

بررسی مقایسه‌ای اثرات ناشی از تزریق داخل صفاقی و داخل بطن مغزی موسیمول در تنظیم گلوکز پلاسمایی موش کوچک آزمایشگاهی

زهرا قیروانی^(۱)، محمدحسین پورغلامی^(۲)

چکیده

مقدمه: یک ارتباط دو جانبه بین سیستم گاباآرژیک و عوامل هورمونی تنظیم‌کننده قند خون گزارش شده است. گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) یک نوروترانسمیتر مهاری در سیستم اعصاب مرکزی است. گزارش‌های متعددی وجود دارد که گابا از طریق افزایش سطح پلاسمایی انسولین و کاهش گلوکاگون و سوماتواستاتین باعث کاهش میزان گلوکز خون می‌شود. مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی برای بررسی نقش موسیمول (آگونیست گیرنده گابا - A) از موش کوچک آزمایشگاهی، نژاد آلبینو و جنس نر با وزن ۲۵-۲۰ گرم استفاده شد. برای اندازه‌گیری قند خون، در فواصل زمانی معین، از سینوس چشمی حیوان نمونه خون گرفته شد. جهت اندازه‌گیری غلظت گلوکز خون از روش ارتوتولوئیدین و دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده شد. جهت تزریق داخل بطن مغزی (ICV) موسیمول، ۵ گروه حیوان که ۵ روز قبل کانول‌گذاری شده بودند (n=۸) انتخاب شدند. ۴ گروه به ترتیب دوزهای ۵ و ۱۰ و ۲۵ و ۵۰ نانوگرم در میکرولیتر موسیمول و گروه پنجم نرمال سالین را به صورت (ICU) دریافت کردند. خونگیری بلافاصله پس از تزریق دارو صورت گرفته و هر ۳۰ دقیقه تکرار شد و تا ۱۸۰ دقیقه ادامه داشت. در تزریق داخل صفاقی (IP) موسیمول ۵ گروه حیوان (n=۸) انتخاب گردید. ۴ گروه اول دوزهای ۱، ۲، ۴، ۶ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن از موسیمول و گروه پنجم نرمال سالین را به صورت IP دریافت کردند. خونگیری بلافاصله بعد از تزریق دارو صورت گرفت و تا ۹۰ دقیقه ادامه داشت. به منظور مقایسه نتایج از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد و سپس آزمون *post hoc* رنج توکی انجام شد. یافته‌ها: بررسی نتایج نشان داد که با تزریق IP در دوزهای ۱، ۲، ۴، ۶ mg/kg نه تنها قند خون در گروه آزمایشی نسبت به گروه شاهد کاهش نمی‌یابد بلکه افزایش معنی‌داری (۶mg/kg) در قند خون ایجاد می‌شود؛ در حالی که تزریق ICV به صورت وابسته به دوز قند خون را به طور معنی‌دار کاهش می‌دهد. (p<۰/۰۵). نتیجه‌گیری: در مجموع به نظر می‌رسد که با تزریق ICV اثر مستقیم موسیمول دیده می‌شود در حالی که با تزریق IP، این دارو متابولیزه می‌شود. در نتیجه افزایش قند خون مشاهده شده ناشی از اثر متابولیت‌های آن است. به عبارت دیگر اثرات ناشی از تزریق محیطی و مرکزی موسیمول با یکدیگر تفاوت دارد.

واژگان کلیدی: موسیمول، هموستاز گلوکز خون، داخل صفاقی، داخل بطن مغزی

مقدمه

گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) یک میانجی عصبی مهاری در سیستم اعصاب مرکزی است.^{۱-۶} امروزه مشخص شده که گابای رها شده در سیناپس گاباآرژیک به مولکول‌های ویژه‌ای به نام گیرنده متصل می‌شود.^۹ در

(۱) گروه فیزیولوژی،
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی بیرجند
(۲) گروه فارماکولوژی
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی
نشانی مکاتبه: بیرجند، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، گروه
فیزیولوژی، زهرا قیروانی

E-mail: ghiravani_z@yahoo.com

صورت می‌گیرد.^{۱۷} این اثر توسط دیازپام افزایش یافته و توسط بیوکولین ICV مهار می‌شود.^{۱۷،۱۸} به طور خلاصه، در مورد تنظیم اعمال آندوکرینی گابا در پانکراس می‌توان گفت که گابا آزاد شدن سوماتواستاتین، گلوکاگون و انسولین را تنظیم می‌کند.^{۱۲،۱۷،۱۸} این مطالعه به منظور مقایسه اثرات ناشی از تزریق داخل صفاقی و داخل بطن مغزی موسیمول در تنظیم گلوکز پلاسمایی موش کوچک آزمایشگاهی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در آزمایش‌ها از موش سفید آزمایشگاهی، نژاد آلبینو و جنس نر در محدوده وزنی ۲۵-۲۰ گرم استفاده شد. حیوانات در درجه حرارت (۲۲-۲۰°C) نگهداری شدند و از نظر خوردن و آشامیدن به جز در مراحل انجام آزمایش محدودیتی نداشتند.

نحوه اندازه‌گیری قند خون: به منظور اندازه‌گیری قند خون در فواصل زمانی معین، خونگیری از سینوس چشمی^۱ انجام گرفت و پس از جداسازی سرم، غلظت قند با روش ارتوتولوئیدین و با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.^{۱۹} در هر سری از آزمایش‌ها اثر دوزهای مختلف دارو بر قند خون بررسی شد و میانگین تغییرات قند خون هر دوز در زمان‌های معین به دست آمد.

داروی مورد استفاده: در این تحقیق موسیمول (آگونیست گیرنده گابا - A) در دوزهای ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ نانوگرم در میکرولیتر به صورت داخل بطن مغزی (ICV) و در دوزهای ۱، ۲، ۴ و ۶ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن به صورت داخل صفاقی (IP) تزریق شد و نتایج حاصل از تزریق دارو در گروه آزمایشی با نتایج حاصل از تزریق سالین در گروه شاهد مقایسه شد. داروی این مطالعه از شرکت SIGMA تهیه شده و حلال آن آب مقطر بوده است. برای بیهوش کردن حیوان از پنتوباریتال سدیم استفاده شد. در همه آزمایش‌ها ۲ میکرولیتر از دارو یا سالین تزریق شد. گروه‌بندی حیوانات بسته به دوز دارو و زمان‌های خونگیری صورت گرفت و در هر گروه تعداد حیوانات ۸ عدد بود. پس از تزریق دارو هر ۱۵ یا ۳۰ دقیقه یک بار (بسته به نوع تزریق) خونگیری از سینوس چشمی حیوان انجام شد.

سال‌های ۱۹۸۰ و ۱۹۸۱، هیل و بووری مشخص کردند که گابا از طریق دو جایگاه فارماکولوژیکی مختلف و مجزا عمل می‌کند.^{۸-۱۰} این گیرنده‌ها تحت عنوان گیرنده گابا - A (حساس به بیوکولین) و گیرنده گابا - B (غیرحساس به بیوکولین) نامگذاری شدند.^{۱۰-۱۵} البته در تعدادی از مقالات وجود نوع سوم گیرنده گابا به نام گیرنده گابا - C (غیرحساس به بیوکولین و باکوفن) گزارش شده است.^{۴،۸،۱۰} همچنین وجود گیرنده‌ای به نام گیرنده گابا - X (حساس به باکوفن و غیرحساس به بیوکولین) در تعداد معدودی از مقالات مطرح شده است.^۹

در مورد نقش گابا در تنظیم قند خون شواهدی مبنی بر ارتباط دو جانبه بین سیستم گابا آرژیک وجود دارد. اولین بار اوکادا و همکارش در سال ۱۹۶۷ مشاهده کردند که این نروترانسمیتر آمینواسیدی در سلول‌های آندوکراین جزایر لانگرهانس وجود دارد.^{۱۱،۱۶} پس از گذشت چند سال ونسان در سال ۱۹۸۳ و اسکور در سال ۱۹۷۸ با استفاده از تکنیک‌های ایمنوهیستوشیمی مشاهده کردند که گابا و آنزیم‌های وابسته (GABA-T, GAD) همراه با انسولین در تعدادی از سلول‌های B واقع در مرکز جزیره قرار دارند.^{۱۲،۱۸} همچنین گزارش شده که افزایش گلوکز هم باعث آزاد شدن انسولین و هم سبب افزایش آزاد شدن گابا می‌شود.^{۱۸} در تعدادی از مقالات ذکر شده که گابا ممکن است در تنظیم سنتز انسولین دخالت داشته باشد.

در همین رابطه، تانیاما و همکارش در سال ۱۹۸۳ گزارش کردند که گابا به همراه انسولین از سلول‌های B آزاد می‌شود و با سایر سلول‌ها از جمله سلول‌های حاوی سوماتواستاتین تداخل عمل دارد.^{۱۸} همچنین مشخص شده که گابا و موسیمول (IP) رها شدن سوماتواستاتین را از سلول‌های α_1 پانکراس مهار می‌کنند و این اثر که از طریق گیرنده‌های گابا - A صورت می‌گیرد، توسط بیوکولین (ICV) مهار می‌شود.^{۱۲،۱۷،۱۸}

از طرفی وجود گیرنده‌های گابا - A بر روی سلول‌های α_1 می‌تواند نشان‌دهنده دخالت گابا در ترشح سوماتواستاتین باشد.^{۱۸} همچنین شواهد نشان می‌دهد که چنانچه گابا همراه با انسولین از سلول‌های B ترشح شود، می‌تواند عمل مهار گلوکز را بر روی ترشح گلوکاگون از سلول‌های α_2 واسطه‌گری کند. این عمل مهار بدون شک توسط باز شدن کانال‌های کلر گیرنده‌های گابا - A واقع در سلول‌های α_2

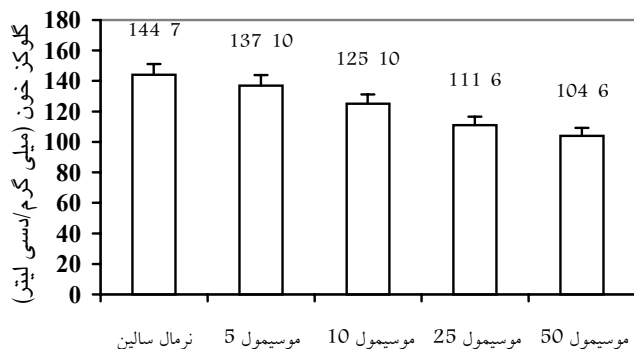
دوزهای ۲۵ و ۵۰ نانوگرم نسبت به نرمال سالین باعث کاهش بیشتر در قند خون شد و همچنین دوز ۵۰ ng نسبت به ۱۰ ng اثر بیشتری بر کاهش قند خون داشته است ($p < 0.05$). (نمودار ۱ و ۲)

نحوهٔ تزریق داخل بطن مغزی: حیوان توسط پنتوباریتال سدیم (داخل صفاقی، ۴۰ mg/kg) بیهوش گردید و داخل دستگاه استریوتاکس ثابت شد. پس از آشکار شدن نقطهٔ برگما جهت جایگذاری کانول در بطن جانبی مغز از برگما به مختصات ۳ میلی‌متر پایین‌تر از سخت شامه، ۱/۵ میلی‌متر به سمت راست نسبت به برگما، ۰/۵ میلی‌متر به عقب نقطه‌ای روی سطح جمجمه مشخص شد و با استفاده از دریل دندانپزشکی به آرامی و با دقت سوراخ گردید. ۵ روز پس از انجام کانول‌گذاری تزریق دارو انجام گرفت. در اکثر نمونه‌ها پس از انجام آزمایش‌ها جهت اطمینان از ورود صحیح کانول به داخل بطن جانبی مغز مادهٔ رنگی آبی پنتامینسکی^۱ با سرنگ هامیلتون و لولهٔ رابط به بطن جانبی تزریق شد و پس از خارج نمودن مغز آن را به مدت ۵ روز داخل محلول فرمالین ۱۰٪ قرار داده، با تهیهٔ برش و مشاهدهٔ نفوذ مادهٔ رنگی به درون ناحیهٔ بطن جانبی از صحت مراحل آزمایش اطمینان حاصل شد.

* $p < 0.001$

تجزیه و تحلیل آماری: به منظور مقایسهٔ نتایج از آنالیز واریانس یک طرفهⁱⁱ استفاده شد و سپس آزمون Post Hoc رنج توکی انجام گرفت. در تمام حالات ملاک معنی‌دار بودن $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نمودار ۱- اثر موسیمول داخل بطن مغزی (ICV) بر غلظت گلوکز خون در ۹۰ دقیقه پس از تزریق دارو (n=۸)



* $p < 0.001$

نمودار ۲- اثر موسیمول داخل صفاقی (IP) بر غلظت گلوکز خون در ۴۵ دقیقه پس از تزریق دارو (n=۸)

یافته‌ها

در مرحلهٔ اول جهت پی بردن به اثرات مرکزی موسیمول ۵ گروه حیوان انتخاب شد. این حیوانات دورهٔ بهبود ۵ روزه را سپری کرده بودند ($n=8$). ۴ گروه به ترتیب دوزهای ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ نانوگرم در میکرولیتر موسیمول و گروه پنجم سالین به صورت داخل بطن مغزی (ICV) دریافت کردند. خونگیری بلافاصله پس از تزریق دارو صورت گرفت و هر ۳۰ دقیقه تکرار شد و تا ۱۸۰ دقیقه ادامه یافت. موسیمول به صورت وابسته به دوز و زمان سبب کاهش قند خون گردید. پس از انجام آزمون تعقیب (Post Hoc) رنج توکی مشخص شد که در زمان صفر هیچ تفاوت معنی‌داری بین ۵ گروه مورد مطالعه (نرمال سالین و دوزهای مختلف موسیمول) وجود ندارد. در ۳۰ دقیقه فقط دوز ۵۰ نانوگرم نسبت به ۱۰ نانوگرم تأثیر بیشتری بر کاهش قند خون داشته است ($p < 0.05$) ولی در بقیهٔ دوزها تفاوتی دیده نشد. در ۶۰ دقیقه دوزهای ۱۰ و ۵۰ نانوگرم نسبت به نرمال سالین باعث کاهش بیشتری در قند خون شد ($p < 0.05$). در ۹۰ دقیقه

i- Pontaminesky blue
ii- One way ANOVA

جدول ۱- تأثیر دوزهای مختلف موسیمول ICV و نرمال سالیین بر غلظت گلوکز خون موش به تفکیک زمان (n=۸)

سطح معنی‌داری (P-Value)	موسیمول ICV (نانوگرم / میکروگرم)				نرمال سالیین	زمان (دقیقه)
	۵۰	۲۵	۱۰	۵		
۰/۶۴	۱۵۸±۵	۱۵۷±۵	۱۵۱±۱۱	۱۵۱±۷	۱۶۷±۱۰*	۰
۰/۰۴	۱۴۰±۴‡	۱۴۳±۶†	۱۷۵±۱۲	۱۵۵±۸	۱۶۰±۸	۳۰
۰/۰۰۷	۱۲۵±۳§	۱۳۰±۳§	۱۲۴±۸§	۱۵۰±۱۱	۱۵۵±۷	۶۰
۰/۰۰۲	۱۰۴±۶§	۱۱۱±۶§	۱۲۵±۱۰	۱۳۷±۱۰	۱۴۴±۷	۹۰
۰/۰۰۸	۱۰۲±۷§	۱۱۳±۶‡	۱۰۶±۶§	۱۲۹±۸	۱۳۰±۴	۱۲۰
۰/۰۰۱	۱۱۰±۷§	۱۱۷±۷§	۱۱۳±۷	۱۴۰±۹	۱۴۸±۵	۱۵۰
۰/۰۱۲	۱۳۱±۶	۱۳۱±۷	۱۲۹±۴	۱۴۹±۴	۱۴۴±۶	۱۸۰

*. غلظت قند خون برحسب میلی‌گرم درصد سی‌سی خون Mean±SEM است.

‡ p<۰/۰۱ § p<۰/۰۰۱ † p<۰/۰۵

۹۰ دقیقه با p<۰/۰۰۱ گردید. ۴۵ دقیقه پس از تزریق موسیمول (IP) افزایش معنی‌داری (p<۰/۰۵) در قند خون در دوز ۶mg/kg ایجاد شد (جدول ۲ و نمودار ۲).

بحث

در مرحله اول این مطالعه موسیمول به صورت وابسته به دوز و زمان کاهش معنی‌داری را در قند خون موش‌های گروه مورد در مقایسه با موش‌های گروه شاهد ایجاد کرد. موسیمول با دوز ۵ng/uL هیچ اختلاف معنی‌داری در قند خون موش‌های گروه مورد نسبت به گروه شاهد ایجاد نکرد. با دوز ۱۰ng/uL در دقایق ۶۰ و ۱۲۰ p<۰/۰۰۱ کاهش معنی‌داری در قند خون ایجاد نمود. این دارو در دوز ۲۵ng/uL پس از ۳۰ دقیقه (p<۰/۰۵) و پس از ۱۲۰ دقیقه (p<۰/۰۱) و در دقایق ۶۰، ۹۰ و ۱۵۰ (p<۰/۰۰۱) کاهش معنی‌دار در قند خون ایجاد کرد (جدول ۱). بر اساس گزارش‌های محققان روشن شده که افزایش گلوکز علاوه بر ترشح انسولین منجر به ترشح گابا از سلول‌های β پانکراس می‌شود^۵ و از آنجایی که گابا در حالت عادی اثر مهار بر ترشح سوماتواستاتین و گلوکاگون دارد، قند خون کاهش می‌یابد.^{۱۲،۱۷،۱۸} همچنین مشخص شده که گابا و موسیمول رها شدن سوماتواستاتین را از سلول‌های α₁ پانکراس مهار می‌کنند و این اثر که از طریق گیرنده‌های گابا A صورت می‌گیرد توسط بیکوکولین مهار می‌شود.^{۱۲،۱۷،۱۸} با استفاده از نتایج حاصل از تزریق ICV موسیمول چنین به نظر می‌رسد

در ۱۲۰ دقیقه فقط دوز ۵۰ng نسبت به نرمال سالیین و نسبت به ۵ng اثر بیشتری داشته است. در ۱۵۰ دقیقه فقط دوز ۵ng نسبت به نرمال سالیین تفاوت نداشته ولی در سایر دوزها کاهش معنی‌داری در قند خون مشاهده شد و نیز دوز ۵۰ng نسبت به ۵ng تأثیر بیشتری در کاهش قند خون ایجاد کرده ولی بین سایر دوزها (۱۰، ۲۵ و ۵۰ نانوگرم) تفاوتی در این زمان مشاهده نشد. در ۱۸۰ دقیقه تفاوت آماری معنی‌داری بین دوزهای مختلف و نرمال سالیین دیده نشد (جدول ۱ و نمودار ۱). ۹۰ دقیقه پس از تزریق موسیمول ICV کاهش معنی‌داری (p<۰/۰۰۱) در دوزهای ۲۵ و ۵۰ نانوگرم دیده شد (نمودار ۱).

در مرحله دوم جهت پی بردن به اثرات محیطی موسیمول ۵ گروه حیوان انتخاب گردید (n=۸). در چهار گروه به ترتیب دوزهای ۱، ۲، ۴ و ۶ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موسیمول (IP) تزریق شد و گروه پنجم سالیین (IP) دریافت کردند. خونگیری بلافاصله پس از تزریق دارو صورت گرفت و تا ۹۰ دقیقه ادامه یافت.

نتایج ناشی از تزریق محیطی موسیمول را به ترتیب زیر می‌توان بیان کرد:

در دوز ۱mg/kg هیچ تفاوت معنی‌داری در قند خون نسبت به گروه شاهد (دریافت کننده سالیین) مشاهده نشد. ۳۰ دقیقه پس از تزریق دارو در دوز ۲mg/kg (p<۰/۰۱) و در دوز ۴mg/kg (p<۰/۰۵) افزایش معنی‌داری در قند خون دیده شد. موسیمول در دوز ۶mg/kg قادر به افزایش قند خون در دقایق ۴۵ و ۶۰ (p<۰/۰۵)، پس از ۷۵ دقیقه با p<۰/۰۱، پس از

جدول ۲- تأثیر دوزهای مختلف موسیمول IP و نرمال سالین بر غلظت خون موش به تفکیک زمان (n=۸).

سطح معنی‌داری (P-Value)	موسیمول IP (میلی گرم / کیلوگرم)				نرمال سالین	زمان (دقیقه)
	۶	۴	۲	۱		
۰/۸۷	۱۵۶±۲۰	۱۵۷±۱۵	۱۵۹±۲۷	۱۲۴±۱۴	۱۴۳±۱۶*	۰
۰/۹۳	۱۶۷±۳۱	۱۶۸±۱۸	۱۴۹±۲۰	۱۵۹±۲۷	۱۴۶±۱۸	۱۵
۰/۴۴	۱۴۶±۱۸	۱۶۰±۱۸†	۱۶۹±۱۶‡	۱۵۰±۲۲	۱۲۳±۶	۳۰
۰/۳۱	۱۷۰±۲۴†	۱۴۶±۱۵	۱۴۳±۱۳	۱۳۰±۱۲	۱۲۶±۸	۴۵
۰/۵۶	۱۶۶±۱۹†	۱۵۴±۱۹	۱۴۰±۱۲	۱۳۹±۲۲	۱۲۷±۱۰	۶۰
۰/۴۶	۱۴۹±۱۸†	۱۲۶±۱۵	۱۱۷±۱۰	۱۱۹±۲۴	۱۱۳±۱۱	۷۵
۰/۲۸	۱۲۹±۸§	۱۰۹±۱۱	۱۰۳±۱۳	۹۴±۲۱	۹۰±۸	۹۰

* غلظت قند خون برحسب میلی‌گرم درصد سی‌سی خون Mean±SEM است.

† p<۰/۰۵ § p<۰/۰۱

معنی‌داری در قند خون مشاهده شد (نمودار ۴). از آنجایی که پژوهشگران گزارش کرده‌اند خود موسیمول احتمالاً به سرعت در خون متابولیزه می‌شود، احتمال دارد که آثار این تزریق بر قند خون ناشی از اثر متابولیت‌های آن باشد. از طرف دیگر گزارش شده است که ظاهراً متابولیت‌های موسیمول می‌توانند از سد خونی مغزی عبور کنند و بدین ترتیب ممکن است بتوانند در اثرات فارماکولوژیک این دارو نقش داشته باشند.^{۱،۳،۷} در حالی که خود موسیمول به راحتی نمی‌تواند از سد خونی مغز عبور کند و احتمالاً به سرعت در مغز متابولیزه می‌شود^{۱،۳،۷} و علاوه بر این گزارش شده که اثرات ناشی از تزریق سیستمیک و تزریق داخل بطن مغزی موسیمول با هم فرق دارد. بنابراین بعضی از اعمال موسیمول به دلیل تولید سریع متابولیت‌های آن شبیه گابا نیست.^{۷،۹}

در خاتمه باید اضافه نمود که اثر موسیمول در تنظیم قند خون پیچیده است و شناخت دقیق‌تر آن مستلزم تحقیقات بیشتری است.

که این دارو از طریق گیرنده‌های مرکزی سبب کاهش قند خون شده است. همان‌طور که در گزارش‌های دیگر نیز آمده است در تزریق مرکزی، خود موسیمول اثر می‌کند در حالی که در تزریق محیطی متابولیت‌های آن مؤثر است.^{۷،۹} به عبارت دیگر اثرات ناشی از تزریق محیطی و تزریق مرکزی این دارو با یکدیگر تفاوت دارد.^{۳،۷}

در مرحله دوم نتایج حاصل از تزریق داخل صفاقی موسیمول نشان داد که این دارو در دوز ۱mg/kg هیچ تفاوت معنی‌داری در قند خون موش‌های گروه آزمایشی و گروه کنترل ایجاد نکرد. با افزایش دوز به میزان ۲mg/kg فقط در ۳۰ دقیقه پس از تزریق دارو افزایش معنی‌داری (p<۰/۰۱) در قند خون ایجاد شد و همین اثر در دوز ۴mg/kg (p<۰/۰۵) در این زمان دیده شد. دوز ۶mg/kg موسیمول در دقایق ۴۵ و ۶۰ (p<۰/۰۵) و پس از ۷۵ دقیقه (p<۰/۰۱) و پس از ۹۰ دقیقه (p<۰/۰۰۱) قادر به افزایش معنی‌داری در قند خون شد.

با توجه به نتایج آزمایش‌های قبلی، پس از تزریق داخل صفاقی موسیمول پیش‌بینی می‌شد که قند خون کاهش یابد اما نه تنها این پدیده دیده نشد بلکه با افزایش دوز افزایش

References

- Baraldi M, Grandison L, Guidotti A. Distribution and metabolism of muscimol in the brain and other tissues of the rat. *Neuropharmacology*. 1979; 18:57-62.
- Bereiter DA, Berthoud HR, Becker MJ, Jeanrenaud B. Brain stem infusion of the gamma-aminobutyric acid antagonist bicuculline increases plasma insulin levels in the rat. *Endocrinology*. 1982; 111:324-8.
- Brett RR, Pratt JA. Muscimol-associated changes in local cerebral glucose use following chronic; diazepam administration. *Brain Res*. 1991; 558:280-8.
- Bowery NG. GABAB receptors and their significance in mammalian pharmacology. *Trend Pharmacol Sci* 1989; 10:401-7.
- Chen RZ, Robinson SE. The effect of cholinergic manipulations on the analgesic response to cobrotoxin in mice. *Life Sci*. 1990; 47:1949-54.

6. Curtis DR, Duggan AW, Felix D, Johnston GA. GABA, bicuculline and central inhibition. *Nature*. 1970; 226:1222-4.
7. Enna SJ, Maggi A. Biochemical pharmacology of GABAergic agonists. *Life Sci*. 1979; 24:1727-37.
8. Dutar P, Nicoll RA. A physiological role for GABAB receptors in the central nervous system. *Nature*. 1988; 332:156-8.
9. Paredes RG, Agmo A. GABA and behavior: the role of receptor subtypes. *Neurosci Biobehav Rev*. 1992; 16:145-70.
10. Sieghart W. Multiplicity of GABAA--benzodiazepine receptors. *Trends Pharmacol Sci*. 1989; 10:407-11.
11. Enna SJ, Snyder SH. Properties of gamma-aminobutyric acid (GABA) receptor binding in rat brain synaptic membrane fractions. *Brain Res*. 1975; 10:81-97.
12. Erdo SL, Wolf JR. γ -Aminobutyric acid outside the mammalian brain. *J Neurochem* 1990; 54:363-72.
13. Ferreira MB, Da Silva RC, Medina JH, Izquierdo I. Late posttraining memory processing by entorhinal cortex: involvement of NMDA and GABAergic receptors. *Pharmacol Biochem Behav*. 1992; 41:767-71.
14. Hylden JL, Wilcox GL. Pharmacological characterization of substance P-induced nociception in mice: modulation by opioid and noradrenergic agonists at the spinal level. *J Pharmacol Exp Ther*. 1983; 226:398-404.
15. Matsumoto RR. GABA receptors: are cellular differences reflected in function? *Brain Res Rev*. 1989; 14:203-25.
16. Nijijima A. Neural mechanisms in the control of blood glucose concentration. *J Nutr* 1989; 119:833-40.
17. Ong J, Kerr DI. GABA-receptors in peripheral tissues. *Life Sci*. 1990; 46:1489-501.