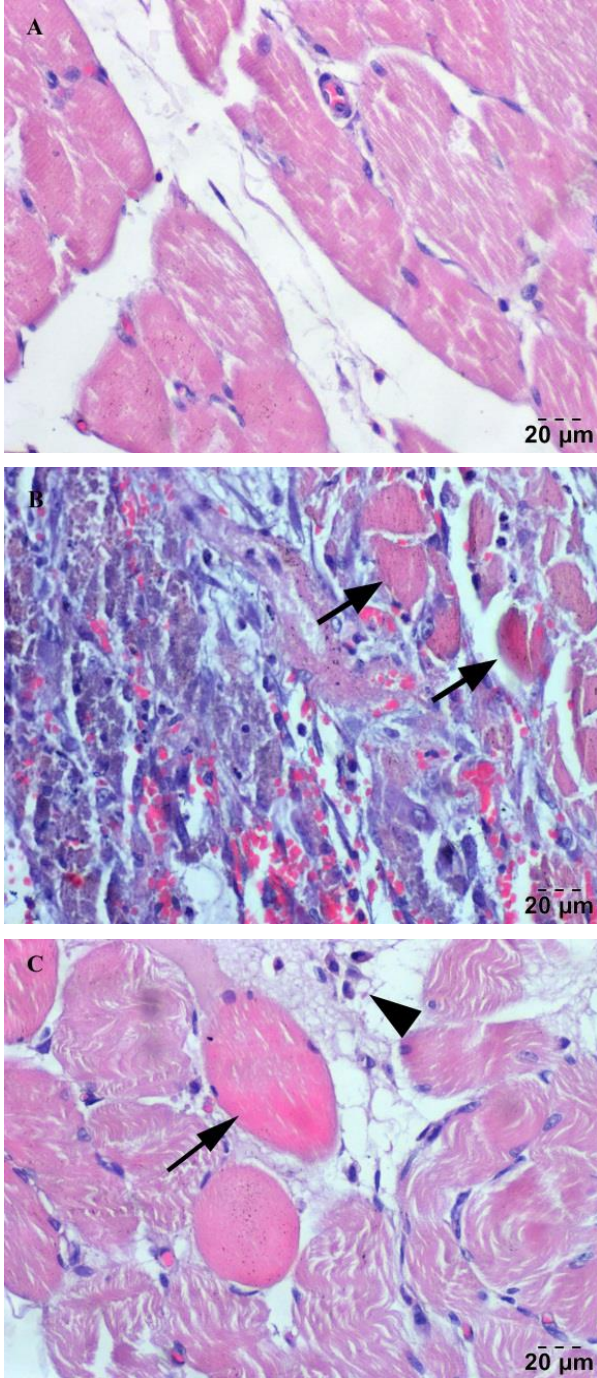
Dağılım analizi sonucunda, grupların konjesyon, dejenerasyon, nekroz, inflamasyon, disorganizasyon ve Kaspaz3 açısından normal dağılım göstermediği tespit edildi (Shapiro-Wilk test; p<0.05). Bu nedenle gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Ayrıca, eşleştirilmiş gruplar arasındaki karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi uygulandı. İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyi (p) 0.05 olarak belirlendi

BULGULAR

Taurin tedavisi, miyozit oluşturulmuş ratlarda kas hasarını, inflamasyonunu ve apoptozu önemli ölçüde azalttı. Taurin tedavisi alan ratlarda, kontrol grubundaki ratlara göre kas hasarı skorları %50, inflamasyon skorları %70 ve apoptoz oranı %30 oranında azaldı.

Kontrol (Resim 1A) grubunda Hematoksilen-Eozin boyama ile kas dokusu normal görünüme sahipti. Mononükleer hücre infiltrasyonu, miyofibrillerde dejenerasyon, bağ dokusunda artış gösteren disorganizasyon, nekroz ve vasküler konjesyon bulguları saptanmadı. Miyozit grubunun kas dokularında; mononükleer hücre infiltrasyonu, hemorajı, miyofibrillerde dejenerasyon, disorganizasyon, nekroz ve vasküler konjesyon gözlemlendi

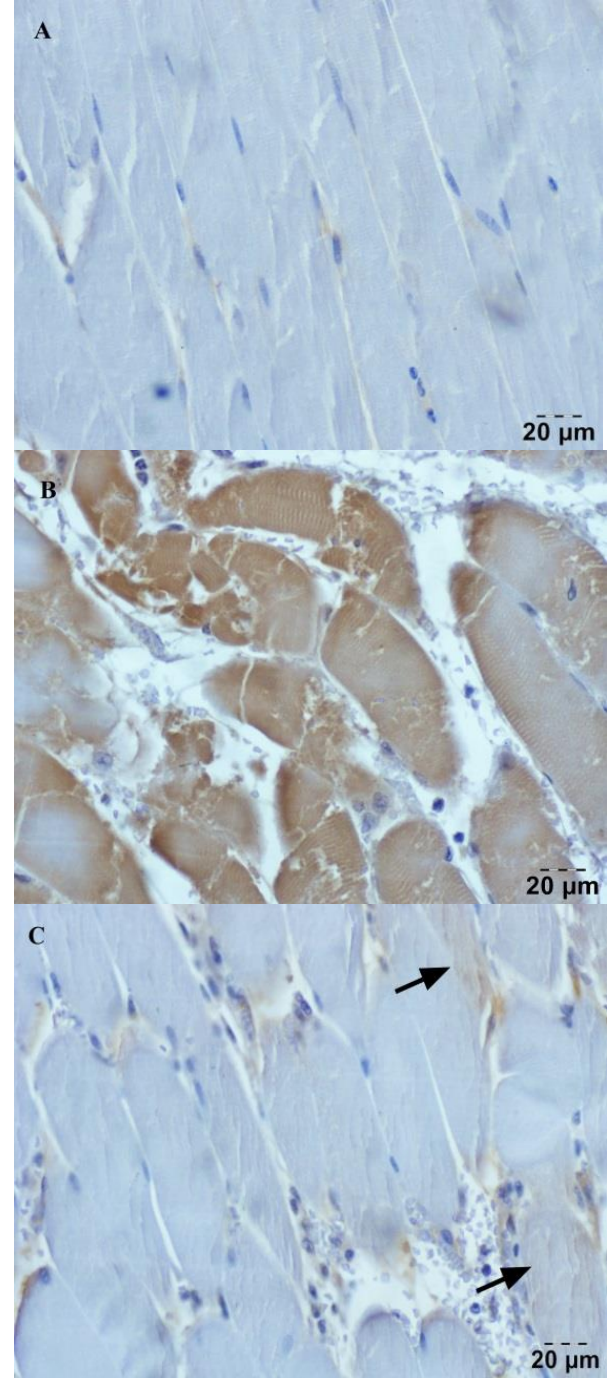
(Resim 1B). Miyozit+taurin grubunda kas örnekleri incelendiğinde, miyozit grubuna kıyasla konjesyon, miyofibriller disorganizasyon, nekroz, enflamasyon ve dejenerasyon bulgularının hafiflediği ve iyileşmelerin olduğu tespit edildi (Resim 1C).



Resim 1: Tüm grupların kas dokularının histopatolojik görünümü. **1A:** Kontrol grubu (H&E). **1B:** AA ile indüklenen miyozit grubu; oklar şiddetli dejeneratif kas inflamasyonunu gösterir (H&E). **1C:** Miyozit+ Taurin grubu; ok tek dejeneratif hücreleri ve ok başı hafif enflamasyonu göstermektedir (H&E).

Kaspaz3 ile apoptoz değerlendirilmesinde, Kaspaz3 immünoreaktivitesi açısından kontrol grubunda hiçbir

pozitiflik gözlenmezken (Resim 2A), Kaspaz3 immünoreaktivitesi açısından miyozit grubunda güçlü pozitiflik tespit edilmiştir (Resim 2B). Miyozit+taurin grubunda ise Kaspaz3 immünoreaktivitesinde hafif pozitiflik gözlenmiştir (Resim 2C).



Resim 2: Tüm grupların immünohistokimyasal değerlendirme bulguları. **2A:** Kontrol grubunda Kaspaz3 immünoreaktivitesi için pozitiflik gözlenmedi (immünonegatif). **2B:** Miyozit grubunda Kaspaz3 immünoreaktivitesi için güçlü pozitiflik tespit edildi (güçlü immüno pozitif); Kaspaz3 immünoreaktivitesi yok. **2C:** Miyozit+ Taurin grubu; hafif pozitif (ok) Kaspaz3 immünoreaktivitesi.

Histopatolojide mikroskopik olarak elde edilen veriler arasındaki karşılaştırmalar sonucunda, konjesyon, inflamasyon, dezorganizasyon, nekroz ve dejenerasyon açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.01$). Bu farklar, Mann-Whitney U testi kullanılarak kontrol ve miyozit grupları ($p<0.01$),

kontrol ve taurin grupları ($p<0.01$) arasında ortaya çıkmıştır. Ayrıca, miyozit ve taurin grupları arasında inflamasyon parametresinde ($p<0.05$) ve diğer parametrelerde ($p<0.01$) istatistiksel olarak anlamlı farklar belirlenmiştir. İlgili histopatolojik sonuçlar Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1: Kontrol ve deney gruplarına ait gastrocnemius kas dokularının histopatolojik değerlendirme sonuçları.

Histopatoloji	Kontrol (n=8)		Asetik Asit (n=8)		Taurin (n=8)		P	Grupların istatistiksel karşılaştırması *
	Ortanca	Min.-Maks.	Ortanca	Min.-Maks.	Ortanca	Min.-Maks.		
Konjesyon	0	0-1	2	1-3	0	0-1	0.0001**	Grup 1-2 p=0.0001 Grup 2-3 p=0.001
Dejenerasyon	0	0-0	2	2-3	1	0-1	0.0001**	Grup 1-2 p=0.0001 Grup 1-3 p=0.009 Grup 2-3 p=0.0001
Nekroz	0	0-0	2	1-3	1	0-1	0.0001**	Grup 1-2 p=0.0001 Grup 1-3 p=0.009 Grup 2-3 p=0.001
İnflamasyon	0	0-0	2	2-3	0.5	0-1	0.0001**	Grup 1-2 p=0.0001 Grup 1-3 p=0.025 Grup 2-3 p=0.001
Disorganizasyon	0	0-0	2	2-3	0	0-1	0.0001**	Grup 1-2 p=0.0001; Grup 2-3 p=0.0001

*Mann Whitney U testi $p<0.01$, ** Kruskal Wallis test, $p<0.01$

Ayrıca, Kaspaz3 ile yapılan apoptotik hücre ölçümleri sonuçları, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar göstermiştir ($p<0.001$). Bu farklar, kontrol ve asetik asit grupları ($p<0.01$), Kontrol ve taurin grupları ($p<0.01$) ile asetik asit ve taurin grupları ($p<0.01$) arasındaki farklardan kaynaklanmaktadır (Tablo 2).

Tablo 2: Deney gruplarının gastroknemius kas dokularından elde edilen immünohistokimyasal değerlendirme sonuçları

İmmunhistokimya	Kontrol (n=8)		Asetik Asit (n=8)		Taurin (n=8)		P	Grupların istatistiksel karşılaştırması *
	Ortanca	Min.-Maks.	Ortanca	Min.-Maks.	Ortanca	Min.-Maks.		
Kaspaz3	0	0-0	3	3-3	1	0-1	0,0001**	Grup 1-2 p=0.0001 Grup 1-3 p=0.009 Grup 2-3 p= 0.0001

*Mann Whitney U testi $p<0.01$, **Kruskal Wallis test, $p<0.01$

TARTIŞMA

Miyozit, kas dokusundaki inflamasyon ve hasara neden olan bir durumdur ve birçok etiyolojik faktörün etkisi altında gelişebilir. Kas hasarı ve inflamasyon, insanların günlük yaşamlarını olumsuz etkileyebilir ve klinik koşulların bir sonucu olarak ortaya çıkabilir (1-3). Özellikle inflamasyonun azaltılması, kas ağrısını ve iltihaplanmayı azaltarak kas fonksiyonunu ve yaşam kalitesini iyileştirebilir (19). Biz bu çalışmada, taurinin kas hasarı ve inflamasyon üzerindeki potansiyel tedavi etkinliği, Asetik asit ile miyozit oluşturulan bir rat modeli kullanılarak değerlendirdik. Çalışmamızda miyozitli ratlarda taurin tedavisinin kas dokusunu iyileştirdiği ve inflamasyonu azalttığını gözlemledik ($p<0.01$). Ayrıca, apoptoz sürecini azalttığı düşünülen Kaspaz3 immünoaktivitesinde de benzer sonuçlar elde edildi. Çalışmamız, taurinin miyozite karşı potansiyel yararlı bir tedavi seçeneği olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Miyozitin altında yatan mekanizmaları daha iyi anlamak için deneysel miyozit modelleri oluşturulabilir. Hurme T. ve arkadaşları ratlarda yaptıkları çalışmalarında, yaylı çekiçle oluşturulan gastroknemius kas hasarının iyileşmesini ultrastrüktürel ve immünohistokimyasal olarak değerlendirdiler (20). Deneysel olarak kas hasarı oluşturulmuş modellerde, bu hasara karşı yararlı etkilerin araştırıldığı başka çalışmalar da vardır. Sikorska ve arkadaşlarının çalışmasında, kardiyotoksin injeksiyonu ile iskelet kasında hasar oluşturulan rat modelinde β -escin'in iskelet kası rejenerasyonu üzerindeki etkileri araştırmıştır. Bu çalışmada elde edilen bulgular β -escin'in kas gelişimini desteklediğini göstermektedir. β -escin'in kas rejenerasyonunda,

özellikle de zayıf rejenerasyon olan yavaş kasılan kaslarda yararlı rolünü ortaya koymaktadır (21). Biz de çalışmamızda asetik asit ile oluşturulan deneysel miyozitte taurinin yararlı etkilerini benzer şekilde değerlendirdik. Çalışmamızda, iskelet kası kesitlerinin histopatolojik incelemesinde, Miyozit oluşturulan grupta gastroknemius kasında kas liflerinin yapısında düzensizlik, dejenerasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, vasküler konjesyon ve yoğun ödem gözlemledik. Miyozit oluşturulan ve taurin uygulanan grupta ise histopatolojik kesitlerde kas dokusundaki dejenerasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve vasküler konjesyonda anlamlı bir azalma tespit ettik. Grupların istatistiksel karşılaştırmasında, miyozit+kontrol ve miyozit grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($p<0.01$) bulundu. Bu sonuçlar, çalışmamızın diğer literatürdeki benzer çalışmalardan farklı olarak taurinin miyozit tedavisindeki özgün etkilerini vurgulamaktadır.

Taurin, iskelet kas fonksiyonlarını modüle eder. Bu, kalsiyum sinyal yolu üzerinden AMP ile aktive olan protein kinazın aktivasyonu yoluyla mitokondriyal ve solunum metabolizmasıyla ilişkili genlerin ve proteinlerin ekspresyonunun uyarılması ile olur (22). Taurin eksikliği kas iletkenliğini azaltabilir ve miyozit ile kas hasarı gibi durumlarda potansiyel faydalar sunar. Taurin, anti-inflamatuvar, antioksidan ve kas onarıcı özelliklere sahip bir bileşiktir ve kas ağrısını hafifletebilirken kasların daha hızlı iyileşmesine yardımcı olabilir (23). Bu bağlamda, De Carvalho FG. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma, taurinin egzersiz performansı ve kas hasarı üzerindeki olası etkilerini incelemiştir. Çalışma, taurin ve çikolata süt

takviyelerinin atletlerde oksidatif stresi azaltma ve protein metabolizması belirteçleri ile aerobik parametreler üzerinde olumlu etkiler yaratabileceğini göstermektedir (24). Ghosh ve arkadaşlarının yürüttüğü bir diğer çalışmada ise, Streptozotosin ile diyabet oluşturulan Wistar sıçanlarda taurinin testis fonksiyon bozukluklarına karşı potansiyel yararlarını araştırmışlardır. Streptozotosin tarafından tetiklenen diyabet, sıçanların testislerinde oksidatif ve endoplazmik retikulum stresi yoluyla fonksiyon bozukluklarına yol açmıştır. Çalışmada, diyabetin indüksiyonunu takiben 6 hafta boyunca 100 mg/kg dozunda taurin uygulanmış ve elde edilen sonuçlar, taurinin bu komplikasyonları başarılı bir şekilde düzeltebileceğini göstermektedir (25). Taurin tedavisinin miyozit oluşturulan kaslardaki etkilerini değerlendirdiğimiz çalışmamızda, özellikle konjesyon, inflamasyon, dezorganizasyon, nekroz ve dejenerasyon gibi histopatolojik parametrelerde sonuçlarımız gruplar arasında anlamlı farklar olduğunu göstermektedir ($p<0.01$). Taurin, kas hasarı ile ilgili potansiyel yararlar sunmaktadır ve özellikle anti-inflamatuar etkisi sayesinde inflamasyonun azaltılmasına yardımcı olmaktadır. Sonuçlarımız, kas dokusundaki inflamasyonun hafifletilmesinin miyozit semptomlarının ve kas ağrısının azaltılmasına katkı sağlayabileceğini göstermektedir. Ayrıca, taurinin antioksidan etkisi kas hücrelerini oksidatif stresten koruyarak serbest radikal hasarını engelleyebilir ve kasların daha hızlı iyileşmesine yardımcı olabilir.

Kas yaralanması veya hasarı, apoptozisin artmasına neden olabilir. İyileşme sürecinin nasıl gerçekleştiğini anlamak ve kasların tamir edilmesine yardımcı olacak stratejiler geliştirmek için apoptozis çalışmaları önemlidir. Örneğin, Jin H. ve ekibi, brakial pleksus hasarı nedeniyle oluşan atrofik iskelet kasında apoptozu incelemişler ve atrofiye uğramış kas dokusunda sağlıklı kas dokusuna göre belirgin bir apoptotik hücre artışı tespit etmişlerdir (26). Benzer şekilde, Schneider C. ve arkadaşları, Lewis ratlarında deneysel otoimmün miyozit modeli kullanarak T hücrelerinin doğal apoptoz oranını incelemişler ve inflamasyonlu kas dokusunda T

hücrelerinin doğal apoptoz oranının düşük olduğunu gözlemlemişlerdir. Ancak, glukokortikosteroid tedavisi sonrası apoptoz gösteren T hücrelerinde belirgin bir artış görmüşlerdir, bu da glukokortikosteroidlerin inflamatuvar aktiviteyi azaltmada etkili bir mekanizma olabileceğini öne sürmektedir (27). Torlak Koca ve arkadaşlarının çalışmaları, valproik asit ile miyozit oluşturulan ratlarda Kalsitriol'ün kas dokularındaki iyileştirici etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada, kontrol, miyozit ve tedavi grupları arasında konjesyon, dejenerasyon, nekroz, inflamasyon ve dezorganizasyon açısından anlamlı farklar tespit edilmiş ve ayrıca Kaspaz3 düzeylerinde de anlamlı farklılık gözlenmiştir. Özellikle Valproik Asit ve Kalsitriol grupları ile diğer gruplar arasında bu farklar belirgin olarak ortaya çıkmıştır ($p<0.01$) (28). Bizim çalışmamızda da apoptoz sonuçları literatürdeki çalışmalara benzer şekildedir. Çalışmamızda taurin tedavisinin miyozitli sıçanlarda kas apoptozunu azalttığı gösterildi ($p<0.01$). Apoptotik hücre ölçümleri Kaspaz3 ile gerçekleştirildi ve sonuçlar, kontrol ve asetik asit grupları ($p<0.01$), kontrol ve taurin grupları ($p<0.01$) ve asetik asit ve taurin grupları arasındaki farkları yansıtmaktadır ($p<0.01$).

Bu çalışmanın bazı limitasyonları mevcuttur. Örneğin, farklı taurin dozları ve uygulama sürelerinin etkileri değerlendirilmemiştir. Ayrıca, insanlarda kullanılabilir dozların belirlenmesi için daha fazla prelinik ve klinik çalışmaya ihtiyaç vardır. Çalışmamız kısa vadeli bir perspektife sahiptir ve uzun vadeli etkileri değerlendirmek için daha uzun süreli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Son olarak, taurin tedavisinin insanlardaki miyozit üzerindeki etkilerini değerlendirmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, bu çalışma, taurinin miyozite bağlı inflamatuvar kas hasarını azaltma potansiyeline işaret etmektedir. Elde edilen bulgular, taurinin kas hasarı, inflamasyon ve apoptotik hücre ölümünü azaltmada etkili olabileceğini göstermektedir. Bu, miyozit tedavisine yönelik yeni bir potansiyel yaklaşım sunabilir. Ancak, bu çalışmanın sınırlamaları ve daha

fazla araştırma ihtiyacı göz önüne alındığında, taurinin klinik uygulamalardaki kullanımını ve insanlar üzerindeki etkilerini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Taurinin miyozit tedavisindeki potansiyel kullanımı üzerine daha fazla araştırma, bu alandaki bilgi birikimini artırabilir ve hastaların yaşam kalitesini iyileştirmeye katkıda bulunabilir.

Çatışma Beyanı: Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Katkı Oranı Beyanı: Ana Fikir/Planlama: NTK, TOC; Analiz/Yorum: NTK, TOC; Veri sağlama: NTK; Makale yazımı: NTK, TOC; Gözden geçirme ve düzeltme: NTK; Onaylama: NTK, TOC.

Destek ve Teşekkür Beyanı: Çalışmamızın histopatolojik ve immunhistokimyasal parametrelerinin değerlendirilmesinde, değerli katkılarından dolayı Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndan Vet. Doç. Dr. Nihat Yumuşak'a sonsuz teşekkürler.

Etik Kurul Onamı: Bu çalışma Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hüsnü Sakal Deneysel ve Klinik Uygulama Merkezi'nde deney hayvan kullanımına ilişkin etik kurallara uygun olarak yapılmıştır. Deneysel protokoller için Yerel Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan etik onay alınmıştır (724/2023).

KAYNAKLAR

1. Carstens PO, Schmidt J. Diagnosis, pathogenesis and treatment of myositis: Recent advances. Clin Exp Immunol. 2014;175(3):349-58.
2. Baig S, Paik JJ. Inflammatory muscle disease-An update. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2020;34(1):101484.
3. Hussain Y, Miller S. Other Myopathies. Neurol Clin. 2020;38(3):619-35.
4. Selva-O'Callaghan A, Pinal-Fernandez I, Trallero-Araguás E, Milisenda JC, Grau-Junyent JM, Mammen AL. Classification and management of adult inflammatory myopathies. Lancet Neurol. 2018;17(9):816-28.
5. Nagaraju K, Plotz PH. Animal models of myositis. Rheum Dis Clin North Am. 2002;28(4):917-33.
6. Katsumata Y, Ascherman DP. Animal models in myositis. Curr Opin Rheumatol. 2008;20(6):681-5.
7. Konishi R, Ichimura Y, Okiyama N. Murine models of idiopathic inflammatory myopathy. Immunol Med. 2023;46(1):9-14.
8. Takai Y, Watanabe T, Sano T. Elevated level of microRNA-210 at the initiation of muscular regeneration in acetic acid-induced non-ischemic skeletal muscular injury in mice. J Toxicol Pathol. 2022;35(2):183-92.
9. Barbosa MU, Silva MA, Barros EML, Barbosa MU, Sousa RC, Lopes MADC, et al. Topical action of Buriti oil (Mauritia flexuosa L.) in myositis induced in rats. Acta Cir Bras. 2017;32(11):956-63.
10. Oddis CV, Aggarwal R. Treatment in myositis. Nat Rev Rheumatol. 2018;14(5):279-89.
11. Moghadam-Kia S, Oddis CV. Current and new targets for treating myositis. Curr Opin Pharmacol. 2022;65:102257.
12. Jarvinen TA, Jarvinen TL, Kaariainen M, Kalimo H, Jarvinen M. Muscle injuries: Biology and treatment. Am J Sports Med. 2005;33(5):745-64.
13. Spriet LL, Whitfield J. Taurine and skeletal muscle function. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2015;18(1):96-101.
14. Baliou S, Adamaki M, Ioannou P, Pappa A, Panayiotidis MI, Spandidos DA, et al. Protective role of taurine against oxidative stress (Review). Mol Med Rep. 2021;24(2):605.
15. Kim C, Cha YN. Taurine chloramine produced from taurine under inflammation provides anti-inflammatory and cytoprotective effects. Amino Acids. 2014;46(1):89-100.
16. Marcinkiewicz J, Kontny E. Taurine and inflammatory diseases. Amino Acids. 2014;46(1):7-20.
17. Carvalho AF, Sousa PF, Feitosa MC, Coelho NP, Barros EM, Feitosa VC, et al. The low-level laser on acute myositis in rats. Acta Cir Bras. 2015;30(12):806-11.

18. Erkanli K, Kayalar N, Erkanli G, Ercan F, Sener G, Kırali K. Melatonin protects against ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle. *Journal of Pineal Research*. 2005;39(3):238-42.
19. De Luca A, Pierno S, Camerino DC. Taurine: The appeal of a safe amino acid for skeletal muscle disorders. *J Transl Med*. 2015;13:243.
20. Hurme T, Kalimo H, Lehto M, Järvinen M. Healing of skeletal muscle injury: An ultrastructural and immunohistochemical study. *Med Sci Sports Exerc*. 1991;23(7):801-10.
21. Sikorska M, Dutkiewicz M, Zegrocka-Stendel O, Kowalewska M, Grabowska I, Koziak K. Beneficial effects of β -escin on muscle regeneration in rat model of skeletal muscle injury. *Phytomedicine*. 2021;93:153791.
22. Sun B, Maruta H, Ma Y, Yamashita H. Taurine stimulates AMP-activated protein kinase and modulates the skeletal muscle functions in rats via the induction of intracellular calcium influx. *Int J Mol Sci*. 2023;24(4):4125.
23. Thewissen M, Merx MW, Molojavyi A, Heller-Stilb B, Schrader J, Häussinger D. Taurine transporter knockout depletes muscle taurine levels and results in severe skeletal muscle impairment but leaves cardiac function uncompromised. *FASEB J*. 2004;18(3):577-9.
24. De Carvalho FG, Galan BSM, Santos PC, Pritchett K, Pfrimer K, Ferriolli E, et al. Taurine: A potential ergogenic aid for preventing muscle damage and protein catabolism and decreasing oxidative stress produced by endurance exercise. *Front Physiol*. 2017;8:710.
25. Ghosh S, Chowdhury S, Das AK, Sil PC. Taurine ameliorates oxidative stress induced inflammation and ER stress mediated testicular damage in STZ-induced diabetic Wistar rats. *Food Chem Toxicol*. 2019;124:64-80.
26. Jin H, Wu Z, Tian T, Gu Y. Apoptosis in atrophic skeletal muscle induced by brachial plexus injury in rats. *J Trauma*. 2001;50(1):31-5.
27. Schneider C, Matsumoto Y, Kohyama K, Toyka KV, Hartung HP, Gold R. Experimental autoimmune myositis in the lewis rat: Lack of spontaneous T-cell apoptosis and therapeutic response to glucocorticosteroid application. *J Neuroimmunol*. 2000;107(1):83-7.
28. Torlak-Koca N, Ozudogru Celik T. Ameliorative effect of exogenous calcitriol treatment against muscle injury in myositis-induced rats. *Int Target Med J*. 2023;2(3):95-101.