Journal of Neurological Sciences [Turkish] **27:(4)**# 25; 407-413, 2010
http://www.jns.dergisi.org/text.php3?id=389

Araştırma Yazısı

Sıçanlarda Spasyal Belleğin Adölesan Dönem Süresince Gelişimi

Nazan UYSAL[1], Ayfer DAYI[1], Seda ÖZBAL[2], Ferihan ÇETİN[1], İlkay AKSU[1], Giray YALAZ[1], Kazim TUGYAN[2], Sevil GÖNENÇ ARDA[1]

[1]Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir, Türkiye [2]Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Ana Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

Özet

Bilindiği gibi hipokampus spasyal öğrenme ve belleğin merkezidir. Beyin gelişiminin devam ettiği adölesan dönem boyunca hipokampus da değişim geçirir. Bu çalışmanın amacı sıçanlarda adölesan dönem boyunca hipokampusun hücresel ve fonksiyonel değişimini araştırmaktır.

Çalışmada 21, 38 ve 60 günlük dişi ve erkek sıçanlar kullanılmıştır. Spasyal öğrenme ve bellek Morris su tankı ile değerlendirilmiştir. 4 günlük öğrenme sürecinde tüm gruplarda platforma ulaşma süreleri giderek kısalmıştır. 3 ve 4. günde 21 günlük sıçanların platformu bulma süresinin diğer gruplara göre daha uzun olduğu görülmüştür (sırasıyla; $p < 0.05$, $p<0.002$). Hatırlama deneyi olan 5. Gün yapılan testte de (probe trialde) 21 günlük sıçanların hedef kadranda daha az, karşı kadranda ise daha fazla zaman geçirdiği gözlenmiştir (sırasıyla; $p<0.001$, $p<0.003$). Hipokampus CA1 ve CA3 alanlarında hücre sayılarının 21 günlük sıçanlarda diğer yaşlara göre daha az olduğu görülmüştür (sırasıyla; $p<0.05$, $p<0.001$). Ayrıca probe trialde hedef kadranda geçirilen süre ile CA3 bölgesi hücre sayısı arasında pozitif, karşı kadranda geçirilen süre ile CA1 hücre sayısı arasında ise negatif yönde güçlü korelasyon tespit edilmiştir.

Bu sonuçlara göre; 21 günlük sıçanların hipokampus CA1 bölgesi hücre sayısının daha az olması ile ilişkili olarak daha çok hata yaptıkları, CA3 bölgesi hücre sayısının az olması ile ilişkili olarak da hatırlamalarının daha zayıf olduğu ileri sürülebilir. Adölesan dönemin sonunda ise hipakampal bölgeler ve gyrus dentatusta hücre sayılarının artmasıyla spasyal öğrenme ve bellek de gelişmektedir.

Anahtar Kelimeler: Spasyal öğrenme ve bellek, hipokampus, adolesan dönem, Morris su tankı

Development of Spatial Memory During Adolescent Period in Rats

Summary

It is well known that, hippocampus is center of the spatial learning and memory. Hippocampus changed during the adolescent periyod that is brain development continued. The aim of this study is to evaluate hippocampal functional and cellular differentiation during the adolescent period of rats.

Wistar Albino male and female rats at 21, 38, 60 days of age were used. Spatial learning and memory was evaluated using by Morris water maze. During learning period, escape latencies decrease significantly over days in all groups. On the 3rd and 4th day, 21 days old rats spent longer time to reach the platform than the other groups. ($F(1,34) = 90.657$, $p < 0.001$). On the probe trial, 21 days old rats spent less time in the target quadrant and spent more time in the

opposite quadrant ($p<0.001$, $p<0.003$). The neuron number of hippocampal CA1 and CA3 region's were less 21 days old rats than the other age of groups. In addition to, there was a significant positive correlation between time in target quadrant in probe trial and hippocampus CA3 region's neuron numbers. Also, there was a significant negative correlation between time in opposite quadrant in probe trial and hippocampus CA1 region's neuron numbers.

These results may indicate that hippocampal CA1 region' s neuron number minority causes making more mistake while learning, neuron number minority at region CA3 causes lack of memory recalling of the 21 days old rat. At the end of the adolescent increased cell count of hippocampal regions and gyrus dentatus are developed spatial learning and memory.

Key words: Spatial learning and memory, hippocampus, adolescent period, Morris water maze

GİRİŞ

Beyin gelişimi anne karnında başlar ve adolesan dönemin sonuna kadar devam eder[18]. İnsan ve hayvanlarda adolesan dönemde fiziksel gelişme mental gelişme ile, en çok da kognitif becerilerin gelişmesi ile birliktedir. Adolesan dönem sıçanlarda sütten kesilme zamanı olan doğumdan sonraki 21. günden itibaren başlar ve 60 güne kadar sürer[22]. Tireli ve ark. adölesan dönemi postnatal 21-34 günler arası prepuberte/erken adölesan, postnatal 34-46 güne kadar olan dönem orta-adölesan ve postnatal 46-59 günler arasını da geç adölesan olarak üç döneme ayırmışlardır[23]. Sıçanlar üreme fonksiyonlarının gerçekleşmesiyle doğumdan sonraki 60. günden itibaren erişkin kabul edilirler[20,21].

Kemirgen beyni adolesan dönem boyunca önemli gelişme geçirir. Hacmi adolesan dönem boyunca artar[1,7]. Hücre proliferasyon hızı ve dendrit yoğunluğu adolesanlarda erişkinlerden daha fazladır[1,9]. Reseptör ekspresyonu, dendritik dallanma ve sinaptogenezis adolesans dönem boyunca devam eder[10]. Yer ve yön öğrenmeyle ilişkili olan spasyal yetenek de pubertenin sonunda gelişmesini tamamlar. Kognitif profili etkileyen sağ ya da sol hemisfer dominansı da pubertenin başında belirmeye başlar. Ayrıca, kognitif performansta cinsiyete bağlı farklılıklar da puberte ile görülmeye başlar[11].

Morris su tankı Richard Morris tarafından geliştirilmiş, fare ve sıçanlarda spasyal öğrenmenin değerlendirilebildiği bir düzenektir[13]. Testte 4 gün boyunca günde 5 deneme yaptırılarak havuz içinde görünmez haldeki platformun yeri öğretilir. Görünmez durumdaki platformun yerini öğrenmek kavramsal "ilişkili-fikir yürüterek" kognitif stratejiyi kullanmayı gerektirir[3]. Bunun için denek havuz dışındaki ip uçlarını kullanır. 4 gün boyunca deneklerin gösterdikleri performans çalışma belleğinin (working memory) değerlendirilmesini sağlar. 5.gün yapılan hatırlama testinde platform havuzun içinden çıkarılır, deneğin platformun bulunduğu kadranda geçirdiği süre kaydedilerek kayıt belleği (referans memory) değerlendirilebilir[6].

CA1, CA2, CA3 ve gyrus dentatus olmak üzere anatomik olarak dört bölümden oluşan hipokampus kavramsal bellek için önemli bir bölgedir 8. Hipokampus yön bulmak için deney düzeneğinin dışında, çevredeki ipuçlarını kullanır 12. Adölesan dönem süresince gelişmeye devam eden hipokampusta nöral plastisitenin yaşam boyu sürdüğü bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı; adölesan dönem öncesinde, adölesan dönemde ve adölesan dönemin sonunda spasyal belleği ve bellekle ilişkili olarak CA1, CA2, CA3 ve gyrus dentatus hipokampal alanlarındaki hücre sayılarını değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmış olan bu çalışmada 36 adet Wistar Albino sıçan kullanılmıştır. Deney grupları; Grup 1: 21 günlük sıçanlar (PND 21, n:10), Grup 2: 38 günlük sıçanlar (PND 38, n:10), Grup 3: 60 günlük sıçanlar grubu (PND 60, n:10).

Tüm gruplar 12 saat aydınlık/ 12 saat karanlık siklüsünde, klima kontrollü odada, 23±2 ◦C sıcaklıkta ve 60% nemde barındırıldı. Tüm deneyler sabah 09.00 ile 12.00 arasında gerçekleştirildi.

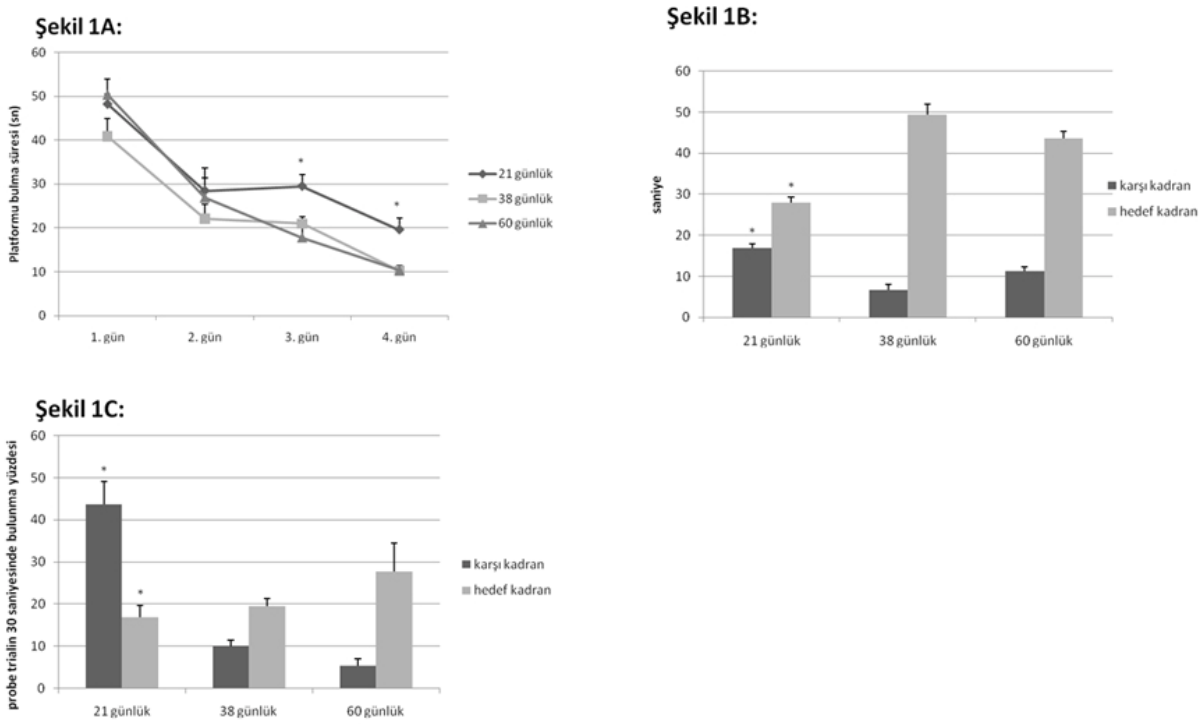
Tüm gruplara Morris su tankında öğrenme deneyleri yapıldı. Öğrenme deneyleri HVS image düzeneği aracılığı ile yapılarak değerlendirildi. Deneylerde 140 cm çapında, 75 cm yüksekliğinde siyah renkli pleksiglassdan yapılmış Morris su tankı kullanıldı. Havuz ılık su ile dolduruldu (22 ± 1 °C). Havuz işaretlenerek hayali olarak dörde bölündü, dörtte bir alanlardan birine platform kondu ve deney boyunca platform hep aynı yerde kaldı. Platformun çapı yaklaşık 11 cm ve su yüzeyinden 1,5 cm aşağıda idi. Tüm gruplara 4 gün boyunca günde 5 deneme (trial) yaptırılarak platformun yeri öğretildi. Deneğin, suya konduktan sonra, 60 saniye içinde platformu bulması beklendi. Platform üzerinde 20 saniye kalmasına izin verildi. Her gün deneye başlama noktası değiştirildi. 5. gün platform kaldırılarak 60 saniye boyunca havuzdaki hareketleri gözlendi. Değerlendirmede 60 saniyenin ne kadarını daha önce platformun bulunduğu alanda geçirdiği hesaplandı (probe trial). Ayrıca bu trialde; deneklerin yaptıkları hatayı gösteren, karşı kadranda geçirdiği süre de değerlendirildi. Öğrenme deneyinin kayıt ve analizleri HVS image kayıt-analiz sistemi kullanılarak değerlendirildi.

Su tankı deneylerinin bitiminde tüm gruplar hafif eter anestezisinin ardından %10' luk formalinle perfüze edildi. Daha sonra beyin dokuları çıkarılarak fosfat tamponlu %10' luk nötral formalinle 24 saat bekletilerek fikse edildi. Rutin ışık mikroskobik doku takip işlemlerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Beyinlerden koronal planda 6 mm aralıklarla kesitler alındı. Her örnek için Paxinos ve Watson'un sıçan beyin atlasının 21, 23, 25. kısımlarıyla ilişkili hipokampus bölgeleri incelendi. Örnekler cresyl violet ile koyulaştırıldı. Görüntüler bilgisayar aracılığıyla analiz edildi. (Olympus BH-2 Tokyo) CA1, CA2, CA3 ve dentat girus nöronları sayıldı. Sayımlar rasgele seçilen beş bölgeden yapıldı ve hipokampal nöron yoğunluğu hesaplandı.

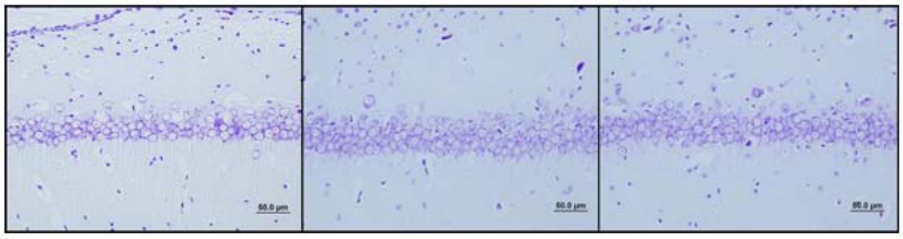
Öğrenme deneylerinde günler arasındaki farklılık SPSS programında GLM-repeated measures ile gruplar arasındaki farklılık one-way ANOVA post hoc Sheffe testi ile değerlendirildi. Hipokampus hücre sayıları arasındaki farkı one-way ANOVA post hoc Sheffe ile değerlendirildi. Hedef kadranda ve karşı kadranda geçirilen süre ile nöron sayıları arasında Spearman correlation analizi kullanıldı.

BULGULAR

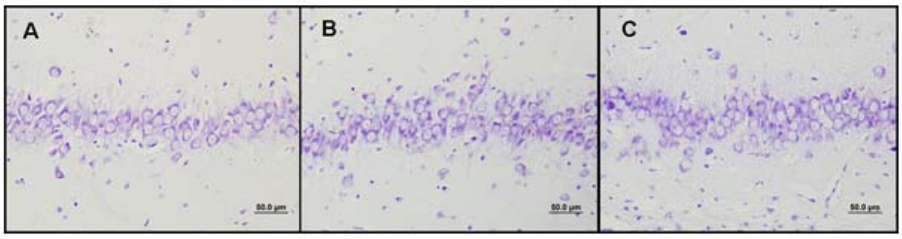
MWM öğrenme deneyinin 3. ve 4. gününde PND 21'in platformu bulma süresinin diğer gruplara göre daha uzun olduğu görüldü (3. günde PND 21, PND 38' e göre $p=0,038$; PND 21, PND 60' a göre $p=0,002$; 4. günde PND 21, PND 38' e göre $p=0,002$; PND 21, PND 60' a göre $p=0,002$) (Şekil 1A). Hatırlama deneyi olan 5. gün deneyinde (probe trial) PND 21'in diğer gruplara göre hedef kadranda daha az ($p<0.001$), karşı kadranda ise daha fazla zaman geçirdiği gözlendi ($p<0.003$) (Şekil 1B). Probe trialin ilk 30 saniyesi değerlendirildiğinde PND 21'in yine diğer gruplara göre karşı kadranda daha fazla zaman geçirdiği saptandı ($p<0.001$) (Şekil 1C). Hipokampus CA1 ve CA3 alanlarında hücre sayılarının ise PND 21'de diğer yaşlara göre daha az olduğu görüldü (CA1' de $p<0.05$, CA3' de $p<0.000$) (Şekil 2).



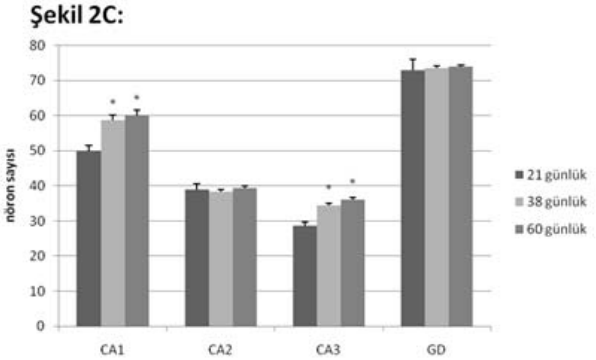
Şekil 1: *Grupların Morris su tankı performansları. (A) Başlama noktasından görünmez platformu bulana kadar geçen sürenin (platformu bulma süresi) günlük değişimi. * p < 0.05 diğer gruplara göre. (B) Beşinci gün yapılan probe trialde hedef ve karşı kadranda geçirilen süre. * p<0.05 diğer gruplara göre. (C) Probe trialin ilk 30 saniyesinde hedef ve karşı kadranda geçirilen sürenin yüzdesi. * p<0.003 diğer gruplara göre.*



2A



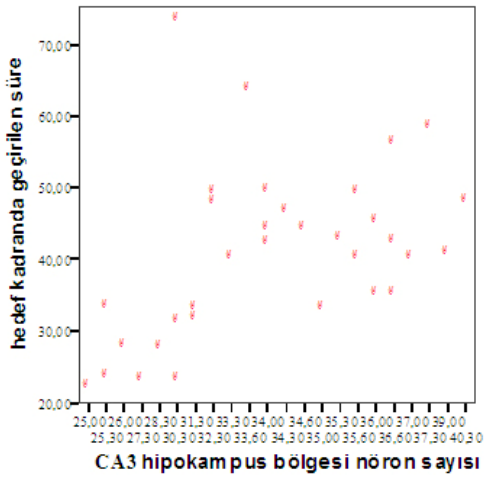
2B



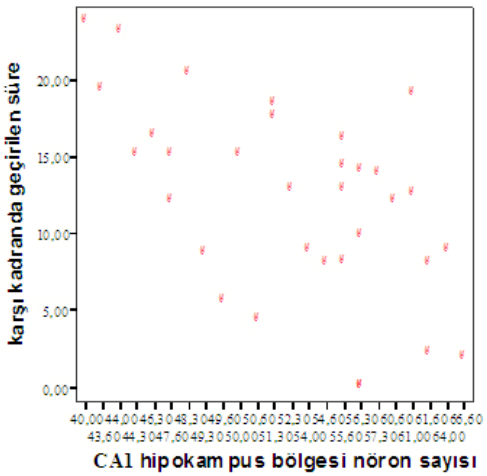
Şekil 2: *Grupların hipokampal nöron yoğunlukları. (A) Hipokampus CA1 bölgesi nöron yoğunluğu. Cresyl-violet ile boyanan kesitlerde 21 günlük sıçanların CA1 bölgelerinde nöron yoğunluğunun diğer gruplara göre daha az olduğu görüldü. (B) Hipokampus CA3 bölgeleri nöron yoğunluğu. Cresyl-violet ile boyanan kesitlerde 21 günlük sıçanların CA3 bölgelerinde nöron yoğunluğunun diğer gruplara göre daha az olduğu görüldü. (C) CA1, CA2 ve CA3 hipokampal alanları ile gyrus dentatus norun sayılarının sayısal değerlendirilmesi * p < 0.05 diğer gruplara göre. A: 21 günlük, B: 38 günlük, C: 60 günlük*

Öğrenme deneyleri ile hücre sayıları arasında yapılan korelasyon değerlendirmesinde; hedef kadranda geçirilen süre ile CA1 hipokampus bölgesi arasında orta derecede (p=0.037, r=0.364), CA3 hipokampus bölgesi arasında ise güçlü pozitif korelasyon bulundu (p=0.002, r=0.523). Karşı kadranda geçirilen süre ile CA1 hipokampus bölgesi arasında güçlü (p=0.001, r= -0.557), CA3 hipokampus bölgesi arasında ise orta derecede negatif korelasyon saptandı (p=0.037, r= -0.365). Şekil 3' de korelasyon eğrileri verilmiştir.

Şekil 3A:



Şekil 3B:



Şekil 3: *Veriler arasındaki korelasyon değerlendirilmesi. (A) Hedef kadranda geçirilen süre ile hipokampus CA3 bölgesi nöron sayısı arasındaki pozitif korelasyon. (B) Karşı kadranda geçirilen süre ile hipokampus CA1 bölgesi nöron sayısı arasındaki negatif korelasyon.*

TARTIŞMA

Bu çalışmada preadölesan, adölesan ve geç adölesan sıçanlarda spasyal öğrenme ile ilişkili beyin bölgesi olan hipokampus hücre sayıları karşılaştırıldı. Bizim bilgilerimize göre bu konuda literatürdeki kapsamlı ilk çalışmadır. Bu çalışmada tüm sıçanların 4 günlük öğrenme testi süresince platformun yerini bulma sürelerinin giderek kısalarak kararlı bir seviyeye ulaştığı görüldü. Ancak grupların performansında yaşa bağlı farklılık olduğu saptandı. 21 günlük sıçanların platformu bulma süresinin 3 ve 4. günde diğer gruplara göre daha uzun olduğu gözlendi (Şekil 1A). Grupların yüzme hızlarında ise bir farklılık bulunmadı. Probe trialde ise 21 günlük sıçanların diğer gruplara göre hedef kadranda daha az zaman geçirdikleri görüldü. Görünmez platformun bulunduğu su tankı deneyinde denekler platformun yerini havuz dışı ip uçlarını kullanarak öğrenmektedirler[6]. Bu öğrenme ve hatırlama sürecinde sağlam ve fonksiyonel bir hipokampusun bulunması gerektiği bilinmektedir[4]. Hipokampal inaktivasyonun MWM öğrenme sürecini uzattığı, deneklerin probe trialde amaçsızca yüzdükleri görülmüştür[15].

Sıçanlar Morris su tankında görünmez platformun yerini öğrenmede lokalizasyon merkezli ve rota merkezli olmak üzere iki mekanizma kullanmaktadırlar. Bu iki mekanizma beş aşamadan oluşur; ilk iki basamak lokalizasyon merkezli diğer üçü ise rota merkezlidir[16]. İlk basamakta sıçan

önce çevreyi araştırarak tanımaya çalışır. İkinci basamakta aynı ortama yeniden girdiğinde platforma göre kendini lokalize eder. Bu bilgi ile platforma ulaşmak için yüzme rotasını çizebilmektedir. Üçüncü basamak rotanın öğrenilmesidir; hayvan bu çizdiği rotada hareket ederken hipokampus CA3 bölgesindeki bağlantılarda depolanmaya başlar. Dördüncü basamakta rotanın uyku sırasında yeniden çizildiği görülür; bu sayede rotanın bilgisi CA3 bağlantılarında kalıcı hale getirilir[19,25]. Sonuncu basamakta ise yerleşme; uykuda da çizilen rota uzun süreli belleğe transfer edilir. Doğru rotanın çizilmesi ve hedef kadranın bulunması için hipokampus CA3 bölgesindeki nöronlara ihtiyaç vardır[16]. Bu çalışmada hedef kadranda geçirilen süre ile CA3 bölgesi nöron sayısı arasında güçlü pozitif korelasyon olduğu görüldü. Ayrıca bu çalışmada su tankı deneyinde hem öğrenme hem de hatırlamanın diğer gruplara göre daha kötü olduğu 21 günlük sıçanların CA3 bölgesindeki hücre sayılarının da diğer gruplara göre daha az olduğu saptandı.

Hipokampus CA1 bölgesi nöronları da spasyal öğrenme ve bellek için gereklidir. CA1 bölge nöronları entorhinal korteksten veya CA3 bölgesinden bilgileri alır ve işler[14]. Hipokampus CA3 bölgesi lezyonlu ancak CA1 bölgesi sağlam sıçanların su tankı deneyinde öğrenme sürecinde başalı oldukları ancak bilginin geri çağırıldığı probe trialde amaçsızca yüzdükleri görülmüştür[5]. Dolayısıyla sağlam bir CA3 ve CA1-CA3 bağlantısı referans memory için şarttır. Zaten bu çalışmada referans memorynin kullanıldığı probe trialde hedef kadranda geçirilen süre ile CA1 arasında orta derecede pozitif korelasyon olduğu ve 21 günlük sıçanların CA1 bölgesi hücre sayılarının diğer gruplara göre daha az olduğu tespit edilmiştir.

Bilindiği gibi CA3 bölgesi Schaffer Kollateralleri döngüsü aracılığı ile CA1 bölgesi ile bağlantılıdır, CA1 çıktıları subikulum, entorhinal korteks ve prefrontal kortekse uzanır 1. CA1 networkü iki grup girdi alır. Bilgilerin çoğunun CA3' den gelmesine rağmen, küçük bir bölümü entorhinal korteksten gelir[2,24]. Çeşitli çalışmalarda entorhinal korteksin girdilerinin CA1' in spasyal ateşlenmesi için yeterli olduğu gösterilmiştir[1]. CA1 sıklıkla "hata dedektörü" gibi çalışır, kortikal bilgi ile CA3 ve entorhinal korteksten aldığı bilgi arasındaki uyumsuzluğu arar ve böylece depolanan bilgi düzeltilir[17]. Bu çalışmada da CA1 bölgesi hücre sayıları ile karşı kadranda geçirilen süre (yapılan hata) arasında güçlü negatif korelasyon saptandı. Bu çalışmada da; 21 günlük sıçanların diğer yaşlara göre probe trialde karşı kadranda daha çok vakit geçirdiği de gösterilmiştir.

Bu sonuçlar adölesan dönemin başında hücre sayıları daha az olan CA1 ve CA3 bölgelerinin spasyal öğrenme sürecini ve hatırlamayı etkilediğini göstermektedir. Ancak adölesan dönemin sonunda artan hücre sayıları ile paralel olarak spasyal öğrenme ve belleğin da geliştiğini göstermektedir. Adölesan dönemde hipokampus ve bağlantılarındaki moleküler değişikliklerin araştırılması bu değişikliklerin mekanizmalarını açıklamada fayda sağlayabilir.

İletişim:
Nazan Uysal
E-mail: nazan.uysal@deu.edu.tr

Gönderilme Tarihi: 09 Kasım 2010
Kabul Tarihi: 26 Kasım 2010

The Online Journal of Neurological Sciences (Turkish) 1984-2010
This e-journal is run by Ege University Faculty of Medicine,
Dept. of Neurological Surgery, Bornova, Izmir-35100TR
as part of the Ege Neurological Surgery World Wide Web service.
Comments and feedback:

E-mail: editor@jns.dergisi.org
URL: http://www.jns.dergisi.org
Journal of Neurological Sciences (Turkish)
Abbr: J. Neurol. Sci.[Turk]
ISSNe 1302-1664

KAYNAKLAR

1. *Amaral DG, Witter MP. The hippocampal formation: the rat nervous system. Academic Press, P. G. San Diego 1995; 443–493*
2. *Amaral DG, Ishizuka N, Claiborne B. Neurons, numbers and the hippocampal network. Prog Brain Res 1990; 83:1–11*
3. *Bayer SA. Development of the hippocampal region in the rat. II. Morphogenesis during embryonic and early postnatal life. J Comp Neurol 1980; 190: 115-34.*
4. *Bremner JD, Randall P, Vermetten E, Staib L, Bronen RA, Mazure C, Capelli S, McCarthy G, Innis RB, Charney DS. Magnetic resonance imaging-based measurement of hippocampal volume in posttraumatic stress disorder related to childhood physical and sexual abuse -a preliminary report. Biol Psychiatry 1997; 41: 23-32.*
5. *Brun VH, Otnass MK, Molden S, Steffenach HA, Witter MP, Moser MB, Moser EI. Place cells and place recognition maintained by direct entorhinal-hippocampal circuitry. Science 2002; 296: 2243-6.*
6. *Charles V Vorhees & Michael T Williams, Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. Nature Protocols 2006; 1: 848 – 858.*
7. *Cohen NJ, Eichenbaum H. The theory that wouldn't die: a critical look at the spatial mapping theory of hippocampal function. Hippocampus 1991; 1: 265-8.*
8. *He J, Crews FT. Neurogenesis decreases during brain maturation from adolescence to adulthood. Pharmacol Biochem Behav 2007; 86: 327-33.*
9. *Koshibu K, Levitt P, Ahrens ET. Sex-specific, postpuberty changes in mouse brain structures revealed by three-dimensional magnetic resonance microscopy. Neuroimage 2004; 22: 1636-45.*
10. *Lenroot RK, Giedd JN. Brain development in children and adolescents: insights from anatomical magnetic resonance imaging. Neurosci Biobehav Rev 2006; 30: 718-29.*
11. *Leuner B, Waddell J, Gould E, Shors TJ. Temporal discontiguity is neither necessary nor sufficient for learning-induced effects on adult neurogenesis. J Neurosci 2006; 26: 13437-42.*
12. *Morris RGM. Spatial localization does not require the presence of local cues. Learn Motiv 1981; 12: 239–260.*
13. *Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. J Neurosci Methods 1984; 11: 47–60.*
14. *O'Keefe J, Nadel L. The Hippocampus as a Cognitive Map, Clarendon, Oxford, 1978.*
15. *Pettenuzzo LF, Wyse AT, Wannmacher CM, Dutra-Filho CS, Netto CA, Wajner M. Evaluation of the effect of chronic administration of drugs on rat behavior in the water maze task. Brain Res Brain Res Protoc 2003; 12: 109-15.*
16. *Redish AD, Touretzky DS. The role of the hippocampus in solving the Morris water maze. Neural Comput 1998; 10: 73-111.*
17. *Rendeiro C, Spencer JP, Vauzour D, Butler LT, Ellis JA, Williams CM. The impact of flavonoids on spatial memory in rodents: from behaviour to underlying hippocampal mechanisms. Genes Nutr 2009 Sep 2. [Epub ahead of print]*
18. *Rice D, Stan BJ. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. Environ Health Perspect 2000; 108: 511–533.*
19. *Skaggs WE, McNaughton BL. Replay of neuronal firing sequences in rat hippocampus during sleep following spatial experience. Science 1996;271:1870–1873.*
20. *Södersten P. Receptive behavior in developing female rats. Horm Behav 1975; 6: 307-17.*
21. *Södersten P, Damassa DA, Smith ER. Sexual behavior in developing male rats. Horm Behav 1977; 8: 320-41*
22. *Spear LP. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. Neurosci Biobehav Rev 2000; 24: 417–463.*
23. *Tirelli E, Laviola G, Adriani W. Ontogenesis of behavioral sensitization and conditioned place preference induced by psychostimulants in laboratory rodents. Neurosci Biobehav Rev 2003; 27: 163-78.*
24. *Treves A, Rolls ET. Computational analysis of the role of the hippocampus in memory. Hippocampus 1994; 4: 374–391*
25. *Wilson MA, McNaughton BL. Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. Science 1994; 265: 676–679.*