Downloaded from zjrms.ir at 20:12 +0430 on Wednesday June 5th 2019

اثرات GLP-1 بر متابولیسم گاما – آمینوبوتیریک اسید و سروتونین در مخلوط سیناپتوزومی هیپیوتالاموس و ساقه مغز موش صحرایی

محسن نیک سرشت*، فیروزه صانع**، دکتر علی اکبر اوجی**، حمدالله دلاویز***

* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی یاسوج، دانشکده پزشکی،گروه بیوشیمی
** دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شیراز، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی
*** دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی یاسوج، دانشکده پزشکی،گروه آناتومی

چکیده

زمینه و هدف: پپتید شبه گلوکاگون- ۱ (GLP-1) محصول اصلی بیان ژن گلوکاگون در سلولهای L روده ای است. GLP-1 در پاسخ به غذا خوردن از روده به درون جریان خون ترشح می شود و قویترین محرک ترشح انسولین القا شده توسط گلوکز است. گیرنده های GLP-1 در مناطق مختلفی از مغز موش صحرایی تشخیص داده شده اند و GLP-1 مغزی و نخاعی در موش های صحرایی گرسنه، غذا خوردن را مهار می کند. هدف از انجام این مطالعه پی بردن به چگونگی عملکرد GLP-1 به عنوان یک نوروپپتید است.

مواد و روش کار: این مطالعه به صورت in vitro انجام شد. موش های استفاده شده نر و وزن آنها بین ۲۲۰-۲۰۰ گرم بوده و برای هر آزمایش از گروههای ۷ تایی موش استفاده شد. ابتدا هیپوتالاموس و ساقه مغز موشها جدا و با هم مخلوط شده و پس از جدا کردن سیناپتوزوم، برای مدت ۱۵ دقیقه با GLP-1 به غلظت (۵×۱۰^{-۷}M) و درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد آنکوبه شد. سپس میزان سروتونین، گاما ـ آمینوبوتیریک اسید(GABA)، تریپتوفان، ۵ ـ هیدروکسی ایندول استیک اسید(5-HIAA) و گلوتامیک اسید با روش HPLC اندازه گیری گردید. برای این گروه آزمایشی یک گروه شاهد هم تهیه شد که به جای GLP-1 به آنها محلول نرمال نمک طعام اضافه گردید و سپس نتایج توسط روش آماری t.test آنالیز شد.

یافته ها: GLP-1 (۵×۱۰^{-۷}M) میزان سروتونین را بعد از ۱۵ دقیقه که با هیپوتالاموس و ساقه مغز آنکوبه شد، در حدود ۲۰ درصد کاهش داد ($P<۰/۰۵$). میزان ۵- هیدروکسی ایندول استیک اسید که متابولیت اصلی سروتونین و تریپتوفان که آمینو اسید پیش ساز سروتونین است، به ترتیب در حدود۲۱ و ۳۷٪ کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). گاما ـ آمینو بوتیریک اسید و آمینو اسید پیش ساز آن (گلوتامیک اسید) هر دو در شرایط بالا اندازه گیری شدند اما یک عمل مشتق سازی قبلا روی آنها انجام گرفت. افزایش در میزان GABA (۱۴ ٪) و گلوتامیک اسید (۶٪) توسط GLP-1 معنی دار نبود.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج به دست آمده می توان چنین پیشنهاد کرد که GLP-1 باعث کاهش میزان تریپتوفان در سیناپتوزوم شده و در پی آن سنتز سروتونین را کاهش داده و در نتیجه تا حدودی باعث مهار اثرات سروتونین به عنوان یک نوروترانسمیتر شده است. **(مجله طبیب شرق، سال ششم، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۳، ص ۱۶۵ تا ۱۷۲)**

گل‌واژه ها: گاما آمینو بوتیریک اسید، ۵ هیدروکسی تریپتوفان ، GLP-1، هیپوتالاموس ، موش صحرائی

مقدمه

پپتید شبه گلوکاگون نوع یک یا به اختصار GLP-1 محصول اصلی بیان ژن گلوکاگون در سلولهای L روده ای است. GLP-1 در پاسخ به خوردن غذا از روده به درون جریان خون ترشح می‌شود و قویترین محرک ترشح انسولین القا شده توسط گلوکز است.[۱و۲] GLP-1 دارای ۳۰ آمینو اسید است و از نظر ترتیب آمینواسید ها دارای ۵۰ درصد همولوژی

با گلوکاگون است. GLP-1 از طریق گیرنده هایی عمل می‌کند که متعلق به خانواده G-7-transmembrane protein coupling super family هستند.[۳]

مطالعات نشان داده که GLP-1 دارای اثراتی بر ترشح هورمون های جزایر لانگرهانس، حرکات معده و غذا خوردن است. همچنین یک نقش مرکزی را در تکامل سلول‌های جزایر لانگرهانس داراست.[۴] GLP-1 اثر مهار کنندگی قوی روی حرکات و ترشحات دستگاه گوارش دارد و به نظر می‌رسد که به عنوان یک ileal brake عمل می کند. این اثر را احتمالا از طریق گیرنده های موجود در سیستم اعصاب مرکزی و ساقه مغز انجام می دهد. GLP-1 ترشح اسید معده و ترشحات پانکراس را مهار می‌کند.[۳] گیرنده‌های GLP-1 در مناطق مختلفی از مغز مشاهده شده که بیشترین تعداد گیرنده ها در هیپوتالاموس گزارش شده است.[۵و۶] در مطالعات، تزریق GLP-1 به داخل بطن های مغزی به صورت قوی غذا خوردن در موش های گرسنه را مهار می کند که تاثیر GLP-1 بر هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموس انجام می شود.[۵و۷و۸] در مطالعات دیگر دیده شد که GLP-1 تزریق شده به موش به عنوان یک مهار کننده قوی هیپوتالاموس در رفتار غذا خوردن موش، هم از طریق هسته پاراونتریکولار و هم از طریق LH عمل می‌کند.[۷]

GLP-1 تراکم جزایر لانگرهاس را افزایش می دهد که این عمل را توسط تحریک تکثیر سلول های B پانکراس انجام می دهد. این پپتید همچنین تمایز سلولی را از سلول های کامل نشده جزایر به سلول های B تمایز یافته پیش می برد. GLP-1 و GLP-2 هر دو یک اثر ضد آپوپتوزیس هم از خود نشان می‌دهند که باعث تجمع سلول های B و اپیتلیوم روده می شود.[۹]

GLP-1 اثرات قوی بر ترشح انسولین القاء شده توسط گلوکز، بیان ژن انسولین و رشد و تمایز سلول های B دارد. بنابراین به عنوان یک عامل درمانی برای درمان دیابت نوع ۲ مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات نشان می‌دهد که GLP-1 در یک حالت وابسته به دوز، ترشح انسولین را در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو افزایش می دهد.[۱۰] گفته می شود که وجود GLP-1 برای هموستاز گلوکز به صورت طبیعی ضروری است.[۱۱] GLP-1 ترشح اسید گاستریک و ترشح گلوکاگون را مهار می کند. در سیستم مرکزی، GLP-1 احساس سیری را القا می کند. عقیده بر این است که GLP-1 ترشح انسولین را از طریق مکانیزم های وابسته به کنترل کانال های یونی (شامل کانال های K^+) وابسته به ولتاژ افزایش می دهد.[۱۲]

علاوه بر این مطالعات نشان داده که GLP-1 دارای اثرات متابولیک بر کبد، ماهیچه ها و بافت چربی به صورت اثرات گلوکوژنیک در ماهیچه های اسکلتی موش صحرایی، افزایش سنتز اسید های چرب در بافت چربی موش صحرایی و تحریک گلوکونئوژنز در هپاتوسیت های ماهی قزل آلا و ماهی آزاد می‌باشد.[۱۳-۱۵]

تمامی این اثرات بیولوژیکی ذکر شده باعث شد تا مطالعات زیادی برای پی بردن به مکانیزم عملی GLP-1 انجام شود و اثرات درمانی آن را به خصوص بر روی دیابت مشخص کنند. مطالعه حاضر که به صورت in vitro بر روی مخلوط سیناپتوزومی هیپوتالاموس و ساقه مغز موش صحرایی انجام شده، یکی از این تلاش هاست. هدف از این مطالعه این است که ببینیم GLP-1 به عنوان یک نوروپپتید چه تغییری را می‌تواند بر میزان GABA و سروتونین که هر دو نوروانسمیترهای موجود در سیستم عصبی هستند ایجاد کند و برای رسیدن به این هدف بهتر دیدیم که میزان گلوتامیک اسید(Glu) به عنوان پیش ساز GABA و تریپتونان (Trp) که پیش ساز سروتونین است و همچنین میزان ۵- هیدروکسی ایندول استیک اسید (5-HIAA) که متابولیت اصلی سروتونین است را نیز اندازه‌گیری کنیم. در مطالعه حاضر تاثیر GLP-1 بر متابولیسم سروتونین و GABA در هیپو تالاموس و ساقه مغز موش

Downloaded from zjrms.ir at 20:12 +0430 on Wednesday June 5th 2019

Downloaded from zjrms.ir at 20:12 +0430 on Wednesday June 5th 2019

صحرایی به صورت in vitro مورد بررسی قرار گرفته است.

روش کار

در این مطالعه از موش های صحرایی نر و از نژاد Sprague-Dawley با وزنی در حدود ۲۰۰ تا ۲۲۰ گرم استفاده شده و هر گروه شامل ۷ موش بود. دستگاه HPLC ساخت شرکت Division of Milipores Waters Associates، با انژکتور U6K و پمپ solvent delivery (مدل ۵۱۰). دتکتور فلورسانس (waters 2/20 – Aa) با طول موجهای تحریک و emission ۳۶۰ و ۴۵۵ نانومتر.[۱۶و۱۷] GLP-1 مورد استفاده به طور دوستانه ازپروفسور S.R.Bloom در آزمایشگاه Francis Fraser در Royal Postgraduate Medical School London تهیه شد.

روش تهیه سیناپتوزوم : گروههای ۷ تایی رت های طبیعی نر برای این کار انتخاب شدند. سر حیوانات توسط گیوتین قطع و مغز آنها بلافاصله بیرون آورده و روی یخ قرار گرفت. سیناپتوزوم ها از هموژونه کردن مجموع بافت های هیپوتالاموس و ساقه مغز در هر گروه تهیه می شود. مجموع دو بافت در ۹ حجم سوکروز M ۰/۲۵ هوموژونه شد و برای ۳ دقیقه در ۱۳۰۰g سانتریفیوژ شد. حجم رویی برای ۱۰ دقیقه در ۱۷۰۰۰g سانتریفیوژ شد. Synaptosomal pellets یعنی رسوب تشکیل شده را در یک بافر Krebs – Henseleit :

(NaCl ۱۴۰ mM , KCl ۵ mM , $MgSO_4$ ۱/۳mM و Tris – HEPES ۱۰mM , Na_2HPO_4 ۱ mM ، pH: ۷/۴) شامل گلوکز ۱۰ میلی مولار و $CaCl_2$ یک میلی مولار قرار می‌دهیم و برای صفر، ۲/۵ ، ۷/۵ ، ۱۵ دقیقه در یک حمام لرزشی ۳۷ درجه سانتی گراد آنکوبه می کنیم.[۱۸ -۲۰] اثر GLP-1 روی سیناپتوزوم ها به وسیله افزایش ۵۰ میکرولیتر از GLP-1 با غلظت ۵×۱۰^{-۷} مولار به محیط آنکوباسیون آزمایش می شود که این گروه آزمون را تشکیل می دهد و تمام اندازه گیری ها نسبت به گروه شاهد که به آنها ۵۰ میکرولیتر محلول نرمال نمک طعام اضافه می شود انجام گرفته است. در انتهای دوره آنکوباسیون واکنش ها به وسیله افزودن تری کلرواستیک اسید(TCA) یک در صد متوقف و نمونه ها سانتریفیوژ شده تا محلول شفاف رویی برای آنالیز استفاده شود.

اندازه گیری 5-HT و 5-HIAA با روش HPLC (High Performance Liquid Chromatography) به صورت زیر انجام گرفت.[۱۶و۲۱و۲۲]

۱ـ فاز متحرک شامل ۹۰۰ میلی لیتر از محلول استات سیترات ۰/۱ مولار با pH = ۴/۶ و ۱۰۰ میلی لیتر متانول.

۲ـ ستون : c_{18} bonda pack μ Reverse phase

۳ـ دتکتور : Electrochemical

۴ـ flow rate : ۱/۲ ml /min

در اندازه گیری GABA قبل از انجام HPLC از روش مشتق سازی با OPT (Orto-Phthaldialdehyde-Thiol reagent) استفاده شد.[۱۶]

۱ـ فاز متحرک ۸۰۰ میلی لیتر از بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با pH = ۵/۵ و ۲۰۰ میلی لیتر متانول.

۲ـ ستون: (۲۵۰ mm × ۴/۶)

Reverse phase c_{18} nova pack

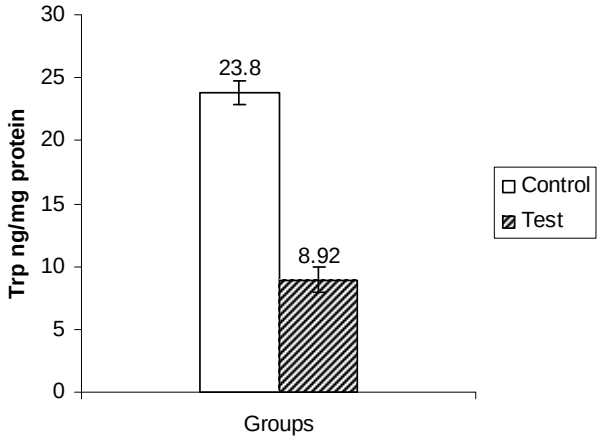
۳ـ دتکتور : فلورسانس

۴ـ flow rate: ۱ ml /min

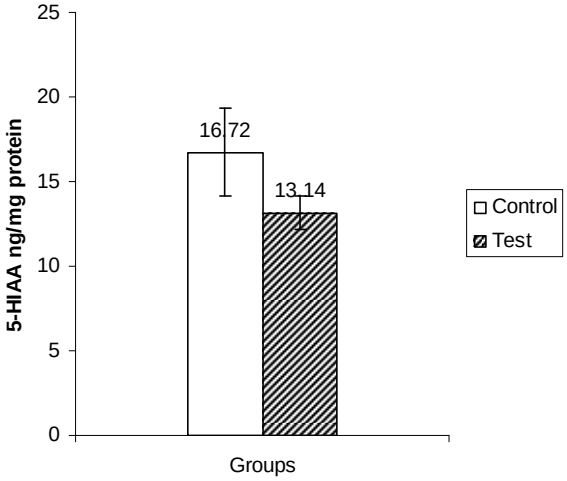
یافته ها

GLP-1 (۵×۱۰^{-۷} مولار) ۱۵ دقیقه پس از آنکوبایسون با مخلوط سیناپتوزوم های هیپوتالاماس و ساقه مغز میزان سروتونین (5-HT) را در حدود ۲۰ درصد ($P<۰/۰۵$) (نمودار ۳)، ۵ ـ هیدروکسی ایندول استیک (5-HIAA) که متابولیت اصلی 5-HT است را در حدود ۲۱ درصد ($P<۰/۰۵$) (نمودار ۲) و میزان تریپتوفان که آمینو اسید پیش ساز 5-HT است را در حدود ۳۷ درصد نسبت به گروه شاهد کاهش می‌دهد (نمودار ۱). میزان گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) و پیش ساز آن،

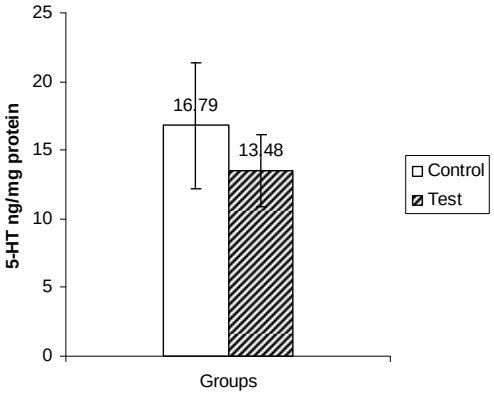
گلوتامیک اسید (Glu) به مقدار ۱۴ و ۶ درصد توسط GLP- 1 افزایش یافت که معنی دار نبود(نمودار ۴ و ۵).



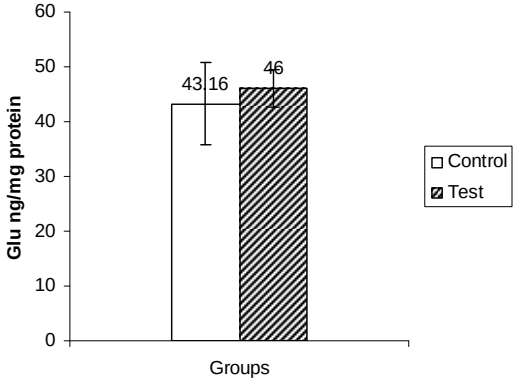
نمودار ۱ : تأثیر GLP-1 بر میزان Trp بعد از ۱۵ دقیقه انکوباسیون (mean ± SEM)



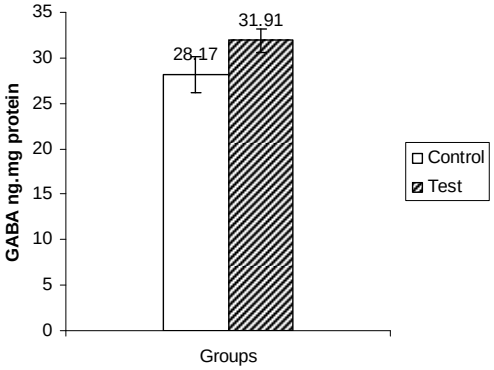
نمودار ۲ : تأثیر GLP-1 بر میزان 5-HIAA بعد از ۱۵ دقیقه انکوباسیون (mean ± SEM)



نمودار ۳ : تأثیر GLP-1 بر میزان 5-HT (سروتونین) بعد از ۱۵ انکوباسیون (mean ± SEM)



نمودار ٤ : تأثیر GLP-1 بر میزان Glu بعد از ۱۵ دقیقه انکوباسیون (mean ± SEM)



نمودار ٥ : تأثیر GLP-1 بر میزان GABA بعد از ۱۵ دقیقه انکوباسیون (mean ± SEM)

Downloaded from zjrms.ir at 20:12 +0430 on Wednesday June 5th 2019

Downloaded from zjrms.ir at 20:12 +0430 on Wednesday June 5th 2019

بحث

مشاهده شد که میزان آمینو اسیدهای مغز حتی در مورد حیواناتی که به صورت شدیدی گرسنه یا تشنه نگه داشته شده‌اند، به طور قابل ملاحظه ای پایدار است.

ترکیب آمینو اسیدهای مغز بستگی به چند فاکتور دارد که شامل مقدار انتقال آمینو اسید های مختلف به داخل یا خارج مغز، سرعت متابولیسم و شرکت آنها در ساختمان پروتئین ها می‌باشد. به نظر می رسد که میزان انتقال آمینو اسید ها به داخل یا خارج سلول‌های مغزی فاکتور مهم کنترل کننده دیگری برای میزان آمینو اسید ها در بافت عصبی باشد.

برای بررسی اثر GLP-1 بر متابولیسم آمینو اسیدها در in vitro اثرات GLP-1 را روی میزان5-HIAA ، تریپتوفان، 5-HT وGABA در مخلوط سیناپتوزومی هیپوتالاموس و ساقه مغز بررسی کردیم. در مطالعه ای که اوجی و همکارانش به صورت In vivo انجام دادند، بعد از تزریق ICV از GLP-1 (nmol ۴) در موش صحرایی ۵۴ درصد کاهش در میزان 5-HT(سروتونین) و به مقدار ۳۴ تا ۵۶ درصد کاهش در مابقی آمینو اسید های مورد اندازه گیری مشاهده شد.[۲۳]در مطالعه ای که Tachibana و همکارانش بر روی هیپوتالاموس جوجه مرغ ۲۱ روزه انجام دادند، بعد از تزریق GLP-1 به صورت ICV مشاهده کردند که در هستهVentromedial hypothalamic میزان دوپامین، نوراپی نفرین و اپی نفرین کاهش یافته ولی تغییری در میزان 5-HT مشاهده نکردند.[۲۴]در مطالعه حاضر که به صورت in vitro انجام شده، GLP-1 باعث کاهشی معنی‌دار و وابسته به زمان در میزان تریپتوفان شد. 5-HT و 5- HIAA به صورت معنی داری کاهش یافتند در حالی که نسبت 5-HIAA به 5-HT بدون تغییر باقی ماند.

با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده می شود که کاهش در میزان سروتونین هم در این مطالعه و هم در مطالعه اوجی و همکارانش حاصل شده ولی در مطالعهin vivo کاهش بیشتری مشاهده می‌شود. از طرفی ما تغییر معنی داری را در میزان GABA و Glu مشاهده نکردیم. در صورتی که در مطالعه اوجی این فاکتورها نیز کاهش یافته اند. نتیجه ای که می توان گرفت این است که در شرایطvivo in شرایطی حاکم است که در شرایط in vitro وجود ندارد و باعث بوجود آمدن این تفاوت شده که خود این موضوع هم قابل بررسی است . در هر صورت چون میزان تریپتوفان و سروتونین و 5-HIAA در هر دو مطالعه کاهش معنی داری نشان می دهد می‌توان اینطور پیشنهاد کرد کهGLP-1 با کاهش دادن میزان تریپتوفان از طریق مکانیزمی که قابل بررسی و مطالعه است باعث می‌شود که تریپتوفان لازم برای ساخت سروتونین و در نتیجه متابولیت هر دوی آنها یعنی5-HIAA در دسترس نباشد و مقدار آنها کاهش یابد.

در مطالعه Tachibana و همکارانش میزان سروتونین بدون تغییر باقی مانده است. دلیلی که می‌توان ارائه داد این است که در مطالعه حاضر تمامی بافت هیپوتالاموس مورد استفاده قرار گرفته ولی در مطالعه Tachibana فقط بخشی از هیپوتالاموس مورد بررسی قرار گرفته است.

در انتها باید متذکر شد که این مطالعه به این صورت برای اولین بار انجام شده و به همین دلیل ما آن را با مطالعات in vivo مقایسه کردیم ولی در هر صورت درباره چگونگی عملکرد GLP-1 سؤالات زیادی وجود دارد که نیاز به مطالعات بیشتری است.

سپاسگزاری

بدینوسیله نویسندگان مقاله از تمامی کسانی که در انجام این مطالعه کمک نمودند تشکر و قدردانی می نمایند.

Downloaded from zjrms.ir at 20:12 +0430 on Wednesday June 5th 2019

References

1. Layer P, Holst JJ. Inhibition of pancreatic enzyme output in response to ileal perfusion with nutrient is associated with release of glucagons- like peptide - 1 (GLP-1) in humans. Pancreas1991; 6:702-8.
2. Lagerp, Holst JJ. GLP-1: a humeral mediator of the ileal brake in humans. Digestion 1993; 59:385-6.
3. Holst JJ. GLP-1: a newly discovered gastrointestinal hormone. Gastroenteology 1994; 107: 1855-98.
4. Daniel JD, Julie L, Lauvie B. New developments in the biology of the glucagons-like peptidesGLP-1 and GLP-2. Annals of the New York Academy of Sciences 2000: 926-32.
5. Tang- Christenen M, Vrang N, Larsen PJ. Glucagons-like peptide containing pathways in the regulation of feeding behavior. Int J Obes Relat Metab Disord 2001; 5: s42-7.
6. Shimizu I, Hirota M, Ohboshi C. Identification and localization of glucagons-like peptide -1 and its receptor in rat brain. Endocrinology 1987; 121:1076-82.
7. Schick RR, Zimmermann JP, Vorm Wald T. Glucagons- like peptide-1 (7-36)-amide acts as lateral and medial hypothalamic sites to suppress feeding in rats. Am J Physiol Integr Comp Physiol 2002; Lepub ahead of print.
8. Turton MD, Oshea D, Gunn I. Cloning and functional expression of the human islet GLP-1 receptor. Diabetes1993; 42:1678-82.
9. Drucker DJ. Glucagons-like peptides: regulators of cell proliferation, differentiation and apoptosis. Mol Endocrinol 2003; 17: 161-71.
10. Kjems LL, Holst JJ, Volound A. The influence of GLP-1 on glucose-stimulated insulin secretion: effect on beta-cell sensitivity in type 2 and non diabetic subjects. Diabetes 2003; 52: 380-6.
11. Todd JF, Stanly SA, Roufosse CA. A tumor that secretes glucagons-like peptide -1 and somatostatin in a patient high reactive hypoglycemia and diabetes. Lancet 2003; 361: 228-30.
12. Macdonald PE, El-Kholy W, Ricdel MJ. The multiple actions of GLP-1 on the process of glucose - stimulated insulin secretion. Diabetes 2002; 51: s434-42.
13. Villanueva M, Alcantara A,Delgado E. Potene glycogenic effect of GLP-1(7-36)amide in rat skeletal muscle. Diabetologia 1994; 37:1160-3.
14. Oben J, Morgan L, Fletcher J. Effect of the enteropancreatic hormones, gastric inhibitory polypeptide and glucagons-like peptide-1(7-36)amide , on fatty acid synthesis in explants of rat adipose tissue . J Endocrinol 1991; 130:267-72.
15. Mommsen TP, Andrews PC. Glucagons-like peptides activate hepatic gluconeogenesis. FEBS Lett 1987; 219:227-32.
16. Lim CK. HPLC of small molecules. Third edition. 1986. PP. 15-9.

17. Mefford IN, Barches JD. Determination of tryptophan and metabolites in rat brain and pineal tissue by reversed phase high performance liquid chromatography with electrochemical detection. J Chromatography 1980; 181:187-93.
18. Fernandez L, Pastuszko A. Neurocatin induces changes in release and level of serotonin in synaptosomal fraction from rat brain. Neuroscience Letters 1991; 122: 83-6.
19. Colburn RW, Feredrick K, Bunney WE, Davis JM. Quantitative studies of norepinephrine uptake by synaptosomes. Biochemical Pharmacology 1986; 17: 957-64.
20. Berger UV, Lange JWL, Azmita EC. Evidence for a common mechanism of serotonin release induced by substituted amphetamines in vitro. Annals New York Academy of Sciences 1992; 648:358-60.
21. Pastusszko A, Wilson DF, Erecinska M. Neurotransmitter metabolism in rat brain synaptosomes: effect of anoxia and PH. J Neurochem 1982; 38: 1657-67.
22. Javaid JI, Perel JM, Davis JM. Inhibition of biogenic amines uptake by imipramine, desiperamine , 20 H-imiperamine and 20H-desiperamine in rat brain. Life Sciences 1987; 24: 21-8.
23. Owji AA, Khoshdel Z , Sanae F. Effects of intracerebro ventricular injection of glucagons-like peptide-1 and its related peptides on serotonin metabolism and on levels of amino acids in the rat hypothalamus . Brain Research 2002; 929:70-5.
24. Tachibana T, Tanaka S, Furuse M. Intracerebro ventricular injection of glucagons-like peptide-1 decreases monoamine concentrations in the hypothalamus of chicks. Br Poult Sci 2002; 43: 122-6.

Downloaded from zjrms.ir at 20:12 +0430 on Wednesday June 5th 2019

Effects of GLP-1 on γ-aminobutyric acid and serotonin metabolism in synaptosomal fractions from rat hypothalamus and brain stem

Nikseresht M., MSc*; Sanae F., MSc; Owji AA., PhD***; Delaviz H., MSc******

Downloaded from zjrms.ir at 20:12 +0430 on Wednesday June 5th 2019

Background: *Glucagons - like peptide-1 (7-36) amide (GLP-1) is the main product of the glucagon gene expression in intestinal L cells. GLP-1 is released from the intestine into the circulation in response to the ingestion of food and is the most potent stimulator of glucose-induced insulin secretion. GLP-1 receptors have also been detected in discrete areas of rat brain and intracerebro ventricular injection of GLP-1 has been shown to inhibit feeding in fasted rats.*

Methods and Materials: *This study is an in vitro study. Used rats are male and their weight is 200 to 220 grams and each group has 7 rats. In this study HPLC techniques were employed to evaluate the effects of GLP-1 on monoamine metabolism in rat brain as a neuropeptide.*

Synaptosoms were prepared from homogenates of combined hypothalamus and brain stem from rats in each group. The synaptosomal pellets incubated for 15 minutes in ashaker bath at 37 C. The effect of GLP-1 on synaptosoms was tested by adding 50 μL of GLP-1 5x10 –7 M to the incubation medium. For this group a control group was prepared by adding normal saline instead of GLP-1. The data were analyzed by T- test.

Results: *GLP-1 decreased levels of serotonin (5-HT) by 20% (P<0.05) after 15 minutes of incubation with combined hypothalamus and brain stem synaptosomes. Level of 5-hydroxyindolacetic acid (5-HIAA), the principal metabolite of 5-HT, and tryptophan, the amino acid precursor of 5-HT decreased by 21% and 37 %(P<0.05) respectively. γ-Aminobutyric acid (GABA) and its amino acid precursor glutamic acid (Glu) were both quantities at the same conditions as above , but a operculum derivatization HPLC technique was used. The increase levels of GABA (14%) and Glu(6%) by GLP-1 was not significant .*

Conclusions: *The results suggest that decreased synaptosomal levels of 5-HT and 5-HIAA caused by GLP-1 are due to diminished availability of tryptophan by the neuropeptide.*

KEY WORDS: *GLP-1, 5-HT, GABA, Hypothalamus, Rat*

*** Biochemistry dept, Faculty of medicine, Yasuj University of Medical Sciences and health services, Yasuj, Iran.**
****MS in biochemistry from Shiraz University of Medical Sciences and health services, Shiraz, Iran. Lecturer in Kazeroon Azad University.**
***** Biochemistry dept, Faculty of medicine, Shiraz University of Medical Sciences and health services, Shiraz, Iran.**
****** Anatomy dept, Faculty of medicine, Yasuj University of Medical Sciences and health services, Yasuj, Iran.**