



## 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

مستول مکاتبات: ebrahim.hossini@yahoo.com

### چکیده

نیکوتین الکلوییدی است که از طریق مصرف سیگار مورد استفاده میلیون‌ها نفر در سراسر جهان می‌باشد و اثراتی را بر کل بدن و به ویژه، سیستم‌های آندوکراین 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 میلی‌لیتر 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. داده‌ها 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 ( $P \leq 0/01$ ). 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

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 کلیسم به داخل سلول‌ها آلفا افزایش می‌یابد که منجر به آگزوسیتوز بیشتر گلوکاگن می‌شود [۱۱، ۱۲ و ۱۳]. عوامل هورمونی و عصبی مختلفی نظیر اپی‌نفرین، نوراپی‌نفرین، L-گلوتامات، انسولین، گابا بر عملکرد، سلول‌های آلفای پانکراس اثر تنظیمی دارند [۷، ۱۴ و ۱۵].

نیکوتین الکلوییدی 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 استنشاق حشره‌کش‌ها 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 درون‌ریز به ویژه پانکراس دارد [۴ و ۵]. ترشح هورمون گلوکاگن از سلول‌های آلفای پانکراس نقش مهمی را در تنظیم قندخون بازی می‌کند [۶] و در شرایط هیپوگلیسمی ترشح گلوکاگن افزایش می‌یابد [۷].

بررسی‌ها نشان داده‌اند که مکانیسم‌های عصبی تنظیم ترشح گلوکاگن با واسطه نورون‌های حساس به گلوکز در ناحیه میانی شکمی هیپونالاموس تنظیم می‌شود [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 می‌شود [۱۸، ۱۹، ۲۰]. فیبرهای سمپاتیکی بخش‌های 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 مهم می‌باشد [۷] و درآینده‌ای نزدیک آمار بیماران دیابتی از ۱۵۰ میلیون نفر در حال حاضر، به حدود ۳۰۰ میلیون نفر در سراسر جهان خواهد رسید [۱۷] و از طرف دیگر با توجه به آمار روزافزون مصرف کنندگان نیکوتین، بررسی اثرات آن بر عملکرد ترشحی سلول‌های آلفای غده لوزالمعده و سطوح سرمی هورمون گلوکاگن ضرورت خاص می‌یابد.

#### مواد و روش کار

پژوهش حاضر یک مطالعه‌ی تجربی است که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت در سال ۱۳۸۹ انجام شد. در این تحقیق از ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰-۲۲۰ گرم و با سن ۹۰ روز، تهیه شده از خانه پرورش حیوانات موسسه واکسن 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 قفس‌های جداگانه قرار گرفتند و به منظور سازگاری نمونه‌ها با محیط آزمایشگاه به آن‌ها ده روز فرصت داده شد. به علاوه در طول دوره تجویز، همه حیوانات از آب و غذای یکسان و بدون محدودیت برخوردار بوده و در شرایط دمایی ۲۲ درجه سانتی‌گراد و نور طبیعی ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار داشتند. پروتکل این

تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید. در این تحقیق گروه کنترل تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند و گروه شاهد نیز روزانه به مدت ۵ روز تحت تزریق درون صفاقی سرم فیزیولوژیک به عنوان حلال دارو قرار گرفتند. سه گروه تجربی نیز هم‌زمان و به مدت ۵ روز با رعایت دوز کشنده دارو، به ترتیب دوزهای ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، نیکوتین را به صورت تزریق درون صفاقی دریافت داشتند و در نهایت در روز ششم مابین ساعت ۱۰ تا ۱۱ صبح حیوانات را با اتر تحت بی‌هوشی خفیف قرار داده و آن‌گاه با شکافتن قفسه سینه و به کمک سرنگ ۵ میلی‌لیتری، از قلب حیوانات خون-گیری به عمل آمد. نمونه‌های خونی تهیه شده جهت انعقاد برای مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شدند و سپس به منظور جداسازی سرم، لوله‌های محتوی خون تهیه شده برای مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار شدند و سپس لوله‌ها از دستگاه خارج و به میزان مورد نیاز از سرم تهیه شده برداشت و در درون لوله‌های مخصوص و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان اندازه‌گیری میزان هورمون گلوکاگن نگهداری شدند و سپس با انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه و به کمک روش رادیوایمونواسی و با کمک کیت سنجش گلوکاگن در موش صحرایی ساخت شرکت Linco Research آمریکا، میزان هورمون گلوکاگن اندازه‌گیری گردید و با استفاده از نوار گلوکویاب و دستگاه Gluco Dr مدل Super Sensor ساخت کره جنوبی میزان قندخون اندازه‌گیری شد. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS و از طریق تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه، مورد تحلیل آماری قرار گرفتند.

#### نتایج

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

سطح سرمی گلوکز خون در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ نشان می‌دهد که دوزهای مختلف نیکوتین باعث افزایش معنادار میزان سرمی گلوکز خون در سطح  $P \leq 0/05$  می‌گردد (جدول ۲).

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  $P \leq 0/05$  برای گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و در سطح  $P \leq 0/01$  برای گروه‌های تجربی ۳، نشان می‌دهد (جدول ۱). همچنین مقایسه‌ی

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

میزان سطح سرمی هورمون گلوکاگن (انحراف استاندارد $\pm$ میانگین) <b>Pg/ml</b>	گروه‌ها
۲۵/۳۱۲ $\pm$ ۱۶/۲۷	کنترل
۳۰/۹۳۷ $\pm$ ۱۹/۴۲۲	شاهد (۱ سی سی سالین)
۱۰۸/۳۱۲ $\pm$ ۲۷/۷۴۲*	تجربی ۱ (دوز حداقل: ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۱۱۵/۶۸۷ $\pm$ ۲۳/۵۳۸*	تجربی ۲ (دوز متوسط: ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۱۵۰/۱۸۲ $\pm$ ۱۴/۲۸۵**	تجربی ۳ (دوز حداکثر: ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)

\* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح  $(P \leq 0/05)$  با گروه‌های کنترل و شاهد است.

\*\* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح  $(P \leq 0/01)$  با گروه‌های کنترل و شاهد است.

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

میزان سطح سرمی گلوکز (انحراف استاندارد $\pm$ میانگین) <b>mg/dl</b>	گروه‌ها
۹۵/۲۵ $\pm$ ۹/۶۵	کنترل
۱۰۶/۳۵ $\pm$ ۱۰/۷۵	شاهد (۱ سی سی سالین)
۱۴۷/۴۵ $\pm$ ۱۱/۲۹*	تجربی ۱ (دوز حداقل: ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۱۵۲/۲۴۷ $\pm$ ۱۳/۴۲*	تجربی ۲ (دوز متوسط: ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۱۶۳/۳۴ $\pm$ ۱۴/۵۲*	تجربی ۳ (دوز حداکثر: ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)

\* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح  $(P \leq 0/05)$  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 نورآدرنژیک می‌شود [۲۴ 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 [۲۶، ۲۷ و ۲۸]. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌های آلفای پانکراس توسط فیبرهای آدرنژیک 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 از یاد 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 ۳۴]. 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 آگزوسیتوز 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 گاباژرژیک و در نتیجه از اثر مهارتی این نوروترانسمیتر جلوگیری می‌کند.



## منابع

- 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<sup>+</sup> channel-dependent regulation of glucagon release and electrical activity by glucose in wild-type and SUR1<sup>-/-</sup> 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 Ca<sup>2+</sup> 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. 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  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\delta$ -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



- 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 Ca<sup>2+</sup> in glucagon-producing pancreatic alpha-cells exposed to carbachol and agents affecting Na<sup>+</sup> 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 Ca<sup>2+</sup> 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<sup>+</sup> 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. Nijima, 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.

Ca<sup>2+</sup> 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

Archive of SID