

Kolin'in Merkezi ve Periferik Kolinerjik Nöronlarda ve Kolinerjik İletimdeki İşlevi

İsmail Hakkı Ulus¹, Mehmet Cansev²

¹Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji, Bursa, Türkiye

ÖZET

Kolin bir kuaterner amin olup, nörotransmitter asetilkolinin ve membranın temel yapılarından fosfatidilkolin'in öncül maddesidir. Kolin ayrıca vücutta, metionin ve s-adenosilmetionin rejenerasyonu için gerekli metil guruplarının vericisi olan, betaine de metabolize olur. Bu derlemede esas olarak kolin'in kolinerjik noronal görevlerindeki rolü üzerinde durulacaktır. Kolinerjik nöronların asetilkolin sentezi için kullandıkları kolin esas olarak kaynağı dolaşımıdır. Dolaşımdaki kolin'in düzeyi 6-8 saatlik açlık sonrası 10 µM kadardır. Bu düzey yemek sonrası, gıdalardaki kolin'in miktarına göre, 20-60 µM kadar yükselebilir. Farmakolojik dozlarda tedavi ile de kan kolin düzeyi 200-300 µM kadar yükselebilir. Kolin'i asetilkoline dönüştüren enzim kolinasetiltransferaz enzimi substratı kolini zayıf bir şekilde doyurulmuş olduğundan plazmada kolin düzeyinin yükselmesi asetilkolin sentezini artırır. Kolin, yeterince yüksek düzeylerinde (0,5-100 mM gibi), muskarinik ve nikotinik asetilkolin reseptörleri ile agonist olarak da etkilidir. Kolin tedavisi nörotransmitter asetilkolin'in sentez ve salıverilmesinde hızlanma ve merkezi ve periferik muskarinik ve nikotinik kolinerjik iletide yükselme ile sonuçlanır. Kolin, burada tartışılacak olan, kolinerjik nitelikte birçok fizyolojik, farmakolojik ve nörokimyasal etkiler oluşturur.

Anahtar sözcükler: Kolin, öncül madde, asetilkolin, agonist, Kolinerjik ileti

ROLES OF CHOLINE ON CENTRAL AND PERIPHERAL CHOLINERGIC NEURONS AND CHOLINERGIC NEUROTRANSMISSION.

ABSTRACT

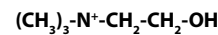
Choline, a quaternary amine, is an essential precursor for the neurotransmitter acetylcholine (ACh) and the major membrane constituent phosphatidylcholine (PC). Choline is also metabolized to betaine, which provides a source of methyl groups for the regeneration of methionine and S-adenosylmethionine. The present review will mainly focus on the roles of choline on cholinergic neuronal functions. The main source of free choline for cholinergic neurons to synthesize acetylcholine is blood circulation. Plasma choline concentrations can vary over a six-fold range (10- 60 µM) depending on the choline contents of the foods ingested. Choline concentrations in the circulation can increase up to 200-500 µM following treatment with pharmacological doses of choline. Since choline acetyltransferase [ChAT], the enzyme that converts choline to ACh, is poorly saturated with its choline substrate, increases in plasma choline can enhance the formation and the release of ACh. Choline, at sufficiently high concentrations (i.e., at 0,5-100 mM), also interacts with muscarinic and nicotinic acetylcholine receptors as an agonist. Choline treatments result with increases in neurotransmitter acetylcholine synthesis and release, and enhancements in central and peripheral muscarinic and nicotinic cholinergic neurotransmission. Choline produces several physiological, pharmacological and neurochemical effects in cholinergic nature which will be discussed here.

Key words: Choline, precursor, acetylcholine, agonist, cholinergic transmission.

1. Giriş

Kolin (2-hidroksietil-N,N,N-trimetil amonyum, beta-hidroksietil- N,N,N-trimetil amonyum, choline) iki karbon zinciri içeren, basit ama alışılmışın dışında bir yapı özelliği gösteren, bir bileşiktir (Şekil 1). Zincirdeki iki karbondan birine bir hidroksil (OH)

grubu diğerine de aminli azot eklenmiştir (Şekil 1). Yapıya alışılmışın dışında bir özellik veren kısım, azotlu amin gurubundaki azota, alışıldığı gibi üç değil, dört karbon ya da hidrojen bağlı olmasıdır. Bu nedenle kolin kısmi bir artı (pozitif) yük taşımaktadır.



Şekil 1. Kolin'in kimyasal yapısı

Kolin (choline) ilk kez 19. yüzyılın ikinci yarısında (1862'de) Strec-ker tarafından safradan (yunanca *chole*) elde edildi (1) yüz yıl kadar sonra da (1966 yılında) sentez edildi. Yirminci yüzyılın ilk yarısında 1930 yıllarda başlayarak diyetdeki kolin'in önemli olduğu ve kolin'in karaciğer yağlanması ve pankreası çıkarılmış köpeklerde ölümün önlenmesinde gerekli olduğu Best tarafından keşfedildi (2). Beyin dilimlerinin fizyolojik koşullarda eserinde inkübe edilmesi ile kolin'den, eserine edilmiş sülük sırt kasını, asetilkolin gibi, güçlü şekilde kasan ester yapılı (esterkolin, asetilkolin) bileşikler olduğu Quastel tarafından gösterildi (3). 1975-1977 yıllarında ise ilk kez sıçanlarda kolin tedavisi ile beyinde asetilkolin düzeyinin yükseldiği (4, 5) ve kolinerjik aktivitenin arttığı belirlenmiştir (7). 1998 yılında ise, kolin yaşam için "esansiyel" bir madde olarak değerlendirilmiş ve ABD Tıp Enstitüsünün Gıda ve Beslenme Bord'u [the Food and Nutrition Board (FNB)] tarafından "günlük referans gıda alım" miktarları belirlenmiştir (7).

Kolin'in vücuttaki işlevleri esas olarak üç ana başlık altında toplanabilir. 1. Kolin nörotransmitter asetilkolin'in sentezinde prekürsör (öncül madde) olarak görev görür ve yüksek dozlarda da asetilkolin reseptörleri ile doğrudan etkileşir. Bunun sonucu olarak kolin kolinerjik nörotransmisyonu uyarıcı etkiler gösterir. 2. Kolin hücre zarının temel yapı taşı bazı temel fosfolipidlerinin (fosfotidil kolin ve sifingomyelin gibi) sentezinde de öncül madde olarak görev görür. Bununla bağlantılı olarak kolin zardaki fosfolipidlerden kaynaklanan bazı ikinci habercilerin [lizofosfotidilkolin, platelet aktive edici faktör (PAF) gibi] yapısında da yer alır. 3. Kolin ayrıca vücutta genel bir metil verici molekül olarak da görev görür ve bu yolla da çok önemli işlevler görür.

Bu derlemede kolin'in kolinerjik sisteme olan etkileri ve sistemin işlevlerindeki önemli rolü üzerinde durulacaktır.

2. Kolin'in Kolinerjik Sistemde İşlevleri

2.a. Asetilkolin sentezinde öncül madde olarak kolin

2.a.1. Asetilkolin biyosentezi ve kolin asetiltransferaz (CAT)

Kolinerjik sinirlerde asetilkolin sentezi serbest kolinin kolin asetiltransferaz enzimi (ChAT; acetyl-CoA:choline-O-transferase, EC 2.3.1.6) aracılığı ile asetile edilmesiyile tek basamaklı bir reaksiyonla olur. Sentezde "asetil ko-enzim A" (Acetyl Co-enzyme A; Acetyl-CoA) asetil gurubu vericisi olarak ikinci substrat görevi görür.

ChAT tek zincirli globüler bir protein olup kolinerjik sinirlerde sitoplazmada erimiş halde ya da zara bağlanmış şekilde olmak üzere en az iki formda bulunduğu bilinmektedir (8-12). Sitoplazmada erimiş kısım enzim aktivitesinin %80-90 kadarını oluşturur. Bu iki form değişik fiziki-kimyasal ve kimyasal özellikler içerir (9-12). Erimiş form hidrofilitik özellikle olup iki substratına karşı afinitesi ölçüm koşullarındaki iyonik güce bağlı olarak değişir (Kolin için $K_m = 350-3700 \mu M$, asetil ko-A için $K_m = 2,5-75 \mu M$) (12). Zara bağlı ChAT amfilik özelliktedir ve onun da substratlarına karşı afinitesi iyonik güce bağlı olarak değişir. Ham sinoptozomal preparasyonlarda (hem zara bağlı ve hem de erimiş ChAT içeren homojenatlar) ChAT koline karşı afinitesi (K_m) 22-540 μM arasında

bulunmuştur (12). Bu veriler sinir ucundaki ChAT'nin normal fizyolojik koşullarda substratları ile doyurulmamış olduğunu göstermekte ve her iki substratın düzeyindeki artışlar ile asetilkolin sentezindeki artışı (aşağıya bakınız) açıklamaktadır.

2.a.2. Asetilkolin sentezi için kullanılan kolin'in kaynakları

Vücutta asetilkolin sentezinde kullanılan serbest kolinin bilinen 4 kaynağı vardır. Bunlardan ilki ve en önemlisi dolaşımdaki kolinidir. Erişkin bir insanda plazma veya serumdaki serbest kolin düzeyin 6-24 saatlik açlık sonrası 10 μM civarında olup, bu düzeylerde oldukça iyi şekilde muhafaza edilir. Serum ya da plazma düzeyi yemek sonrası alınan gıdalardaki kolin miktarına göre 50-60 μM (13, 14) kadar yükselebilir. Bazal plazma serbest kolin düzeyi (~10 μM) bir hafta aç bırakılan (15) ya da 3 hafta kadar kolinden fakir diyetle (50 mg/günlükten daha düşük kolin içeren diyet) beslenen erişkin insanlarda %20-30 oranında bir azalmayla 6-7 μM düzeylere düşebilir (16).

Diyetle ek olarak serumdaki (plazmadaki) serbest kolin düzeyi çeşitli fizyopatolojik durumlarda da (bebeklik, gebelik, emzirme dönemleri, böbrek yetmezliği, hemodiyaliz, maraton koşma, cerrahi stres-travma gibi) değişmektedir. Gebelik döneminde kolin düzeyi tedrici bir yükselme gösterir ve doğuma yakın dönemde 15-25 μM kadar ulaşır (17). Doğum sonrası ise kısa süreli (24-72 saat gibi) düşmeyi takiben bebeklerini emziren annelerde serum kolin düzeyleri 20 μM civarında yüksek olarak kalır (17). Yeni doğanlarda serum serbest kolin düzeyi erişkinin 2-3 kat yüksek olup 20-60 μM kadardır (17, 18). Bu yüksek düzey ilk 2-3 yaş içinde yavaş yavaş erişkinlerdeki düzeylere doğru düşmektedir (18).

Kronik böbrek yetmezliği olan diyaliz hastalarında serum serbest kolin düzeyleri normalden (~10 μM) 2-6 kat kadar yüksektir (19-22). Hastalık süresi uzadıkça serum serbest kolin düzeyi de artar (19). Hemodiyaliz sırasında kısa süre ile (2-3 saat gibi) düşme olsa bile diyaliz seansının sonunda başlangıç düzeylerine döner (19). Periton diyalizi sırasında ise diyaliz sıvısına bol olarak serbest kolin geçer (20). Ancak serum kolin düzeylerinde bir değişme görülmez (20).

İnsanda serum serbest kolin düzeyleri cerrahi işlem sırasında ve sonrasında cerrahi işlemin büyüklüğüne göre, 24-96 saat süre ile %20-45 oranında düşer (23-26). Bu fenomen cerrahi stres yanıtının bir parçası gibi görünmekte olup, kolin düzeylerinde düşme kortizol, ACTH, prolaktin, β -endorfin gibi stres hormonlarının dolaşımdaki yükselmeleri ile ters yönde ve yüksek oranda ilişkilidir (24). Cerrahi stres sırasındaki düşme şiddeti ve geri gelme süresi cerrahi işlemin büyüklüğüne ve türüne göre değişir. Örneğin; serum kolin düzeyi sezeryanla doğum yapan ya da transüretral prostektomi geçirenlerde 24-48 saatte geri dönerken (25), büyük karın cerrahilerinde 72 saatte, koroner bypass cerrahisi geçirmiş ya da beyinden tümör çıkarılmış hastalarda normal düzeylere geri dönüş 96 saate kadar uzayabilmektedir (26). Cerrahi stresse bağlı serum kolin düzeyinde düşme köpeklerde de görülmekte olup metilprednizolon tedavisi ile taklit edilebilmektedir (27).

Sıçanlarda ise, ne cerrahi stres ve ne de kortikosteroidle tedavi böyle bir etki göstermektedir (27).

Maraton koşanlarda da plazma kolin düzeyleri düşmektedir (28, 29).

Yukarda açıklanan cerrahi stres bulguları ile biraz ters gibi görünmekle beraber akut koroner sendrom geçiren hastalarda da kan serbest kolin düzeyinin anlamlı düzeylerde yükseldiği bildirilmiştir (30).

Asetilkolin sentezinde kullanılan serbest kolin'in diğer en önemli kaynağı zar fosfolipidlerinin başlıcalarından olan fosfatidilkolin'dir (phosphatidylcholine; PC). PC fosfolipaz [fosfolipaz D (PLD) ve Fosfolipaz C (PLC)] enzimlerinin etkisi ile hidrolize olurken serbest kolin oluşur (31-33). Örneğin; PLD etkisi ile PC'de DAG ve fosfokolin oluşur ve takibinde fosfokolin serbest koline dönüşür (31-33). PLC aktivasyonu ile ise PC'den fosfatidik asid ve serbest kolin açığa çıkar. Bu enzimlerin aktiviteleri nörotransmitterlerce ve diğer bazı biyolojik sinyallerin etkisi ile gayet sıkı şekilde kontrol edilir. O nedenle bir çok nörotransmitter PC'den serbest kolin oluşumunu etkiler. PC'den serbest kolin saliverilmesi nöronal depolarizasyon sırasında da artar (34). Yine serbest kolin'in membran fosfolipidlerine geçişi de nöronal uyarılma döneminde azalır (35). Kolinergik nöronlara uyarılma döneminde yeterli serbest kolin gelmeyince asetilkolin sentezi için gerekli kolin membran yapı taşı olan PC'den alınır ve bu eğer uzun sürerse membran yıkımı ortaya çıkar. Bu fenomen "otokannabilizm" olarak adlandırılmış ve kolinergik nöronların bazı nörodejeneratif hastalıklarda (Alzheimer hastalığı gibi) zedelenmeye aşırı duyarlılığın mekanizması olarak ileri sürülmüştür (34, 36). Aşırı ve devamlı bir nöronal uyarılma sırasında zardaki PC'den serbest kolin oluşmasının ve sonunda membran yıkımı ve azalmasının mekanizmasının oradaki yerel iyon düzeyi değişikliklerinden mi ve/veya bazı nörotransmitterlerin etkisi ile mi olduğu tam bilinmemektedir. Ancak bunun asetilkolin sentezi için serbest kolin ihtiyacından kaynaklandığı ve ortama yerli serbest kolin verildiğinde PC ve zar yıkımın önlendiği ve asetilkolin sentez ve saliverilmesin uyarılabildiği gösterilmiştir (34).

Asetilkolin sentezi için kullanılan serbest kolinin diğer bir önemli kaynağı, sinaptik aralığa saliverilen nörotransmitter asetilkolin'in enzimatik hidrolizi ile oluşan serbest kolindir. Asetilkolin sinaptik aralığa saliverildiğinde çok hızlı bir şekilde asetilkolinesteraz enziminin (EC 3.1.1.7; AChE) asetat ve serbest kolin'e hidrolize olur. AChE kolinergik sinirlerde sentez edilir ve sinaptik aralıkta çok yoğun biçimde bulunur. Bu nedenle sinaptik aralığa saliverilen asetilkolinin nerede ise tamamı burada milisaniyelerle sınırlı bir zaman diliminde hidrolize olur ve asetat ile serbest kolin'e dönüşür. Kolinergik sinir uçlarında asetilkolinden oluşan serbest kolini nörona taşıyan çok etkin bir taşıma mekanizması [yüksek afiniteli kolin taşıyıcısı; (CHT)] vardır. Bu nedenle sinaptik aralıkta oluşan serbest kolin nörona alınarak ya asetilkolin sentezinde yeniden kullanılır ya da fosforile olarak PC yapımına katılır (34).

Asetilkolin sentezi için kullanılan serbest kolinin diğer bir kaynağı fosfatidiletanolamin (PE) bir enzimatik reaksiyonla üç metil

gurubu eklenerek PC dönüşmesi yoluyla olur (37). Bu reaksiyonda önce fosfatidiletanolamine-N-metiltransferaz (EC: 2.1.1.17; PEMT1) PE'ye azotuna bir metil gurubu ekler (37). Takiben ikinci enzim (EC: 2.1.1.71; PEMT2) ikinci metil gurubunu ve üçüncü metil guruplarını ekler ve PC oluşur (37). Oluşan PC'den de yukarıda açıklandığı gibi fosfolipaz enzimlerinin etkisi ile serbest kolin oluşabilmektedir. Bu yeni PC sentezi (takiben serbest kolin sentezi) daha çok karaciğerde olur. Diğer dokularda ve özellikle beyinde çok düşük bir kapasiteyi temsil eder.

2.a.3. Kolin'in kolinergik nöronlara taşınması

Kolinergik nöronlara kolin başlıca olarak iki farklı kolin taşıyıcı (CHT) sistemle alınmaktadır. Bunlardan ilki, doyurulabilir, sodyuma ve enerjiye bağımlı, yüksek afiniteli ve hemikolinium-3'e (HC-3) duyarlı CHT sistemidir (38-40). Bu taşıyıcının koline K_m değeri 0,1-10 μ M kadardır (38-40). Bu taşıyıcı sistemle kolin taşınması HC-3 tarafında yarışma yoluyla ($K_i = 10-100$ mM) edilir ($K_i = 10-100$ μ M) bloke edilir (38-40).

Yüksek afiniteli CHT protein molekül ağırlıkları 58 ve 35 kDa kadar olan iki polipeptid zincirinden oluşmuştur ve 13 membran geçiş bölümü bulunmaktadır (41, 42). Bu taşıyıcı CHT1 olarak bilinir, sodyuma bağımlı glüköz taşıyıcı protein ailesinden sayılır ve SLC5A7 olarak da adlandırılır (41, 42). CHT1 karşı hazırlanmış antikorla yapılan çalışmalarda CHT-immünoreaktif hücrelerin sıçan ve insan beyinde yaygın olduğu gösterilmiştir. CHT1 glia hücrelerinde olmamakla beraber periferde motor nöronlarda, parasempatik nöronlarda ve nöron dışı bazı hücrelerde de bulunmaktadır (41-43).

Nöronlarda CHT1, immunoreaktivitesi gövdede proksimal dentritlerde, aksonlarda ve özellikle de akson uçlarında bulunmaktadır (44, 45).

CHT1 aktivitesi ve kolin taşıma kapasitesi nöronal uyarılma ile değişebilmektedir. Elektriksel ya da farmakolojik olarak kolinergik nöronlar uyarılır ise, CHT1 kolin taşıma kapasitesi artar (46).

İkinci önemli CHT sistemi sodyumdan bağımsız, enerji gerektirmeyen, yüksek kapasiteli ve düşük afiniteli taşıma sistemidir (38, 47). Vücutta nöronal ve nöron dışı dokularda yaygın olarak bulunur. Kolin'e karşı afinitesi düşüktür ve K_m değeri 30-100 μ M kadardır (38, 47). Bu taşıyıcı da HC-3 tarafından inhibe edilirse de bunun için daha yüksek HC-3 düzeyleri ($K_i = 40-100$ μ M) gerekir. Düşük afiniteli CHT sistemi "kolin taşıyıcı benzeri protein (choline-transporter-like proteins (CTL) ailesindedir ve bugün için 5 alt (CTL1-CTL5) bulunmaktadır (48). CTL1, 50 ve 23 kDa molekül ağırlığında iki polipeptid içerir ve membranda yerleşik bir proteindir. CTL1'nin 10 transmembran üniti vardır (48).

Bu iki kolin taşıyıcı sisteme ek olarak OCT proteinlerinden bir üçüncü bir kolin taşıma sisteminin (OCT1 ve OCT2) düşük afinite ile kolin taşınmasında rolü olduğu ileri sürülmüştür (49). Örneğin OCT1 karaciğerde, OCT2'nin ise böbreklerde düşük afinite ile ($K_m = 210$ μ M) kolin taşınmasında rolü vardır (49).

2.a.3. Kolin'in beyinde asetilkolin sentezi ve saliverilmesine etkileri

Dolaşımdaki kolin beyne iki yolla geçer (50, 51). Esas olarak kolin kandan beyin ekstrasellüler ortamına, kan beyin bariyerinden (KBB), iki yönlü olarak işleyen kolaylaştırılmış difüzyonla geçer (50, 51). Bu işlem beyin kapillerinin endotelinde yerleşik proteinlerce sağlanır (50,51). Taşınma iki yönlüdür. Enerjiye ihtiyaç göstermez. Sodyumdan bağımsızdır ve HC-3 ile bloke edilebilir (50, 51).

Kan beyin bariyerinden kolin taşıyıcı protein koline afinitesi (K_m) *in vivo* koşullarda 220-450 μM kadar belirlenmiştir (50). *In situ* beyin perfüzyon teknikleri ile ise K_m değeri daha düşük 39-42 μM kadar bulunmuştur (50). Her durumda da KBB taşıyıcı sistem bazal kolin düzeyleri (~10 μM) ile doyurulmuş değildir. Kolinin kandan-beyne-kana geçişi iki yönlü olduğu için, bazal kolin düzeylerinde beyinden gelen kanda kolin düzeyi giden kandan daha yüksek bulunmuş ve beyinden dolaşıma serbest kolin geçişi olduğu gösterilmiştir (52). Plazma kolin düzeyi ~15 μM düzeyine ulaştığında ise iki yönlü akış eşitlenmekte ve 15 μM üstündeki düzeylerde ise beyne net kolin girişi olmaktadır (52). Serum kolin düzeyleri kolinden zengin diyetle beslenmeyi takiben ya da kolin tedavisi 300-500 μM düzeylere kadar yükseltilmektedir (13, 53-57). Bu koşullarda beyne net kolin girişi olmakta ve beyin ekstrasellüler ortamında kolin düzeyleri artmaktadır (52).

KBB taşınmaya göre çok daha az miktarda kolin, kandan beyin omurilik sıvısına (BOS) ve oradan da beyne koroid pleksusda hücrelerinde yerleşik "organik katyon taşıyıcısı 2" (OCT2) aracılığı ile kolaylaştırılmış diffüzyonla da taşınır (54). Bu taşınma KBB olduğu gibi iki yönlü bir taşınmadır. Genel dolaşımda kolin düzeyini arttırıcı girişimler ya da BOS içine doğrudan kolin ya da kolin bileşiklerin zerki de hem BOS içinde ve hem de beyin ekstrasellüler ortamında serbest kolin düzeyinde belirgin yükselmelere neden olur (58).

Beyinde serbest kolin düzeyini arttırıcı yaklaşımlar (diyet ile ya da farmakolojik yöntemlerle kolin ya da kolin bileşikleri ile tedavi) beyinde kolinerjik nöronlarla zengin innervasyonu olan bölgelerde asetilkolin sentezinin hızlanmasına, asetilkolin düzeyinin yükselmesine (4, 5), asetilkolin saliverilmesinin artmasına (34, 59, 60) neden olur. Kolin tedavisi kolinerjik sinirlerin etkisi altındaki diğer nöronlarda kolinerjik nörotransmisyonun yükseldiğini gösteren değişikliklere yol açar (6). Kolin tedavisi ile beyinde asetilkolin sentezi ve düzeyinin arttırılabileceği ilk kez 1975 yılında gösterilmiştir (4, 5). Sıçanlara periton içi yolla kolin klorür (30-120 mg/kg) zerki ile (4) ya da kolinden zengin diyetle besleme sonrası (5) beyin kolinerjik innervasyonu çok zengin olan korpus striatum bölgesinde asetilkolin düzeyleri yükselmiştir. Periton içi yolla kolin tedavisi ile korpus striatumda asetilkolin düzeyindeki yükselmenin bu kolinerjik sinirlerle innerve edilen dopamin nöronlarına spesifik tirozin hidroksilaz enziminde aktivite artışına yol açtığı gösterilmiştir (6). Sonraki yıllarda korpus striatumda kolin düzeyi değişikliklerine bağlı olarak asetilkolin sentez ve saliverilmesindeki artışlar hem *in vivo* tekniklerle [*in vivo* mikrodializ yöntemi gibi(59, 60) ve hem de *in vitro* yöntemlerle (beyin dilimleri perfüzyon tekniği ile) gösterilmiştir (34). *In vivo* beyin

mikrodializ ve beyin dilimleri perfüzyon çalışmaları ile korpus striatum ek olarak kolinerjik innervasyonu zengin korteks ve hipokampus gibi diğer beyin bölgelerinde elde edilen beyin dilimleri çalışmalarında ortamdaki kolin düzeyi ile bağlantılı bir şekilde asetilkolin sentez ve saliverilmesinin arttırıldığı açık şekilde gösterilmiştir (34, 61, 62). Kolin ile hem bazal ve hem de uyarılmış koşullar altında asetilkolin sentezinin arttığı gösterilmekle beraber, özellikle elektrikle (34) ya da yüksek potasyumla (62) uyarılma koşullarında kolin'in sentezi arttırıcı etkisinin belirginleştiği saptanmıştır (34, 62).

2.a.4. Kolin'in otonomik sempatik sistemde asetilkolin sentez, saliverilme ve kolinerjik nörotransmisyon etkileri

Sıçanlara oral yolla (mide gavajı ile) kolin verilmesi (20 mmol/kg) adrenal asetilkolin düzeylerini 8 saat 2 kat kadar arttırmıştır (63). Bu artışa TOH aktivitesinde %30 kadarlık bir yükselme eşlik etmektedir (63). Oral kolin tedavisinin arka arkaya 4 gün devam edilmesi enzim artışını şiddetlendirerek %50-60 çıkarır (63). Oral kolin tedavisi ile benzer artışlar üst servikal, stellate ve söliak ve torasik sempatik ganglionlarda da görülmektedir (63). Kolin yerine ağızdan su, tuzlu su ya da amonyum klorür tedavisi ile TOH artışı gözlenmemektedir. Önceden sikloheksimit gibi protein sentez inhibitörü bir madde kullanılması ile koline bağlı TOH artışını önlenmektedir (63). Koline bağlı TOH artışı pre-ganglionik kolinerjik sinirleri kesilmiş denerve adrenal glanda ve desentralize üst servikal ganglionda görülmemektedir (63). Bu bulgular topluca incelendiğinde, kolin tedavisi sonrası adrenal glandda ve sempatik ganglionlardaki TOH aktivitesi artışının pre-ganglionik kolinerjik sinirlerde asetilkolin sentez ve saliverilme artışı [asetilkolin düzeyi artmakta (63) ve etki sinirler kesilince önlenmekte (63)] sonucu ganglionik kolinerjik transmisyonunda yükselme sonucu post-ganglionik katekolamin nöronlarında TOH protein sentezi uyarılması ile [sikloheksimit ile önlenmektedir (63)] olduğunu göstermektedir. Kolin tedavisi ile otonomik sempatik ganglionlarda asetilkolin sentezi ve saliverilmesinin artışına bağlı olarak kolinerjik nörotransmisyonun da artma olduğu görüşü ek bazı deneylerle de güçlendirilmiştir (64-66). Sıçanlar reserpin (2,5 mg/kg, i.p, 4 gün (64), fenoksibenzamin (20 mg/kg, i.p., 4 gün) veya insulin (2 unite/sıçan, i.p., 4 gün) ya da 6-OHDA (200 mg/kg, i.p., 48 sat ara ile 2 defa) tedavisi ile adrenal gland TOH aktivitesi artmaktadır (64-66). Merkezi yolla pre-ganglionik kolinerjik uyarı akışını arttırarak ve adrenal glandda TOH indüksiyona yola açan bu tedaviler ile oral kolin tedavisi (20 mmol/kg, 4 gün) kombine edildiğinde, adrenal gland TOH aktivitesindeki artışların tek başlarına tedavi ile elde edilen artışların toplamından çok daha yüksek olduğu ve etkinin şiddetlendiği gösterilmiştir (64-66). Tedaviye bağlı olarak TOH artışının kolin ile şiddetlendirilmesi soğukta tutulan sıçanlarda da gözlenilmiştir (66). Kolin tedavisi sonrası artışı sempato-adrenal sisteme giden kolinerjik nörotransmisyon yükselmesine sonucu dolaşımdaki ve idrardaki katekolamin düzeyleri de artmaktadır (67).

Klasik kedi superior-servikal ganglion perfüzyon çalışmalarıyla perfüzyon ortamındaki serbest kolin düzeyi ile uyarılmaya bağlı ortama saliverilen asetilkolin arasında paralellik bulunamamıştır (68). Bununla beraber, eğer üst servikal ganglion 10-14 μM kadar

kolin içeren plazma ya da Locke solüsyonu ile perfüze edilirse 1 saat içinde ortama salıverilen asetilkolin miktarının kolin içermeyen Locke solüsyonu ile perfüze edilen ganglionlara göre 2 kat kadar yüksek olduğu da gösterilmiştir. Ayrıca kolin içermeyen Locke solüsyonu ile perfüze edilen ganglionlarda doku asetilkolin düzeyin de kimsen düştüğü buna karşın kolin ile perfüzyonda bu düşmenin olmadığı saptanmıştır. Kolin içermeyen Locke solüsyonu ile perfüze edilen kedi üst servikal ganglionlarında pre-ganglionik kolinerjik sinirler uyarılırsa ganglionda, beyin dilimlerinde olduğu gibi (63), PC düzeylerinin düştüğü (69, 70), ortama kolin eklenmesi ile PC yıkılımının önlediği gösterilmiştir (69, 70).

2.a.5. Kolin'in otonomik parasempatik sistemde asetilkolin sentez, salıverilme ve kolinerjik nörotransmisyon etkileri

Kolin'in parasempatik nöronlarda asetilkolin sentezine ve salıverilmesine etkisi *in vivo* (55, 71, 72) ve *in vitro* yöntemlerle izole kalp (73), atrial (74) ve pankreatik (55) homojenatları kullanılarak incelenmiştir. Deri altı (200 mg/kg) ya da periton içine (90 mg/kg) kolin tedavisi sıçanlarda pankreasta asetilkolin düzeyini arttırmaktadır (55). Pankreas dokusunda koline (90 mg/kg, i.p.) bağlı asetilkolin düzeyi artışı (55) bu dokuda kolinerjik nörotransmisyon artışı ile beraber olup insulin (55) ve glukagon (75) sekresyonunu uyarmaktadır.

Kolin infüzyonu (10 μ M) vagus sinirin elektrikle uyarılmasının yol açtığı asetilkolin salıverilmesini izole civciv kalbinde 2-3 kat, kedi kalbinde ise 23 kat kadar arttırmıştır (73). Perfüzyon ortamında 10 μ M kolin bulunması izole civciv, kedi, sıçan, kedi ve kobay kalbinde elektrikle uyarılmanın yol açtığı asetilkolin çıkışı 2-3 kat arttırmaktadır (73). Kolin (1-100 μ M) atrial homojenatlarda asetilkolin sentez ve salıverilmesini konstarasyona bağlı olarak arttırmaktadır. Benzer şekilde, pankreatik homojenatlarda asetilkolin salıverilmesi ortamdaki kolin düzeyine (10-130 μ M) bağlı olarak artmaktadır (74).

2.a.6. Kolin'in motor sinirlerde asetilkolin sentez, salıverilme ve kolinerjik nörotransmisyon etkileri

Kedilerde intravenöz yolla zerk edilen kolin'in (7 mg/kg) nöromüsküler nörotransmisyonu arttırdığı uzun süre önce gösterilmiştir (75). Benzer şekilde intravenöz kolin (3-60 mg/kg) külar ile bloke edilmiş nörotransmisyonu kimsen ya da tamamen geri döndürebilmektedir (75). İzole perfüze sıçan frenik sinir-yarı diyafram preparatında perfüzyon ortamına eklenen kolin (30-60 μ M) asetilkolin çıkışı anlamlı olarak arttırmaktadır (76,77).

2.b. Asetilkolin reseptörlerinin agonisti olarak kolin

Geçen yüzyılın başlarından itibaren son çeyreğine kadar bir çok çalışmada kolin'in bazı periferik dokularda (75, 78-82), istemli kaslarda (75) ve otonomik ganglionlarda (79-82) "muskarin benzeri" ve "nikotin benzeri" etkilere sahip olduğu ve bu etkiler bakımından da asetilkolin'e göre 1/714-1/20.000 daha zayıf güce sahip olduğu bildirilmiştir. Yüzyılın son çeyreğinde kolin'in nörotransmitter asetilkolin sentez ve salıverilmesini ve kolinerjik nörotransmisyonu arttırıcı etkileri gösterilince bu etkilerin kolin'in kolinerjik reseptörlere olan direk agonistik etkileri ile bağlantılı

olabileceği ileri sürülmüştür. O nedenle son 25-30 yıl içinde kolinin Kolinerjik reseptörlere olan etkileri çeşitli yöntemlerle (biyolojik yöntemler, ligand bağlama teknikleri ve "patch clamp" gibi) yürütülen çalışmalarla, yeniden ve daha ayrıntılı şekilde, incelenmiştir. Bu fonksiyonel reseptör bağlama çalışmalarından elde edilen verilere göre kolin yeterince yüksek konsantrasyonlara ulaştığında muskarinik asetilkolin reseptörleri (mAChR) ve nikotinik asetilkolin reseptörlerini (nAChR) ile etkileşerek agonistik etkiler oluşturabilmektedir.

Kolin mAChR doğrudan agonistik etki ile beyin kortikal nöronlarını uyarır (83), sıçan izole mide fundusu ($EC_{50} = 410 \mu$ M), trakeası ($EC_{50} = 1700 \mu$ M) ve mesane ($EC_{50} = 10900 \mu$ M) ve kobay ileumu ($EC_{50} = 200-600 \mu$ M) düz kaslarını kasar; izole sıçan ve kobay sağ atriyumunda spontan vuruş sayısını azaltır (53). Kolin kobay ileumunda myenterik pleksus-longitudinal düz kas preparatında elektrikle uyarılmış asetilkolin salıverilmesini muskarinik reseptörleri uyararak baskılar ($EC_{50} = 300 \mu$ M). Kolin beyinde (84) ve çeşitli periferik dokulardaki (53) muskarinik reseptörlere 3 H-kuiniklidinil bağlanmasını önler. Kolin'in 3 H-kuiniklidinil bağlanmasını inhibe edici potansi beyinde ($K_i = 460-3500 \mu$ M) ve periferik dokularda ($K_i = 280-1170 \mu$ M) ciddi farklar gösterir. Kolin'in çeşitli dokulardaki gerek fonksiyonel ve gerekse reseptör bağlanma çalışmalarında ortaya çıkan ve 20 katına kadar varan bu potens farkları bu maddenin mAChR subtiplerine olan afinite farkından kaynaklanabilir. Bugünkü bilgilerimize göre mAChR göre farmakolojik olarak 5 alt tipe (M1-M5) sahiptir. Kolin'in bu beş mAChR alt tipine yönelik direk agonistik gücü ile ilgili ayrıntılı çalışmalar olmamakla beraber, kolin'in insan mutant M1 reseptörlerine agonistik etki ($EC_{50} = 200 \mu$ M) ile fosfatidil inositol hidrolizine yol açtığı (85) ve klonlanmış insan M1 reseptörlerini 10-1000 μ M konstarasyonlarda uyararak nitrik oksit sentezini ve hücre içi iyonize kalsiyum düzeyini yükselttiği gösterilmiştir (86).

Kolin damar yolu ile perfüze edilen izole adrenal bezden (53) ve sıçır adrenal medullası primer kromafin hücre kültürlerinden (87) nikotinik agonistik etki ile katekolamin sekresyonuna neden olur (53, 87). Kolin beyin ve periferik dokulardan hazırlanan membran preparasyonlarına radyoaktif nikotin (3 H-L-nikotin) bağlanmasını inhibe eder. Kolin'in bu 3 H-L-nikotini nAChR bağlanmasını önleme gücü beyinde 3 kat ($K_i = 380-1170 \mu$ M) periferik dokularda ise 1,5 kat (580-810 μ M) kadar değişkenlik gösterir (53). Kolin'le gözlenen bu potens farkları kolin'in nAChR alt tiplerine olan etki farklarından kaynaklanabilir. Nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChRs) 17 farklı alt unitin beşli olarak bir araya gelmesinden oluşan ve bu beşli (pentamerik) yapının ortasında iyon kanalı bırakan reseptörlerdir. Başlıca olarak kas tipi ve nöronal tip olmak üzere ikiye ayrılırlar. Nöronal tip nAChR ise 12 farklı sub unitin homomerik ya da heteromerik olarak bir araya gelmesi ile oluşur. Kolin'in homomerik $\alpha 7$ nAChR "selektif agonisti" olarak değerlendirilen bazı çalışmalar (88) olsa da bu farmakolojik yönden doğru bir tanımlama değildir. Bugün kolin'in çeşitli nöronal nikotinik reseptöre alt tipleri ile "tipi özgü" ve "konsantrasyona bağımlı" şekilde etkilediği bu reseptör işlevlerinde uyarılmaya, duyarsızlaşmaya, blokaja ve duyarlılaşmaya yol açabildiği anlaşılma-

dır (89). Örneğin kolin 100-10000 μM konsantrasyonlarında $\alpha 7$ reseptörlerde "tam agonist", $\alpha 3\beta 4$ nAChR (88-90) $\alpha 3\beta 4^*$ (89, 90) ve $\alpha 4\beta 4$ nAChR (89, 90) ise "kısmi agonist" gibi hareket eder. Kolin daha düşük konsantrasyonlarda (10-100 μM) $\alpha 7$ reseptörleri duyarısızlaştırırken (desensitize eder) $\alpha 3\beta 4^*$ (89) ve $\alpha 4\beta 2^*$ (89) nAChR 10-300 μM konsantrasyonlarda inhibe eder. Kolin 10-300 μM konsantrasyonlarda asetilkolinin $\alpha 4\beta 4$ nAChR aracılığı ile olan etkiyi arttırırken daha yüksek konsantrasyonlarda (1000-30000 μM) bloke eder (91).

2.c. Asetilkolin'in yıkım ürünü olarak kolin

Sinaptik aralığa saliverilen asetilkolin hızlı bir şekilde asetat ve serbest kolin'e hidrolize edilir. Bu işlem nörotransmitter asetilkolin'in fizyolojik etkilerinin ortadan kalması ile sonuçlanır. Asetilkolin hidrolizini sağlayan enzim asetilkolinesteraz (EC 3.1.1.7; AChE) sinaptik bölgede çok yoğun olarak bulunur. AChE nöronda sentez edilir ve nöron depolarize olduğunda asetilkolin ile beraber sinaptik aralığa saliverilir. Asetilkolin hidrolizi ile oluşan serbest kolinin önemli bir kısmı yüksek afiniteli uptake sistemi ile Kolinerjik sinir uçlarına gerei alınarak asetilkolin sentezinde tekrar kullanılır. Ayrıca yukarıda açıklandığı üzere kolin konsantrasyonuna bağlı olarak nAChR alt tiplerine etkileşerek bu reseptörlerin duyarlılıklarını değiştirebilir. Dolayısı ile asetilkolin hidrolizi ile oluşan serbest kolin sinaptik aralıkta reseptörler düzeyinde ulaştığı konsantrasyona göre özellikle nAChR aktivitesini-duyarlılığını modüle edebilir.

3. Kolin ve kolin bileşiklerinin farmakolojik etkileri

Kolin tedavisi çeşitli fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal etkiler neden olabilmektedir. Bu etkilerin önemli bir kısmı kolin'in nörotransmitter asetilkolin sentez ve saliverilmesini uyarak kolinerjik nörotransmisyonu arttırması ile bağlantılı olabileceği gibi muskarinik ve nikotinik asetilkolin reseptörlere kolinerjik reseptörlere agonistik etkilerinden kaynaklanmış olabilir. Uzun süreli tedavilerde ise kolinin membran fosfolipid sentezine etkilerinin de (sinaptोजenezini arttırmak gibi) katkıları düşünülebilir.

3.a. Kolin ve kolin bileşiklerinin kardiyovasküler etkileri

Ven içi ya da periton içi yolla zerk edilen kolin insanda ve deney hayvanlarında kan basıncında düşmeye yol açar (92-95). Oral kolin kan basıncını sıçanlarda değiştirmezken (96), bazı Alzheimer hastalarında hipotansiyon yaptığı bildirilmiştir (97).

Anestezi altındaki köpeklerde serebroventriküler yolla zerk edilen kolin (8 mg/köpek) önce kısa süreli (10-15 dakika süreli) yükselmeye (60-90 mm Hg) ve daha sonra bir saat kadar süren düşmeye (15-20 mm Hg) neden olur (98). Sıçanlarda da sisterna içine (12.5-50 μg) ya da dorsal medullaya (1-3 μg) kolin zerki kan basıncını düşürür (99, 100). Bunun yanında serebral yan ventriküle koline (50-150 μg /sıçan) zerki ise kan basıncını 5-20 dakika süreyle yükseltir ve kalp hızını da 10-60 dakika kadar yavaşlatır (101-104). Merkezi yolla kolinin kan basıncına olan etkilerinde hem muskarinik ve hem de nikotinik asetilkolin reseptörlerin aracılığı bulunmaktadır (102-104).

Merkezi ve periferik yolla verilen kolin akut hemoraji ile oluşturulan şokta kan basıncını tamamen ya da kısmen geri döndürür ve şoku düzeltir (105-109). Kas içine üç gün süreyle kolin zerk edilmiş sıçanların akut hemorajik hipotansiyona ve şoka dirençleri artar ve şoktan kurtulma oranı artar (105). Akut kontrollü kanatmaya (5-10 dakika içinde 2,0-2,1 ml/kg kan alımı) maruz bırakılan sıçanlarda periton içi yolla verilen kolin (60 mg/kg) başlangıçtan 40-60 mm Hg kadar düşmüş kan basıncını 5-20 dakika içinde tama yakın bir şekilde düzeltirken (106), ven içine hızla (5-10 saniye içinde) zerk edilen (54 mg/kg) kolin kan basıncını daha da düşürerek ölüme neden olabilmektedir (95). Serebral yan ventriküle zerk edilen kolin (25-150 μg /sıçan) akut kontrollü kanatmaya (5-10 dakika içinde 2,0-2,1 ml/kg kan alımı) maruz bırakılan anestezi edilmemiş sıçanlarda kan basıncını doza bağlı olarak arttırmakta ve oluşan kan basıncı düşüklüğünü düşük dozlarında bile (50 μg /sıçan gibi) tamamen düzeltebilmektedir (106-109). Serebral yan ventriküle zerk edilen kolin (25 mg/sıçan) nalokson ve glisil-glutamin'in kan basıncı yükseltici etkilerini arttırır (110). Merkezi kolin'in hemorajik şokta kan basıncını düzeltici etkileri merkezi nikotinik asetilkolin reseptörlerinin pre-sinaptik mekanizma ile (asetilkolin sentez ve saliverilmesinin uyarılması) vazopressin ve katekolamin saliverilmesinin arttırılmasına bağlı olduğu görülmektedir (105-109).

Merkezi yolla (serebral yan ventrikül) verilen kolin (50-150 μg /sıçan) kolin hemorajik hipotansiyonu düzelttiği gibi, sıçanlarda spinal kesi ile oluşan şoku (hipotansiyonu) da merkezi nikotinik asetilkolin reseptörlerini pre-sinaptik mekanizma ile (asetilkolin sentez ve saliverilmesinin arttırılması) uyarak vazopressin ve sempato-adrenal sistem aracılığı ile düzeltir (111). Periferik α -adrenoseptör ya da otonomik ganglion blokajı ile ortaya çıkan hipotansiyon serebral yan ventriküle zerk edilen kolin (50-150 μg /sıçan) tarafından vazopressin aracılığı ile etkin bir şekilde düzeltilir (112). Kolin (50-150 μg /sıçan, serebral yan ventrikül) 6-hidroksidopamin zerki ile oluşturulan kimyasal sempatektominin yol açtığı hipotansiyonu da düzeltir (113).

Merkezi ve periferik kolin endotoksin şokunda da kan basıncını düzeltici ve anti-şok etkiye sahiptir (bu konu aşağıda daha detaylı olarak ayrıca tartışılacaktır).

3.b. Kolin'in endotoksin şokunda ve septik şokta koruyucu etkileri

İntravenöz kolin infüzyonu (20 mg/kg) köpek endotoksin şok modelinde endotoksinin (0,2 ve 1 mg/kg) yol açtığı çoklu organ (karaciğer, böbrek ve kalp gibi) hasarını baskılar (114). Sıçanlarda da endotoksine (5 mg/kg) bağlı hepatik ve renal hasar periton içine kolinle (90 mg/kg) azaltılır (114). Kolinden zengin diyetle beslenen sıçanlarda da endotoksin'in (2,5-20 mg/kg) yol açtığı karaciğer hasarı önlenir (115). Köpeklerde ve Sıçanlarda endotoksinin yol açtığı hiperlipidemi azaltılır (116). Köpeklerde kolin infüzyonu (20 mg/kg, i.v.) endotoksinin (1 mg/kg, i.v.) yol açtığı trombosit fonksiyon bozukluklarını düzeltir (117). Yan serebral ventriküle zerk edilen kolin (150 μg /sıçan) sıçanda endotoksinin (10 mg/kg; i.p.) yol açtığı hipotansiyonu düzeltir (118).

Sıçanlarda periton içine zerk edilen koline (90 mg/kg; 4 saat ara ile 3 defa) ya da kolinden zengin diyetle 3 gün beslenme endotoksinin (5-10 mg/kg; i.p.) yol açtığı ölümden koruyucu etki gösterir (115, 116). Farelerde kolin (5-25 mg/kg; i.p.) lethal endotoksine (6 mg/kg; i.p.) ya da polimikrobial septik şokuna bağlı ölümleri azaltır (119).

Periferik kolin'in anti-endotoksin etkilerinde periferik nikotinik asetilkolin reseptörleri uyarılmasının aracılığı var görünmektedir (117, 119). Serebral yan ventriküle verilen kolin'in endotoksik şoktaki kan basıncını düzeltici etkisinde ise, merkezi nikotinik asetilkolin reseptörleri uyarılmasının aracılığı ile vazopressin katekolamin artışı rol oynamaktadır (118)

3.c. Kolin ve kolin bileşiklerinin anti-inflammatuvar etkileri

Kolin köpeklerde (20 mg/kg; i.v.) ve farede (50 mg/kg; i.p.) endotoksinin yol açtığı sistemik inflammatuvar yanıt göstericisi olan proinflammatuvar sitokin tümör nekrozis-alfa'nın (TNF- α) dolaşımında düzeyindeki yükselmesini baskılar (114, 119). Kolinden zengin diyet ile beslenen sıçanlarda da endotoksine bağlı serum TNF- α düzeyi yükselmesi baskılanır (115). *In vitro* koşullarda kolin (10.000-50.000 μ M konsantrasyonlarda) fare makrofaja-benzer hücrelerden endotoksinin yol açtığı TNF- α salıverilmesini baskılar (119). Kolin *in vitro* koşullarda insan tam kanında endotoksin (10 ng/ml) ile uyarılan TNF- α salıverilmesi yüksek konsantrasyonda (50.000 μ M) anlamlı olarak baskılar (119). İnsan periferik kan mononükleer hücre kültürlerinden de endotoksine bağlı TNF- α salıverilmesi kolin (1.000 μ M) tarafından bloke edilir (119). Farelerde endotoksik ve septik şok sırasında daha geç açığa çıkan diğer bir proinflammatuvar sitokin olan HMGB1'in (high mobility group box 1) sistemik dolaşımında yükselmesi de kolin (50 mg/kg; i.v.) baskılanır. Kolin (1.000-10.000 μ M düzeylerinde) fare makrofaj benzeri hücre kültürlerinden endotoksinin uyardığı HMGB1 salıverilmesini baskılar (119).

3.d. Kolin ve kolin bileşiklerinin vücut sıcaklığına etkileri

Serebral yan ventriküle zerk edilen kolinin (75-300 μ g/sıçan) rektal ölçülen vücut sıcaklığını doza bağlı olarak düşürmektedir (120). Bu koline bağlı hipotermik etkide başlıca olarak merkezi muskarinik asetilkolin reseptörlerinin M1 ve M3 alt tipleri aracılık etmektedir.

Periton içi yolla verilen kolinden (30-120 mg/kg) sonra ise vücut sıcaklığı değişmemektedir (120).

3.e. Kolin'in ağrı ve ağrı algılanmasına etkileri

Kolin deney hayvanlarında ağırlı uyanlara yanıtı ve analjezik ilaçların etkilerini değiştirir. Sıçanlara periton içi yolla verildiğinde (15-60 mg/kg) sıcak-tabaka testiyle ölçülen morfinin (10 mg/kg; subkütan) analjezik etkisini azaltır (121). Sıçanlarda subkütan (500 mg/kg kadar dozlarda) ya da intravenöz (2-64 mg/kg) yollarla verilen kolin farelerde termal ağrıya yanıtı değiştirmez (122, 123). Bununla beraber hayvan başına 30-120 μ g dozlarda intraserebroventriküler (122, 123) ya da intratekal yollarla verilen kolin termal ağrı modelinde analjezik etki yapar (124, 125). Kolin'in bu

analjezik etkisi secici olmayan muskarinik antagonist atropin ve α 7 nAChR antagonistleri metilnikakonitin ve α -bungarotoksin tarafından önlenir (122, 123). Sıçanlarda intraserebroventriküler kolin (1 μ mol/sıçan) üç farklı akut ağrı modelinde (termal pençe çekme testi, pençe mekanik baskı testi, asetik asid kıvrılma testi gibi) anlamlı analjezik etki yapmaktadır (124). Farelerde intravenöz yolla verilen (4-64 mg/kg) subkütan %5 formalin zerki ile oluşturulan inflammatuvar ağrı modelinin geç fazında belirgin bir anti-nosiseptik etki gösterir (123). Subkütan kolin (2 mg/kg) aspirin (9.4 mg/kg; i.v.) ve morfin'in (0,165 mg/kg; i.v.) yol açtığı anti-nosisepsiyonu da artırır (123). Kolin'in bu anti-nosisepsiyonu arttırıcı etkisi α 7 nAChR antagonistleri metilnikakonitin ve α -bungarotoksin tarafından önlenirken, atropin ya da nalokson etkili olmaz (123)

3.f. Kolin ve kolin bileşiklerinin nöro-endokrin etkileri

Kolin merkezi yolla ya da periferden verildiğinde birçok önemli nöro-endokrin değişikliklere neden olur. Ağızdan (20 mmol/kg; gavajla) 4 gün verildiğinde idrarla günlük katekolamin atılımını artırır (67). Periton içi yolla kolin tedavisi (30-120 mg/kg) dolaşımdaki katekolamin (54, 55,125), insulin (55) ve glukagon (75) düzeylerini yükseltir. Ganglionik nikotinik reseptör uyarılması kolin'in bu sayılan etkilerde aracılık etmektedir (54, 55, 75, 125). Muskarinik reseptör blokajı da kolinin neden olduğu serum insulin (55) ve plazma glukagon artışında (75) azalmaya neden olur. Dereceli kanatmanın yol açtığı plazma renin aktivitesi artışı kolin tedavisi ile (90 mg/kg; i.p.) şiddetlendirilir (109).

Serebral yan ventriküle zerk edilen kolin (50-150 μ g/sıçan) plazma katekolamin (102, 106, 113), vazopressin (102, 106, 108, 112, 118), ACTH (126), β -endorphin (126) ve prolaktin (127) düzeylerini artırır. Kolin dereceli kanatmanın yol açtığı plazma katekolamin ve vazopressin yanıtlarını şiddetlendirir (108, 109). Osmotik stresin yol açtığı plazma vazopressin yanıtı kolin ile şiddetlenir (108). Dereceli kanatmanın yol açtığı plazma renin aktivitesi artışı santral kolin (50-150 μ g/sıçan; i.c.v.) tarafından baskılanır (109). Kolin'in yol açtığı katekolamin, vazopressin, ACTH ve β -endorfin yükselmesinde merkezi nAChRs uyarılması (102,108,126), prolaktin artışında ise mAChR rol oynar (127)

3.g. Kolin ve kolin bileşiklerinin metabolik etkileri

Periferik (40-120 mg/kg; i.p.) ve merkezi (75-300 μ g/sıçan; i.c.v.) kolin tedavisi kanda glukoz düzeyini doza bağlı olarak yükseltir (54, 128). Kolin'in hiperglisemik etkisi ganlionik nAChR blokajı ve α ₂-drenoreseptörler antagonistleri tarafından bloke edilir. Bilateral adrenal gland çıkarılması da kolin'in hiperglisemik etkilerini önler (54). Merkezi kolin'in hiperglisemik etkisinde esas olarak merkezi nAChRs uyarılması aracılık eder (128). Bu bulgular hiperglisemik etkide nikotinik reseptörler aracılığı ile sempato-adrenal sistem uyarılması ve dolaşımında katekolamin artışı ile α ₂-reseptör uyarılmasının rol aldığını göstermektedir (54).

3.h. Kolin ve kolin bileşiklerinin davranışa etkileri

İnsanda akut kolin kullanımının kısa süreli bellek üzerine etkileri incelenmiştir. Bu çalışmaların bazılarında kolin tedavisi ile kısa-süreli bellekte iyileşme bulunurken (129, 130) diğerlerinde bir etki

saptanamamıştır (131, 132). Deney hayvanlarında da kolin ile bazı çalışmalar yapılmıştır. Periton içi yolla glüköz ile beraber kombine şekilde koline verilmesi (6-60 mg/kg) farelerde pasif kaçınma davranışını iyileşmeye yol açmıştır (133). Uzun süreli olarak kolinden zengin diyetle beslenme yaşlı farelerde öğrenme ve bellekte yaşa bağlı bozulmaları iyileştirdiği gösterilmiştir (130, 134).

Gebe ve emziren sıçanlara perinatal dönemde (doğumdan önce embriyonik hayatın 12-17 günleri ve doğum sonrası dönemde 16-30 günler) kolin tedavisi uzaysal bellekte uzun süreli iyileşmeye neden olur (135). Perinatal dönemde normal diyetekinin dört katı kadar kolin desteği verilmesi erişkin sıçanlarda bellek kapasitesinde artma ve testlerde daha doğru yanıtlar alınmasına neden olur (136). Ayrıca perinatal dönemde kolin tedavisi, normal yaşlanmanın (137), epileptik nöbetlerin (138) ve neonatal dönemde alkol ile karşılaşmanın (139-141) neden olduğu bellek bozulmalarında da koruyucu etki gösterir.

Perintala dönemde kolin elde edilebilirliği beyin gelişmesini, nörogenezi, erişkin dönemde bellek işlevini ve çeşitli nöro-psikiyatrik hastalıklara karşı risk durumlarını etkileyebilmektedir (142-145).

3.i. Kolin ve kolin bileşiklerinin nöroprotektif ve sitoprotektif etkileri

Kolin hem *in vivo* ve hem de *in vitro* koşullarda çeşitli deneysel modellerde nöroprotektif ve sitoprotektif etkiler gösterir. Yukarıda da bahsedildiği gibi köpeklerde intravenöz yolla kolin verilmesi (20 mg/kg) endotokseminin neden olduğu çoklu organ hasarını baskılar (114). Benzer şekilde sıçanlara periton içi yolla (90 mg/kg) ya da diyetle kolin verilmesi endotoksinin yol açtığı renal, hepatik ve kardiyak zedelenmeyi önler (116). Perinatal kolin tedavisi nörotoksik yaklaşımların etkilerini azaltır (139-141, 146,147). Sıçanlarda intravenöz yolla kolin tedavisi (5 mg/kg) iskemik miyokardial zedelenmeden korur (148). Perinatal dönemde E12-E17 arası 6 gün süreyle kolin verilmesi dizolpinin periferik verilmesi ile dişi adolesan sıçanlarda posterior singulata ve retrosplenial kortekste ortaya çıkan nörotoksisiteyi azaltır (146).

In vitro koşullarda hücre kültür ortamına 1-10 mM düzeylerde kolin eklenmesi farklılaştırılmış PC12 hücreleri büyüme faktörü deprivasyonun yol açtığı sitotoksiteden korur (149). Kolin (5-75 mM) Purkinje nöronlarında AMPA reseptör uyarılması sonucu ortaya çıkan dejenerasyonu baskılar (150). Kolin 1 mM ya da daha yüksek düzeylerde neonatal sıçanlardan elde edilmiş organotipik hippokampal dilim kültürlerinde NMDA toksisitesini azaltır (151). Kolin 1 mM ve daha yüksek konsantrasyonlarda birçok deneysel çalışma Purkinje nöronları ve hippokampal nöronlar için koruyucu etkiler gösterir (149-151).

3.j. Kolin diğer ilaçlarla etkileşimi

Akut ve kronik kolin tedavisinin merkez sinir sistemine etkili bazı ilaçların etkileri değiştirdiği belirlenmiştir. Yukarıda da açıklandığı üzere kolin sıçanlara periton içi yolla verildiğinde (15-60 mg/kg) sıcak-tabaka testiyle ölçülen morfinin (10 mg/kg; subkütan) analjezik etkisini azaltır. Morfin bağımlısı sıçanlara periton içi yolla verilen kolin (100 mg/kg) kesilme bazı belirtilerini ve kilo kaybını azaltır (152, 153). Periton içi yolla glüköz ile beraber kombine şekilde koline verilmesi (6-60 mg/kg) farelerde morfinin bazı nörokimyasal ve davranışsal etkilerini baskılar (133).

Kontrol diyetle göre yaklaşık 10 kat kadar yüksek kolin içeren diyetle 28-35 gün beslenen sıçanların daha hiperaktif oldukları ve bu sıçanlarda fenobarbitalin sedatif/hipnotik ve hipotermik etkilerinin baskılandığı gösterilmiştir (154). Kronik kolin tedavisi beyinde radyoaktif nikotin (155) ve α -bungarotoksin (156) bağlanma yerlerinin arttırır ve nikotinin konvülsiv ve lethal etkilerine tolerans gelişmesine neden olur (157). Uzun süreli kolin tedavisi farelerde benzodiazepin bağlanmasını ve γ -aminobutirik asid reseptör fonksiyonunu değiştirir (158). Kronik kolin nöbet aktivitesini baskılayarak nikotin, striknin, pentilenterazol ve paraokson gibi bazı konvülsif ilaçların etkisini ve yol açtığı ölümleri baskılar (157).

Kaynaklar

1. Strecker A. Über eingige neue bestandtheile der schweingalle. Ann Chem Pharmacie 1862; 183: 964-965.
2. Best CH, Huntsman ME. The effect of the components of lecithine upon deposition of fat in the liver. J Physiol 1932; 75: 405-412.
3. Quastel JH, Tennenbaum M, Wheatley AHM. Choline ester formation in, and choline esterase activities of, tissues in vitro. Biochem J 1936; 30: 1668-1681.
4. Cohen EL, Wurtman RJ. Brain acetylcholine: Increase after systemic choline administration. Life Sci 1975; 16: 1095-1102.
5. Cohen EL, Wurtman RJ. Brain acetylcholine: control by dietary choline. Science 1976; 191: 561-562.
6. Ulus İH, Wurtman RJ. Choline administration: activation of tyrosine hydroxylase in dopaminergic neurons of rat brain. Science 1976; 94: 1060-1061.
7. Institute of Medicine, National Academy of Science, USA. 1998. Choline. Pages: 390-422, in: Dietary Reference Intakes for Folate, Thiamine, Riboflavin, Niacin, Vitamin B12, Panthothenic Acid, Biotin, and Choline, Natl. Acad. Press, Washington DC.
8. Benishin CG, Carroll PT. Multiple forms of choline-O-acetyltransferase in mouse and rat brain: solubilization and characterization. J Neurochem 1983; 41:1030-1039.
9. Salem N, Medilanski J, Pellegrinelli N, Eder-Colli L. Hydrophilic and amphiphilic forms of Drosophila choline acetyltransferase are encoded by a single mRNA. Eur J Neurosci 1994; 6: 737-745.
10. Pahud G, Salem N, Van de Goor J, Medilanski J, Pellegrinelli N, Eder-Colli L. Study of subcellular localization of membrane-bound choline acetyltransferase in Drosophila central nervous system and its association with membranes. Eur J Neurosci 1998; 10: 1644-1653.

11. Pahud G, Medilanski J, Eder-Colli L. Cytosolic choline acetyltransferase binds specifically to cholinergic plasma membrane of rat brain synaptosomes to generate membrane-bound enzyme. *Neurochem Res* 2003;28: 543-549.
12. Rossier J. Acetyl-coenzyme A and coenzyme A analogues. Their effects on rat brain choline acetyltransferase. *Biochem J* 1977; 165: 321-326.
13. Hirsch MJ, Growdon JH, Wurtman RJ. Relations between dietary choline or lecithin intake, serum choline levels, and various metabolic indices. *Metabolism* 1978; 27: 953-960.
14. Zeisel SH, Growdon JH, Wurtman RJ, Magil SG, Logue M. Normal plasma choline responses to ingested lecithin. *Neurology* 1980; 30: 1226-1229.
15. Savendahl L, Mar MH, Underwood LE, Zeisel SH. Prolonged fasting in humans results in diminished plasma choline concentrations but does not cause liver dysfunction. *Am. J. Clin. Nutr.* 1997; 66: 622-625.
16. Zeisel SH, Da Costa K-A, Franklin PD, Alexander EA, Lamont JT, Sheard NF, Beiser A. *FASEB J* 1991; 2093-2098.
17. Ilcol YO, Uncu G, Ulus IH. Free and phospholipid-bound choline concentrations in serum during pregnancy, after delivery and in newborns. *Arch Physiol Biochem* 2002; 110: 393-399.
18. Ilcol YO, Ozbek R, Hamurtekin E, Ulus IH. Choline status in newborns, infants, children, breast-feeding women, breast-fed infants and human breast milk. *J Nutr Biochem* 2005; 16: 489-499.
19. Ilcol YO, Dilek K, Yurtkuran M, Ulus IH. Changes of plasma free choline and choline-containing compounds' concentrations and choline loss during hemodialysis in ESRD patients. *Clin Biochem* 2002; 35: 233-239.
20. Ilcol YO, Donmez O, Yavuz M, Dilek K, Yurtkuran M, Ulus IH. Free choline and phospholipid-bound choline concentrations in serum and dialysate during peritoneal dialysis in children and adults. *Clin. Biochem.* 2002; 35: 307-313.
21. Buchman AL, Jenden D, Suki WN, Roch M. Changes in plasma free and phospholipid-bound choline concentrations in chronic hemodialysis patients. *J Renal Nutr* 2000; 10: 133-138.
22. Rennick B, Acara M, Hysert P, Mookerjee B. Choline loss during hemodialysis: homeostatic control of plasma choline concentrations. *Kidney Int* 1976; 10: 329-335.
23. Ulus IH, Ozyurt G, Korfali E. Decreased serum choline concentrations in humans after surgery, childbirth, and traumatic head injury. *Nurochem Res.* 1998; 23: 727-732.
24. Ilcol YO, Ozyurt G, Kilicturgay S, Uncu G, Ulus IH. The decline in serum choline concentration in humans during and after surgery is associated with elevation of cortisol, adrenocorticotrophic hormone, prolactin and β -endorphin concentrations. *Nurosci Lett* 2002; 324: 41-44.
25. Ilcol YO, Uncu G, Goren S, Sayan E, Ulus IH. Declines in serum free choline and bound choline concentrations in humans after three different types of major surgery. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 1390-1395.
26. Ilcol YO, Basagan-Mogol E, Cengiz M, Ulus IH. Elevation of serum cerebral injury markers correlates with serum choline decline after coronary artery bypass grafting surgery. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44: 471-478.
27. Ilcol YO, Yilmaz Z, Ulus IH. Serum free and phospholipid-bound choline decrease after surgery and methylprednisolone administration in dogs. *Neurosci Lett* 2003; 339: 195-198.
28. Conlay LA, Wurtman RJ, Blusztajn JK, Coviella IL, Maher TJ, Evoniuk GE. Decreased plasma choline concentrations in marathon runners. *New Eng. J. Med.* 1986; 315: 892.
29. Buchman AL, Jenden D, Roch M. Plasma free, phospholipid-bound and urinary free choline all decrease during a marathon run and may be associated with impaired performance. *J Am Col Nitr* 1999;18: 598-601.
30. Danne O, Lueders C, Storm C, Frei U, Mockel M. Whole-blood hypercholinemia and coronary instability and thrombosis. *Clin Chem* 2005; 51: 1315-1317.
31. Sandmann J, Wurtman RJ. Phospholipase D and Phospholipase C in human cholinergic neuroblastoma (LA-N-2) cells: Modulation by muscarinic agonists and protein kinase C. In: Nishizuka, Y., Endo, M., and Tanaka C. (eds.), *Biology and Medicine of Signal Transduction*, Raven Press, New York, 1990; : 176-181,
32. Sandmann J, Peralta EG, Wurtman RJ. Coupling of transfected muscarinic acetylcholine receptor subtypes to phospholipase D. *J Biol Chem* 1991; 266: 6031-6034.
33. Sandmann J, Wurtman RJ. Stimulation of phospholipase D activity in human neuroblastoma (LA-N-2) cells by activation of muscarinic acetylcholine receptors or by phorbol esters: relationship to phosphoinositide turnover. *J. Neurochem.* 1991; 56: 1312-1319.
34. Ulus IH, Wurtman RJ, Mauron C, Blusztajn JK. Choline increases acetylcholine release and protects against the stimulation-induced decrease in phosphatide levels within membranes of rat corpus striatum. *Brain Res* 1989; 484: 217-227.
35. Farber SF, Savci V, Wei A, Slack BE, Wurtman RJ. Choline's phosphorylation in rat striatal slices is regulated by the activity of cholinergic neurons. *Brain Res* 1996: 723: 90-99.
36. Blusztajn JK, Holbrook PG, Lakher M, Liscovitch M, Maire JC, Mauron C, Richardson UI, Tacconi M, Wurtman RJ. "Autocannibalism" of membrane choline-phospholipids: physiology and pathology. *Psychopharmacol. Bull* 1986; 22: 781-786.
37. Crews FT, Hirata F, Axelrod J. Identification and properties of methyltransferases that synthesize phosphatidylcholine in rat brain synaptosomes. *J Neurochem* 1980;34: 1491-1498.
38. Yamamura HI, Snyder SH. Choline: high-affinity uptake by rat brain synaptosomes. *Science* 1972;178: 626-628.
39. Yamamura HI, Snyder SH. High affinity transport of choline into synaptosomes of rat brain. *J Neurochem* 1973; 21: 1355-1374.
40. Kuhar MJ, Murrin LC. Sodium-dependent high-affinity choline uptake. *J Neurochem* 1978; 30: 15-21.
41. Okuda T, Haga T, Kanai Y, Endou H, Ishihara T, Katsura I. Identification and characterization of the high-affinity choline transporter. *Nat Neurosci* 2000; 3: 120-125.
42. Okuda T, Haga T. High-affinity choline transporter. *Neurochem Res* 2003; 28: 483-488.

43. Haberberger RV, Pfeil U, Lips KS, Kummer W. Expression of the high-affinity choline transporter, CHT1, in the neuronal and non-neuronal cholinergic system of human and rat skin. *J Invest Dermatol* 2002;119: 943-948.
44. Misawa H, Nakata K, Matsuura J, Nagao M, Okuda T, Haga T. Distribution of the high-affinity choline transporter in the central nervous system of the rat. *Neuroscience* 2001; 105: 87-98.
45. Kus L, Borys E, Chu YP, Ferguson SM, Blakely RD, Emborg ME, Kordower JH, Levey AI, Mufson, EJ. Distribution of high affinity choline transporter immunoreactivity in the primate central nervous system. *J Comp Neurol* 2003; 436: 341-357.
46. Ferguson SM, Savchenko V, Apparsundaram S, Zwick M, Wright J, Heilman CJ, Yi, H, Levey AI, Blakely RD. Vesicular localization and activity-dependent trafficking of presynaptic choline transporters. *J Neurosci* 2003; 23: 9697-9709.
47. Haga T, Noda H. Choline uptake systems of rat brain synaptosomes. *Biochim Biophys Acta* 1973; 291: 564-575.
48. O'Regan S, Traffort E, Ruat M, Cha N, Compaore D, Meunier FM. An electric lobe suppressor for a yeast choline transport mutation belongs to a new family of transporter-like proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 1835-1840.
49. Inazu M, Takeda H, Matsumiya T. Molecular and functional characterization of an Na⁺-independent choline transporter in rat astrocytes. *J Neurochem* 2005; 94: 1427-1437.
50. Pardridge WM, Oldendorf WH. Transport of metabolic substrates through the blood-brain barrier. *J Neurochem* 1977; 28: 5-12.
51. Pardridge WM. Blood-brain barrier transport of nutrients. *Fed Proc* 1986; 45: 2047-2049.
52. Klein J, Koppen A, Loffelholz K. Small rises in plasma choline reverse the negative arteriovenous difference of brain choline. *J Neurochem* 1990; 55: 1231-1236.
53. Ulus IH, Millington WR, Buyukuysal RL, Kiran BK. Choline as an agonist: determination of its agonistic potency on cholinergic receptors. *Biochem Pharmacol.* 1988; 37: 2747-2755.
54. Ilcol YO, Gurun MS, Taga Y, Ulus IH. Intraperitoneal administration of choline increases serum glucose in rat: involvement of the sympathoadrenal system. *Horm Metab Res* 2002; 34: 341-347.
55. Ilcol YO, Gurun MS, Taga Y, Ulus IH. Choline increases serum insulin in rat when injected intraperitoneally and augments basal and stimulated acetylcholine release from the rat minced pancreas in vitro. *Eur J Biochem* 2003; 270: 991-999.
56. Klein J, Gonzales R, Koppen A, Loffelholz, K. Free choline and choline metabolites in rat brain and body fluids: sensitive determination and implications for choline supply to the brain. *Neurochem Int* 1993; 22: 293-300.
57. Klein J, Koppen A, Loffelholz K. Regulation of free choline in rat brain: Dietary and pharmacological manipulations. *Neurochem Int* 1998; 32: 479-485.
58. Sweet DH, Miller DS, Pritchard JB. Ventricular choline transport. A role for organic cation transporter 2 expressed in choroid plexus. *J Biol Chem* 2001; 276: 41611-41619.
59. Johnson DA, Ulus IH, Wurtman RJ. Caffeine potentiates the enhancement by choline of striatal acetylcholine release. *Life Sci* 1992; 51: 1597-1601.
60. Buyukuysal RL, Ulus IH, Aydin S, Kiran BK. 3,4-diaminopyridine and choline increase in vivo acetylcholine release in rat striatum. *Eur J Pharmacol* 1995; 281: 179-185.
61. Ulus IH, Buyukuysal RL, Wurtman RJ. N-Methyl-D-Aspartate increases acetylcholine release from rat striatum and cortex: Its effect is augmented by choline. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 261: 1122-1128.
62. Ulus IH, Watkins CJ, Cansev M, Wurtman RJ. Cytidine and uridine increase striatal CDP-Choline levels without decreasing acetylcholine synthesis or release. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2006; 26: 563-577.
63. Ulus IH, Hirsch M J, Wurtman R J. Trans-synaptic induction of adrenomedullary tyrosine hydroxylase activity by choline: evidence that choline administration can increase cholinergic neurotransmission. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1977; 74: 798-800.
64. Ulus I H, Scally MC, Wurtman R J. Choline potentiates the induction of adrenal tyrosine hydroxylase by reserpine, probably by enhancing the release of acetylcholine. *Life Sci* 1977; 21:145-148.
65. Ulus IH, Scally MC, Wurtman RJ. Enhancement by choline of the induction of adrenal tyrosine hydroxylase by phenoxybenzamine, 6-hydroxydopamine, insulin or exposure to cold. *J Pharmacol Exp Ther* 1978; 204: 676-682.
66. Ulus IH, Wurtman R J. Selective response of rat peripheral sympathetic nervous system to various stimuli. *J Physiol* 1979; 293: 513-523.
67. Scally MC, Ulus IH, Wurtman RJ. Choline administration to the rat increases urinary catecholamines. *J Neural Transm* 1978; 43: 103-112.
68. Birks RI, MacIntosh FC. Acetylcholine metabolism of a sympathetic ganglion. *Can J Biochem Physiol* 1961;39: 787-827.
69. Parducz A, Kiss Z, Joq F. Changes of the phosphatidylcholine content and the number of synaptic vesicles in relation to the neurohumoral transmission in sympathetic ganglia. *Experientia* 1976; 32: 1520-1521.
70. Parducz A, Joo F, Toldi J. Formation of synaptic vesicles in the superior cervical ganglion of cat: choline dependency. *Exp Brain Res* 1986;63: 221-224.
71. Kuntscherova J. Effect of short-term starvation and choline on the acetylcholine content of organs of albino rats. *Physiol Bohemoslov* 1972; 21: 655-660.
72. Haubrich DR, Wedeking PW, Wang PFL. Increase in tissue concentration of choline in guinea pigs in vivo induced by administration of choline. *Life Sci* 1974; 14: 921-927.
73. Dieterich HA, Lindmar R, Loffelholz K. The role of choline in the release of acetylcholine in isolated hearts. *Nauny-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1978; 301: 207-215.
74. Meyer EM, Baker S P. Effects of choline augmentation on acetylcholine release in rat atrial minces. *Life Sci* 1986; 39: 1307-1315.
75. Hutter F. Effect of choline on neuromuscular transmission in the cat. *J Physiol. (London)* 1952; 117: 241-250.
76. Bierkamper GG, Goldberg AM. The effect of choline on the release of acetylcholine from the neuromuscular junction. In: Barbeau, A., Growdon, J.H., and Wurtman, R.J. (eds.), *Nutrition and the Brain*, Vol. 5, Raven Press, New York, 1979; 243-251,

77. Bierkamper GG, Goldberg AM. Release of acetylcholine from the vascular perfused rat phrenic nerve-hemidiaphragm. *Brain Res* 1980; 202: 234-247.
77. Del Castillo J, Katz B. Interaction at end-plate receptors between different choline derivatives. *Proc R Soc Lond B Bio. Sci* 1957; 146: 369-381.
78. Bacq ZM, Brown GL. Pharmacological experiments on mammalian voluntary muscle, in relation to the theory of chemical transmission. *J Physiol (London)* 1937; 89: 45-60.
79. Chang HC, Gaddum JH. Choline esters in tissue extracts. *J Physiol (London)* 1933; 79: 255-285.
80. Dale, HH.. The action of certain esters and ethers of choline, and their relation to muscarine. *J Pharmacol Exp Ther* 1914; 6: 147-190.
81. Feldberg W, Vartiainen A. Further observation on the physiology and pharmacology of a sympathetic ganglion. *J Physiol (London)* 1934; 83: 103-128.
82. Krstic, M.K. 1972. The action of choline on the superior cervical ganglion of the cat. *Eur. J. Pharmacol.* 17: 87-96.
83. Krnjevic K, Reinhardt W. Choline excites cortical neurons. *Science* 1979;205: 1321-1322.
84. Kilbinger H, Kruel R. Choline inhibits acetylcholine release via presynaptic muscarine receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1981; 316: 131-134.
85. Huang S, Lin Q. Functional expression and processing of rat choline dehydrogenase precursor. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309: 344-350.
86. Carriere JL, El-Fakanay EE. Choline is a full agonist in inducing activation of neuronal nitric oxide synthase via the muscarinic M1 receptor. *Pharmacology* 2000; 60: 82-89.
87. Holz RW, Senter RA. Choline stimulates nicotinic receptors on adrenal medullary chromaffin cells to induce catecholamine secretion. *Science* 1981; 214: 466-468.
88. Alkondon M, Pereira EFR, Cortes WS, Maelicke A, Albuquerque EX. Choline is a selective agonist of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors in the rat brain neurons. *Eur J Neurosci* 1997; 9: 2734-2742.
89. Alkondon M, Albuquerque EX. Subtype-specific inhibition of nicotinic acetylcholine receptors by choline: A regulatory pathway. *Pharmacol Exp Ther* 2006; 318: 268-275.
89. Mandelzys A, De Koninck P, Cooper E. Agonist and toxin sensitivities of ACh-evoked currents on neurons expressing multiple nicotinic subunits. *J Neurophysiol* 1995; 74: 1212-1221.
90. Papke RL, Bencherif M, Lippiello P. An evaluation of neuronal nicotinic acetylcholine receptor activation by quaternary nitrogen compounds indicates that choline is selective for the alpha7 subtype. *Neurosci Lett* 1996; 213: 201-204.
91. Zwart R, Vijverberg HP. Potentiation and inhibition of neuronal alpha4beta4 nicotinic acetylcholine receptors by choline. *Eur J Pharmacol* 2000; 393: 209-214.
92. Steigmann F, Firestein R, De La Huerca J. Intravenous choline therapy. *Fed Proc* 1952; 11: 393.
93. Singh GS. Action of choline the rat blood pressure. *Indian J Physiol Pharmacol* 1973; 17: 125.
94. SavcıV, Goktalay G, Cansev M, Cavun S, Yilmaz SM, Ulus IH. Intravenously injected CDP-choline increases blood pressure and reverses hypotension in haemorrhagic shock: effect is mediated by central cholinergic activation. *Eur J Pharmacol* 2003; 468: 129-139.
95. Cansev M, Yilmaz MS, Ilcol YO, Hamurtekin E, Ulus IH. Cardiovascular effects of CDP-choline and its metabolites: involvement of peripheral autonomic nervous system. *Eur J Pharmacol* 2007; 577: 129-142.
96. Ulus I H, Arslan Y, Tanrisever R, Kiran B K. Postsynaptic effects of choline administration. In: Barbeau, A., Growdon, J. H. and Wurtman, R. J. (eds.), *Nutrition and the Brain*, Vol. 5, Raven Press, New York, 1979; 219-226.
97. Boyd WD, Graham-White J, Blackwood G, Glen I, McQueen J. Clinical effects of choline in Alzheimer senile dementia. *Lancet* 1977; 2: 711.
98. Srimal RC, Jaju BP, Sinha JN, Dixit KS, Bhargava KP. Analysis of the central vasomotor effects of choline. *Eur J Pharmacol* 1969; 5: 239-244.
99. Kubo T, Misu Y. Blood pressure response to intracisternal administration of choline. *Jpn J Pharmacol* 1981;31: 839-841.
100. Kubo T, Misu Y. Cardiovascular response to microinjection of physostigmine and choline into the dorsal medullary site of the rat. *Neuropharmacology* 1981;20: 1091-1095.
101. Caputi AP, Brezenoff HE. Cardiovascular effects produced by choline injected into the lateral cerebral ventricle of the unanesthetized rat. *Life Sci* 1980; 26:1029-1036.
102. Arslan BY, Ulus IH, Savcı V, Kiran B K. Effects of intracerebroventricular injected choline on cardiovascular functions and sympathoadrenal activity. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;17: 814-821.
103. Isbil-Buyukcoskun N, Gulec G, Ozluk K, Ulus, IH. Central injection of captopril inhibits the blood pressure response to intracerebroventricular choline. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34: 815-820.
104. Li XD, Buccafusco JJ. Role of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors in the pressor response to intracerebroventricular injection of choline: blockade by amyloid peptide Aβ1-42. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 309: 1206-1212.
105. Altura BA. Role of spleen in choline stimulation of reticoendothelial system and resistance to acute haemorrhage. *Proc Soc Exp Biol Med* 1978;158: 77-80.
106. Ulus IH, Arslan BY, Savcı V, Kiran BK. Restoration of blood pressure by choline treatment in rats made hypotensive by haemorrhage. *Br J Pharmacol* 1995; 116: 1911-1917.
107. Savcı V, Cavun S, Goktalay G, Ulus IH. Cardiovascular effects of intracerebroventricularly injected CDP-choline in normotensive and hypotensive animals: the involvement of cholinergic system. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2002; 365: 388-398.
108. Savcı V, Goktalay G, Ulus IH. Intracerebroventricular choline increases plasma vasopressin and augments plasma vasopressin response to osmotic stimulation and hemorrhage. *Brain Res* 2002; 942:58-70.
109. Isbil-Buyukcoskun N, Ilcol YO, Cansev M, Hamurtekin E, Ozluk K, Ulus IH. Central choline suppresses plasma renin response to graded haemorrhage. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008; 35: 1023-1031.

110. Gurun MS, Millington WR, Ulus IH. Choline potentiates the pressor response evoked by glycyl-glutamine or naloxone in haemorrhaged rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2003;30: 640-642.
111. Savci V, Ulus IH. Choline administration reverses hypotension in spinal cord transected rats: the involvement of vasopressin. *Neurochem Res* 1998; 23: 733-741.
112. Savci V, Ulus IH. Central choline reverses hypotension caused by alpha-adrenoceptor or ganglion blockade in rats: the role of vasopressin. *Eur J Pharmacol* 1996; 311: 153-161.
113. Gurun MS, Savci V, Ulus IH. Intracerebroventricular choline reverses hypotension induced by acute chemical sympathectomy. *J Auton Pharmacol* 1997; 17: 155-163.
114. Ilcol YO, Yilmaz Z, Ulus IH. Endotoxin alters serum free choline and phospholipid-bound choline concentrations, and choline administration attenuates endotoxin-induced organ injury in dogs. *Shock* 2005; 24: 288-293.
115. Rivera CA, Wheeler MD, Enomoto N, Thurman RG. A choline-rich diet improves survival in a rat model of endotoxic shock. *Am J Physiol* 1998; 275: G862-G867.
116. Ilcol YO, Yilmaz Z, Cansev M, Ulus IH. Choline or CDP-choline alters serum lipid responses to endotoxin in dogs and rats: Involvement of the peripheral nicotinic acetylcholine receptors. *Shock* 2009; 32: 286-294.
117. Yilmaz Z, Ilcol YO, Torun S, Ulus IH. Intravenous administration of choline or CDP-choline improves platelet count and platelet closure times in endotoxin-treated dogs. *Shock* 2006;25: 73-79.
118. Savci V, Ulus IH. Cardiovascular effects of central choline during endotoxin shock in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 1997; 30: 667-675.
119. Parrish WR, Rosas-Ballina M, Gallowitsch-Puerta M, Ochani M, Ochani K, Yang L-H, Hudson L, Lin X, Patel N, Johnson SM, Chavan S, Goldstein RS, Czura CJ, Miller E, Al-Abed Y, Racey KJ, Pavlow V. Modulation of TNF release by choline requires a7 subunit nicotinic acetylcholine receptor-mediated signaling. *Mol Med* 2008; 14: 567-574.
120. Unal CB, Demiral Y, Ulus IH. The effects of choline on body temperature in conscious rats. *Eur J Pharmacol* 1998; 363: 121-126.
121. Botticelli LJ, Lytle LD, Wurtman RJ. Choline-induced attenuation of morphine analgesia in the rat. *Commun Psychopharmacol* 1977; 1: 519-523.
122. Damaj MI, Meyer EM, Martin BR. The antinociceptive effects of alpha7 nicotinic agonists in an acute pain model. *Neuropharmacology* 2000; 39: 2785-2791.
123. Wang Y, Su D-M, Wang R-H, Liu Y, Wang H. Antinociceptive effects of choline against acute and inflammatory pain. *Neuroscience* 2005; 132: 49-56.
124. Hamurtekin E, Gurun MS. The antinociceptive effects of centrally administered CDP-choline on acute pain models in rats: The involvement of cholinergic system. *Brain Res.* 2006; 1117: 92-100.
125. Cansev M, Ilcol YO, Yilmaz MS, Hamurtekin E, Ulus IH. Peripheral administration of CDP-choline, phosphocholine or choline increases plasma adrenaline and noradrenaline concentrations. *Autonom Autacoid Pharmacol* 2008; 28: 41-58.
126. Savci V, Gurun MS, Ulus IH, Kiran BK. Effect of intracerebroventricularly injected choline on plasma ACTH and beta-endorphin levels in conscious rats. *Eur J Pharmacol* 1996; 309: 275-280.
127. Gurun MS, Savci V, Ulus IH, Kiran BK. Centrally administered choline increases plasma prolactin levels in conscious rats. *Neurosci. Lett.* 1997; 232: 79-82.
128. Gurun MS, Ilcol YO, Taga Y, Ulus IH. Hyperglycemia induced by intracerebroventricular choline: involvement of the sympatho-adrenal system. *Eur J Pharmacol* 2002; 438: 197-205.
129. Ladd SL, Sommer SA, LaBerge S, Toscana W. Effect of phosphatidylcholine on explicit memory. *Clin Neuropharmacol* 1993; 16: 540-549.
130. Leathwood PD, Heck E, Mauron J. Phosphatidylcholine and avoidance performance in 17 month old SEC/1ReJ mice. *Life Sci* 1982; 30: 1065-1070.
131. Davis KL, Mohs RC, Tinklenberg LA, Hollister LE, Pfefferbaum A, Kopell BS. Cholinomimetics and memory: effect of choline chloride. *Arch. Neurol.* 1980; 37: 49-51.
132. Harris CM, Dysken MW, Fovall P, Davis JM. Effect of lecithin on memory in normal adults. *Am J Psych* 1983; 140: 1010-1012.
133. Kopf SR, Bucholzer ML, Hilgert M, Loffelholz K, Klein J. Glucose plus choline improve passive avoidance behaviour and increase hippocampal acetylcholine release. *Neuroscience* 2001; 103: 365-371.
134. Bartus RT, Dean RL, Goas JA, Lippa AS. Age-related changes in passive avoidance retention: modulation with dietary choline. *Science* 1980; 209: 301-303.
135. Meck WM, Smith RA, Williams CL. Pre- and postnatal choline supplementation produces long-term facilitation of spatial memory. *Dev Psychobiol* 1988; 21: 339-353.
136. Meck WM, Williams CL. Characterization of the facilitative effects of perinatal choline supplementation on timing and temporal memory. *Neuroreport* 1997;8: 2831-2835.
137. Tees RC, Mohammadi E. The effects of neonatal choline dietary supplementation on adult spatial and configural learning and memory in rats. *Dev Psychobiol* 1999; 35: 226-240.
138. Holmes GL, Yang Y, Liu Z, Cermak JM, Sarkisian MR, Stafstrom CE, Neill JC, Blusztajn JK. Seizure-induced memory impairment is reduced by choline supplementation before or after status epilepticus. *Epilepsy Res* 2002; 48: 3-13.
139. Thomas JD, Garrison M, O'Neill TM. Perinatal choline supplementation attenuates behavioral alterations associated with neonatal alcohol exposure in rats. *Neurotoxicol Teratol* 2004;26: 35-45.
140. Ryan SH, Williams JK, Thomas JD. Choline supplementation attenuates learning deficits associated with neonatal alcohol exposure in the rat: effects of varying the timing of choline administration. *Brain Res* 2008; 1237: 91-100.
141. Thomas JD, Abou EJ, Dominguez HD. Prenatal choline supplementation mitigates the adverse effects of prenatal alcohol exposure on development in rats. *Neurotoxicol Teratol* 2009; 31: 303-311.

142. Glenn Mj, Gibson EM, Kirby ED, Mellott TJ, Blusztajn JK, Williams CL. Prenatal choline availability modulates hippocampal neurogenesis and neurogenic responses to enriching experiences in adult female rats. *Eur J Neurosci* 2007; 25: 2473-2482.
143. Meck WH, Williams CL. Metabolic imprinting of choline by its availability during gestation: implications for memory and attentional processing across the life span. *Neurosci Biobehav Rev* 2003; 27: 385-399.
144. Ross RG, Stevens KE, Proctor WR, Leonard S, Kiskey MA, Hunter SK, Freedman R, Adams CE. Research review: cholinergic mechanisms, early brain development, and risk for schizophrenia. *J Child Psychol Psychiatry* 2009; (18 Kasımda önceden basılmış).
145. Barrantes FJ, Borroni V, Valles S. Neuronal nicotinic acetylcholine receptor-cholesterol crosstalk in Alzheimer's disease. *FEBS Letters* 2009; (13 Kasımda önceden basılmış).
146. Guo-Ross SX, Clark S, Montoya DAC, Jones KH, Obernier J, Shetty AK, White AM, Blusztajn JK, Wilson WA, Swartzwelder HS. Prenatal choline supplementation protects against postnatal neurotoxicity. *J Neurosci* 2002; 22: RC195.
147. Yang Y, Liu Z, Cermak JM, Tandon P, Sarkisian MR, Stafstrom CE, Neill JC, Blusztajn JK, Holmes GL. Protective effects of prenatal choline supplementation on seizure-induced memory impairment. *J Neurosci* 2000; 20: RC109.
148. Yang B, Lin H, Xu C, Liu Y, Wang H, Han H, Wang Z. Choline produces cytoprotective effects against ischemic myocardial injuries: evidence for the role of cardiac M3 subtype muscarinic acetylcholine receptors. *Cell Physiol Biochem* 2005; 16: 163-174.
149. Jonnala RR, Graham III JH, Terry AV, Beach JW, Young JA, Buccafusco JJ. Relative levels of cytoprotection produced by analogs of choline and the role of alpha7-nicotinic acetylcholine receptors. *Synapse* 2003; 47: 262-269.
150. Strahlendorf JC, Acosta S, Miles R, Strahlendorf HK. Choline blocks AMPA-induced dark cell degeneration of Purkinje neurons: potential role of the $\alpha 7$ nicotinic receptor. *Brain Res* 2001; 901: 71-78.
151. Murakami H, Ohkura A, Takanaga H, Matsuo H, Koyabu N, Naito M, Tsuruo T, Ohtani H, Sawada Y. Functional characterization of adenosine transport across the BBB in mice. *Int J Pharm* 2005; 290: 37-44.
152. Pinsky C, Frederickson RCA, Vazquez AJ. Morphine withdrawal syndrome responses to cholinergic antagonists and to a partial cholinergic agonist. *Nature* 1973; 242: 59-60.
153. Frederickson RCA, Pinsky C. Effects of cholinergic and anticholinergic drugs and a partial cholinergic agonist on the development and expression of physical dependence on morphine in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1975; 193: 44-55.
154. Wecker L, Rothermal S, Cawley G. Chronic choline supplementation attenuates the behavioral effects of pentobarbital. *Pharmacol Biochem Behav* 1987; 28: 469-475.
155. Coutcher JB, Cawley G, Wecker L. Dietary choline supplementation increases the density of nicotine binding sites in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 262: 1128-1132.
156. Morley BJ, Garner LL. Increases in the concentration of brain alpha-bungarotoxin binding sites induced by dietary choline are age dependent. *Brain Res* 1986; 378: 315-319.
157. Wecker L, Flynn CJ, Stouse MR, Trommer BA. Choline availability: effects on the toxicity of centrally active drugs. *Drug Nutr Interact* 1982; 1: 125-130.
158. Miller LG, Greenblatt DJ, Roy RB, Lopez F, Wecker L. Dietary choline intake modulates benzodiazepine receptor binding and γ -aminobutyric acid A receptor function in mouse brain. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 248: 1-6.