جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان / بهار ۱۳۸۷ / دوره ۱۰ / شماره ۱ (پی‌درپی ۲۵) / صفحات ۲۱ تا ۲۵

تحقیقی

تاثیر آموزش فضایی حافظه مرجع (Reference memory) بر تعداد آستروسیت‌های نواحی مختلف هیپوکامپ موش صحرایی

دکتر مهرداد جهانشاهی*[1]، دکتر یوسف صادقی[2]، دکتر احمد حسینی[2]، دکتر ناصر نقدی[3]

۱- استادیار گروه علوم تشریحی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گرگان.

۲- استاد گروه علوم تشریح و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی. ۳- استاد گروه فیزیولوژی، انستیتو پاستور ایران.

چکیده

زمینه و هدف : *در هیپوکامپ اصلی علاوه بر نورون‌های هرمی، آستروسیت‌ها نیز نقش بسیار مهمی را در تبادلات یونی، رهائی نوروترانسمیترها و حتی حافظه ایفا می‌کنند. حافظه و یادگیری مفاهیم بسیار نزدیکی هستند. در واقع آموزش نیازمند برخی امکانات برای ذخیره اطلاعات و مکانیسم‌های نگهداری اطلاعات شبیه به حافظه است. هدف ما از این مطالعه تعیین تاثیر آموزش فضائی روی تعداد آستروسیت‌های هیپوکامپ موش صحرائی بود.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی با استفاده از روش ماز آبی موریس (MWM) و روش حافظه مرجع (Reference memory)، ۱۰ سر موش صحرائی آزمایشگاهی نر از نژاد wistar به صورت تصادفی در دو گروه کنترل و آزمایش قرار گرفتند. پس از انجام آزمایشات آموزشی مغز موش‌های صحرائی خارج و برای انجام مراحل آمادش بافتی، از مغزها برش‌های سریال تهیه و با رنگ‌آمیزی اختصاصی PTAH رنگ‌آمیزی شدند. داده‌های به دست آمده مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند.*

یافته‌ها : *نتایج ما نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری بین تعداد آستروسیت‌های نواحی CA1 ، CA2 و CA3 در گروه حافظه مرجع با گروه کنترل وجود دارد. در واقع تعداد آستروسیت‌ها در هر سه ناحیه در گروه Ref.m. با میانگین و انحراف معیار ۲۵/۲۱±۱۱۸/۵۷، ۲۳/۵۹±۵۸/۹۱ و ۳۱/۱۴±۱۱۶/۶ نسبت به گروه کنترل با میانگین و انحراف معیار ۱۷/۲۹±۴۹، ۲۵/۲۱±۴۸/۸ و ۱۱/۲۲±۴۱/۹۵ به ترتیب در نواحی CA1، CA2 و CA3 افزایش داشت.*

نتیجه‌گیری: *این مطالعه نشان داد که آموزش حافظه مرجع می‌تواند موجب افزایش تعداد آستروسیت‌ها در نواحی مختلف هیپوکامپ گردد.*

کلید واژه‌ها: *هیپوکامپ ، آستروسیت ، آموزش فضائی Reference memory*

* *نویسنده مسؤول : دکتر مهرداد جهانشاهی ، پست الکترونیکی : mejahanshahi@yahoo.com*

نشانی : گرگان ، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گرگان ، گروه علوم تشریحی ، تلفن : ۴۴۲۱۶۵۳-۰۱۷۱ ، نمابر : ۴۴۴۰۲۲۵

وصول مقاله : ۸۵/۸/۱۶ ، اصلاح نهایی : ۸۶/۳/۱ ، پذیرش مقاله : ۸۷/۴/۱۵

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

تشکیلات هیپوکامپ بخشی از سیستم لیمبیک است که در رابطه با حافظه و یادگیری دخالت دارد. حافظه و یادگیری مفاهیم بسیار نزدیکی هستند. در واقع آموزش نیازمند برخی امکانات برای ذخیره اطلاعات و مکانیسم‌های نگهداری اطلاعات شبیه به حافظه است. به عبارت دیگر حافظه همیشه همراه و مستلزم یادگیری است (۱).

طبق یک تعریف «یادگیری عبارت است از فرایند تغییرات سازشی در رفتار فرد که بر اثر کسب تجربه صورت می‌گیرد». در تعریف دیگری گفته شده که «یادگیری عبارت است از فراگیری و اکتساب دانش درباره محیط اطراف» و حافظه نیز عبارت است از «حفظ و انبار کردن دانش مذکور». به طور کلی هرگاه موجود زنده‌ای کاری انجام دهد که قبلاً انجام نمی‌داد، می‌گوئیم یادگیری رخ داده است (۲و۳).

تشکیلات هیپوکامپ در تمام گونه‌های پستانداران وجود دارد و شامل سابیکولوم، هیپوکامپ اصلی و شکنج دندانه‌ای (Dentate gyrus) می‌باشد. هیپوکامپ می‌تواند به سه زیر ناحیه CA1، CA2 و CA3 تقسیم گردد (۴).

صرفنظر از نورون‌های اصلی، تشکیلات هیپوکامپ حاوی سلول‌های گلیال و به ویژه آستروسیت‌ها هستند که در لایه‌های مختلف سلولی جای گرفته‌اند (۵و۶).

آستروسیت‌ها از نظر موقعیت قرارگیری بین نورون‌ها و مویرگ‌های خونی جای دارند و گمان بر این است که نقش مهمی را در متابولیسم انرژی نورون‌ها به عهده دارند (۷و۸). گلیکوژن موجود در بافت مغزی تقریباً به مقدار زیادی در آستروسیت‌ها ذخیره شده است (۹و۱۰).

همچنین آستروسیت‌ها و میکروگلیاها نقش حساسی را در پاسخ و بهبودی زخم‌ها به عهده دارند (۱۳-۱۱). آستروسیت‌ها نقش مهمی را در تامین تغذیه، دفع مواد زائد و هدایت آکسونی نورون‌ها به عهده دارند. مطالعات اخیر همچنین نشان داده‌اند که آستروسیت‌ها نقش بسیار فعال‌تری در فعالیت‌های نورونی از قبیل تبادلات یونی، تولید انرژی، رهاسازی نوروترانسمیترها و تولید سیناپس دارند (۱۳و۱۴).

آستروسیت‌ها تنها سلول‌هائی در بافت مغز هستند که مولکول‌های گلیکوژن ذخیره کننده انرژی دارند (۱۵). آنها همچنین حاوی رشته‌های حدواسط به قطر ۹ نانومتر هستند که از یک پروتئین واحد بنام Glial fibrillary acidic protein (GFAP) ساخته شده است (۱۶).

تا به حال مطالعات صورت گرفته آستروسیت‌ها را تنها به عنوان حمایت کننده نورون‌ها در دستگاه عصبی مرکزی بیان می‌داشتند (۱۷). اما مطالعات اخیر نقش بیشتر آستروسیت‌ها را حتی در پردازش اطلاعات بیان می‌دارند. تا جایی که آستروسیت‌ها نه تنها اطلاعات ورودی را دریافت می‌دارند، بلکه سیگنال‌ها را به نورون‌ها انتقال می‌دهند (۱۷). هدف ما از این مطالعه تعیین تاثیر آموزش فضائی روی تعداد آستروسیت‌های هیپوکامپ موش صحرائی بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که بین سال‌های ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵ در گروه فیزیولوژی انستیتو پاستور تهران و بخش علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی گرگان به انجام رسید، ۱۰ عدد موش صحرایی (Rat) نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰ - ۲۰۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. این موش‌های صحرائی از انستیتو پاستور تهیه و در شرایط آزمایشگاهی مطلوب از نظر آب، غذا و سیکل نوری ۱۲ ساعته نگهداری شدند.

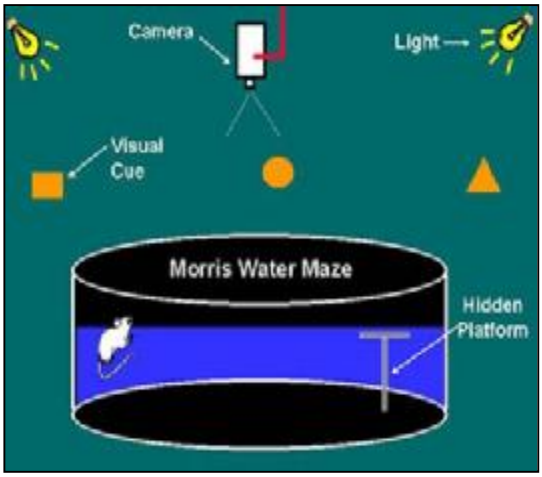
پس از یک هفته تطابق حیوانات با محیط، موش‌های صحرائی به دو گروه ۵ تائی کنترل (بدون آموزش) و Reference memory تقسیم شدند تا آموزش‌های فضائی ماز آبی موریس (MWM) روی گروه آموزشی انجام گیرد. ماز آبی موریس یک مخزن فلزی حلقوی از جنس استینلس استیل به قطر ۱۴۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر است که تا عمق ۳۰ سانتی‌متری آن با آب پر می‌شود. مخزن با خطوط فرضی، به چهار ربع (quadrant) مساوی تقسیم می‌گردد. یک صفحه از جنس پلکسی گلاس روشن (با قطر ۱۰ سانتی‌متر)، حدود یک سانتی‌متری زیر سطح آب در این ماز آبی قرار دارد که توسط یک پایه فلزی روی کف مخزن نگهداری می‌شود. در این روش‌ها تحت شرایط و دوره استاندارد موش‌های صحرائی در ماز آبی رها شده تا به طور تصادفی به صفحه مخفی زیر آب برخورد کنند. حرکت موش‌های صحرائی در درون ماز آبی با یک دوربین مادون قرمز که در بالای مرکز مخزن (روی سقف آزمایشگاه) نصب شده، ردیابی و تشخیص داده

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

می‌شود. این آزمایش از هر چهار جهت جغرافیائی در هر روز تکرار می‌شد تا موقعیت صفحه پنهان در حافظه موش‌های صحرائی تثبیت گردد.

روش کار (Reference memory)

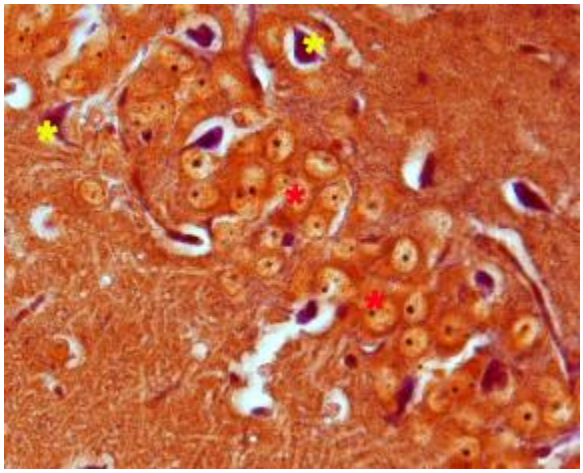
در هر روز تمامی موش‌های صحرائی مورد آزمایش قرار داده می‌شدند. هر یک از حیوانات از هر چهار جهت ماز به درون آب رها می‌شدند که البته جهت آزمایش را سیستم نرم‌افزاری تعیین می‌کرد. در هر مرحله ۶۰ ثانیه به هر موش صحرائی فرصت داده می‌شد تا سکو را پیدا کند. اگر خود حیوان موفق به پیدا کردن سکو می‌شد و روی آن می‌ایستاد، ۲۰ ثانیه به حیوان فرصت داده می‌شد که موقعیت فضائی سکو را به ذهن بسپارد (تصویر ۱). این روش پنج روز به طول می‌انجامید و در روز آخر آزمون بینائی (پائین آوردن سطح آب و ظهور صفحه مخفی) از حیوانات به عمل می‌آمد (۲۰-۱۸).



تصویر ۱ : ماز آبی موریس، دوربین مادون قرمز و موش صحرائی موردآزمایش

پس از پایان آزمایشات موش‌های صحرائی به وسیله اتر بیهوش می‌شدند و مغز آنها بیرون آورده می‌شد و در فرمالین ۱۰ درصد قرار می‌گرفت. مغزها به مدت دو هفته در فرمالین فیکس می‌شدند. پس از فیکساسیون، مغزها مراحل آماده‌سازی بافتی را طی کرده و نهایتاً بلوک‌های پارافینی از آنها تهیه گردید. سپس توسط دستگاه میکروتوم برش‌هائی به ضخامت ۷ میکرون به صورت سریال (از قدام به خلف تشکیلات هیپوکامپ) تهیه و توسط محلول رنگی PTAH رنگ‌آمیزی شدند. این رنگ‌آمیزی مختص سلول‌های آستروسیت بوده (۲۱) و آنها را به رنگ آبی پررنگ در می‌آورد، در حالی که نورون‌ها به رنگ صورتی تا نارنجی درمی‌آیند (تصویر ۲).

برای شمارش مورفومتریک آستروسیت‌ها از یک میکروسکوپ پیشرفته مارک BX 51 شرکت (Japan، Tokyo،Olympus Optical Co. LTD) مجهز به دوربین دیجیتال Olympus DP 12 استفاده گردید. تصاویر از نواحی مختلف هیپوکامپ (CA1 ، CA2 و CA3) انتخاب و با درشت‌نمائی ۴۰۰ برابر صفحه مانیتور یک دستگاه کامپیوتر آورده شد و در مساحت ۷۵۰۰۰ میکرومتر مربع پس از درجه‌بندی توسط نرم‌افزار مورفومتری Bioreporter ، شمارش صورت گرفت. همچنین با توجه به مطالعه Moser در سال ۱۹۹۸، نواحی هیپوکامپ به بخش‌های قدامی، میانی و خلفی تقسیم شدند (۲۲).



تصویر ۲ : رنگ‌آمیزی PTAH از لایه هرمی هیپوکامپ گروه کنترل
ستاره‌زرد: آستروسیت، ستاره‌قرمز: هسته نورون، بزرگ‌نمائی ۴۰ برابر

داده‌ها به وسیله نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون‌های آماری Compaired T-test و One-way ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در سطحی کمتر از ۰/۰۵ مورد توجه قرار گرفت.

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار تعداد آستروسیت‌ها در نواحی CA1 ، CA2 و CA3 هیپوکامپ در سطح ۷۵۰۰۰ میکرومتر مربع در گروه‌های کنترل و Reference memory در جدول یک آمده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌گردد، میانگین تعداد آستروسیت‌ها در ناحیه CA1 و CA2 گروه کنترل شبیه هم بوده و بیشتر از ناحیه CA3 می‌باشند (۲۳).

در گروه Ref. m. بر خلاف گروه کنترل، تشابه تعداد آستروسیت‌ها را در دو ناحیه CA1 و CA3 می‌بینیم و این دوناحیه افزایش چشم‌گیری را نسبت به ناحیه CA2 نشان می‌دهند. در مجموع اگرچه افزایش تعداد آستروسیت‌ها در ناحیه CA2 گروه Ref m. نسبت به گروه کنترل از نظر آماری معنی‌دار است، ولی خیلی بارز نیست. اما در نواحی دیگر هیپوکامپ افزایش تعداد آستروسیت‌ها در اثر آموزش Ref. m. کاملاً مشهود بوده و از نظر آماری تمام تفاوت‌ها معنی‌دار است.

جدول ۱ : میانگین تعداد آستروسیت‌ها
در نواحی مختلف هیپوکامپ گروه کنترل و ***Ref. m.***

ناحیه	مساحت $\mu m2$	انحراف معیار±میانگین
CA1 c	۷۵۰۰۰	۴۹±۱۷/۲۹۲
CA1 r	۷۵۰۰۰	۱۱۸/۵۷±۲۵/۲۱
CA2 c	۷۵۰۰۰	۴۸/۸۲±۲۵/۲۱۴
CA2 r	۷۵۰۰۰	۵۸/۹۱±۲۳/۵۹۳
CA3 c	۷۵۰۰۰	۴۱/۹۵±۱۱/۲۲۷
CA3 r	۷۵۰۰۰	۱۱۶/۶±۳۱/۱۴۳

بحث

از آنجایی که در مطالعات گذشته در زمینه یادگیری و حافظه عملکرد متفاوتی در بخش‌های قدامی و خلفی هیپوکامپ مشاهده گردید (۲۲)، با مطالعه ساختار هیپوکامپ از نظر تعداد آستروسیت‌ها در این نواحی مشخص شد که در ناحیه CA1 فرایند یادگیری می‌تواند در بخش‌های قدامی اثر بیشتری داشته باشد. حال آن که در نواحی CA2 و CA3 بیشترین تعداد آستروسیت‌ها در دوسوم خلفی هیپوکامپ پس از آموزش با روش حافظه مرجع دیده می‌شود.

از جنبه فیزیولوژیک، تحقیق ما قابل مقایسه و مشابه با مطالعه بسیاری از محققینی است که بر روی تغییر رفتار و آموزش فضایی موش‌های صحرائی با استفاده از روش ماز آبی موریس مطالعه نموده‌اند. یعنی موش‌های صحرائی طی دوره‌های آموزشی زمان کمتری را برای یافتن صفحه مخفی ماز نسبت به روز قبل خود و نسبت به روز اول صرف می‌کنند (۲۰-۱۸ و ۲۴و۲۵).

مسأله دیگری که مورد توجه قرار گرفته، اثبات وضعیت نوروژنز در هیپوکامپ بوده که در طی فرایندهای آموزشی مورد توجه بوده، اما توجه کمتری به مسأله گلیوژنز در طی فرایندهای آموزشی نظیر ماز آبی شده بود. فعالیت‌های فیزیکی به خوبی عوامل ژنتیکی نوروژنز را در هیپوکامپ افزایش می‌دهد (۲۶و۲۷).

مطالعات زیادی ارتباط قوی بین کارهای تمرینی (Exercise) و نوروژنز در هیپوکامپ و به ویژه شکنج دندانه‌ای را تأیید می‌نمایند (۲۶). یکی از روش‌های کارهای تمرینی و یادگیری فضائی روش ماز آبی موریس است که تأثیر آن در نوروژنز شکنج دندانه‌ای به خوبی مشخص شده است (۲۸). Keuker در سال ۲۰۰۳ با استفاده از حوضچه حافظه فضائی و دو روش آموزشی مشابه با تحقیق ما یعنی روش Reference memory و Working memory چنین بیان می‌دارد که working m. حیوانات پیر به طور معنی‌داری در مقایسه با جوانان تفاوت دارد. در حالی که حافظه reference m. وابسته به هیپوکامپ با تغییر سن ثابت مانده است (۲۹).

عقیده بر این است که مکانیسم‌های حافظه در سطح ارتباطات سیناپسی انجام می‌شود، اما تشخیص قطعی مدارهای مغزی وابسته به یادگیری و حافظه هنوز به درستی مشخص نشده است. مطالعات زیادی روی حیوانات آزمایشگاهی و به خصوص موش‌های صحرائی صورت گرفته تا ارتباط سیناپس‌ها و یادگیری در آنها ثابت شود. مطالعات اخیر توانسته‌اند ارتباط بین یادگیری در محیط‌های پیچیده فضائی بر روی موش‌های صحرائی را با تراکم خارهای دندریتی نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در محیط ماز آبی نشان دهند. این یافته‌ها به Moser و همکارانش پیشنهاد کرد که تعداد سیناپس‌ها برحسب نورون‌ها در این آزمایشات افزایش می‌یابد (۳۰و۳۱).

نتیجه‌گیری

در پایان با توجه به ارتباط آستروسیت‌ها با سیناپس‌ها و همچنین واکنش این سلول‌ها در فرایندهای آموزشی می‌توان نتیجه گرفت که روش یادگیری حافظه مرجع می‌تواند موجب افزایش تعداد آستروسیت‌ها در نواحی مختلف هیپوکامپ موش صحرائی گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله کمال تشکر و قدردانی خود را از بخش فیزیولوژی انستیتو پاستور به خاطر انجام آزمایشات رفتاری و از آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی گرگان به خاطر انجام آزمایشات بافتی اعلام می‌دارند.

References

1) Markowitsch HJ. Anatomical basis of memory disorders. In MS Gazzaniga (Ed). The cognitive neurosci. First Ed. Cambridge. MA. Mit press. 1995; pp: 665-679.

2) Holscher C, McGlinchey L, Anwyl R, Rowan MJ. HFS-induced long-term potentiation and LFS-induced depotentiation in area CA1 of the hippocampus are not good models for learning. *Psychopharmacology-(Berl).* 1997; 130(2): 174-82.

3) Wang JH, Ko GY, Kelly PT. Cellular and molecular bases of memory: synaptic and neuronal plasticity. *J Clin Neurophysiol.* 1997; 14(4):264-93.

4) Knowles WD. Normal anatomy and neurophysiology of the hippocampal formation. *J Clin Neurophysiol.* 1992;9(2):252-63.

5) Amaral DG, Witter MP. The hippocampal formation. In: The rat nervous system. Paxinos G, eds. Second Ed. New York. Academic. 1995; pp: 443-493.

6) Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE. Gray's Anatomy. In: Nervous system. 38th Ed. London. Churchill Livingston. 1995; pp:1123-1129.

7) Forsyth R, Fray A, Boutelle M, Fillenz M, Middleditch C, Burchell A. A role for astrocytes in glucose delivery to neurons? *Dev Neurosci.* 1996; 18(5-6):360-70.

8) Pellerin L, Magistretti PJ. Food for thought: challenging the dogmas. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2003; 23(11):1282-6.

9) Gruetter R. Glycogen: the forgotten cerebral energy store. *J Neurosci Res.* 2003; 74(2):179-83.

10) Tsacopoulos M, Magistretti PJ. Metabolic coupling between glia and neurons. *J Neurosci.* 1996; 16(3):877-85.

11) Rabcheusky AG. Influences of activated microglia/brain macrophages on spinal cord injury and regeneration. In: streit WJ, editor. Microglia in the regeneration and degenerating cerebral nervous system. First Ed. New York. Springer-verlag. 2002; pp: 209-226.

12) Bechmann I, Nitsch R. Astrocytes and microglial cells incorporate degenerating fibers following entorhinal lesion: a light, confocal, and electron microscopical study using a phagocytosis-dependent labeling technique. *Glia*. 1997;20(2):145-54.

13) Teter B, Ashford JW. Neuroplasticity in Alzheimer's disease. *J Neurosci Res.* 2002; 70(3):402-37.

14) Laming PR, Kimelberg H, Robinson S, Salm A, Hawrylak N, Müller C, et al. Neuronal-glial interactions and behaviour. *Neurosci Biobehav Rev.* 2000; 24(3):295-340.

15) Cataldo AM, Broadwell RD. Cytochemical identification of cerebral glycogen and glucose-6-phosphatase activity under normal and experimental conditions. II. Choroid plexus and ependymal epithelia, endothelia and pericytes. *J Neurocytol.* 1986; 15(4):511-24.

16) Giménez Y Ribotta M, Langa F, Menet V, Privat A. Comparative anatomy of the cerebellar cortex in mice lacking vimentin, GFAP, and both vimentin and GFAP. *Glia*. 2000; 31(1):69-83.

17) Caudle RM. Memory in astrocytes: a hypothesis. *Theor Biol Med Model.* 2006; 3:2.

18) Naghdi N, Asadollahi A. Genomic and nongenomic effects of intrahippocampal microinjection of testosterone on long-term memory in male adult rats. *Behav Brain Res.* 2004;153(1):1-6.

19) Sarihi A, Motamedi F, Naghdi N, Rashidy-Pour A. Lidocaine reversible inactivation of the median raphe nucleus has no effect on reference memory but enhances working memory versions of the Morris water maze task. *Behav Brain Res.* 2000;114(1-2):1-9.

20) Redish AD, Touretzky DS. The role of the hippocampus in solving the Morris water maze. *Neural Comput.* 1998;10(1):73-111.

21) Bancroft JB, Stevens A. Theory and practice of histological techniques. Third Ed. Edinburgh. Churchil Livinsgstone. 1990; pp:360-361.

22) Moser MB, Moser EI. Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus.* 1998; 8(6):608-19.

23) Jahanshahi M, Sadeghi Y, Hosseini A. Estimation of Astrocyte Number in Different Subfield of Rat Hippocampus. *Pakistan Journal of Biological Sciences.* 2006; 9(8):1595-1597.

24) Brandeis R, Brandys Y, Yehuda S. The use of the Morris Water Maze in the study of memory and learning. *Int J Neurosci.* 1989; 48(1-2):29–69.

25) Isgor C, Sengelaub DR. Prenatal gonadal steroids affect adult spatial behavior, CA1 and CA3 pyramidal cell morphology in rats. *Horm Behav.* 1998; 34(2):183-98.

26) van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, Gage FH. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999; 96(23):13427-31.

27) Madsen TM, Yeh DD, Valentine GW, Duman RS. Electroconvulsive seizure treatment increases cell proliferation in rat frontal cortex. *Neuropsychopharmacology.* 2005;30(1):27-34.

28) Rhodes JS, van Praag H, Jeffrey S, Girard I, Mitchell GS, Garland T Jr, Gage FH. Exercise increases hippocampal neurogenesis to high levels but does not improve spatial learning in mice bred for increased voluntary wheel running. *Behav Neurosci.* 2003;117(5):1006-16.

29) Keuker JI, de Biurrun G, Luiten PG, Fuchs E. Preservation of hippocampal neuron numbers and hippocampal subfield volumes in behaviorally characterized aged tree shrews. *J Comp Neurol.* 2004; 468(4):509-17.

30) Rusakov DA, Davies HA, Harrison E, Diana G, Richter-Levin G, Bliss TV, et al. Ultrastructural synaptic correlates of spatial learning in rat hippocampus. *Neuroscience.* 1997; 80(1):69-77.

31) Moser MB, Trommald M, Andersen P. An increase in dendritic spine density on hippocampal CA1 pyramidal cells following spatial learning in adult rats suggests the formation of new synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(26):12673-5.