هورمون گلوکاگن و گلوکز خون در موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار

سیدابراهیم حسینی*

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست‌شناسی، فارس، ایران

مسئول مکاتبات: ebrahim.hossini@yahoo.com

چکیده

نیکوتین الکالوئیدی است که از طریق مصرف سیگار مورد استفاده میلیون‌ها نفر در سراسر جهان می باشد و اثراتی را بر کل بدن و به ویژه، سیستم‌های آندوکرین دارد و میلیون‌ها نفر نیز در دنیا از بیماری دیابت رنج می‌برند. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات نیکوتین بر سطوح سرمی هورمون گلوکاگن و گلوکز خون بر روی موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار انجام شد. این پژوهش یک مطالعه تجربی است. در این تحقیق، ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰-۲۲۰ گرم در گروه‌های تجربی، شاهد و کنترل مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه‌های تجربی در دسته‌های مختلف، نیکوتین را به میزان ۰/۵ ، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و گروه شاهد فقط ۱ میلی لیتر سرم فیزیولوژیک به صورت تزریق درون صفاقی روزانه به مدت ۵ روز، دریافت نمودند. گروه کنترل هیچ ماده‌ای دریافت نکردند. در پایان روز ششم از ناحیه بطن قلب موش‌ها، خون‌گیری به عمل آمد و سطوح سرمی هورمون گلوکاگن توسط روش رادیوایمونواسی و کیت‌های مربوطه اندازه‌گیری شد. داده ها با کمک آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که نیکوتین در تمام دوزهای مصرفی باعث افزایش معنی‌دار میزان سرمی هورمون گلوکاگن و گلوکز می‌گردد و با افزایش دوز مصرفی، میزان این افزایش نیز بیشتر می‌شود ($P\leq ۰/۰۱$). با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که نیکوتین می‌تواند از طریق تحریک ترشح گلوکاگن باعث افزایش قندخون گردد.

کلمات کلیدی: نیکوتین، گلوکاگن، گلوکز، موش صحرایی

مقدمه

نیکوتین الکالوئیدی است که از برگ‌های خشک شده گیاه تنباکو Nicotiana tobacum استخراج می‌شود [۱] و میلیون‌ها نفر در سراسر جهان از طریق کشیدن سیگار و یا استشاق حشره کش‌ها در معرض آن قرار می‌گیرند. نیکوتین به صورت وابسته به دوز باعث افزایش سطوح پلاسمایی هورمون‌های اپی‌نفرین و کورتیزول می‌شود [۲]. اتصال نیکوتین به رسپتورهای نیکوتینی پیش‌سیناپسی کولینرژیک باعث افزایش آزادسازی استیل‌کولین می‌گردد [۳] و استیل‌کولین در سیستم عصبی محیطی اثرات قابل توجهی بر عملکرد غدد درون ریز به ویژه پانکراس دارد [٤ و ٥]. ترشح هورمون گلوکاگن از سلول‌های آلفای پانکراس نقش مهمی را در تنظیم قندخون بازی می‌کند [٦] و در شرایط هیپوگلیسیمی ترشح گلوکاگن افزایش می‌یابد [۷].

گلوکاگن با تحریک گلیکوژنولیز و گلوکونئوژنز در سلول‌های کبدی باعث افزایش ورود گلوکز به داخل خون می‌شود که می‌تواند منجر به پیشرفت بیماری دیابت گردد [۸ و ۹]. برخی مطالعات بیان‌گر آنند که استیل‌کولین و آگونیست‌های آن عاملی قوی در کنترل ترشح هورمون گلوکاگن می‌باشند [۱۰]. بررسی‌ها نشان داده‌اند که در سطوح پایین گلوکز خون کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP بسته می‌شوند که متعاقب آن با باز شدن کانال‌های سدیمی، غشاء سلول‌های آلفای پانکراس دپلاریزه می‌شود و به دنبال آن با باز شدن کانال‌های کلیسمی وابسته به ولتاژ، ورود کلسیم به داخل سلول‌ها آلفا افزایش می‌یابد که منجر به اگزوسیتوز بیشتر گلوکاگن می‌شود [۱۱، ۱۲ و ۱۳]. عوامل هورمونی و عصبی مختلفی نظیر اپی نفرین، نوراپی نفرین، L- گلوتامات، انسولین، گابا بر عملکرد، سلول‌های آلفای پانکراس اثر تنظیمی دارند [۷، ١٤ و ١٥].

بررسی‌ها نشان داده‌اند کـه مکانیـسم‌هـای عـصبی تنظـیم ترشح گلوکاگن با واسطه نورون‌های حساس به گلوکز در ناحیه میانی شکمی هیپونـالاموس تنظـیم مـی‌شـود [۱۶]. بررسی‌های مختلف نشان داده‌اند که سلول‌های آلفا و بتای پانکراس از هر دو سیستم عصبی سمپاتیک و پاراسمپاتیک عصب‌دهی می‌شوند و به وسیله هر دو سیستم تنظیم می‌شـود [۱۸، ۱۹ و ۲۰]. فیبرهـای سـمپاتیکی بخـش‌هـای درون‌ریز و برون‌ریز لوزالمعده را به صورت غیرمستقیم و از طریق سیستم‌های کولینرژیک تنظیم می‌نمایند [۲۱].

از آن‌جا که اثرات گلوکاگن بر میزان قندخون و متابولیسم انرژی و در مباحث مربوطه به پاتوفیزیولوژی دیابت مهـم می‌باشد [۷] و درآینده‌ای نزدیک آمـار بیمـاران دیـابتی از ۱۵۰ میلیون نفر در حال حاضر، به حدود ۳۰۰ میلیون نفـر در سراسر جهان خواهد رسید [۱۷] و از طـرف دیگـر بـا توجه به آمار روزافزون مصرف کنندگان نیکوتین، بررسـی اثرات آن بـر عملکـرد ترشـحی سـلول‌هـای آلفـای غـده لوزالمعده و سطوح سرمی هورمـون گلوکـاگن ضـرورت خاص می‌یابد.

مواد و روش کار

پژوهش حاضر یک مطالعه‌ی تجربی است که در دانـشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت در سال ۱۳۸۹ انجام شـد. در این تحقیـق از ۵۰ سـر مـوش صـحرایی نـر بـالغ از نـژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰-۲۲۰ گرم و با سـن ۹۰ روز، تهیه شده از خانـه پـرورش حیوانـات موسـسه واکـسن و سرم‌سازی رازی، استفاده شد. نمونه‌ها به ۵ گروه ۱۰ تایی شامل دو گروه کنترل و شاهد و سه گروه تجربی ۱ و ۲ و ۳ دسته بندی شدند. ابتدا هر یک از گروه‌ها در قفس‌هـای جداگانه قرار گرفتند و به منظـور سـازگاری نمونـه‌هـا بـا محیط آزمایشگاه بـه آن‌هـا ده روز فرصـت داده شـد. بـه علاوه در طول دوره تجویز، همه حیوانات از آب و غذای یکسان و بدون محدودیت برخـوردار بـوده و در شـرایط دمایی ۲۲ درجـه سـانتی‌گـراد و نـور طبیعـی ۱۲ سـاعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار داشتند. پروتکـل ایـن تحقیق بر اسـاس قـوانین بـین‌المللـی در مـورد حیوانـات آزمایشگاهی و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید. در این تحقیق گروه کنترل تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند و گروه شاهد نیز روزانـه بـه مـدت ۵ روز تحـت تزریـق درون صفاقی سرم فیزیولوژیک به عنوان حلال دارو قـرار گرفتند. سه گروه تجربی نیز هم‌زمان و به مدت ۵ روز بـا رعایت دوز کشنده دارو، به ترتیب دوزهای ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلـوگرم وزن بـدن، نیکـوتین را بـه صـورت تزریق درون صفاقی دریافت داشـتند و در نهایـت در روز ششم مابین ساعت ۱۰ تا ۱۱ صبح حیوانات را با اتر تحت بی هوشی خفیف قرار داده و آن‌گاه با شکافتن قفسه سینه و به کمک سرنگ ۵ میلی لیتری، از قلب حیوانات خـون‌گیری به عمل آمد. نمونه‌هـای خـونی تهیـه شـده جهـت انعقاد برای مدت ۱۵ دقیقه در انکوبـاتور ۳۷ درجـه قـرار داده شدند و سپس به منظور جداسـازی سـرم، لولـه‌هـای محتوی خون تهیه شده برای مـدت ۱۵ دقیقـه در دسـتگاه سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شـدند و سپس لوله‌ها از دستگاه خارج و به میـزان مـورد نیـاز از سرم تهیه شده برداشت و در درون لوله‌های مخـصوص و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان اندازه گیری میـزان هورمون گلوکاگن نگهداری شدند و سپس با انتقال نمونه ها به آزمایشگاه و به کمـک روش رادیوایمونواسـی و بـا کمک کیت سنجش گلوکاگون در موش صحرایی سـاخت شـرکت Linco Research آمریکـا، میـزان هورمـون گلوکـاگن انـدازه گیـری گردیـد و بـا اسـتفاده از نـوار گلوکویاب و دستگاه Gluco Dr مدل Super Sensor ساخت کره جنوبی میزان قندخون اندازه گیری شـد. داده‌های به دست آمده بـا اسـتفاده از نـرم افـزار SPSS و از طریق تجزیه و تحلیل واریانس یـک‌طرفـه، مـورد تحلیـل آماری قرار گرفتند.

نتایج

مقایسه‌ی نتایج آزمون آماری مربوط به اثر تزریق درون صفاقی نیکوتین بر سطح سرمی هورمون گلوکاگن در

موش صحرایی نر بالغ در هر سه گروه تجربی دریافت کننده مقادیر مختلف نیکوتین نسبت به گروه کنترل و شاهد افزایش معنی‌داری را در سطح $P\leq ۰/۰۵$ برای گروه-های تجربی ۱ و ۲ و در سطح $P\leq ۰/۰۱$ برای گروه‌های تجربی ۳، نشان می‌دهد (جدول ۱). همچنین مقایسه‌ی سطح سرمی گلوکز خون در گروه‌های تجربی ۱ و۲ و ۳ نشان می‌دهد که دوزهای مختلف نیکوتین باعث افزایش معنادار میزان سرمی گلوکز خون در سطح $P\leq ۰/۰۵$ می-گردد (جدول ۲).

جـدول ۱ـ مقایسه‌ی اثر مقادیر مختلف تزریق درون صفاقی نیکوتین بر میزان سطح سرمی هورمون گلوکاگن در گروه‌های مورد پژوهش

گـــــروه‌ها	**میزان سطح سرمی هورمون گلوکاگن** (انحراف استاندارد±میانگین) **Pg/ml**
کنتـرل	۲۵/۳۱۲±۱۶/۲۷
شاهد (۱ سی‌سی سالین)	۳۰/۹۳۷±۱۹/۴۲۲
تجربی ۱ (دوز حداقل: ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱۰۸/۳۱۲±۲۷/۷۴۲*
تجربی ۲ (دوز متوسط: ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱۱۵/۶۸۷±۲۳/۵۳۸*
تجربی ۳ (دوز حداکثر: ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱۵۰/۱۸۲±۱۴/۲۸۵**

* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ($P\leq ۰/۰۵$) با گروه‌های کنترل و شاهد است.

** نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ($P\leq ۰/۰۱$) با گروه‌های کنترل و شاهد است.

جـدول ۲ـ مقایسه‌ی اثر مقادیر مختلف تزریق درون صفاقی نیکوتین بر میزان سرمی گلوکز خون در گروه‌های مورد پژوهش

گـــــروه‌ها	**میزان سطح سرمی گلوکز** (انحراف استاندارد±میانگین) **mg/dl**
کنتـرل	۹۵/۲۵±۹/۶۵
شاهد (۱ سی‌سی سالین)	۱۰۶/۳۵±۱۰/۷۵
تجربی۱ (دوز حداقل: ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱۴۷/۴۵±۱۱/۲۹*
تجربی ۲ (دوز متوسط: ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱۵۲/۲۴۷±۱۳/۴۲*
تجربی ۳ (دوز حداکثر: ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱۶۳/۳۴±۱۴/۵۲*

* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ($P\leq ۰/۰۵$) با گروه‌های کنترل و شاهد است.

بحث

در این پژوهش اثر تزریق درون صفاقی نیکوتین بر میزان سطح سرمی هورمون گلوکاگن و قندخون بر روی ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ بررسی شد. نتایج به دست آمده بیانگر آن بود که نیکوتین باعث تحریک ترشح گلوکاگن و افزایش قندخون می‌گردد.

مطالعات نشان داده‌اند که آگونیست‌های استیل کولین نظیر نیکوتین با فعال نمودن سیستم سمپاتوآدرنال باعث افزایش سطوح پلاسمایی کاتکول آمین‌ها می‌شوند [۵، ۲۲ و ۲۳]. همچنین بررسی‌ها نشان داده‌اند که نیکوتین با تحریک سلول‌های پس عقده‌ای سیستم عصبی سمپاتیک باعث افزایش فعالیت نورآدرنرژیک می‌شود [۲٤ و ۲۵]. تحقیقات نشان داده‌اند که اپی نفرین و نوراپی نفرین می‌توانند با تحریک آدرنوسپتورهای موجود در غشاء سلول‌های آلفای پانکراس باعث افزایش ترشح گلوکاگن شوند [۲٦، ۲۷ و ۲۸]. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌های آلفای پانکراس توسط فیبرهای آدرنرژیک و کولینرژیک سیستم عصبی خودمختار عصب‌دهی می‌شوند [۱۹، ۲۰، ۲۱ و ۲۹] که به سرعت در شرایط هیپوگلیسمی وارد عمل می‌شوند [۱۰]، و این ساختارهای عصبی، نوروترانسمیترهای استیل کولین و نوراپی نفرین ترشح می‌کنند که هر دو ترشح گلوکاگن را از سلول‌های آلفا تحریک می‌نمایند [۳۰]. تحقیقات نشان داده‌اند که نیکوتین با افزایش فعالیت سمپاتوآدرنال و افزایش ترشح اپی نفرین و نوراپی نفرین مانع غیرفعال شدن کانال‌های کلیسمی در سلول‌های آلفا شده و از این طریق باعث ازیاد ورود کلسیم به داخل این سلول‌ها و در نتیجه افزایش ترشح گلوکاگن می‌شوند [۳۱]. بررسی‌ها نشان داده‌اند که تزریق درون بطنی کولین به عنوان پیش ساز استیل کولین باعث افزایش غلظت پلاسمایی گلوکاگن می‌شود که با استفاده از آنتاگونیست‌های نیکوتینی و نه موسکارینی استیل کولین معکوس می‌گردد [۳۲]. تجویز درون صفاقی کولین نیز باعث افزایش گلوکاگن می‌شود در حالی که تجویز درون صفاقی HC-3 که مانع جذب کولین می‌شود و یا تزریق درون صفاقی بلوکرهای گانگلیونی سیستم عصبی اتونومیک محیطی نظیر Hexamethonium باعث کاهش سطوح پلاسمایی هورمون گلوکاگن می‌شود [۳۲] اکثر مطالعات نشان داده‌اند که تزریق درون بطنی مسدود کننده‌های گیرنده‌های نیکوتینی و موسکارینی استیل کولین باعث کاهش ترشح گلوکاگن می‌شوند [۳۳ و ۳٤]. بررسی‌ها نشان داده‌اند که تزریق درون بطنی نئوستیگمین به عنوان مهار کننده آنزیم کولین استراز و از طریق فعال سازی سیستم عصبی خودمختار محیطی باعث افزایش سطوح پلاسمایی هورمون گلوکاگن می‌شود [۳۵]. مطالعات نشان داده‌اند که نیکوتین با اتصال به گیرنده‌های نیکوتینی استیل کولین در عقده‌های عصبی خودمختار باعث تحریک فعالیت‌های سمپاتیکی و پاراسمپاتیکی می‌شود و از طریق افزایش آزادسازی استیل کولین و همچنین اپی نفرین و با افزایش ورود کلسیم به داخل سلول‌های آلفا ترشح گلوکاگن را تحریک می‌نماید [۳۱]. فعالیت سلول‌های آلفا توسط نوروترانسمیتر گابا که در سلول‌های بتا تجمع یافته و به وسیله اگزوسیتوز وابسته به کلسیم رها می‌شود، نیز تنظیم می‌گردد. اتصال گابا به رسپتورهای تیپ A خود در غشاء سلول‌های آلفا باعث ورود یون‌های کلروهیپرپلاریزاسیون غشاء پلاسمایی این سلول‌ها و در نتیجه کاهش ترشح گلوکاگن می‌شود [۱۵] و نیکوتین با تحریکات سمپاتیکی مانع فعالیت گاباارژیک و در نتیجه از اثر مهاری این نوروترانسمیتر جلوگیری می‌کند.

منابع

1. Karlsson S, and B. Ahrén (1998), Insulin and glucagon secretion by ganglionic nicotinic activation in adrenalectomized mice. *Eur J Pharmacol*, 342(2-3): 291-295.

2. Morgan T. M., L. Crawford, A. Stoller, D. Toth, K. T. Yeo, and J. A. Baron (2004), Acute effects of nicotine on serum glucose insulin growth hormone and cortisol in healthy smokers. *Metabolism*, 53(5): 578-582.

3. Arendash G.W., P. R. Sanberg, and G. J. Sengstock (1995), Nicotine enhances the learning and memory of aged rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 52(3):517-523.

4. Cavun S., V. Savci, and I. H. Ulus (2004), Centrally injected CDP-choline increases plasma vasopressin levels by central cholinergic activation. *Fundam Clin Pharmacol*, 18(1):71-77.

5. Savci V., G. Goktalay, M. Cansev, S. Cavun, M. S. Yilmaz, and I. H. Ulus (2003), Intravenously injected CDP-choline increases blood pressure and reverses hypotension in haemorrhagic shock: effect is mediated by central cholinergic activation. *Eur J Pharmacol,* 468(2): 129-39.

6. Quesada I., E. Tudurí, C. Ripoll, and A. Nadal (2008), Physiology of the pancreatic alpha-cell and glucagon secretion: role in glucose homeostasis and diabetes. *The Journal of endocrinology*, 199: 5-19.

7. Quesada I., M. G. Todorova, Soria (2006), Different Metabolic Responses in *α*-, *β*-, and δ-Cells of the Islet of Langerhans Monitored by Redox Confocal Microscopy. *The Biophysical Society,* 90(7):2641-2650.

8. Dunning B. E., J. E. Foley, and B. Ahrén. (2005). Alpha cell function in health and disease: influence of glucagon-like peptide-1. *Diabetologia,* 48(9): 1700-1713.

9. Song Z., B. E. Levin, J. J. McArdle, N. Bakhos, and V. H. Routh (2001), Convergence of pre- and postsynaptic influences on glucosensing neurons in the ventromedial hypothalamic nucleus. *Diabetes,* 50(12): 2673-2681.

10. Ahrén B. (2000), Autonomic regulation of islet hormone secretion--implications for health and disease. *Diabetologia,* 43(4): 393-410.

11. Gromada J, X. Ma, M. Høy, k. Bokvist, A. Salehi, P. O. Berggren, and P. Rorsman (2004), ATP-sensitive K+ channel-dependent regulation of glucagon release and electrical activity by glucose in wild-type and SUR1-/- mouse alpha-cells. *Diabetes,* 53 Suppl 3: S181-9.

12. MacDonald P. E., Y. Z. De Marinis, R. Ramracheya, A. Salehi, X. Ma, P. R. Johnson, R. Cox, L. Eliasson, P. Rorsman (2007), A K ATP channel-dependent pathway within alpha cells regulates glucagon release from both rodent and human islets of Langerhans. *PLoS Biol,* 5(6): e143.

13. Quesada I, M. G. Todorova, P. Alonso-Magdalena, M. Beltrá, E. M. Carneiro, F. Martin, A. Nadal, and B. Soria. Glucose induces opposite intracellular Ca2+ concentration oscillatory patterns in identified alpha- and beta-cells within intact human islets of Langerhans. *Diabetes*, 55(9): 2463-2469.

14. Hayashi M., M. Otsuka, R. Morimoto, A. Muroyama, S. Uehara, A. Yamamoto, and Y. Moriyama (2003), Vesicular inhibitory amino acid transporter is present in glucagon-containing secretory granules in alphaTC6 cells, mouse clonal alpha-cells, and alpha-cells of islets of Langerhans. *Diabetes,* 52(8):2066-2074.

15. Wendt A, B. Birnir, K. Buschard, J. Gromada, A. Salehi, S. Sewing, P. Rorsman, and M. Braun (2004), Glucose inhibition of glucagon secretion from rat alpha-cells is mediated by GABA released from neighboring beta-cells. *Diabetes,* 53(4): 1038-1045.

16. Miki T, B. Liss, K. Minami, T. Shiuchi, A. Saraya, Y. Kashima, M.

sympathoadrenal system. *Arch Physiol Biochem,* 113(4-5):186-201.
24. Cansev M., M. S. Yilmaz, Y. O. Ilcol, E. Hamurtekin, and I. H. Ulus (2007), Cardiovascular effects of CDP-choline and its metabolites: involvement of peripheral autonomic nervous system. *Eur J Pharmacol,* 577 (1-3):129-142.
25. Cansev M., Y. O. Ilcol, M. S. Yilmaz, E. Hamurtekin and I. H. Ulus (2008), Peripheral administration of CDP-choline, phosphocholine or choline increases plasma adrenaline and noradrenaline concentrations. *Auton Autacoid Pharmacol,* 28(1):41-58.
26. Ahrén B. and I. Lundquist (1987), Alpha-adrenoceptor blockade by phentolamine inhibits beta-adrenergically and cholinergically induced glucagon secretion in the mouse. *Horm Metab Res,* 19(12):600-603.
27. Arslan B. Y., I. H. Ulus, V. Savci, and B. K. Kiran (1991), Effects of intracerebroventricular injected choline on cardiovascular functions and sympathoadrenal activity. *J Cardiovasc Pharmacol,* 17(5):814-821.
28. Knudtzon J (1984), Adrenergic effects on plasma levels of glucagon, insulin, glucose and free fatty acids in rabbits--influences of selective blocking drugs. *Acta Physiol Scand,* 120(3):353-361.
29. Gilon P. and J. C. Henquin (2001), Mechanisms and physiological significance of the cholinergic control of pancreatic beta-cell function. *Endocr Rev,* 22(5):565-604.
30. Berts A., E. Gylfe and B. Hellman (1997), Cytoplasmic Ca2+ in glucagon-producing pancreatic alpha-cells exposed to carbachol and agents affecting Na+ fluxes. *Endocrine,* 6(1):79-83.
31. Gromada J., K. Bokvist, W. G. Ding, S. Barg, K. Buschard, E. Renström, and P. Rorsman (1997), Adrenaline stimulates glucagon secretion in pancreatic A-cells by increasing the Ca2+ current and the number of granules close to the L-type
Horiuchi, F. Ashcroft, Y. Minokoshi, J. Roeper, and S. Seino (2001), ATP-sensitive K+ channels in the hypothalamus are essential for the maintenance of glucose homeostasis. *Nat Neurosci,* 4(5): 507-512.
17. Zimmet P., K. G. Alberti, and J. Shaw (2001), Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature,* 2001; 414(6865): 782-787.
18. Buijs R. M., S. J. Chun, A. Niijima, H. J. Romijn, and K. Nagai (2001), Parasympathetic and sympathetic control of the pancreas: a role for the suprachiasmatic nucleus and other hypothalamic centers that are involved in the regulation of food intake. *J Comp Neurol,* 431(4): 405-23.
19. Rossi J., P. Santamäki, M. S. Airaksinen, and K. H. Herzig (2005), Parasympathetic innervation and function of endocrine pancreas requires the glial cell line-derived factor family receptor alpha2 (GFRalpha2). *Diabetes,* 54(5): 1324-30.
20. Persson-Sjögren S., A. Zashihin, and S. Forsgren (2001), Nerve cells associated with the endocrine pancreas in young mice: an ultrastructural analysis of the neuroinsular complex type I. *hem J,* 33(6):373-378.
21. Szczurkowski A., J. Kuchinka, E. Nowak, and T. Kuder (2009), Autonomic Innervation of Pancreas in Egyptian Spiny Mouse (*Acomys cahirinus*, Desmarest). *Acta Vet. Brno,* 78: 557-561.
22. Ilcol Y. O., M. S. Gurun, Y. Taga, and I. H. Ulus (2002), Intraperitoneal administration of choline increases serum glucose in rat: involvement of the sympathoadrenal system. *Horm Metab Res,* 34(6):341-347.
23. Ilcol Y. O., M. Cansev, M. S. Yilmaz, E. Hamurtekin, and I. H. Ulus (2007), Intraperitoneal administration of CDP-choline and its cholinergic and pyrimidinergic metabolites induce hyperglycemia in rats: involvement of the

adrenalectomized mice. *Eur J Pharmacol*, 342(2-3):291-5.

34. Verspohl E. J., R. Tacke, E. Mutschler, and G. Lambrecht (1990), Muscarinic receptor subtypes in rat pancreatic islets: binding and functional studies. *Eur J Pharmacol,* 178(3):303-311.

35. Iguchi A., M. Gotoh, H. Matsunaga, A. Yatomi, A. Honmura, M. Yanase, and N. Sakamoto (1988), Relative contributions of the nervous system and hormones to CNS-mediated hyperglycemia. *Am J Physiol,* 255(6 Pt 1): E920-927.

Ca2+ channels. *J Gen Physiol,* 110(3):217-28.

32. Cansev M., Y. O. Ilcol, M. S. Yilmaz, E. Hamurtekin, and I. H. Ulus (2008), Choline, CDP-choline or phosphocholine increases plasma glucagon in rats: involvement of the peripheral autonomic nervous system. *Eur. J. Pharmacol*, 589: 315-322.

33. Karlsson S., and B. Ahrén (1998), Insulin and glucagon secretion by ganglionic nicotinic activation in