

İntraserebroventriküler Olarak Uygulanan Exendin-(9-39) Santral “Glucagon-Like Peptide-1”in Kardiyovasküler Etkilerini Önler mi?

Naciye İŞBİL BÜYÜKCOŞKUN, Güldal GÜLEÇ

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada uyanık, serbestçe hareket edebilen sıçanlara intraserebroventriküler (i.c.v.) olarak enjekte edilen “glucagon-like peptide-1” (GLP-1)’in kan basıncı ve kalp hızı üzerine olan etkileri ve bu etkilerine santral spesifik reseptörlerinin aracılık edip etmediğinin belirlenmesi amaçlandı. Deneylerde kullanılan erkek Wistar albino sıçanlara eter anestezisi altında, sağ femoral artere kateter ve i.c.v. enjeksiyonlar için sağ lateral ventriküle kanül yerleştirildi. Arteriyel kan basıncı ve kalp hızı, “TDA96 Transducer Data Acquisition System” aracılığıyla kaydedildi. Sıçanların ilaç enjeksiyonlarından önce ve enjeksiyonları takiben 30 dakika süresince kan basınçları ve kalp hızları kaydedildi. İ.c.v. yolla verilen GLP-1 (100, 500 ve 1000 ng/10µl) kan basıncı ve kalp hızında doza bağlı olarak artış oluşturdu. GLP-1’in bu etkilerini i.c.v. olarak enjekte edilen reseptör antagonisti exendin-(9-39) (2500ng/10µl) inhibe etti. Bulgularımız i.c.v. GLP-1’in kan basıncı ve kalp hızını yükselttiğini, bu etkilerine santral spesifik reseptörlerinin aracılık ettiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Glucagon-like peptide-1. Intraserebroventriküler. Kardiyovasküler parametreler. Exendin-(9-39). Sıçan.

Does Intracerebroventricularly-Injected Exendin-(9-39) Prevent the Cardiovascular Effects of Central Glucagon-Like Peptide-1?

SUMMARY

In this study, we aimed to investigate the effects of intracerebroventricularly (i.c.v.)-injected glucagon-like peptide-1 (GLP-1) on blood pressures and heart rates of conscious, freely-moving rats, and whether specific receptors mediate these effects. Male Wistar albino rats used throughout the experiments were implanted with a catheter through the right femoral artery and with a cannula into the right lateral ventricle for i.c.v. injections, under ether anesthesia. Blood pressure and heart rate were recorded by a “TDA96 Transducer Data Acquisition System”. Blood pressures and heart rates of rats were observed before and for 30 minutes following drug injections. I.c.v. GLP-1 (100, 500 and 1000 ng/10 µl) caused a dose-dependent increase in both blood pressure and heart rate. The effects of GLP-1 on blood pressure and heart rate were inhibited by i.c.v. receptor antagonist exendin-(9-39) (2500 ng/µl). Our data indicate that i.c.v. GLP-1 increases blood pressure and heart rate, and that activation of central specific receptors mediate these effects.

Key Words: Glucagon-like peptide-1. Intracerebroventricular. Cardiovascular parameters. Exendin-(9-39). Rat.

“Glucagon-like peptide-1” (GLP-1) birbirlerine çok benzer aminoasit dizilerinden oluşan glukoz bağımlı insülinotropik peptid (GİP), sekretin, glukagon ve vazoaaktif intestinal polipeptid (VIP) gibi çok sayıda peptidi içeren biyoaktif peptidler ailesinin bir üyesidir¹. Yiyecek alımına bağlı olarak ince barsaklardaki enteroendokrin L hücrelerinden sekrete edilmektedir, aynı zamanda Santral Sinir Sistemi (SSS)’nin farklı bölgelerinde varlığı kanıtlanmıştır²⁻⁶. GLP-1

regülasyonunda etkili olmaktadır^{1,7,8}. Karbonhidrat metabolizması üzerine olan önemli etkilerinin gösterilmesi ve tip II diabetes mellitus tedavisinde potansiyel terapötik bir ajan olabileceğinin düşünülmesi, GLP-1’e olan ilgiyi arttırmıştır. GLP-1 bu etkilerine ilaveten gastrik motiliteyi ve gastrik asit sekresyonunu inhibe etmektedir^{9,10}.

GLP-1’in kardiyovasküler etkileri de tanımlanmıştır. Hem santral hem de periferik olarak uygulanan GLP-1, kan basıncını ve kalp hızını arttırmaktadır¹¹⁻¹⁴. Bu etkilerin spesifik reseptörlerinin aktivasyonu ile oluştuğu saptanmıştır^{12,13}. Kalpte GLP-1 reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir⁶, bununla birlikte GLP-1’in kardiyovasküler etkilerinin bu reseptörler üzerine direkt etkinin yanısıra nucleus tractus solitarius (NTS)’u da içine alan santral bir mekanizma ile gerçekleşebileceği düşünülmektedir¹².

GLP-1’in kardiyovasküler ve diğer etkileri spesifik reseptör antagonisti exendin-(9-39) ile antagonize edilmektedir¹⁵⁻¹⁸. Exendinler GLP-1 ile yapısal ve fonksiyonel benzerliği olan Heloderma suspectum

Geliş Tarihi: 28.07.2003
Kabul Tarihi: 05.11.2003

Doç. Dr. Naciye İŞBİL BÜYÜKCOŞKUN
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı,
16059 Görükle, Bursa
Tel: 0 224 442 88 40
Fax: 0 224 442 88 32
e-mail: nisbil@uludag.edu.tr

pankreatik β hücrelerini etkileyerek insülin sekresyonunu artırır. Ayrıca glukagon sekresyonunu inhibe etmektedir ve böylece kan glukoz

venomundan izole edilen bir peptid grubudur¹⁹. Exendin-4 GLP-1'e agonist olarak, exendin-(9-39) antagonist olarak etki yapmaktadır¹².

Bizim çalışmamızın amacı;

- 1-) GLP-1'in intraserebroventriküler (i.c.v.) olarak uygulanmasının kan basıncı ve kalp hızına etkilerini gözlemek,
- 2-) GLP-1'in bu kardiyovasküler etkilerinin santral olarak verilen exendin-(9-39) ile bloke edilip edilmediğini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada U.Ü. Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen, 250-300 g ağırlığında 42 adet Wistar erkek sıçan kullanıldı. Sıçanların 4-6 tanesi bir kafeste olacak şekilde su ve yem alımları serbest bırakıldı. Deneylere U.Ü. Hayvan Bakım ve Kullanım Komitesi tarafından izin alındıktan sonra başlandı.

Eter anestezisi altında sıçanların sağ femoral arterine heparinli tuzlu su (100 Ü/ml) ile doldurulmuş kateter (PE 50) yerleştirildi. İ.c.v enjeksiyonlar için kafatasına orta hattın 1.5 mm sağ yanında ve bregmanın 1-1.5 mm arkasında olacak şekilde bir delik açıldı. Bu delikten sağ lateral ventriküle, dik olarak ve alt ucu kafatası yüzeyinden 4.2-4.5 mm kadar derinliğe inecek şekilde 10 mm uzunluğunda bir kanül (20 numara hipodermik paslanmaz çelik iğneden kesilerek hazırlanmış) yerleştirildi. Üstte kalan kısım dental akrilik ile kafatasına tutturuldu.

Cerrahi işlemlerin sonunda sıçanlar tek tek kutulara yerleştirilerek anesteziden çıkmaları için 3-4 saat kadar beklendi. Bu sürenin bitiminde arteriyel kateter volumetrik pressure transducer'a (BPT300) tutturuldu. Arteriyel kan basıncı ve kalp hızı, bu transducer'ın bağlandığı "TDA96 Transducer Data Acquisition System" aracılığıyla devamlı olarak kaydedildi. Ortalama arteriyel kan basıncı mmHg olarak, kalp hızı vuru/dakika olarak belirtildi. İlaçların etkisi araştırılmadan önce 10-15 dakika süreyle bazal değerler kaydedildi.

Birinci seri çalışmada, i.c.v. GLP-1'in kardiyovasküler parametreler üzerine etkilerini araştırmak amacıyla sıçanlara GLP-1 (100, 500 ve 1000 ng/10 µl;i.c.v.) veya serum fizyolojik (10 µl;i.c.v) enjekte edildi. Enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kan basıncı ve kalp hızları kaydedilerek, bazale göre değişimleri belirlendi (n=28).

İkinci seri çalışmada, i.c.v. GLP-1'in kan basıncı ve kalp hızı üzerine olan etkisini spesifik reseptörleri aracılığıyla oluşturup oluşturmadığını araştırmak amacıyla, sıçanlara GLP-1 reseptör antagonisti olan exendin-(9-39) (2500 ng/10 µl; i.c.v.) enjekte edildi. Enjeksiyondan 5 dakika sonra serum fizyolojik (10 µl;i.c.v.) veya GLP-1 (100 ng/10 µl;i.c.v.) enjekte

edilerek, 30 dakika süresince 5 dakika aralıklarla kan basıncı ve kalp hızları kaydedildi ve bazale göre değişimleri belirlendi (n=14).

Deneylerin sonunda serebral ventriküle 5 µl metilen mavisi solüsyonu enjekte edildi. Dekapitasyondan sonra beyinler çıkartılarak i.c.v. kanülün yerleştirildiği yerin doğru olup olmadığı kontrol edildi.

Bu çalışmada kullanılan GLP-1 ve exendin-(9-39) Sigma (Sigma Chem. Co., MO, ABD)'dan alındı. İlaçlar tuzlu su (% 0.9 NaCl) içinde hazırlandı. İ.c.v. enjeksiyonlar için ilaçların metinde belirtilen dozları, 10 µl içinde verilecek şekilde hesaplandı. İ.c.v. enjeksiyonlar Hamilton mikroenjektörü kullanılarak yapıldı.

Elde edilen sonuçların istatistiksel analizinde varyans analizi (ANOVA)'nden yararlanıldı. Anlamlılık bulunan zaman dilimlerinde Tukey- Kramer Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı. P'nin 0.05'den küçük olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı sayıldı. Sonuçlar ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak gösterildi.

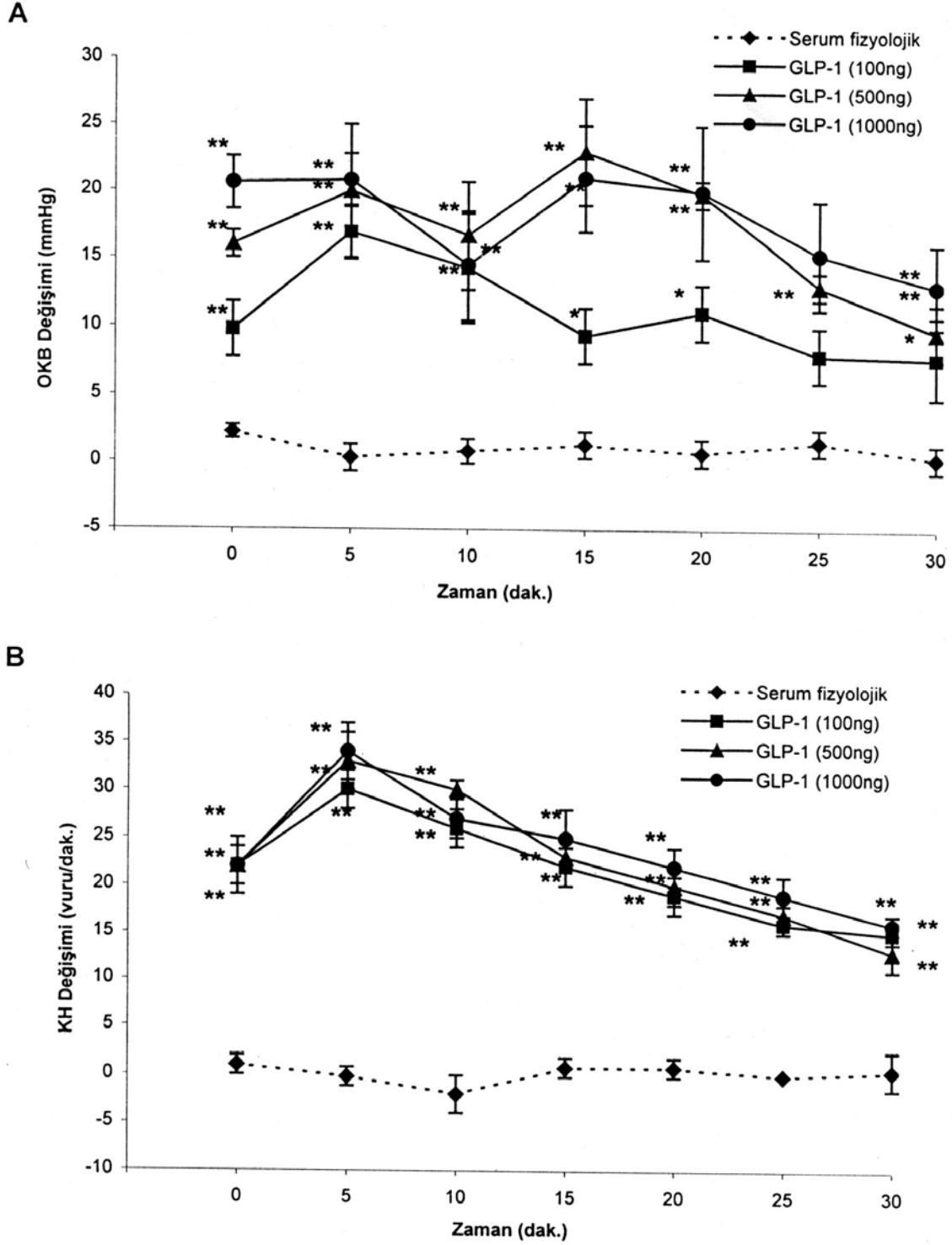
Bulgular

I.c.v. GLP-1'in Kan Basıncı ve Kalp Hızına Etkisi

Herhangi bir enjeksiyon yapılmadan önce, uyanık ve serbestçe hareket eden sıçanların kan basıncı değeri ortalama 84.3± 2 mmHg (n= 42), kalp hızı değeri ortalama 329± 7 vuru/dak. (n=42) idi. Hiçbir enjeksiyon yapılmadan önce elde edilen kan basıncı ve kalp hızı değerleri, enjeksiyonu takip eden 30 dakika süresince her 5 dakikada elde edilen değerler ile karşılaştırıldı (Tablo I). GLP-1 100, 500 ve 1000ng/10 µl dozlarında i.c.v. olarak uygulandığında hem kan basıncında hem de kalp hızında doza bağlı artış oluşturdu. 100ng GLP-1'in kan basıncında oluşturduğu artış enjeksiyondan 5 dakika sonra en yüksekti. 30 dakika boyunca yavaşça düştü ancak bazale ulaşmadı. 500ng ve 1000ng GLP-1'in kan basıncında oluşturduğu artış ise enjeksiyondan sonraki 15. dakikada en yüksekti. Sonraki 15 dakika boyunca kısmen azaldı ancak serum fizyolojik uygulanan grubun değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede artış vardı (Şekil 1A).

Her üç doz i.c.v. GLP-1 enjeksiyonunu takiben, kalp hızında gözlenen artış 5. dakikada en yüksekti. Kalp hızında gözlenen bu artışlar da 30 dakika boyunca azaldı ancak bazale düşmedi ve istatistiksel olarak anlamlı idi (Şekil 1B).

İntraserebroventriküler Olarak Uygulanan Exendin-(9-39)...

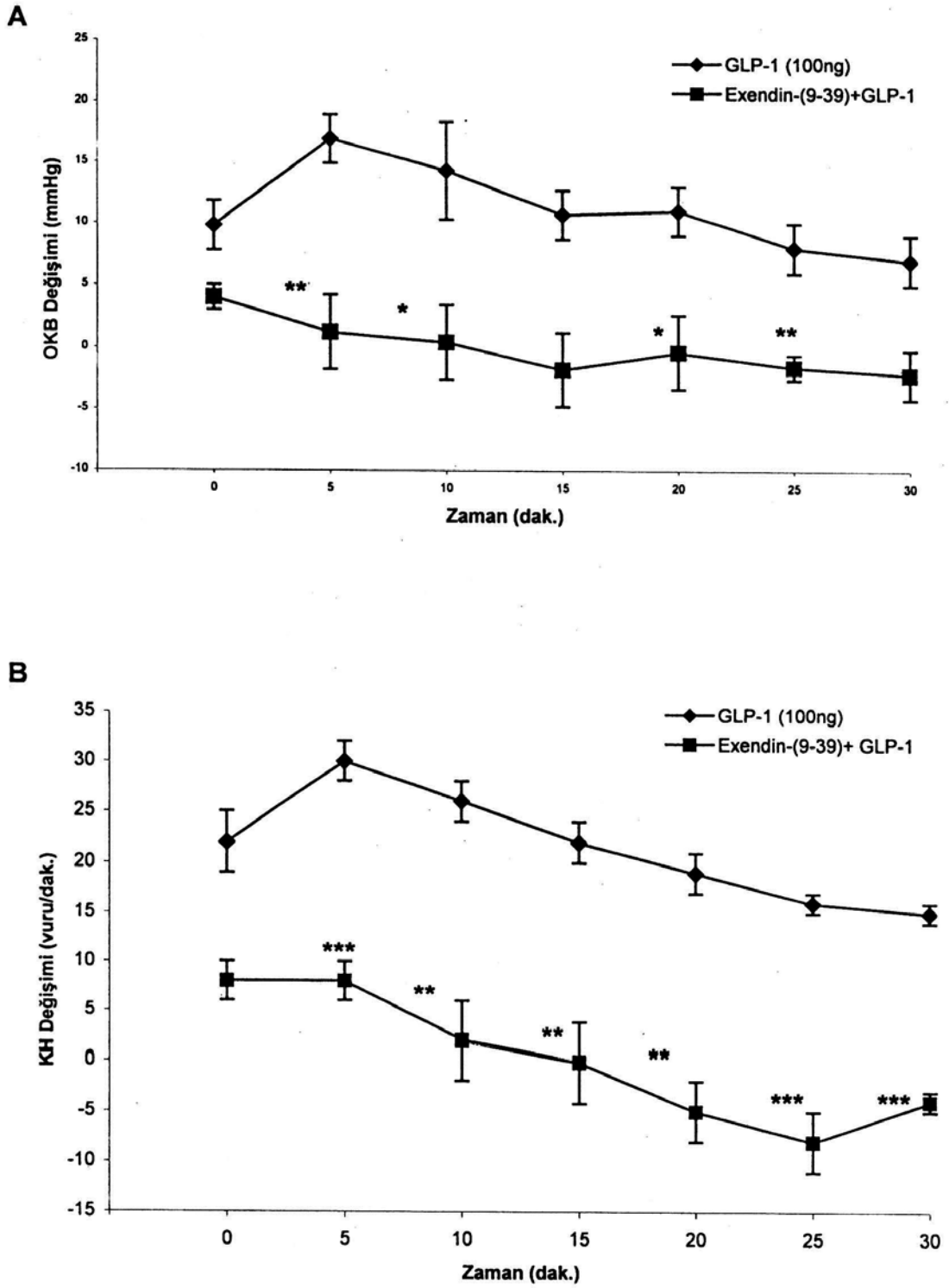


Şekil 1.

İntraserebroventriküler GLP-1'in (100, 500 ve 1000 ng/10 μ l) kan basıncı (A) ve kalp hızı (B) üzerine etkisi. Enjeksiyon sonrası 30 dakika süresince kaydedilen kan basıncı ve kalp hızı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları serum fizyolojik grubu ile karşılaştırılarak, ortalama \pm SH olarak gösterilmektedir.

Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır. **: $P < 0.01$, *: $P < 0.05$.

(OKB: Ortalama Kan Basıncı; KH: Kalp Hızı)



Şekil 2.

İntraserebroventriküler GLP-1'in kan basıncı (A) ve kalp hızı (B) üzerine olan etkilerinde GLP-1 reseptör antagonisti exendin-(9-39)'un rolü. Serum fizyolojik (10 µl; i.c.v.) veya GLP-1 (100 ng/10 µl; i.c.v.) enjeksiyonundan 5 dakika önce exendin-(9-39) (2500 ng/10 µl; i.c.v.) uygulandı. Son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kan basıncı ve kalp hızı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları GLP-1 grubununkilerle karşılaştırılarak, ortalama ± SH olarak gösterilmektedir. Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

***: $P < 0.001$, **: $P < 0.01$, *: $P < 0.05$. (OKB: Ortalama Kan Basıncı; KH: Kalp Hızı)

İntraserebroventriküler Olarak Uygulanan Exendin-(9-39)...

I.c.v. GLP-1'in Kan Basıncı ve Kalp Hızına Etkisinde Exendin- (9-39)'un Rolü

GLP-1'in kan basıncı ve kalp hızını arttırıcı etkilerinde spesifik reseptör antagonisti exendin-(9-39)'un rolünü araştırmak amacıyla exendin-(9-39) (2500 ng/10 µl;i.c.v) enjeksiyonundan 5 dakika sonra GLP-1 (100ng/10µl;i.c.v.) uygulandı. Santral uygulanan exendin-(9-39) GLP-1'in hem kan basıncını hem de kalp hızını stimüle edici etkisini bloke etti (Tablo I, Şekil 2A ve 2B). Aynı dozda exendin-(9-39) yalnız uygulandığında bir etki oluşturmadı.

Tablo I- İntraserebroventriküler GLP-1'in (100, 500 ve 1000 ng/10 µl) kan basıncı ve kalp hızı üzerine etkisi ve bu etkilerinde GLP-1 reseptör antagonisti exendin-(9-39)'un rolü.

Gruplar	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'
Serum fizyolojik							
OKB	2,2±0,5	0,3±1	0,8±1	1,3±1	0,7±1	1,5±1	0,3±1
KH	1±1	-0,2±1	-2±2	0,8±1	0,8±1	0	0,5±2
GLP-1 (100ng)							
OKB	9,8±2**	16,9±2**	14,3±4**	9,4±2**	11,1±2**	8±2	7,8±3**
KH	22±3**	30±2**	26±2**	22±2**	19±2**	16±1**	15±1**
GLP-1 (500ng)							
OKB	16±1**	20±5**	16,7±4**	23±4**	19,8±1**	13±1**	9,7±2**
KH	22±2**	33±3**	30±1**	23±1**	20±2**	17±1**	13±2**
GLP-1 (1000ng)							
OKB	20,6±2**	20,8±2**	14,5±4**	21±4*	20±5*	15,3±4	13±3*
KH	22±2**	34±3**	27±2**	25±3**	22±2**	19±2**	16±1**
Exendin-(9-39)+GLP-1							
OKB	4±1	1,2±3###	0,4±3#	-1,8±3	-0,4±3#	-1,6±1##	-2,2±2
KH	8±2	8±2###	2±4##	-0,2±4##	-5±3##	-8±3#	-4±1#

GLP-1 (100, 500 ve 1000 ng/10 µl;i.c.v.) enjeksiyonundan sonra 30 dakika süresince kaydedilen kan basıncı ve kalp hızı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları serum fizyolojik grubu ile karşılaştırılarak, ortalama ± SH olarak gösterilmektedir. Exendin-(9-39) (2500ng/10 µl;i.c.v.) enjeksiyonundan 5 dakika sonra GLP-1 (100 ng/10 µl; i.c.v.) enjekte edilen grupta son enjeksiyonu takiben 30 dakika süresince kaydedilen kan basıncı ve kalp hızı değerlerinin tedavi öncesi değerler (bazal) ile farkları GLP-1 grubunkilerle karşılaştırılarak, ortalama ± SH olarak gösterilmektedir.

Her grupta 7 sıçan kullanılmıştır.

** , * : Serum fizyolojik grubuna göre anlamlılık. ** : P<0.01, * : P<0.05.

#, ##, ### : GLP-1 grubuna göre anlamlılık. ### : P<0.001, ## : P<0.01, # : P<0.05

(OKB: Ortalama Kan Basıncı; KH: Kalp Hızı)

Tartışma

GLP-1'in fizyolojik etkileri spesifik reseptörlerinin bulunduğu organların fonksiyonlarını yansıtmaktadır. Bu organlar arasında pankreas, mide, akciğer, beyin, böbrek, kalp ve ince barsak bulunmaktadır^{6,20}. GLP-1 reseptörleri ve GLP-1 immünoreaktif lifler beyinde yaygın bir şekilde dağılım göstermektedir^{3,21}. Bu yüzden GLP-1 etkileri için önemli potansiyel bir hedef doku beyindir. Hem GLP-1 hem de reseptörlerinin santral kardiyovasküler regülasyona dahil olan NTS'ta önemli miktarlarda bulunduğu gösterilmiştir^{3,22}. Area postrema gibi sirkumventriküler organlarda, paraventricüler, supraoptik ve arkuat nukleus gibi hipotalamik çekirdeklerde ve hipofiz bezinde GLP-1 gen ekspresyonu ve GLP-1 bağlanma bölgelerinin varlığı saptanmıştır^{6,22,23}. Buna göre GLP-1'in santral sinir sistemindeki etkileri sürpriz değildir. GLP-1 beyinde yiyecek içecek alımının potent bir inhibitörüdür²⁴. İ.c.v. olarak uygulanmasının sıçanlarda ve farelerde yiyecek ve içecek alımını belirgin olarak azalttığı, aksine GLP-1 reseptör antagonisti exendin (9-39)'un kısa dönemde yiyecek alımını, uzun dönemde kilo alımını arttırdığı gösterilmiştir^{24,25}.

Daha önce yapılan çalışmalarda GLP-1'in sıçanlara hem i.v. hem de i.c.v. enjeksiyonlarının kan basıncını ve kalp hızını doza bağlı olarak arttırdığı gösterilmiştir^{11,13,14,26}. Bizim bulgularımız i.c.v. GLP-1'in doza bağlı olarak kan basıncını ve kalp hızını arttırdığını ileri süren araştırmacıların bulgularıyla aynı yöndedir^{13,14,26}. GLP-1 etkisinin gücü ve zamanı verilmiş şekline bağlı olarak değişir, i.c.v. olarak verildiği zaman etkisi daha uzundur. Bu durum SSS'nde peptidin daha yavaş yıkılması, sistemik olarak verildiğinde daha fazla dilüe olması ve santral ve periferik yerleşimli reseptör sayılarının farklı olması nedeniyle olabilir¹³.

GLP-1 kardiyovasküler etkilerini spesifik reseptörleri yoluyla oluşturur ve exendin-(9-39) peptidin bu etkilerini bloke etmektedir¹²⁻¹⁴. Kalpte GLP-1 reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir⁶, bununla birlikte GLP-1'in kardiyovasküler etkilerinin bu reseptörler üzerine direkt etkinin yanısıra NTS'u da içine alan santral bir mekanizma ile gerçekleşebileceği düşünülmektedir¹².

Bizim bulgularımız i.c.v. GLP-1'in kan basıncını ve kalp hızını arttırıcı etkisinin i.c.v. exendin-(9-39) ile bloke edildiğini ileri süren araştırmacıların bulgularıyla¹³ aynı yöndedir. Aynı araştırmacılar periferik olarak uygulanan GLP-1'in de kan basıncını stimüle edici etkisinin santral olarak enjekte edilen exendin-(9-39) ile bloke edildiğini göstererek GLP-1'in santral ilişkisini belirtmiştir¹³. Ancak bu araştırmacılar deneyleri anestezi altındaki sıçanlarda yapmışlardır. Anestezinin kardiyovasküler parametreler üzerindeki etkileri²⁷ gözönüne alınarak, deneylerimizin anestezi altında olmayan, serbestçe hareket eden sıçanlar

kullanılarak yapılması uygun görülmüştür. Kalpte GLP-1 reseptörlerinin bulunması⁶ peptidin kardiyovasküler parametrelerdeki stimulan etkisinde rol oynayabilir ancak i.c.v. olarak enjekte edilen exendin-(9-39)'un GLP-1 ile oluşturulan kalp hızındaki artışı bloke etmesi, bu peptidin kalp hızı üzerine yaptığı etkide direkt etkinin yanısıra santral etkinin de önemli olduğunu düşünmemize neden olmaktadır.

Bulgularımız i.c.v. GLP-1 enjeksiyonunun kan basıncı ve kalp hızını artırıcı etkisi olduğunu ve bu etkilerine santral spesifik reseptörlerinin aracılık ettiğini göstermektedir.

Tip II diabetes mellituslu hastaların tedavisinde potansiyel bir ajan olduğu ileri sürülen GLP-1'in kullanımını sonucunda ortaya çıkabilecek yan etkileri belirleyebilmek açısından, GLP-1'in kardiyovasküler sistem ile olan ilişkisi ve bu etkilerin mekanizmasını aydınlatmak önem taşımaktadır. Ancak bu konuyla ilgili olarak çok daha fazla araştırma yapılması gerektiği düşüncesindedir.

Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenen SBAG-AYD-398 (102S121) no'lu proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Kaynaklar

1. Fehmann HC, Habener JF. Insulinotropic glucagon-like peptide-1 (7-37)/(7-36) amide: a new incretin hormone. *Trends Endocrinol Metab* 1992;3:158-63.
2. Mojsov S, Heinrich G, Wilson IB, et al. Preproglucagon gene expression in pancreas and intestine diversifies at the level of post-translational processing. *J Biol Chem* 1986;261:11880-9.
3. Jin SL, Han VKM, Simmons JG, et al. Distribution of glucagon-like peptide-1 (GLP-1), glucagon, and glicentin in the rat brain: an immunocytochemical study. *J Comp Neurol* 1988;271:519-32.
4. Kreymann B, Ghatei MA, Burnet P, et al. Characterisation of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide in the rat hypothalamus. *Brain Res* 1989;502:325-31.
5. Elliot RM, Morgan LM, Tredger S, et al. Glucagon-like peptide-1 (7-36) amide and glucose-dependent insulinotropic polypeptide secretion in response to nutrient ingestion in man: acute post-prandial and 24-h patterns. *J Endocrinol* 1993;138:159-66.
6. Wei Y, Mojsov S. Tissue-specific expression of the human receptor for glucagon-like peptide-1: brain, heart and pancreatic forms have the same deduced amino acid sequences. *FEBS Lett* 1995;358:219-24.
7. Edwards CMB, Edwards AV, Bloom R. Cardiovascular and pancreatic endocrine responses to glucagon-like peptide-1-(7-36) amide in the conscious calf. *Exp Physiol* 1997;82:709-16.
8. Edwards CMB, Todd JF, Ghatei MA. Subcutaneous glucagon-like peptide-1 (7-36) amide is insulinotropic and can cause hypoglycaemia in fasted healthy subjects. *Clin Sci* 1998;96:719-24.
9. O'Halloran DJ, Nikou GC, Kreymann B, et al. Glucagon-like peptide-1 (7-36)-NH₂: a physiological inhibitor of gastric acid secretion in man. *J Endocrinol* 1990;126:169-73.
10. Wettergren A, Wqjdemann M, Holst JJ. Glucagon-like peptide-1 inhibits gastropancreatic function by inhibiting central parasympathetic outflow. *Am J Physiol (Gastrointest Liver Physiol)* 1998;275(38):984-92.
11. Barragan JM, Rodriguez RE, Blazquez E. Changes in arterial blood pressure and heart rate induced by glucagon-like peptide-1-(7-36) amide in rats. *Am J Physiol (Endocrinol Metab)* 1994;266 (29):456-66.
12. Barragan JM, Rodriguez RE, Eng J, Blazquez E. Interaction of exendin-(9-39) with the effects of glucagon-like peptide-1-(7-36) amide and of exendin-4 on arterial blood pressure and heart rate in rats. *Regul Pept* 1996;67:63-8.
13. Barragan JM, Eng J, Rodriguez R, Blazquez E. Neural contribution to the effect of glucagon-like peptide-1-(7-36) amide on arterial blood pressure in rats. *Am J Physiol (Endocrinol Metab)* 1999;277 (40):784-91.
14. Bojanovska E, Stempniak B. Effects of centrally or systemically injected glucagon-like peptide-1-(7-36) amide on release of neurohypophysial hormones and blood pressure in the rat. *Regul Pept* 2000;91:75-81.
15. Göke R, Fehmann HC, Linn T, et al. Exendin-4 is a high potency agonist and truncated exendin-(9-39)-amide an antagonist at the glucagon-like peptide 1-(7-36)-amide receptor of insulin-secreting β -cells. *J Biol Chem* 1993;268(26):19650-5.
16. Kolligs F, Fehmann HC, Göke R, Göke B. Reduction of the incretin effect in rats by the glucagon-like peptide 1 receptor antagonist exendin (9-39) amide. *Diabetes* 1995;44(1):16-9.
17. Cancelas J, Villanueva-Penacarrillo ML, Valverde I, Malaisse WJ. Suppression by exendin(9-39) amide of glucagon-like peptide-1 insulinotropic action in rats infused with dimethyl ester of succinic acid. *Endocrine* 2001;15(3):283-5.
18. Daniel EE, Anvari M, Fox-Threlkeld JE, McDonald TJ. Local, exendin-(9-39)-insensitive, site of action of GLP-1 in canine ileum. *Am J Physiol (Gastrointest Liver Physiol)* 2002;283(3):595-602.
19. Eng J, Kleiman WA, Singh L, et al. Isolation and characterization of exendin-4, and exendin-3 analogue, from Heloderma suspectum venom. Further evidence for an exendin receptor on dispersed acini from guinea pig pancreas. *J Biol Chem* 1992;267:7402-5.
20. Bullock BP, Heller RS, Habener JF. Tissue distribution of messenger ribonucleic acid encoding the rat glucagon-like peptide-1 receptor. *Endocrinology* 1996;137:2968-78.
21. Merchenthaler I, Lane M, Shughrue P. Distribution of pre-proglucagon and glucagon-like peptide-1 receptor messenger RNAs in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 1999;403:261-80.
22. Goke R, Larsen PJ, Mikkelsen JD, Sheikh SP. Distribution of GLP-1 binding sites in the rat brain: evidence that exendin-4 is a ligand of brain GLP-1 binding sites. *Eur J Neurosci* 1995;7:2294-300.
23. Yamamoto H, Kishi T, Lee CE, et al. Glucagon-like peptide-1 responsive catecholamine neurons in the area postrema link peripheral glucagon-like peptide-1 with central autonomic control sites. *J Neurosci* 2003;23(7):2939-46.
24. Turton MD, O'Shea DO, Gunn I, et al. A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature* 1996;379:69-72.
25. Meeran K, O'Shea D, Edwards CM, et al. Repeated intracerebroventricular administration of glucagon-like peptide-1-(7-36) amide or exendin-(9-39) alters body weight in the rat. *Endocrinology* 1999;140:244-50.
26. Yamamoto H, Lee CH, Marcus JN, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor stimulation increases blood pressure and heart rate and activates autonomic regulatory neurons. *J Clin Invest* 2002;110:43-52.
27. Bachelard H, Gardiner SM, Bennett T. Cardiovascular responses elicited by chemical stimulation of the rostral ventrolateral medulla in conscious, unrestrained rats. *J Auton Nerv Syst* 1990;31:185-90.