

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

زهره 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 اسپکتروفتومتر استفاده شد. جهت تزریق داخل بطن مغزی (ICV) موسیمول، ۵ گروه حیوان که ۵ روز قبل کانول‌گذاری شده بودند ($n=8$) 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 ($n=8$) 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 mg/kg، نه تنها قند خون در گروه آزمایشی نسبت به گروه شاهد کاهش نمی‌یابد بلکه افزایش معنی‌داری (۶ mg/kg) در قند خون ایجاد می‌شود؛ در حالی که تزریق ICV به صورت وابسته به دوز قند خون را به طور معنی‌دار کاهش می‌دهد. ($p<0/05$). نتیجه‌گیری: در مجموع به نظر می‌رسد که با تزریق ICV اثر مستقیم موسیمول دیده می‌شود در حالی که با تزریق IP، این دارو متابولیسم 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، زهره قیروانی

E-mail: ghiravani_z@yahoo.com

صورت می‌گیرد.^{۱۷} این اثر توسط دیازپام افزایش یافته و توسط بیکوکولین 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 ۲۵-۳۰ گرم استفاده شد. حیوانات در درجه حرارت (۲۰-۲۲°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 بیکوکولین) و گیرنده گابا - B (غیرحساس به بیکوکولین) نامگذاری شدند.^{۱۰-۱۵} البته در تعدادی از مقالات وجود نوع سوم گیرنده گابا به نام گیرنده گابا - C (غیرحساس به بیکوکولین و باکلوفن) گزارش شده است.^{۳،۸،۱۰} همچنین وجود گیرنده‌ای به نام گیرنده گابا - X (حساس به باکلوفن و غیرحساس به بیکوکولین) 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 گابا‌رژیک وجود دارد. اولین بار اوکادا و همکارش در سال ۱۹۶۷ مشاهده کردند که این نوروترانسمیتر آمینواسیدی در سلول‌های آندوکراین جزایر لانگرهانس وجود دارد.^{۱۱،۱۶} پس از گذشت چند سال ونسان در سال ۱۹۸۳ و اسکو در سال ۱۹۷۸ با استفاده از تکنیک‌های ایمنوهمیستوشیمی 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 بیکوکولین (ICV) مهار می‌شود.^{۱۲،۱۷،۱۸}

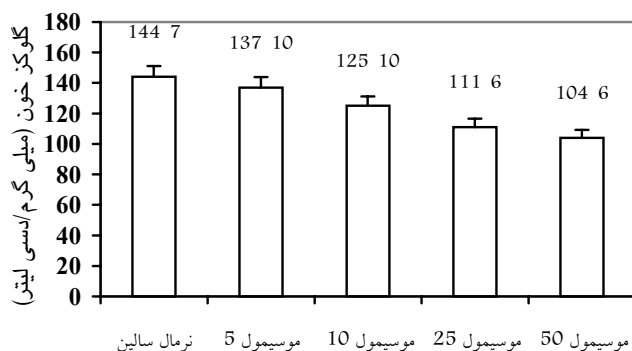
از طرفی وجود گیرنده‌های گابا - A بر روی سلول‌های α_1 می‌تواند نشان‌دهنده دخالت گابا در ترشح سوماتواستاتین باشد.^{۱۸} همچنین شواهد نشان می‌دهد که چنانچه گابا همراه با انسولین از سلول‌های B ترشح شود، می‌تواند عمل مهار گلوکز را بر روی ترشح گلوکاگون از سلول‌های α_2 واسطه‌گری کند. این عمل مهار بدون شک توسط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

دوزهای ۲۵ و ۵۰ نانوگرم نسبت به نرمال سالیین 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)

گلوکز خون (میلی گرم/دسی لیتر)

$p < 0.001^*$

نمودار ۱- اثر موسیمول داخل بطن مغزی (ICV) بر غلظت گلوکز خون در ۹۰ دقیقه پس از تزریق دارو ($n=8$)



$p < 0.001^*$

نمودار ۲- اثر موسیمول داخل صفاقی (IP) بر غلظت گلوکز خون در ۴۵ دقیقه پس از تزریق دارو ($n=8$)

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.

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.

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 سالیین 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 سالیین 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 سالیین 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 سالین بر غلظت گلوکز خون موش به تفکیک زمان (n=۸)

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

* غلظت قند خون برحسب میلی گرم درصد سی سی خون Mean±SEM است.

† p<۰/۰۵ § p<۰/۰۱ p<۰/۰۰۱

۹۰ دقیقه با $p<۰/۰۰۱$ گردید. ۴۵ دقیقه پس از تزریق موسیمول (IP) افزایش معنی داری ($p<۰/۰۵$) 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 معنی داری را در قند خون موش های گروه مورد در مقایسه با موش های گروه شاهد ایجاد کرد. موسیمول با دوز ۵ng/uL هیچ اختلاف معنی داری در قند خون موش های گروه مورد نسبت به گروه شاهد ایجاد نکرد. با دوز ۱۰ng/uL در دقایق ۶۰ و ۱۲۰ با $p<۰/۰۰۱$ کاهش معنی داری 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 معنی دار در قند خون ایجاد کرد (جدول ۱). بر اساس گزارش های محققان روشن شده که افزایش گلوکز علاوه بر ترشح انسولین منجر به ترشح گابا از سلول های β پانکراس می شود^۵ و از آنجایی که گابا در حالت عادی اثر مهار بر ترشح سوماتواستاتین و گلوکاگون دارد، قند خون کاهش می یابد.^{۱۲،۱۷،۱۸} همچنین مشخص شده که گابا و موسیمول رها شدن سوماتواستاتین را از سلول های α_1 پانکراس مهار می کنند و این اثر که از طریق گیرنده های گابا A صورت می گیرد توسط بیکوکولین مهار می شود.^{۱۲،۱۷،۱۸} با استفاده از نتایج حاصل از تزریق ICV موسیمول چنین به نظر می رسد

در ۱۲۰ دقیقه فقط دوز ۵۰ng نسبت به نرمال سالین و نسبت به ۵ng اثر بیشتری داشته است. در ۱۵۰ دقیقه فقط دوز ۵ng نسبت به نرمال سالین تفاوت نداشته ولی در سایر دوزها کاهش معنی داری 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 معنی داری بین دوزهای مختلف و نرمال سالین دیده نشد (جدول ۱ و نمودار ۱). ۹۰ دقیقه پس از تزریق موسیمول ICV کاهش معنی داری ($p<۰/۰۰۱$) 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 میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موسیمول (IP) تزریق شد و گروه پنجم سالین (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 می توان بیان کرد:

در دوز ۱mg/kg هیچ تفاوت معنی داری در قند خون نسبت به گروه شاهد (دریافت کننده سالین) مشاهده نشد. ۳۰ دقیقه پس از تزریق دارو در دوز ۲mg/kg ($p<۰/۰۱$) و در دوز ۴mg/kg ($p<۰/۰۵$) افزایش معنی داری 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).

زمان (دقیقه)	نرمال سالین	موسیمول IP (میلی گرم / کیلوگرم)				سطح معنی داری (P-Value)
		۱	۲	۴	۶	
۰	۱۴۳±۱۶*	۱۳۴±۱۴	۱۵۹±۲۷	۱۵۷±۱۵	۱۵۶±۲۰	۰/۸۷
۱۵	۱۴۶±۱۸	۱۵۹±۲۷	۱۴۹±۲۰	۱۶۸±۱۸	۱۶۷±۳۱	۰/۹۳
۳۰	۱۲۳±۶	۱۵۰±۲۳	۱۶۹±۱۶†	۱۶۰±۱۸†	۱۴۶±۱۸	۰/۴۴
۴۵	۱۲۶±۸	۱۳۰±۱۲	۱۴۳±۱۳	۱۴۶±۱۵	۱۷۰±۲۴†	۰/۳۱
۶۰	۱۲۷±۱۰	۱۳۹±۲۲	۱۴۰±۱۲	۱۵۴±۱۹	۱۶۶±۱۹†	۰/۵۶
۷۵	۱۱۳±۱۱	۱۱۹±۲۴	۱۱۷±۱۰	۱۲۶±۱۵	۱۴۹±۱۸†	۰/۴۶
۹۰	۹۰±۸	۹۴±۲۱	۱۰۳±۱۳	۱۰۹±۱۱	۱۲۹±۸§	۰/۲۸

* غلظت قند خون برحسب میلی گرم سی سی خون Mean±SEM است.

† p<۰/۰۵ § p<۰/۰۱ § p<۰/۰۰۱

معنی داری در قند خون مشاهده شد (نمودار ۴). از آنجایی که پژوهشگران گزارش کرده اند خود موسیمول احتمالاً به سرعت در خون متابولیزه می شود، احتمال دارد که آثار این تزریق بر قند خون ناشی از اثر متابولیت های آن باشد. از طرف دیگر گزارش شده است که ظاهراً متابولیت های موسیمول می توانند 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 نمی تواند از سد خونی مغز عبور کند و احتمالاً به سرعت در مغز متابولیزه می شود^{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 متابولیت های آن شبیه گابا نیست.^{۷،۹}

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

که این دارو از طریق گیرنده های مرکزی سبب کاهش قند خون شده است. همان طور که در گزارش های دیگر نیز آمده است در تزریق مرکزی، خود موسیمول اثر می کند در حالی که در تزریق محیطی متابولیت های 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 معنی داری در قند خون موش های گروه آزمایشی و گروه کنترل ایجاد نکرد. با افزایش دوز به میزان ۲mg/kg فقط در ۳۰ دقیقه پس از تزریق دارو افزایش معنی داری (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 معنی داری در قند خون شد.

با توجه به نتایج آزمایش های قبلی، پس از تزریق داخل صفاقی موسیمول پیش بینی می شد 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.