

تحقیقی

اثر آموزش فضائی بر تعداد سلول‌های آستروسیت شکنج دندان‌های موش صحرائی آزمایشگاهی

دکتر مهرداد جهانشاهی*^۱، دکتر یوسف صادقی^۲، دکتر احمد حسینی^۲، دکتر ناصر نقدی^۳

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

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

چکیده

زمینه و هدف: شکنج دندان‌های (Dentate gyrus) بخشی از تشکیلات هیپوکامپی است که در رابطه با حافظه و یادگیری دخالت دارد. آستروسیت‌ها از جمله سلول‌های نوروگلیا در بافت عصبی هستند که نقش مهمی را در فعالیت‌های نورون‌ها از جمله رهاسازی نوروترانسمیترها و تولید سیناپس به‌عهده دارند. این مطالعه به منظور تعیین اثر آموزش‌های فضائی بر تعداد سلول‌های آستروسیت شکنج دندان‌های موش صحرائی انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه تجربی روی ۱۸ سر موش صحرائی نر بالغ از نژاد ویستار با استفاده از روش ماز آبی موریس و دو روش حافظه مرجع و حافظه کاری انجام شد. پس از انجام آزمایشات آموزشی مغز موش‌های صحرائی خارج شد. به منظور انجام مراحل آمادش بافتی، از مغزها برش‌های سریال تهیه گردید و با رنگ‌آمیزی اختصاصی PTAH رنگ‌آمیزی شد. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری *One-way ANOVA* و *Compaired T-test* مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند.

یافته‌ها: بین تعداد آستروسیت‌ها در گروه حافظه مرجع ($300/57 \pm 5/98$) و گروه کنترل ($73/73 \pm 22/61$) تفاوت آماری معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). همچنین تفاوت آماری معنی‌داری نیز بین گروه حافظه کاری ($375/77 \pm 4/11$) و گروه کنترل به‌دست آمد. با مقایسه دو گروه آموزش دیده مشخص شد که تفاوت آماری معنی‌داری نیز بین دو گروه وجود دارد و تعداد آستروسیت‌ها به ترتیب از گروه کنترل به حافظه مرجع و از حافظه مرجع به حافظه کاری افزایش یافته بود ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که یادگیری‌های فضائی مانند روش‌های حافظه مرجع و کاری موجب افزایش تعداد آستروسیت‌ها در شکنج دندان‌های شده و این افزایش می‌تواند با طول دوره آموزش مرتبط باشد.

کلید واژه‌ها: شکنج دندان‌های، آستروسیت، آموزش فضائی، رنگ‌آمیزی PTAH

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

نشانی: گرگان، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، گروه علوم تشریحی، تلفن: ۴۴۲۱۶۵۳ (۰۱۷۱)، نامبر: ۴۴۴۰۲۲۵

وصول مقاله: ۸۶/۳/۱، اصلاح نهایی: ۸۷/۳/۲۲، پذیرش مقاله: ۸۷/۳/۲۷

مقدمه

شکنج دندانه‌ای بخشی از تشکیلات هیپوکامپ است که در مقطع کروئال به شکل V افقی قرار گرفته که دهانه آن به سمت خارج بوده و بخشی از ناحیه CA3 هیپوکامپ را دربرمی‌گیرد و برخلاف بخش‌های دیگر تشکیلات هیپوکامپ سلول‌های اصلی آن، سلول‌های گرانولار است که الیفشان به سمت سلول‌های هرمی و سلول‌های حدواسط ناحیه CA3 پروجکت می‌شوند (۱).

شکنج دندانه‌ای که در بخش داخلی ناحیه CA3 هیپوکامپ قرار دارد، بخشی از تشکیلات هیپوکامپی است که در فرآیندهای یادگیری و حافظه نقش قابل توجهی دارد. این بخش که در واقع نقطه ورود اطلاعات به مدار هیپوکامپی می‌باشد، از یک قشر سه لایه‌ای تشکیل شده است و سلول‌های گرانولار در لایه میانی قرار دارند (۱). پدیده نورون‌زدر مغز بالغین در نقاط محدودی از جمله شکنج دندانه‌ای اتفاق می‌افتد و شامل مراحل تولید سلول‌های جدید از طریق تقسیم سلول‌های پیش‌ساز، مهاجرت سلول‌های تازه تشکیل به لایه گرانولار، بقا و همچنین تمایز سلول‌های یاد شده می‌باشد (۲). حافظه عبارت است از حفظ و انبار کردن دانش به دست آمده و یادگیری عبارت است از فرآیند تغییرات سازشی در رفتار فرد که بر اثر کسب تجربه صورت می‌گیرد (۳ و ۴).

آستروسیت‌ها از جمله سلول‌های نوروگلیا در بافت عصبی هستند که نقش مهمی را در متابولیسم مواد و هدایت آکسونی نورون‌ها به عهده دارند. این سلول‌ها همچنین نقش بسیار فعال‌تری در فعالیت‌های نورونی مانند تولید انرژی، تبادل یونی، رهاسازی نوروترانسمیترها و تولید سیناپس دارند (۵ و ۶). کشت توأم نورون‌ها همراه آستروسیت‌ها تقریباً ۷ برابر سیناپس‌های بیشتر و تقریباً ۷ برابر عملکرد سیناپسی بیشتری را در مقایسه با کشت نورون‌ها در غیاب آستروسیت‌ها نشان می‌دهد (۷).

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 (۸).

همچنین در رابطه با ذخیره حافظه، Longton اشاره به این

موضوع دارد که جسم سلولی آستروسیت‌ها در اثر افزایش حافظه بزرگ‌تر می‌شود. در تئوری آستروسیتی بیان شده که تعداد زیادی از آستروسیت‌ها توسط اتصالات شکافدار به یکدیگر متصل شده‌اند (۹).

تاکنون نورون‌زدر هیپوکامپ و شکنج دندانه‌ای در طی فرایندهای آموزشی مورد توجه بوده است و توجه کمتری به مسأله گلیوزنر در طی فرایندهای آموزشی نظیر ماز آبی شده است. لذا این مطالعه به منظور بررسی اثر آموزش فضائی بر تعداد سلول‌های آستروسیت شکنج دندانه‌ای موش صحرائی آزمایشگاهی انجام شد.

روش بررسی

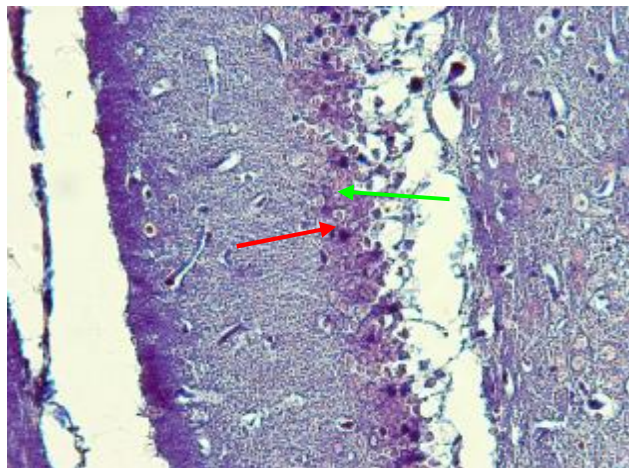
این مطالعه تجربی با استفاده از ۱۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم در آزمایشگاه فیزیولوژی انستیتو پاستور تهران و آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده پزشکی گرگان به انجام رسید. موش‌های صحرائی از انستیتو پاستور تهیه و در شرایط آزمایشگاهی مطلوب از نظر آب، غذا و سیکل نوری ۱۲ ساعته نگهداری شدند.

یک هفته پس از تطابق حیوانات با محیط، موش‌ها به سه گروه ۶ تائی کنترل، حافظه مرجع و حافظه کاری تقسیم شدند و گروه‌های آموزشی توسط ماز آبی موریس (Morris Water Maze=MWM) و دوروش حافظه مرجع و حافظه کاری مورد آزمایش قرار گرفتند (شکل ۱).

در روش کار حافظه مرجع (Reference memory) در هرروز آزمایش، تمامی موش‌ها مورد آزمایش قرار گرفتند. هر یک از موش‌ها از هر چهار جهت ماز به درون آب رها شدند (در هر نوبت، جهت آزمایش را سیستم نرم‌افزاری تعیین می‌نماید). در هر مرحله ۶۰ ثانیه به هر موش فرصت داده می‌شد تا سکوی مخفی درون ماز را پیدا کند. اگر خود حیوان موفق به پیدا کردن سکو می‌شد و روی آن می‌ایستاد، ۲۰ ثانیه به آن فرصت داده شد که موقعیت فضائی سکو را به ذهن بسپارد. این روش پنج روز به طول انجامید و در روز آخر تست بینائی از حیوانات به عمل آمد (۱۰ و ۱۱ و ۱۲). تست بینائی با پائین آوردن سطح آب درون ماز و کشیدن فویل بر روی سکوی مخفی صورت گرفت تا برای حیوان کاملاً مشخص باشد.

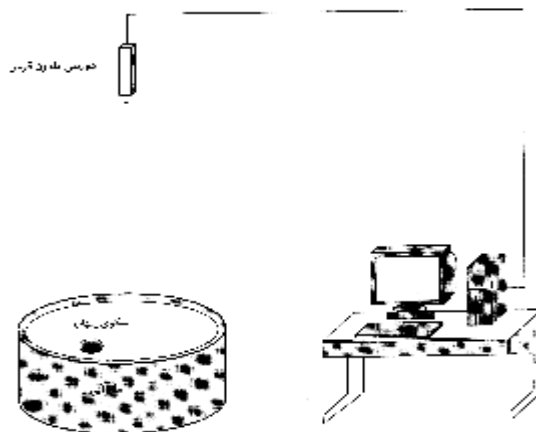
رنگ آمیزی (Phoshotangestic acid haematoxylin) رنگ آمیزی شدند (۱۳).

رنگ آمیزی PTAH مختص سلول‌های آستروسیت بوده (۱۳) و آنها را به رنگ آبی پرننگ درمی‌آورد. در حالی که نورون‌ها به رنگ صورتی تا نارنجی در می‌آیند (شکل ۲).



شکل ۲: تصویر ناف شکنج دندانهای گروه کنترل رنگ آمیزی PTAH (بزرگ‌نمایی ۴۰ برابر) فلش قرمز: آستروسیت، فلش سبز: نورون گرانولار

برای شمارش مورفومتریک آستروسیت‌ها از یک میکروسکوپ پیشرفته مارک BX 51 (شرکت Olympus Japan, Tokyo, Optical Co. LTD) مجهز به دوربین دیجیتال Olympus DP 12 استفاده گردید. تصاویر از نواحی مختلف شکنج دندانهای در برش‌های سریال مطابق با اطلس مغز موش صحرائی (اطلس Paxinos) انتخاب و با درشت‌نمایی ۴۰۰ بر صفحه مانیتور یک دستگاه کامپیوتر آورده شد و در مساحت ۳۶۰۰۰ میکرومتر مربع پس از گریدبندی توسط نرم‌افزار مورفومتری Bioreporter، شمارش صورت گرفت. همچنین با توجه به مشاهدات بافتی و تغییرات تراکمی در بخش‌های قدامی و خلفی شکنج دندانهای و با توجه به عملکردهای فیزیولوژیکی متفاوت بخش‌های قدامی و خلفی تشکیلات هیپوکامپی (۱۴) ما شکنج دندانهای را به سه بخش قدامی، میانی و خلفی تقسیم نمودیم و در نهایت داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون‌های آماری Compaired T-test و One-way ANOVA تجزیه و تحلیل شد و معنی‌دار بودن



شکل ۱: ماز آبی موریس و دوربین مادون قرمز متصل به کامپیوتر مجهز به نرم‌افزار

روش کار حافظه کاری (Working memory) شامل هفت روز آموزش بود. چهار روز اول این دوره کاملاً شبیه به روش Reference می‌باشد. هر موش صحرائی در هر روز از هر چهار جهت جغرافیائی رها می‌شد تا سکو را پیدا کند. پس از این دوره چهارروزه، دو روز وقفه ایجاد شد و حیوانات بدون انجام آزمایش در شرایط آزمایشگاهی مطلوب نگهداری شدند. در واقع این دو روز مرحله تثبیت آموزش در مراکز حافظه است. پس از دو روز استراحت، در روز پایانی آزمایش با جابجا کردن سکوی مخفی درون ماز از تثبیت محل سکو در حافظه موش‌ها اطمینان حاصل شد. موش‌ها در ابتدای رهایی به داخل ماز به سمتی شنا می‌کردند که قبلاً سکوی مخفی در آنجا بود و پس از ناامید شدن از وجود سکو به‌طور تصادفی شنا می‌کردند تا با سکو برخورد کنند (۱۰ و ۱۱ و ۱۲). ۲۴ ساعت پس از پایان آزمایشات موش‌های صحرائی توسط اتر بیهوش شدند و مغز آنها پس از بیرون آورده شدن در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و مدت دو هفته در فرمالین فیکس شدند. پس از فیکساسیون، مغزها مراحل آماده‌سازی بافتی را طی کرده و نهایتاً بلوک‌های پارافینی از آنها تهیه گردید. سپس توسط دستگاه میکروتوم برش‌های کورونال به ضخامت ۷ میکرون به صورت سریال اقدام به خلف تشکیلات هیپوکامپ برداشته شد و یک برش از ده تا برش و در نهایت تعداد چهل عدد لام از کل هیپوکامپ تهیه شد و توسط محلول رنگی PTAH

تفاوت‌ها در سطحی کمتر از ۰/۰۵ مورد توجه قرار گرفت.

یافته‌ها

یافته فیزیولوژیک تحقیق ما نشان‌دهنده کاهش زمان در پیدا کردن سکوی مخفی داخل ماز توسط موش‌های صحرائی در روز پایانی آزمایش با میانگین ۶/۶ ثانیه نسبت به روز اول با میانگین ۴۳/۱۲ ثانیه می‌باشد. این امر نشانگر تثبیت فضایی مکان‌یابی در موش‌ها است.

از جنبه بافت‌شناسی و تراکم تعداد سلولی در واحد سطح، میانگین و انحراف معیار تعداد آستروسیت‌ها در شکنج دندانهای گروه کنترل در سطح ۳۶۰۰۰ میکرومتر مربع ۷۳/۷۳±۲۲/۶۱ بود. حال آن‌که این مقدار در گروه حافظه مرجع معادل ۳۰۰/۵۷±۵/۹۸ و در گروه حافظه کاری معادل ۳۷۵/۷۷±۴/۱۱ به دست آمد (جدول ۱).

جدول ۱: میانگین تعداد آستروسیت‌ها در ناحیه ناف ژيروس دنتیت

در گروه‌های کنترل، *Work. memory* و *Ref. Memory*

ناحیه	مساحت μm^2	انحراف معیار \pm میانگین
DG c	۳۶۰۰۰	۷۳/۷۳±۱/۷۰۴
DG r	۳۶۰۰۰	۳۰۰/۵۷±۵/۹۸۷
DG w	۳۶۰۰۰	۳۷۵/۷۷±۴/۱۱۲

C: control. r: reference. w: working

اختلاف آماری معنی‌داری بین تعداد آستروسیت‌های شکنج دندانهای گروه‌های آموزش دیده و گروه کنترل وجود داشت. این اختلاف حتی در بین گروه‌های آموزشی نیز دیده شد ($P < 0/05$).

تعداد آستروسیت‌ها در نواحی مختلف شکنج دندانهای، در بخش‌های قدامی، میانی و خلفی آن در گروه‌های مختلف به ترتیب در جدول ۲ آمده است. در شکنج دندانهای گروه کنترل بیشترین تعداد آستروسیت‌ها در یک‌سوم قدامی و کمترین تعداد در یک‌سوم میانی آن وجود داشت. همچنین در مقایسه بخش‌های مختلف (قدامی، میانی و خلفی) بین گروه‌های حافظه مرجع و حافظه کاری اختلاف آماری معنی‌داری به دست آمد ($P < 0/05$). در شکنج دندانهای گروه حافظه مرجع نیز تعداد آستروسیت‌ها در یک‌سوم قدامی

بیشترین تعداد و در گروه حافظه کاری در یک‌سوم خلفی بیشترین تعداد دیده شد.

جدول ۲: میانگین تعداد آستروسیت‌ها در ناف ژيروس دنتیت در بخش‌های قدامی، میانی و خلفی هر سه گروه

ناحیه	مساحت μm^2	انحراف معیار \pm میانگین
DG ca	۳۶۰۰۰	۸۰/۲۵±۳/۸۱۵
DG cm	۳۶۰۰۰	۶۵/۶۷±۲/۱۱
DG cp	۳۶۰۰۰	۷۴/۴±۲/۱۶۷
DG ra	۳۶۰۰۰	۳۰۹/۹۲±۱۰/۰۱۱
DG rm	۳۶۰۰۰	۳۰۳/۷۷±۸/۸۹۵
DG rp	۳۶۰۰۰	۲۹۱/۷۸±۱۱/۵۷۱
DG wa	۳۶۰۰۰	۳۷۹/۹۵±۷/۲۳۷
DG wm	۳۶۰۰۰	۳۶۸/۵۳±۶/۵۲۱
DG wp	۳۶۰۰۰	۳۸۰/۰۵±۷/۲۵۴

بحث

نتایج ما در این تحقیق نشان داد که تعداد آستروسیت‌های شکنج دندانهای در گروه حافظه کاری از گروه‌های دیگر بیشتر بود و نیز گروه حافظه مرجع از گروه کنترل بیشتر بوده است. اختلاف تعداد آستروسیت‌ها در گروه‌های یاد شده در سطح ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار بود. همچنین تفاوت تعداد آستروسیت‌ها در بخش‌های قدامی و خلفی شکنج دندانهای بیانگر تاثیر متفاوت روش حافظه مرجع و حافظه کاری بر بخش‌های مختلف شکنج دندانهای می‌باشد.

به لحاظ فیزیولوژیک، تحقیق ما در مورد زمان پیدا کردن سکوی مخفی درون ماز توسط موش‌های صحرائی قابل مقایسه و مشابه با مطالعه بسیاری از محققینی است که روی تغییر رفتار و آموزش فضایی موش‌های صحرائی با استفاده از روش ماز آبی موریس مطالعه نموده‌اند. یعنی موش‌ها طی دوره‌های آموزشی زمان کمتری را برای یافتن صفحه مخفی ماز نسبت به روز قبل خود و نسبت به روز اول صرف می‌کنند (۱۲-۱۰ و ۱۶).

Rapp دو گروه از موش‌های جوان (۶ ماهه) و پیر (۲۷ تا ۲۸ ماهه) را تحت تاثیر آموزش فضایی به روش ماز آبی موریس قرار داد و تعداد نورون‌ها در هیپوکامپ آنها را به

روی موش‌های صحرانی را با تراکم خارهای دندریتی نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در محیط ماز آبی نشان دهند. این یافته‌ها به Moser پیشنهاد کرد که تعداد سیناپس‌ها برحسب نورون‌ها در این آزمایشات افزایش می‌یابد (۱۹ و ۲۰).

نتیجه‌گیری

با توجه مطالعات فوق‌الذکر (۱۹ و ۲۰) که به نوعی به موازات تحقیق ما انجام شده‌اند و ارتباط بین یادگیری‌های فضائی با نورون‌ها، سیناپس‌ها و آستروسیت‌ها را نشان می‌دهند و با توجه به یافته‌های این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که آموزش‌های فضائی می‌توانند موجب افزایش تعداد آستروسیت‌ها گردند و این افزایش می‌تواند با طول دوره آموزش مرتبط باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله کمال تشکر و قدردانی خود را از مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه شهید بهشتی، بخش فیزیولوژی انستیتو پاستور به خاطر انجام آزمایشات رفتاری اعلام می‌دارند. همچنین از آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده پزشکی گرگان به خاطر انجام آزمایشات بافت‌شناسی تشکر می‌نمایم.

References

- 1) Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE. Gray's Anatomy. In: Nervous system. 38th. London. Churchill Livingstone. 1995; pp:1123-1129.
- 2) Prickaerts J, Koopmans G, Blokland A, Scheepens A. Learning and adult neurogenesis: survival with or without proliferation? *Neurobiol Learn Mem.* 2004;81(1):1-11.
- 3) 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.
- 4) Wang JH, Ko GY, Kelly PT. Cellular and molecular bases of memory: synaptic and neuronal plasticity. *J Clin Neurophysiol.* 1997; 14(4):264-93.
- 5) Teter B, Ashford JW. Neuroplasticity in Alzheimer's disease. *J Neurosci Res.* 2002; 70(3):402-37.
- 6) Laming PR, Kimelberg H, Robinson S, Salm A, Hawrylak N, Müller C, et al. Neuronal-glia interactions and behaviour. *Neurosci Biobehav Rev.* 2000; 24(3):295-340.
- 7) Ullian EM, Christopherson KS, Barres BA. Role for glia in synaptogenesis. *Glia.* 2004;47(3):209-16.
- 8) Caudle RM. Memory in astrocytes: a hypothesis. *Theor Biol Med Model.* 2006; 3:2.

روش استرنولوژی بدون تورش شمارش نمود. اگرچه آن مطالعه روی نورون‌های هیپوکامپ انجام شد، اما اثرهای آموزشی مشابهی از نظر رفتاری با مطالعه ما دیده شد (۱۷).

Ladefoged و Pilegaard در سال ۱۹۹۶ میانگین تعداد آستروسیت‌ها را در لایه مولکولار ژيروس دندان‌های هیپوکامپ، به روش استرنولوژی بدون تورش در سنین مختلف در موش‌های صحرانی تعیین نمودند. در مطالعه ایشان تعداد آستروسیت‌ها در موش‌های صحرانی ۳ ماهه که تقریباً از نظر سنی مشابه با آزمایش ما بود، برابر با $88/00 \pm 15/00$ بود. این تعداد آستروسیت در کل ناف شکنج دندان‌های بوده و مشابه تعداد آستروسیت‌هایی است که ما در ناحیه ناف شکنج دندان‌های به دست آوردیم (۱۸).

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 (۱۹). مطالعات زیادی روی حیوانات آزمایشگاهی و به خصوص موش‌های صحرانی صورت گرفته تا ارتباط سیناپس‌ها و یادگیری در آنها ثابت شود (۱۹). مطالعات اخیر توانسته‌اند ارتباط بین یادگیری در محیط‌های پیچیده فضائی

- 9) Langton CG. Computation at the Edge of Chaos: Phase Transitions and Emergent Computation. *Physica D.* 1990, 42(1-3): 12-37.
- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) Redish AD, Touretzky DS. The role of the hippocampus in solving the Morris water maze. *Neural Comput.* 1998;10(1):73-111.
- 13) Bancroft JB, Stevens A. Theory and practice of histological techniques. 3rd. Edinburgh. Churchill Livingstone. 1990; pp: 360-361.
- 14) Moser MB, Moser EI. Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus.* 1998; 8(6):608-19.
- 15) 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.
- 16) 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.

17) Rapp PR, Burwell RD, West MJ. Individual differences in aging: implications for stereological studies of neuron loss. *Neurobiol Aging.* 1996; 17(3):495-500.

18) Pilegaard K, Ladefoged O. Total number of astrocytes in the molecular layer of the dentate gyrus of rats at different ages. *Anal Quant Cytol Histol.* 1996; 18(4):279-85.

19) Rosakov DA, Davies HA, Harrison E, and Diana G. Ultrastructural synaptic correlates of spatial learning in rat hippocampus. *Neuroscience.* 1997; 80: 69-77.

20) 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 USA.* 1994;91(26):12673-5.