

Inhibition of endogenous cannabinoid breakdown in the presence of verapamil on learning and memory in a rat

Komaki A^{*}, Rasouli B, Rasouli S, Shahidi S, Sarihi A

Neurophysiology Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, I. R. Iran.

Received August 26, 2013; Accepted March 8, 2014

Abstract:

Background: Endocannabinoids are one of the endogenous systems that modulate the learning and memory. There is currently debate over the interaction between L-type Ca^{2+} channels and endocannabinoid system on the learning and memory. The aim of this study was to examine the effects of acute administration of URB597, as endocannabinoid breakdown inhibitor, following chronic administration of verapamil, as Ca^{2+} channels blocker, on passive avoidance (PA) test.

Materials and Methods: This behavioral study was carried out on 70 male Wistar rats. Animals were divided into seven groups ($n=10$ in each group). Rats were treated with verapamil hydrochloride (10, 25, 50 mg/kg, i.p.) or saline as the solvent of verapamil for 13 days (once daily). Before PA test, a single injection of saline, verapamil or URB597 (0.3 mg/kg, i.p.) was done. Then PA training was started. Retrieval test was done 24 h after training.

Results: Results showed that both URB597 and verapamil decreased the acquisition and retrieval of PA task. Moreover, URB597 can augment the inhibitory effect of verapamil on acquisition and retrieval of PA test.

Conclusion: It can be concluded that L-type calcium channels may have a role in learning and memory. Also, there is an interaction between Ca^{2+} channels and endocannabinoid system. This may be due to changes made by endocannabinoids in neural structures involved in learning and memory processing.

Keywords: Endocannabinoid, URB597, Passive avoidance, Learning and memory, Rat, Verapamil

*** Corresponding Author.**

Email: alirezakomaki@gmail.com

Tel: 0098 811 838 0462

Fax: 0098 811 838 0208

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences June, 2014; Vol. 18, No 2, Pages 101-109

Please cite this article as: Komaki A, Rasouli B, Rasouli S, Shahidi S, Sarihi A. Inhibition of endogenous cannabinoid breakdown in the presence of verapamil on learning and memory in a rat. *Feyz* 2014; 18(2): 101-9.

اثر مهار کننده تجزیه کاناپینوئیدهای آندوژن در حضور وراپامیل بر پدیده‌های یادگیری و حافظه در موش بزرگ آزمایشگاهی

علیرضا کمکی^۱، بهمن رسولی^۲، سحر رسولی^۲، سیامک شهیدی^۱، عبدالرحمان صربیحی^۱

خلاصه:

سابقه و هدف: آندوکاناپینوئیدها یکی از سیستم‌های آندوژن هستند که حافظه و یادگیری را تحت تاثیر قرار می‌دهند. در مورد تداخل کanal‌های کلسیمی نوع L و سیستم کاناپینوئیدی در حافظه و یادگیری اختلاف نظر وجود دارد. در این مطالعه اثر تجویز حاد URB597 (مهار کننده تجزیه کاناپینوئیدها) که به دنبال تجویز مژمن وراپامیل (مهار کننده کanal کلسیمی) صورت گرفته است را بر تست یادگیری احترازی غیرفعال (Passive Avoidance; PA) مورد بررسی قراردادیم.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه رفتاری از ۷۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد که به ۷ گروه ۱۰ نایی تقسیم شدند. حیوانات با دوز ۵۰، ۲۵، ۱۰ mg/kg وراپامیل یا سالین به عنوان حلال وراپامیل به مدت ۱۳ روز تیمار شدند (روزانه یک وعده). قبل از انجام تست PA یک تزریق تک دوز از سالین، وراپامیل و یا URB597 (۰/۳ mg/kg) بسته به گروه حیوان مورد آزمایش صورت گرفت و سپس، تست PA انجام می‌شد. تست به خاطرآوری ۲۴ ساعت بعد از یادگیری صورت می‌گرفت.

نتایج: این مطالعه نشان داد که URB597 و وراپامیل اکتساب و به خاطرآوری را در تست PA تضعیف می‌نمایند. همچنین، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که URB597 تا حدودی اثرات مهاری وراپامیل بر اکتساب و به خاطرآوری را در تست PA تشدید می‌نماید. نتیجه‌گیری: می‌توان نتیجه گرفت که کanal‌های کلسیمی نوع L دارای یک نقش در اعمال مغزی از قبیل یادگیری و حافظه می‌باشند. همچنین، یک تداخل عمل بین کanal‌های کلسیمی و سیستم کاناپینوئیدی وجود دارد. به نظر می‌رسد که این اثرات مربوط به تغییر آندوکاناپینوئیدها در ساختمان‌های عصبی است که در فرآیندهای یادگیری و حافظه نقش دارند.

واژگان کلیدی: آندوکاناپینوئید، URB597، احترازی غیرفعال، یادگیری و حافظه، موش صحرایی، وراپامیل
دو ماهنامه علمی- پژوهشی فیض، دوره هجدهم، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۳، صفحات ۱۰۹-۱۰۱

مقدمه

Teyler و Morgan نشان داده‌اند که تزریق داخل صفاقی وراپامیل در ناحیه CA1 هیپوکامپ در شرایط درون‌تنی باعث کاهش دامنه LTP می‌شود [۸]. همچنین، محققین نشان داده‌اند که در شرایط درون‌تنی تزریق سیستمیک وراپامیل بر LTP مربوط به کanal‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ تاثیر گذاشته و باعث افزایش خطأ در حافظه کاری و رفرنس در ماز هشت پر شده است [۹]. علی‌رغم مطالعات زیادی که در مورد تاثیر سیستم کاناپینوئیدی بر حافظه و یادگیری صورت گرفته است، نتایج متناقضی در این ارتباط وجود دارد [۱۰، ۱۱]. همچنین، در مورد تاثیر کاناپینوئیدها بر روی شکل‌پذیری سیناپسی و LTP نیز گزارشات ضد و نقیضی وجود دارد [۱۱-۱۶]. ماری جوانا و ترکیب اصلی آن-9-Delta-9-THC (Δ^۹-THC) مختل کننده جنبه‌های مختلف حافظه شناخته شده است [۱۷، ۲]. وجود گیرنده‌های نوع ۱ کاناپینوئیدی (CB1) و دو نوع کاناپینوئید آندوژن یعنی آناندامید و ۲-آرشیدونیل گلیسرول (2-AG) و مشتقان متابولیک آنها در هیپوکامپ بیان‌گر ایفای نقش سیستم نوروشیمیابی کاناپینوئیدی در فرآیندهای حافظه و یادگیری می‌باشد [۱۸]. به علاوه، تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که سیستم کاناپینوئیدی مؤلفه‌های اصلی یادگیری و حافظه که شامل ثبت و

مطالعات مختلف نشان‌دهنده دخالت سیستم‌های مختلف نوروتانسمیتری [۲، ۱] و کanal‌های کلسیمی [۴، ۳] در حافظه و یادگیری هستند. مطالعات متعددی این فرضیه را تقویت کرده است که دامنه افزایش کلسیم پس سیناپسی عامل کلیدی در تعیین جهت Long term depression (LTD) به افزایش متoste در کلسیم پس سیناپسی وابسته است، در حالی که Long term potentiation (LTP) به عنوان یکی از مهمترین مکانیسم‌های سلولی حافظه و یادگیری به افزایش بیشتری در کلسیم پس سیناپسی نیازمند است [۵-۷].

۱. دانشیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی همدان

۲. پژوهش عمومی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی همدان

***نشان نویسنده مسئول:**

همدان، خیابان شهید فهمیده، دانشگاه علوم پزشکی همدان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب

تلفن: ۰۸۱۱ ۸۳۸۰۴۶۲ | دورزنیس: ۰۸۱۱ ۸۳۸۰۲۰۸

پست الکترونیک: alirezakomaki@gmail.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۲/۱۲/۱۷ | تاریخ دریافت: ۹۲/۶/۴

همدان قرار گرفته و بر طبق دستورالعمل‌های اخلاقی انجمان بین‌المللی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شده است.

روش یادگیری احترازی (غیرفعال) و دستگاه Shuttle Box: این دستگاه یک جعبه پلکسی گلاس است که از دو قسمت تاریک و روشن تشکیل شده است و ابعاد هر قسمت $30 \times 20 \times 20$ سانتی‌متر می‌باشد. دو بخش توسط یک دریچه گیوتینی 8×8 سانتی‌متر بهم مربوط هستند. کف دو بخش میله‌های فلزی به فاصله ۱ سانتی‌متر از یکدیگر وجود دارد و شوک الکتریکی از طریق همین میله‌ها در بخش تاریک به پای حیوان اعمال می‌شود. این آزمایش در چهار مرحله انجام گرفت. مرحله اول (Habituation): در این مرحله موش‌های هر گروه یکی با فاصله زمانی حدود ۸ دقیقه ابتدا درون box احترازی غیرفعال قرار داده شده، بعد از ۵ ثانیه دربین دو محفظه را برداشته و به مدت دو دقیقه به موش‌ها اجازه داده شد آزادانه در دو محفظه تاریک و روشن رفت و آمد کنند، که معمولاً در این مرحله موش صحرایی به‌طور طبیعی تمایل دارد بلافارسله وارد محفظه تاریک شود. در این فاصله زمانی اگر موشی تمایل به ورود به ناحیه تاریک نداشت و تمامی زمان را در ناحیه روشن سپری می‌کرد، از مطالعه حذف می‌گردید. مرحله دوم: ۳۰ دقیقه بعد موش صحرایی را در قسمت روشن جعبه گذاشته و ۲ دقیقه به حیوان مهلت داده می‌شد تا وارد محفظه تاریک شود، به محض ورود به محفظه تاریک درب آن را بسته و شوک یک میلی‌آمپر به مدت ۱/۵ ثانیه با فرکانس ۵۰ هرتز به حیوان داده می‌شد. سپس، موش صحرایی از محفظه تاریک خارج گشته و به قفس برگردانده می‌شد [۲۴-۲۶]. مرحله سوم: این مرحله دو دقیقه بعد از مرحله دوم انجام می‌گرفت. موش صحرایی در قسمت روشن دستگاه قرار داده شده و دربین دو قسمت تاریک و روشن بالا کشیده می‌شد تا تست یادگیری (Acquisition) انجام شود؛ به این صورت که اگر در مدت ۲ دقیقه موش صحرایی وارد محفظه تاریک نمی‌شد به این مفهوم بود که یادگیری صورت گرفته، اما اگر وارد محفظه تاریک می‌شد، باید مرحله شوک را به همین صورت قبل تکرار می‌کردیم و با فاصله زمانی ۲ دقیقه‌ای این کار آنقدر تکرار می‌شد تا موش صحرایی یاد بگیرد وارد محفظه تاریک نشود. مرحله چهارم (Retrieval): در این مرحله که ۲۴ ساعت بعد انجام می‌گرفت، موش را در محفظه روشن قرار داده و رفتار حافظه او را به مدت ۱۰ دقیقه بررسی می‌کردیم [۲۷-۲۸].

گروه‌های آزمایشی عبارت بودند از: ۱- گروه شاهد: این گروه هم حجم ترکیبات تزریقی به گروه‌های دیگر، به مدت ۱۳ روز متوالی و به شکل تزریق مزم من داخل صفاتی سالین دریافت می-

به خاطرآوری است را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۲]. با توجه به نقش کانال‌های کلسیمی و گیرنده‌های کانابینوئیدی در حافظه و یادگیری، و از طرفی نامشخص بودن میانجی دخیل در تنظیم نقش کانال‌های کلسیم نوع L در ناحیه شکنج دندانه دار هیپوکامپ، ارتباط بین کانال‌های کلسیمی و گیرنده‌های کانابینوئیدی در حافظه و یادگیری مورد توجه واقع شده است. مطالعات اندکی در این ارتباط صورت گرفته است. بر اساس یکی از این مطالعات مشخص شده است که رسپتور CB1 کانابینوئیدی نقش مهمی را در شکل‌پذیری سیناپسی طولانی مدت هیپوکامپ ایفا می‌کند و Down regulation گیرنده CB1 کانابینوئید می‌شود [۱۹]. علاوه بر این، بحث‌های متعددی در مورد نقش کانابینوئیدهای درونزا در میانجی‌گری رهایش سایر نوروترانسミترها وجود دارد. اندوکانابینوئیدها احتمالاً دارای عملکرد فیزیولوژیک در تنظیم شکل‌پذیری سیناپسی نورون‌های گاباائرژیک ناحیه شکنج دندانه‌دار (DG) هستند [۲۰] و افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی سبب مهار انتقال گاباائرژیک در نورون‌های پیرامیدال هیپوکامپ می‌شود [۲۱]: به‌طوری که پدیده مهار گاباائرژیک وابسته به کلسیم، در نورون‌های ناحیه شکنج دندانه‌دار هیپوکامپ هم مشاهده شده است [۲۲]. با توجه به این مطالب، هدف از انجام این تحقیق بررسی ارتباط بین نقش مهار کننده تجزیه کانابینوئیدهای آندوژن که باعث افزایش حضور کانابینوئیدها در فضای سیناپسی می‌شود، و نقش کانال‌های کلسیمی نوع L در یادگیری و حافظه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از روش یادگیری احترازی غیرفعال (Passive avoidance) به‌منظور بررسی یادگیری و حافظه استفاده شد. در تحقیق حاضر از ۷۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد Wistar با وزن ۲۰۰-۲۴۰ استفاده گردید که به ۷ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. موش‌ها در دسته‌های ۵ تایی تحت شرایط مناسب، درجه حرارت ۲۰-۲۴ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲ نگهداری شده و آب و غذا به مقدار کافی در دسترس شان بود. موش‌های صحرایی به مدت ۱۳ روز متوالی ورآپامیل یا سالین دریافت می‌کردند (ورآپامیل با سه دوز mg/kg ۲۵، ۱۰، ۵۰ تزریق شد) [۲۳]. در این مطالعه در روز بعد از آخرین تزریق در حضور یا عدم حضور مهار کننده کانابینوئیدهای آندوژن تست یادگیری (Acquisition) انجام گرفته و متعاقباً در روز بعد تست به‌خاطرسپاری (Retrieval) انجام گرفت. لازم به ذکر است که آزمایشات مورد تایید شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی

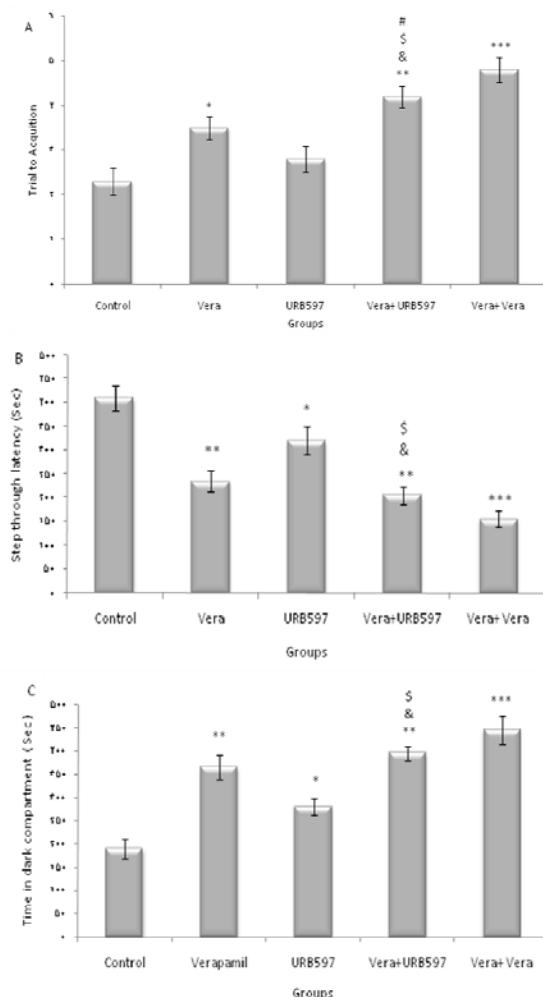
اختلاف مشخص و معنی داری بین گروه ها وجود دارد. موش های گروه وراپامیل ۱۰ $P<0.05$ [F(۳/۳۶)=۲/۶۴۳] و وراپامیل ۲۵ $P<0.01$ [F(۳/۳۶)=۴/۲۷۱] و وراپامیل ۵۰ $P<0.001$ [F(۳/۳۶)=۵/۸۳۱] در مقایسه با گروه سالین با تاخیر کمتری وارد قسمت تاریک شدند (شکل ۱-B). در روز آزمون به خاطر آوری مقایسه زمان سپری شده در قسمت تاریک دستگاه نیز اختلاف معنی داری را بین چهار گروه نشان داد. موش های گروه وراپامیل ۱۰ $P<0.05$ [F(۳/۳۶)=۳/۷۹۵]، وراپامیل ۲۵ $P<0.01$ [F(۳/۳۶)=۶/۲۵۸] و وراپامیل ۵۰ $P<0.001$ [F(۳/۳۶)=۴/۵۸۳] در مقایسه با گروه سالین زمان بیشتری را در قسمت تاریک گذرانیدند. تفاوت زمان سپری شده در قسمت تاریک دستگاه بین گروه های دریافت کننده وراپامیل ۱۰ و ۵۰ $P<0.01$ [F(۳/۳۶)=۴/۰۶۳] و همچنین بین گروه های دریافت کننده وراپامیل ۲۵ و ۵۰ $P<0.05$ [F(۳/۳۶)=۲/۸۵۷] معنی دار می باشد (شکل ۱-C). مقایسه آماری تعداد دفعات دریافت شوک الکتریکی برای رسیدن به معیار یادگیری و عدم ورود به قسمت تاریک تفاوت معنی داری را بین گروه های مختلف دریافت کننده وراپامیل (دوز ۲۵mg/kg وراپامیل با تاثیر مناسب، کمترین تأثیر را بر مرگ و میر حیوان داشت و به همین علت در گروه های ترکیبی از این دوز وراپامیل استفاده گردید)، URB597، وراپامیل + وراپامیل + وراپامیل و گروه سالین نشان داد. گروه وراپامیل + URB597 در مقایسه با گروه های وراپامیل $P<0.05$ [F(۴/۴۵)=۷/۲۱۳] و URB597 [F(۴/۴۵)=۴/۷۴۲] دفعات بیشتری شوک الکتریکی و در مقایسه با گروه وراپامیل + وراپامیل دفعات کمتری $P<0.05$ [F(۴/۴۵)=۳/۹۷۵] شوک برای رسیدن به یادگیری دریافت کردند (شکل 2-A). مقایسه گروه ها در تاخیر ورود به بخش تاریک در آزمون به خاطر آوری نشان داد که اختلاف مشخص و معنی داری بین گروه ها وجود دارد. موش های تمامی گروه ها در مقایسه با گروه سالین با تاخیر کمتری وارد قسمت تاریک شدند. موش های گروه وراپامیل + URB597 در مقایسه با گروه URB597 با تاخیر کمتری وارد قسمت تاریک شدند $P<0.01$ [F(۴/۴۵)=۶/۸۶۳]. موش های گروه وراپامیل + وراپامیل نیز در مقایسه با گروه وراپامیل + URB597 با تاخیر کمتری وارد قسمت تاریک شدند $P<0.05$ [F(۴/۴۵)=۴/۴۵۲] (شکل شماره ۲-B). در روز آزمون به خاطر آوری مختلف سپری شده در قسمت تاریک دستگاه در بین گروه های مختلف دریافت کننده وراپامیل، URB597، وراپامیل + وراپامیل + وراپامیل و گروه سالین نیز اختلاف معنی داری را بین پنج گروه نشان داد. موش های تمامی گروه ها در مقایسه با گروه

کردن. در روز انجام آزمایش یادگیری نیز سالین تزریق شده، و با مکث زمانی حدود ۳۰ دقیقه آزمایش روی آنها انجام می گردد. ۲- گروه وراپامیل: این گروه شامل سه زیر گروه بود. در این گروه ها وراپامیل (۲۵,۲۵,۱۰ mg/kg) به مدت ۱۳ روز متوالی و به شکل تزریق مزمن داخل صفاتی تزریق می گردد و یک روز بعد از آخرین تزریق مراحل آزمایش شروع می شد. ۳- گروه مهار کننده تجزیه کانابینوئیدهای آندوژن (URB597): این گروه به مدت ۱۳ روز متوالی و به شکل تزریق مزمن داخل صفاتی سالین دریافت می کردد. در روز انجام آزمایش، حیوانات این گروه ۷۰ mg/kg (0.3 mg/kg) به صورت تزریق حاد داخل صفاتی و نیم ساعت قبل از انجام آزمایش دریافت می کردد [۲۹-۳۱]. ۴- گروه مهار کننده کانال کلسیمی + مهار کننده تجزیه کانابینوئیدهای آندوژن (URB597) حاد: مهار کننده تجزیه کانابینوئیدهای آندوژن به صورت حاد، علاوه بر مهار کننده کانال کلسیم (۲۵ mg/kg) که به صورت تزریق مزمن داخل صفاتی تجویز گردیده است، نیم ساعت قبل از انجام آزمایش تزریق می گردد. دوز (۲۵ mg/kg) وراپامیل با تاثیر مناسب، کمترین تأثیر را بر مرگ و میر حیوان داشت و به همین علت در گروه های ترکیبی از این دوز وراپامیل استفاده گردید. ۵- گروه مهار کننده کانال های کلسیمی + مهار کننده کانال های کلسیمی: مهار کننده کانال های کلسیمی را به صورت حاد تک دوزی (۲۵ mg/kg) علاوه بر تزریق مزمن داخل صفاتی مهار کننده کانال کلسیم (۲۵ mg/kg) و نیم ساعت قبل از انجام آزمایش دریافت می کردد.

تجزیه و تحلیل آماری: برای بررسی وجود تفاوت معنی دار بین گروه ها از آنجا که داده ها به صورت نرمال توزیع شده بود، از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و پس آزمون متناسب داده ها استفاده شد. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار میانگین برای هر گروه در نظر گرفته شد. در تمامی مراحل $P<0.05$ به عنوان سطح معنی دار بودن در نظر گرفته شد.

نتایج

مقایسه آماری تعداد دفعات دریافت شوک الکتریکی برای رسیدن به معیار یادگیری و عدم ورود به قسمت تاریک تفاوت معنی داری را بین گروه های مختلف دریافت کننده وراپامیل و گروه سالین نشان داد. موش های گروه وراپامیل ۲۵ $P<0.05$ [F(۳/۳۶)=۳/۸۷۴] و وراپامیل ۵۰ $P<0.01$ [F(۳/۳۶)=۴/۳۷۱] در مقایسه با گروه سالین دفعات بیشتری شوک الکتریکی برای رسیدن به یادگیری دریافت کردند (شکل شماره ۱-A). مقایسه گروه ها در تاخیر ورود به بخش تاریک در آزمون به خاطر آوری نشان داد که

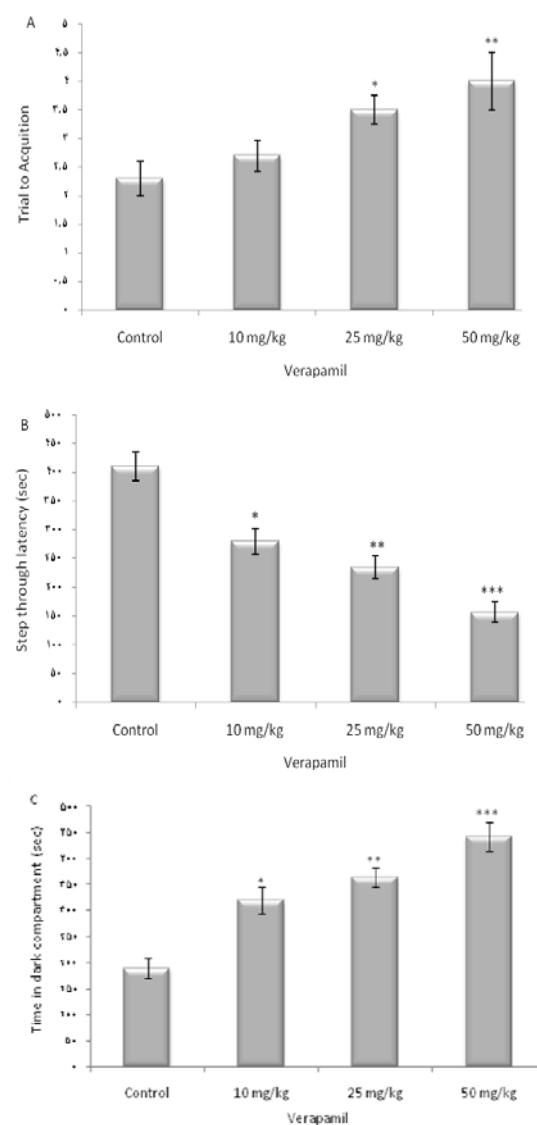


شکل شماره ۲- تأثیر وراپامیل، URB597، وراپامیل + URB597 و راپامیل + وراپامیل در مقایسه با سالین بر تعداد دفعات دریافت شوک الکتریکی برای رسیدن به معیار یادگیری و عدم ورود به قسمت تاریک دستگاه (A)، بر تاخیر ورود به بخش تاریک در آزمون به خاطرآوری (B) و بر زمان سپری شده در قسمت تاریک دستگاه در آزمون به خاطرآوری (C). داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار میانگین نشان داده شده است.
 کنترل. * = $P < 0.05$ و ** = $P < 0.01$ و *** = $P < 0.001$ در مقایسه با گروه
 وراپامیل. & = $P < 0.05$ در مقایسه با گروه وراپامیل + وراپامیل.
 URB597. # = $P < 0.05$ در مقایسه با گروه URB597. \$ = $P < 0.05$ در مقایسه با گروه وراپامیل + وراپامیل.

بحث

به طور خلاصه نتایج اصلی این مطالعه عبارت بودند از:
 ۱- تجویز مزمن و حاد وراپامیل باعث کاهش میزان حافظه و یادگیری گردید. این کاهش در گروه مزمن + حاد برجسته‌تر بود.
 ۲- تجویز URB597 (مهارکننده تجزیه کاتابینوئیدهای اندوژن) نیز باعث کاهش حافظه و یادگیری می‌گردد. ۳- تجویز URB597 به دنبال تجویز مزمن وراپامیل نیز باعث کاهش حافظه و یادگیری

سالین مدت زمان بیشتری را در قسمت تاریک سپری کردند. بین دو گروه وراپامیل و وراپامیل + URB597 تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. گروه وراپامیل + URB597 در مقایسه با گروه URB597 زمان بیشتری [F(4/45)=5.369, $P < 0.01$] و در مقایسه با گروه وراپامیل + وراپامیل زمان کمتری [F(4/45)=4.248, $P < 0.05$] را در بخش تاریک سپری کرده است (شکل ۲-С).



شکل شماره ۱- تأثیر دوزهای مختلف وراپامیل بر تعداد دفعات دریافت شوک الکتریکی برای رسیدن به معیار یادگیری و عدم ورود به قسمت تاریک دستگاه (A)، بر تاخیر ورود به بخش تاریک در آزمون به خاطرآوری (B) و بر زمان سپری شده در قسمت تاریک دستگاه در آزمون به خاطرآوری (C). داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار میانگین نشان داده شده است.
 کنترل. * = $P < 0.05$ و ** = $P < 0.01$ و *** = $P < 0.001$ در مقایسه با گروه وراپامیل.

سیستم عصبی مرکزی (CNS) گسترش دارد، ولی هیپوکامپ نقش عمده‌ای در میانجیگری اثرات کاناپینوئیدهای آگروژن و اندوژن دارد. در هیپوکامپ تعداد زیادی رسپتورهای CB1 و همچنین Anandamide و 2-AG وجود دارد. همچنین آنزیمهای مخصوص کاتابولیسم اینها در هیپوکامپ زیاد است [۵۶]. در هیپوکامپ، آزاد سازی اندوکاناپینوئیدها از نورون‌های هرمی به طور انتخابی بر روی انتقال مهاری اثر کرده و ممکن است در ایجاد شکل‌پذیری سیناپسی در طی تشکیل حافظه و یادگیری نقش داشته باشد [۵۷]. سایر مناطق مغز مثل کورتکس فرونتال هم در مهارت‌های توجهی (Attentional) و حافظه‌ای نقش دارند. مثلاً Δ^9 -THC همراه با اختلال در حافظه کاری باعث افزایش دوپامین و گلوتامات و کاهش آزادسازی گابا در کورتکس پره فرونتال می‌شود [۵۸] و همچنین Δ^9 -THC- Δ^9 -WIN-55,212-2 و Δ^9 -THC (آگونیست گیرنده‌های کاناپینوئیدی) باعث افزایش آزادسازی استیبل کولین در کورتکس فرونتال می‌شود [۵۹]. همچنین، این تحقیق نشان داد که وراپامیل اثر مهاری در فرآیند حافظه ایفا می‌کند. در تایید نتایج این تحقیق، مطالعات رفتاری و الکتروفیزیولوژی توسط لشگری و همکاران نیز [۲۰۳] بیان گر آن است که تعویز مزمن وراپامیل باعث کاهش حافظه و القای LTP و همچنین باعث مهار رهایش نوروترانسپتور مهاری گابا در مسیر پروفورنت به شکنج دندانه دار هیپوکامپ می‌شود. همچنین، اثر مرکزی وراپامیل و نیوفدیپین در شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ بر روی Retention حافظه مورد بررسی قرار داده شده و مشخص گردیده است که وراپامیل و نیوفدیپین اثر کاهشی بر این فرآیند ایفا می‌کنند [۶۰].

تعویز URB597 به دنبال تعویز مزمن وراپامیل تا حدودی اثرات مهاری که توسط وراپامیل ایجاد شده بود را تشدید کرد. این یافته بیان گر وجود نوعی تداخل در عمل سیستم کاناپینوئیدی و کانال‌های کلسیمی می‌باشد. اندوکاناپینوئیدها مانند ناقل‌های عصبی کلاسیک ذخیره نمی‌شوند، در عوض به سرعت توسط نورون‌ها و در پاسخ به دپلاریزاسیون و جریان کلسیم به داخل نورون ساخته می‌شوند [۵۷]. گزارش گردیده است که تحریک گیرنده‌های CB1 اعمالی را به دنبال دارد که شامل فعال کردن آدنیلات سیکلаз [۶۱-۶۳]، پیشرفت فعالیت میتوژنی پروٹئین کیناز [۶۴]، و مهار کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ می‌باشد [۶۴-۶۶]. گیرنده‌های کاناپینوئیدی همچنین بر فعالیت کابائزیک هیپوکامپ تاثیر دارند، ولی ماهیت آن به خوبی مشخص نشده است. تحریک گیرنده‌های CB1 ممکن است منجر به تاثیرات متفاوتی روی این سیستم شود و پاسخی که ایجاد می‌شود بستگی به این دارد که چه سیمیری تحریک شده باشد [۶۷-۷۰]. مهار

گردیده. این کاهش بیشتر از کاهش مشاهده شده در گروه وراپامیل و URB597 به تهایی ولی کمتر از کاهش گروه وراپامیل+ وراپامیل بود.

این تحقیق نشان داد که تحریک بیش از حد گیرنده‌های CB1 با مهار تجزیه اندوکاناپینوئیدها توسط URB597 باعث تضعیف فرآیند حافظه می‌گردد. مطالعات انجام شده قبلی به طور غیر مستقیم تائید کننده یافته این تحقیق می‌باشد. گزارش شده است که آگونیست‌های CB1 (LTP) اساس سلولی حافظه و یادگیری را مختل می‌کنند [۱۱، ۱۲، ۱۶]. یک مکانیسم احتمالی آن است که گیرنده‌های پیش سیناپسی CB1 رهایی گلوتامات را مهار می‌کنند؛ در حالی که گلوتامات برای دپلاریزاسیون سلول‌های پس N-Methyl-D-aspartate Acid (NMDA) از بلوك مینزیمی لازم است. باز شدن گیرنده‌های NMDA و هجوم کلسیم به داخل سلول پس سیناپسی، سیستم‌های پیامبر ثانویه وابسته به کلسیم را فعال کرده که در نهایت منجر به القای LTP می‌شود [۳۲، ۳۳].

ماری‌جوانا و مشتقات آن به عنوان مختل کننده جنبه‌های مختلف حافظه شناخته شده است، در حالی که آتناگونیست‌های کاناپینوئیدی باعث تقویت حافظه می‌گردند [۳۲]. مطالعات سال‌های اخیر نشان داده است که این اختلال نتیجه تداخل با سیستم اندوکاناپینوئیدی می‌باشد. کاناپینوئیدهای برونزا بیشتر تمایل دارند حافظه کوتاه مدت مثل حافظه کاری (Working memory) را مختل کنند و معمولاً اطلاعاتی را که خوب آموخته شده‌اند مثل نقش انتخابی برای اجزای مختلف حافظه و انواع آن دارد [۳۳]. در سطح مولکولی، اندوکاناپینوئیدها در تنظیم الکتروفیزیولوژیکی مرتبط با یادگیری و شکل‌پذیری سیناپسی نقش مهمی دارند [۳۴، ۳۵]. مطالعات نشان می‌دهند که رسپتور CB1 کاناپینوئیدی نقش مهمی را در شکل‌پذیری سیناپسی طولانی مدت هیپوکامپ ایفا می‌کند [۳۶-۳۸]. گزارش دیگری بیان گر این است که اندوکاناپینوئیدها سبب تسهیل القا LTD وابسته به Gamma Amino Butyric Acid (GABA) می‌شوند [۳۹]. گزارشات متعددی بیان گر ایفای نقش سیستم کاناپینوئیدی در آزادسازی GABA [۴۰-۴۷] و گلوتامات [۴۸-۵۵] و تاثیر آنها بر گیرنده‌های شان می‌باشد.

بر اساس نتایج این تحقیق مشخص شد که URB597 میزان حافظه حیوان را تحت تاثیر قرار می‌دهد و احتمالاً این اثر از طریق تاثیر بر هیپوکامپ ظاهر می‌شود. در این راستا گزارش گردیده است که اندوکاناپینوئیدها به صورت هتروژن در تمام

فرآیندهای یادگیری و حافظه نقش دارند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی مصوب توسط دانشگاه علوم پزشکی همدان می‌باشد. از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان که حمایت مالی این پژوهه را بر عهده داشتند قدردانی می‌گردد. نویسنده‌گان این مقاله از پرسنل محترم مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی همدان که در انجام این تحقیق همکاری فراوانی نموده‌اند، کمال تشکر را دارند.

گاباژرژیک در نورون‌های ناحیه شکنج دندانه‌ای از طریق تنظیم کاتانینوئیدهای اندوژن صورت می‌گیرد و این فرآیند با آزادسازی کلسیم در اثر دپلاریزاسیون از ذخایر کلسیمی حساس به رایانودین در ارتباط است [۲۰].

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از تحقیق حاضر به نظر می‌رسد یک تداخل عمل بین سیستم کاتانینوئیدی و کانال‌های کلسیمی در ایجاد حافظه و یادگیری وجود دارد. احتمالاً این اثرات مربوط به تغییر میزان اندوکاتانینوئیدها در ساختمان‌های عصبی است که در

References:

- [1] Lynch MA. Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 2004; 84(1): 87-136.
- [2] Riedel G, Davies SN. Cannabinoid function in learning, memory and plasticity. *Handb Exp Pharmacol* 2005; (168): 445-77.
- [3] Lashgari R, Motamedi F, Zahedi Asl S, Shahidi S, Komaki A. Behavioral and Electrophysiological studies of chronic oral administration of L-type calcium channel blocker verapamil on learning and memory in rats. *Behav Brain Res* 2006; 171(2): 324-8.
- [4] Maurice T, Bayle J, Privat A. Learning impairment following acute administration of the calcium channel antagonist nimodipine in mice. *Behav Pharmacol* 1996; 6(2): 167-75.
- [5] Hansel C, Artola A, Singer W. Relation between dendritic Ca^{2+} levels and the polarity of synaptic long-term potentiation in rat visual cortex neurons. *Eur J Neurosci* 1997; 9(11): 2309-22.
- [6] Kirkwood A, Bear MF. Elementary forms of synaptic plasticity in the visual cortex. *Biol Res* 1995; 28(1): 73-80.
- [7] Borroni AM, Fichtenthaltz H, Woodside BL, Teyler TJ. Role of voltage-dependent calcium channel long-term potentiation (LTP) and NMDA LTP in spatial memory. *J Neurosci* 2000; 20(24): 9272-6.
- [8] Morgan SL, Teyler TJ. VDCCs and NMDARs underlie two forms of LTP in CA1 hippocampus in vivo. *J Neurophysiol* 1999; 82(2): 736-40.
- [9] Arenos JD, Musty RE, Bucci DJ. Blockade of cannabinoid CB1 receptors alters contextual learning and Memory. *Eur J Pharmacol* 2006; 539(3): 177-83.
- [10] Puighermanal E, Marsicano G, Busquets-Garcia A, Lutz B, Maldonado R, Ozaita A. Cannabinoid modulation of hippocampal long-term memory is mediated by mTOR signaling. *Nat Neurosci* 2009; 12(9): 1152-8.
- [11] Terranova JP, Michaud JC, Le Fur G, Soubrie P. Inhibition of long-term potentiation in rat hippocampal slices by anandamide and WIN55212-2: Reversal by SR141716A, a selective antagonist of CB1 cannabinoid receptors. *Nauyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1995; 352(5): 576-9.
- [12] Misner DL, Sullivan JM. Mechanism of cannabinoid effects on long-term potentiation and depression in hippocampal CA1 neurons. *J Neurosci* 1999; 19(16): 6795-805.
- [13] Lin QS, Yang Q, Liu DD, Sun Z, Dang H, Liang J, et al. Hippocampal endocannabinoids play an important role in induction of long-term potentiation and regulation of contextual fear memory formation. *Brain Res Bull* 2011; 86(3-4): 139-45.
- [14] Carlson G, Wang Y, Alger BE. Endocannabinoids facilitate the induction of LTP in the hippocampus. *Nat Neurosci* 2002; 5(8): 723-4.
- [15] de Oliveira Alvares L, Genro BP, Vaz Breda R, Pedroso MF, Da Costa JC, Quillfeldt JA. AM251, a selective antagonist of the CB1 receptor, inhibits the induction of long-term potentiation and induces retrograde amnesia in rats. *Brain Res* 2006; 1075(1): 60-7.
- [16] Collins DR, Pertwee RG, Davies SN. The action of synthetic cannabinoids on the induction of long-term potentiation in the rat hippocampal slice. *Eur J Pharmacol* 1994; 259(3): R7-8.
- [17] Mendizábal VE, Adler-Graschinsky E. Cannabinoid system as a potential target for drug development in the treatment of cardiovascular disease. *Curr Vasc Pharmacol* 2003; 1(3): 301-13.
- [18] Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, De Costa BR, Rice KC. Characterization and localization of cannabinoid receptors in the brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci* 1991; 11(2): 563-83.
- [19] Vallano ML, Beaman-Hall CM, Bui CJ, Middleton FA. Depolarization and Ca^{2+} down regulate CB1 receptors and CB1-mediated signaling in cerebellar granule neurons. *Neuropharmacology* 2006; 50(6): 651-60.

- [20] Isokawa M, Alger BE. Retrograde endocannabinoid regulation of GABAergic inhibition in the rat dentate gyrus granule cell. *J Physiol* 2005; 567(Pt 3): 1001-10.
- [21] Alger BE. Gating of GABAergic inhibition in hippocampal pyramidal cells. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 627: 249-63.
- [22] Isokawa M. Modulation of GABA_A receptor-mediated inhibition by postsynaptic calcium in epileptic hippocampal neurons. *Brain Res* 1998; 810(1-2): 241-50.
- [23] Lashgari R, Motamedi F, Noorbakhsh SM, Zahedi-Asl S, Komaki A, Shahidi S, et al. Assessing the long-term role of L-type voltage dependent calcium channel blocker verapamil on short-term presynaptic plasticity at dentate gyrus of hippocampus. *Neurosci Lett* 2007; 415(2): 174-8.
- [24] Motamedi F, Ghasemi M, Davoodi FG, Naghdi N. Comparison of Learning and Memory in Morphine Dependent Rats using Different Behavioral Models. *Iran J Pharmaceutical Res* 2003; 4: 225-30.
- [25] Narayanan SN, Kumar RS, Potu BK, Nayak S, Bhat PG, Mailankot M. Effect of radio-frequency electromagnetic radiations (RF-EMR) on passive avoidance behaviour and hippocampal morphology in Wistar rats. *Ups J Med Sci* 2010; 115(2): 91-6.
- [26] Senik MH, Mansor SM, Tharakan KJ, Bin Abdullah JM. Effect of acute administration of Mitragyna speciosa Korth. standardized methanol extract in animal model of learning and memory. *J Med Plants Res* 2012; 6(6): 1007-14.
- [27] Mazzola C, Medalie J, Scherma M, Panlilio LV, Solinas M, Tanda G, et al. Fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibition enhances memory acquisition through activation of PPAR- α nuclear receptors. *Learn Mem* 2009; 16(5): 332-7.
- [28] Rasouli B, Rasouli S, Komaki A. Study the Effects of Endogenous Cannabinoid Breakdown Inhibitor on Learning and Memory in Rat. *Cell J (Yakhteh)* 2011; 12 Suppl 1: 33-4.
- [29] Scherma M, Panlilio LV, Fadda P, Fattore L, Gamaleddin I, Le Foll B, et al. Inhibition of anandamide hydrolysis by URB597 reverses abuse-related behavioral and neurochemical effects of nicotine in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 327(2): 482-90.
- [30] Ketcheson KD. The effects of the fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibitor URB597 on extinction of a conditioned taste aversion. *JRCs* 2011; 3(2): 24-35.
- [31] Scherma M, Julie Medalie J, Fratta W, Vadivel SK, Makriyannis A, Piomelli D, et al. The endogenous cannabinoid anandamide has effects on motivation and anxiety that are revealed by fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibition. *Neuropharmacology* 2008; 54(1): 129-40.
- [32] Sullivan JM. Cellular and molecular mechanisms underlying learning and memory impairments produced by cannabinoids. *Learn Memory* 2000; 7(3): 132-9.
- [33] Varvel SA, Lichtman AH. Role of the endocannabinoid system in learning and Memory. In: Mechoulam R, Editor. *Cannabinoids as Therapeutics*. Birkhäuser Verlag/Switzerland; 2005. p. 111-40.
- [34] Davies SN, Pertwee RG, Riedel G. Function of cannabinoid receptor in the hippocampus. *Neuropharmacology* 2002; 42(8): 993-1007.
- [35] Kano M, Ohno-Shosaku T, Hashimoto-dani Y, Uchigashima M, Watanabe M. Endocannabinoid-Mediated Control of Synaptic Transmission. *Physiol Rev* 2009; 89(1): 309-80.
- [36] Freund TF, Katona I, Piomelli D. Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev* 2003; 83(3): 1017-66.
- [37] Lovinger DM. Presynaptic modulation by endocannabinoids. *Handb Exp Pharmacol* 2008; (184): 435-77.
- [38] Lynch MA. Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 2004; 84(1): 87-136.
- [39] Chevaleyre V, Castillo PE. Heterosynaptic LTD of hippocampal GABAergic synapses: a novel role of endocannabinoids in regulating excitability. *Neuron* 2003; 38(3): 461-72.
- [40] Higuera-Matas A, Miguéns M, Coria SM, Assis MA, Borcel E, del Olmo N, et al. Sex-specific disturbances of the glutamate/GABA balance in the hippocampus of adult rats subjected to adolescent cannabinoid exposure. *Neuropharmacology* 2012; 62(5-6): 1975-84.
- [41] Baur R, Gertsch J, Sigel E. The cannabinoid CB₁ receptor antagonists rimonabant (SR141716) and AM251 directly potentiate GABA (A) receptors. *Br J Pharmacol* 2012; 165(8): 2479-84.
- [42] Földy C, Neu A, Jones MV, Soltesz I. Presynaptic, activity-dependent modulation of cannabinoid type 1 receptor-mediated inhibition of GABA release. *J Neurosci* 2006; 26(5): 1465-9.
- [43] Hofmann ME, Bhatia C, Frazier CJ. Cannabinoid receptor agonists potentiate action potential-independent release of GABA in the dentate gyrus through a CB₁ receptor-independent mechanism. *J Physiol* 2011; 589 (Pt 15): 3801-21.
- [44] Cinar R, Freund TF, Katona I, Mackie K, Szucs M. Reciprocal inhibition of G-protein signaling is induced by CB(1) cannabinoid and GABA(B) receptor interactions in rat hippocampal membranes. *Neurochem Int* 2008; 52(8): 1402-9.
- [45] Gonzalez B, Paz F, Florán L, Aceves J, Erlij D, Florán B. Cannabinoid agonists stimulate [³H] GABA release in the globus pallidus of the rat when G(i) protein-receptor coupling is restricted: role of dopamine D₂ receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2009; 328(3): 822-8.
- [46] Deshpande LS, Blair RE, DeLorenzo RJ. Prolonged cannabinoid exposure alters GABA (A) receptor mediated synaptic function in cultured

- hippocampal neurons. *Exp Neurol* 2011; 229(2): 264-73.
- [47] Verdurand M, Dalton VS, Zavitsanou K. GABA (A) receptor density is altered by cannabinoid treatment in the hippocampus of adult but not adolescent rats. *Brain Res* 2010; 1351: 238-45.
- [48] Musella A, Sepman H, Mandolesi G, Gentile A, Fresegnia D, Haji N, et al. Pre- and postsynaptic type-1 cannabinoid receptors control the alterations of glutamatetransmission in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neuropharmacology* 2014; 79: 567-72.
- [49] Vicente-Sánchez A, Sánchez-Blázquez P, Rodríguez-Muñoz M, Garzón J. HINT1 protein cooperates with cannabinoid 1 receptor to negatively regulate glutamate NMDA receptor activity. *Mol Brain* 2013; 6:42
- [50] Sánchez-Blázquez P, Rodríguez-Muñoz M, Vicente-Sánchez A, Garzón J. Cannabinoid receptors couple to NMDA receptors to reduce the production of NO and the mobilization of zinc induced by glutamate. *Antioxid Redox Signal* 2013; 19(15): 1766-82
- [51] Ferreira SG, Teixeira FM, Garção P, Agostinho P, Ledent C, Cortes L, et al. Presynaptic CB (1) cannabinoid receptors control frontocortical serotonin and glutamate release--species differences. *Neurochem Int* 2012; 61(2): 219-26.
- [52] Polissidis A, Galanopoulos A, Naxakis G, Papahatjis D, Papadopoulou-Daifoti Z, Antoniou K. The cannabinoid CB1 receptor biphasically modulates motor activity and regulates dopamine andglutamate release region dependently. *Int J Neuropsychopharmacol* 2013; 16(2): 393-403.
- [53] Scandrolio P, Brusa R, Lozza G, Mancini I, Petrò R, Reggiani A, et al. Evaluation of cannabinoid receptor 2 and metabotropic glutamate receptor 1 functional responses using a cell impedance-based technology. *J Biomol Screen* 2010; 15(10): 1238-47.
- [54] Hoffman AF, Laaris N, Kawamura M, Masino SA, Lupica CR. Control of cannabinoid CB1 receptor function on glutamate axon terminals by endogenous adenosine acting at A1 receptors. *J Neurosci* 2010; 30(2): 545-55.
- [55] Ferraro L, Tomasini MC, Beggioato S, Gaetani S, Cassano T, Cuomo V, et al. Short- and long-term consequences of prenatal exposure to the cannabinoid agonist WIN55,212-2 on rat glutamate transmission and cognitive functions. *J Neural Transm* 2009; 116(8): 1017-27.
- [56] Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: A quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci* 1991; 11(2): 563-83.
- [57] Luscher C. Drugs of abuse. In: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Editor. Basic and Clinical Pharmacology. 12th ed. McGraw Hill (Lange); 2012.
- p. 565-580.
- [58] Pistis M, Ferraro L, Pira L, Flore G, Tanganeli S, Gessa GL, et al. Delta (9)-tetrahydrocannabinol decreases extracellular GABA and increases extracellular glutamate and dopamine levels in the rat prefrontal cortex: an in vivo microdialysis study. *Brain Res* 2002; 948(1-2): 155-8.
- [59] Verrico CD, Jentsch JD, Dazzi L, Roth RH. Systemic, but not local, administration of cannabinoid CB1 receptor agonists modulate prefrontal cortical acetylcholine efflux in the rat. *Synapse* 2003; 48(4): 178-83.
- [60] Lee EH, Lin WR. Nifedipine and verapamil block the memory-facilitating effect of corticotropin-releasing factor in rats. *Life Sci* 1991; 48(13): 1333-40.
- [61] Bidaut-Russell M, Devane WA, Howlett AC. Cannabinoid receptors and modulation of cyclic AMP accumulation in the rat brain. *J Neurochem* 1990; 55(1): 21-6.
- [62] Howlett AC, Qualy JM, Khachatrian LL. Involvement of Gi in the inhibition of adenylate cyclase by cannabimimetic drugs. *Mol Pharmacol* 1986; 29(3): 307-13.
- [63] Pacheco M, Childers SR, Arnold R, Casiano F, Ward SJ. Aminoalkylindoles: Actions on specific G-protein-linked receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 257(1): 170-83.
- [64] Caulfield MP, Brown DA. Cannabinoid receptor agonists inhibit Ca current in NG108-15 neuroblastoma cells via a pertussis toxin-sensitive mechanism. *Br J Pharmacol* 1992; 106(2): 231-2.
- [65] Mackie K, Hille B. Cannabinoids inhibit N-type calcium channels in neuroblastoma-glioma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89(9): 3825-3829.
- [66] Mackie K, Lai Y, Westenbroek R, Mitchell R. Cannabinoids activate an inwardly rectifying potassium conductance and inhibit Q-type calcium currents in AtT20 cells transfected with rat brain cannabinoid receptor. *J Neurosci* 1995; 15(10): 6552-61.
- [67] Katona I, Sperlagh B, Sik A, Kafalvi A, Vizi ES, Mackie K, et al. Presynaptically located CB1 cannabinoid receptors regulate GABA release from axon terminals of specific hippocampal interneurons. *J Neurosci* 1999; 19(11): 4544-58.
- [68] Marsicano G, Lutz B. Expression of the cannabinoid receptor CB1 in distinct neuronal subpopulations in the adult mouse forebrain. *Eur J Neurosci* 1999; 11(12): 4213-25.
- [69] Tsou K, Mackie K, Sanudo-Pena MC, Walker JM. Cannabinoid CB1 receptors are localized primarily on cholecystokinin-containing GABAergic interneurons in the rat hippocampal formation. *Neuroscience* 1999; 93(3): 969-75.
- [70] Katona I, Sperlagh B, Magloczky Z, Santha E, Kofalvi A, Czirjak S, et al. GABAergic interneurons are the targets of cannabinoid actions in the human hippocampus. *Neuroscience* 2000; 100(4): 797-804.