

Sıçanlarda Kolin'in Serbest Yağ Asitlerine Etkisi

Yavuz TAGA*
İsmail H. ULUS**
Kemal ÖZKAN***
Burhan K. KIRAN****

ÖZET

Serebral yan ventriküle zerk edilen kolin, serum serbest yağ asidi düzeyini belirli ve anlamlı derecede arttırmaktadır. Atropin bu etkiyi önlemekte, mekamilamin ise değiştirmemektedir. Kolin'in bu etkisi splanknik siniri iki taraflı kesilmiş sıçanlarda da önlenmektedir. Bu bulgular kolinin merkezi muskarinik reseptörleri uyarak ve splanknik sinirler üzerinden giden bir etki ile serum serbest yağ asidi düzeyini arttırdığını göstermektedir.

SUMMARY

The Effect of Choline on Free Fatty Acids in Rats

Choline injected into the lateral cerebral ventricle significantly increases serum free fatty acids level. Mecamylamine does not change but atropin abolishes this effect. This effect is also not seen in rats in which the splanchnic nerves are bilaterally transected. These data suggest that choline induces an increase in serum free fatty acids, by stimulating central muscarinic receptors and then this stimulatory message is carried through the splanchnic nerves.

-
- * Yard. Doç. Dr.; U. Ü. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi
** Doç. Dr.; Uludağ Univ. Tıp Fak. Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi
*** Prof. Dr.; Uludağ Univ. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi
**** Prof. Dr.; Uludağ Univ. Tıp Fak. Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Kolin'in, bir ön madde olarak nörotransmitter asetilkolin'in sentez ve salve-
rilmesini arttırdığının gösterilmesinden sonra, biyokimyasal ve farmakolojik etkileri
büyük ilgi çekmiştir. Bu maddenin deney hayvanlarında ve insanda sinir sistemi ve
kardiyo-vasküler sistemle ilişkili oluşturduğu etkileri bir çok araştırmacı tarafından
incelenmiştir¹⁻⁵. Bunun yanında, metabolik sistemle ilişkili etkileri sistematik ola-
rak incelenmemiştir. Biz bu çalışmada merkezi yolla verilen kolin'in serum serbest
yağ asidi düzeylerine olan etkisini inceledik.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışmada 320-400 gram ağırlıklı erkek sıçanlar (Uludağ Üniversitesi Tıp
Fakültesi, Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi, Bursa) kullanılmıştır.
Sıçanlar 5-7 tanesi bir kafeste, yem ve su alımları serbest ve standart koşullarda
(22-24°C, 12 saat karanlık-aydınlık) tutulmuşlardır.

Sıçanlar, deneyden önceki gün akşam üstü yemleri alınarak bir gece aç bırakıl-
dılar. Sabah 9.00-11.00 arası eter anestezisi altında kafa taslarına, orta hattın 1.5- 2
mm. sol dış yanına ve Bregmanın 2 mm. kadar arkasına olacak şekilde delik açıldı.
Sıçanlar 2 saat kadar anesteziden çıkış için bırakıldılar. Kolin ve diğer ilaçlar Ha-
mlilton enjektörle 20 µl tuzlu içinde sol-yan serebral ventriküle açılan delikten zerk
edildi. Kontrol sıçanlarına ilaç içermeyen tuzlu su zerk edildi. Hayvanlar ilaç ya da
tuzlu su zerkini takiben 20. dakikada başları giyotinle kesilerek öldürüldü ve kanları
serbest yağ asidi ölçümü için cam tüplere toplandı.

Serumdaki serbest yağ asidi düzeyleri, palmitik asid standart kullanılarak ve
kalorimetrik yöntemle⁶ ölçülmüştür. Hesaplamalarda ve istatistiki değerlendirmeler-
de Hewlett-Packard (HP-9810A) hesap makinası ve manyetik kartlardaki hazır prog-
ramlar (STAT PAC I-1., STAC PAC V-6) kullanılmıştır.

BULGULAR

Serebral yan ventriküle zerk edilen 450 µg kolin serum yağ asidlerini belirli ve
anlamli ölçüde ($p < 0.05$) arttırmıştır. Tuzlu su zerk edilen sıçanlarda serbest yağ
asidleri $702 \pm 62 \mu\text{Eq/l}$ kadar iken, kolin zerk edilenlerde $995 \pm 30 \mu\text{Eq/l}$ bulun-
muştur.

Kolin'in serbest yağ asidlerini yükseltici etkisinde hangi tür kolinerjik serep-
törlerin sorumlu olduğunu belirlemek için düzenlenen çalışmada, kolin zerkinden
önce (10 dakika kadar) serebral ventriküllere atropin ya da mekamilamin zerk edil-
miştir. Bu dozda atropin muskarinik, mekamilamin ise nikotinik reseptörleri bloke
edebilmektedir. Kontrol sıçanlara ise, atropin ve mekamilamin yerine, tuzlu su veril-
miştir. Sıçanlar 450 µg kolin zerkini takiben 20. dakikada öldürülmüştür. Tablo
1'de de görüldüğü gibi kolin serbest yağ asidlerini, ilk deneyle uyumlu olarak, arttır-
maktadır. Kolin'in etkisi atropin'le önlenmekte, mekamilamin verilen sıçanlarda sür-
mektedir (Tablo 1). Bu bulgular, kolin etkisinin muskarinik reseptörler yoluyla ol-
duğunu göstermektedir.

Merkezi yolla verilen kolin'in kan glukoz düzeyinde meydana getirdiği artma
splanknik sinirlerin iki taraflı kesilmesi ile önlenmektedir (basılmamış gözlemimiz).

Tablo: I
Atropine ve Mekamilamin'in Kolin'in Serbest Yağ Asidlerine
Artırmasına Etkileri

Tedavi Grupları	Serbest Yağ Asidleri ($\mu\text{Eq/l}$)	
Tuzlu su + Tuzlu su	1030 \pm 60 (7)	
Tuzlu su + Kolin (450 μg)	1360 \pm 40 (5)	p < 0.005*
Atropin + Tuzlu su	1160 \pm 60 (6)	
Atropin + Kolin (450 μg)	1160 \pm 30 (6)	Anlamlı değil
Mekamilamin + Tuzlu su	1910 \pm 70 (6)	
Mekamilamin + Kolin (450 μg)	1180 \pm 70 (6)	p < 0.02**

Sıçanlara eter anestezisi altında kafatasına delik açıldı. İki saat kadar sonra intraserebroventriküler olarak 20 μl içinde atropin (10 μg) ve mekamilamin (50 μg) zerk edildi. Bundan 10 dakika sonra kolin (450 μg) ya da tuzlu su (20 μl) zerk edildi ve 20 dakika sonrada sıçanlar başları giyotinle kesilerek öldürüldüler. Yağ asidi ölçümü için kanlar cam tüplere toplandı. Sonuçlar \pm standart hatanın ortalaması şeklinde gösterilmiştir. Parantez içindeki rakamlar gruptaki sıçan sayısını göstermektedir.

* Kontrol (Tuzlu su + Tuzlu su) ve Atropin + Kolin ile karşılaştırıldığında

** Mekamilamin + Tuzlu su kontrolü ile karşılaştırıldığında.

Benzer durumun var olup olmadığı serbest yağ asidleri içinde denenmiştir. Bir grup sıçanın splanknik sinirleri iki taraflı olarak pentotal anestezi altında kesildi. Kontrol sıçanlarda anestezi ve cerrahi işlemler aynen tekrarlandı. Bu sıçanlarda splanknik sinirler kesilmeden bırakılmıştır. Üç hafta sonra kontrol ve splanknik sinirleri kesilmiş sıçanlara kolin zerk edildi. Kolin kontrollerde serbest yağ asidlerini arttırırken splanknik sinirleri kesilenlerde etki önlenmiştir. Splanknik siniri kesik olanlarda yağ asidleri $460 \pm 50 \mu\text{Eq/l}$ iken taklit cerrahi işlem uygulananlarda kolin bu değeri iki katına yakın yükseltmiştir (p < 0.02). Bu sıçanlarda serbest yağ asidi düzeyi $780 \pm 100 \mu\text{Eq/l}$ bulunmuştur.

TARTIŞMA

Bu çalışmada serebral yan ventriküle zerk edilen kolin'in serumda serbest yağ asidlerini arttırdığı gösterilmiştir. Bu etki önceden atropin vermekle ve splanknik sinirlerin iki taraflı olarak kesilmesiyle önlenmektedir. Bu nedenlerle, etkinin merkezi muskarinik reseptörlerin uyarılması sonucu olduğu ve splanknik sinirler aracılığı ile periferde taşındığı anlaşılmaktadır.

Kolin'in doğrudan etki ile muskarinik reseptörleri uyurabildiği gösterilmiştir⁷⁻⁹. Ayrıca, kolin verilmesi sonucu presinaptik mekanizmalarla da muskarinik reseptörler uyarılabilmektedir^{10, 11}. Kolin verilmiş sıçanlarda beyindeki kolin ve asetilkolin miktarları yükselir^{12, 13}. Asetilkolin miktarlarında koline bağlı olarak

görülen artışın, kolinerjik nöronların uyarılması sonucu açığa çıkan asetilkolin miktarlarına da yansıdığı saptanmıştır^{10,14,16}. Bu yolla gerek merkez sinir sisteminde ve gerekse periferde kolinerjik nöral iletide, yükselme görülür ve muskarinik-nikotinik tipte etkiler ortaya çıkar^{10,11,14-16}. Bu çalışmada kolin verilmesi sonucu asetilkolin miktarlarında artma olup olmadığı incelenmemiştir. Böyle olmakla beraber, önceki çalışmaların verilerine dayalı olarak asetilkolin miktarlarında artma olduğunu varsaymak yanlış olmayacaktır. Merkezi yolla verilen kolin'in splanknik sinirlerden birim zamanda geçen uyarı sayısını, muskarinik reseptörleri doğrudan ve pre-sinaptik mekanizmalarla uyarak arttırdığı ve bunun sonucu olarak serbest yağ asitlerini yükselttiği ileri sürülebilir. Bu görüş başka bulgularda desteklenmektedir^{7,18}. Merkezi muskarinik reseptörlerin uyarılmasının splanknik sinirlerde uyarı sayısını arttırdığı^{7,18}, bu yolla adrenal glanddan katekolamin sekresyonuna neden olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada kullanılan dozlarda kolin adrenal glanddan katekolamin salıverilmesini bir kaç kat arttırabilmektedir (Ulus, Arslan ve Kıran, basılmamış gözlem). İdrarla katekolamin çıkışında artmaktadır⁹. Katekolaminler ise yağ dokusunda trigliseridlerden yağ asitlerinin serbestleşmesini arttıran etkilere sahiptir.

Kolin'e bağlı serum serbest yağ asidi düzeyinde saptanan yükselme, kolin'in diğer etkilerine bağlı olarak da ortaya çıkabilir. Bu olasılığı düşündüren gözlemlerimiz vardır. Serebral ventriküle verilen kolin, hiperglisemi yapmakta ve kanda immunoreaktif insulin miktarını yükseltmektedir (Basılmamış gözlemimiz). Bu etkiler sekonder olarak yağ asitlerini değiştirebilecek etkilere sahiptir. Bunlar arasındaki ilişkilerin durumunun saptanmasına yönelik çalışmalarımız sürmektedir.

Sonuç olarak, kolin'in deney hayvanlarında ve insanda oluşturduğu bir çok farmakolojik ve biyokimyasal etkiler iyi bilinmekle beraber, bizim bilgilerimize göre ilk kez olarak bu çalışma ile yağ metabolizmasına olan etkisi bildirilmektedir.

KAYNAKLAR

1. ULUS, İ.H., WURTMAN, R.J., SCALLY, M.C., HIRSCH, M.J.: Effect of Choline on Cholinergic Function, In: Cholinergic Mechanisms and Psychopharmacology (Ed. D.J. Jenden), Plenum Press, New York, 1977, p. 525.
2. ULUS, İ.H., ARSLAN, Y., TANRISEVER, R., KIRAN, B.K.: Postsynaptic effects of choline administration In: Nutrition and the Brain. Vol. 5. (Eds. A. Barbeau, J.H. Growdon, R.J. Wurtman), Raven Press, New York, 1979, p. 218.
3. MOHS, R.C., DAVIS, K.L.: Choline Chloride effects on memory in the elderly. Neurobiol. Aging 1: 907-912, 1982.
4. WURTMAN, R.J., HEFTI, F., MELAMED, E.: Precursor control of neurotransmitter synthesis. Pharmacol. Rev. 32: 315-335, 1981.
5. WOOD, S.L., ALLISON, R.G.: Effects of consumption of choline and Lecithin on neurological and cardiovascular system. Fed. Proc. 41: 3015-3021, 1982.
6. DUNCOMBE, W.G.: The colorimetric micro-determination of non-esterified fatty acids in plasma. Clin. Chim Acta, 9: 122-125, 1964.

7. HAUBRICH, D.R., RISLEY, E.A., WILLIAMS, M.: Effects of deanol, choline and its metabolites on binding on ³H-quinuslidinyl benzilate to rat brain membranes. *Biochem, Pharmacol.* 28: 3674-3677, 1979.
8. SPETH, R.C., YAMAMURA, H.I.: On the ability of choline and its analogues to interact with muscarinic cholinergic receptors in the rat brain. *Eurepean J. Pharmacol.* 58: 197-201, 1979.
9. MACINTOSH, F.C.: Are acetylcholine levels related to acetylcholine release? In: *Nutrition and the Brain Vol. 5* (Eds. A. Barbean, J.H. Gravdon, R.J. Wartran). Raven Press, New York, 1979, p. 201.
10. ULUS, İ.H., WURTMAN, R.J.: Choline administration: Activation of Tyrosine Hydroxylase in dopaminergic neurons of rat brain. *Science*, 194: 1060-1061, 1976.
11. HAUBRICH, D.R., PFLUEGER, A.B.: Choline administration: Central effect mediated by stimulation of acetylcholine Sythesis. *Sci.*, 24: 1083-1090.
12. COHEN, E.L., R.J. WURTMAN.: Brain acetylcholine: Increase after systemic choline administration *Life. Sci.* 16: 1095-1102, 1975.
13. TROMMER, B.A., SCHMIDT, D.E., WECKER, L.: Exogenous choline enhances the synthesis of acetylcholine only under conditions of increased cholinergic neuronal activity. *J. Neurochem.* 39: 1704-1709, 1982.
14. ULUS, İ.H., HIRSCH, M.J., WURTMAN, R.J.: Trans-synaptic induction of adrenal tyrosine hydroxylase by choline: Evidence that choline administration increases cholinergic transmission *Proc. Naf. Acad. Sci.* 74: 798-800, 1977.
15. ULUS, İ.H., SCALLY, M.C., WURTMAN, R.J.: Choline potentiates the transsynaptic induction of adrenal tyrosine hydroxylase by reserpine, probably by enhancing the release of acetylcholine, *Life. Sci.* 21: 145-148, 1977.
16. ULUS, İ.H., SCALLY, M.C., WURTMAN, R.J.: Enhancement by choline of the induction of adrenal tyrosine hydroxylase by phenoxybenzamine, 6-hydroxydopamine, insulin or exposure to cold. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 204: 676-682, 1978.
17. LEWANDER, T., JOH, T.H., REIS, D.J.: Tyrosine hydroxylase: Delayed activation in central noradrenergic neurons and induction in adrenal medulla elicites by stimulation of central cholinergic receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 200: 523-534, 1977.
18. ULUS, İ.H., WURTMAN, R.J.: Selective response of rat peripheral sympathetic nervous system to variousstimul. *J. Physcol.* 293: 513-523, 1979.
19. SCALLY, M.C., ULUS, İ.H., WURTMAN, R.J.: Choline administration to the rat increases urinary catecholamines *J. Nevral. Trans.* 43: 103-112, 1978.

Yard. Doç. Dr. Yavuz TAGA

U.Ü. Tıp Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı

Öğretim Üyesi

BURSA