

Efeitos da administração crônica de etanol sobre a aprendizagem no reconhecimento de objetos em camundongos nadadores

¹J.G.P. Cruz*; ¹D. Delwing; ²A.S. Brunelli; ²G.C. Oliveira

1. Departamento de Ciências naturais, Universidade Regional de Blumenau.

2. Departamento de Medicina, Universidade Regional de Blumenau

Este estudo examina a capacidade do exercício físico em reduzir as graves alterações comportamentais induzidas pelo álcool. Associações entre reconhecimento de objetos e o teste do campo aberto foram estudadas. Camundongos nadadores e controles receberam diferentes doses de etanol (0; 0,1 e 0,2 g/kg). Os testes foram realizados 2 e 24 horas após o treinamento. Durante a sessão teste de 5 minutos, os animais foram expostos a dois objetos: o objeto familiar utilizado no treinamento e um novo objeto. Análises comportamentais durante os testes, mostraram que os camundongos nadadores, tratados com salina, durante os testes de 2 ($F_{2,54} = 7.429$; $p < 0,001$; memória a curto prazo) e 24 horas ($F_{2,54} = 3.507$; $p < 0,001$; memória a longo prazo), permaneciam mais tempo explorando o novo que o objeto familiar (razão de discriminação). Em contraste, camundongos controles e nadadores tratados com etanol apresentavam o mesmo tempo de exploração do objeto familiar e do novo objeto ($p > 0,05$). No campo aberto, o treinamento de natação e tratamento com salina, aumentou significativamente a exploração durante os testes de 2 ($F_{2,54} = 26.178$; $p < 0,001$) e 24 horas ($F_{2,54} = 28.715$; $p < 0,001$). Nossos resultados indicam que o etanol modifica a memória e a atividade exploratória em camundongos nadadores; sugerindo que as interações entre exercício de natação e etanol podem fornecer o mesmo substrato neurobiológico para a memória espacial e a atividade motora.

Palavras-Chave: álcool, aprendizagem, exercício, memória.

1. Introdução

Alguns estudos indicam que o exercício de natação regular aumenta significativamente a memória espacial no teste de reconhecimento de objetos, enquanto o tratamento crônico com etanol causa um déficit cognitivo quando em altas, mas não em baixas concentrações. Estes resultados sugerem mudanças comportamentais e fisiológicas semelhante, através de alterações neuroquímicas de áreas específicas encefálicas, induzida pela atividade física regular ou pelo consumo crônico de pequenas doses de etanol.

Modelos experimentais onde foram utilizado exercício de baixa intensidade e longa duração mostram um aumento da taxa de aquisição e aprendizagem espacial em roedores^{1,2}; com alterações neuroquímicas no hipocampo, capazes de melhorarem a memória espacial³. Dentre os achados relacionados ao exercício físico com as funções cognitivas está o aumento da neurogênese hipocampal⁴, a redução de variáveis relacionadas ao estresse oxidativo⁵, o aumento nos

níveis do fator neurotrófico derivado do cérebro (do inglês brain-derived neurotrophic fator; BDNF)⁶, o incremento da vascularização cerebral⁷ e, uma variedade de mudanças morfológicas⁸. Além disso, o exercício é capaz de reverter o déficit mnemônico causado por diferentes fatores, como a morfina⁹, a exposição pré-natal ao etanol¹⁰ e bloquear a redução na locomoção e esquiva em camundongos submetidos ao tratamento agudo com etanol¹¹.

Diversos estudos demonstram que o etanol exerce diferentes efeitos, com ação direta ou indireta sobre vários sistemas de neurotransmissores, incluindo acetilcolina, dopamina, peptídeos opióides e aminoácidos excitatórios^{12,13}. Além disto, estudos em animais sugerem que os efeitos do etanol sobre a memória e aprendizagem estariam relacionados com seus efeitos sobre a formação hipocampal¹⁴. Dentre os vários paradigmas comportamentais utilizados para avaliar o déficit de memória em roedores tratados com etanol, temos o labirinto aquático¹⁵ e o teste de reconhecimento de objetos^{14,16}. Entretanto, estes trabalhos demonstram que os resultados

dependem do protocolo utilizado, sendo que o tratamento crônico com etanol, necessariamente, não produz um comprometimento cognitivo¹⁷, apesar da retirada do álcool produzir significativo déficit de memória em vários estudos^{17,18}.

Trabalhos anteriores demonstram que a capacidade exploratória espontânea de roedores pode ser utilizada para avaliar as funções relacionadas à memória^{14,16,19,20}. O teste de reconhecimento de objetos está relacionado com a preferência dos roedores normais em explorar novos objetos em vez de objetos familiares. Vários estudos têm demonstrado que o desempenho no teste de reconhecimento de objetos descritos por Ennaceur e Delacour (1988)¹⁹ é sensível a diferentes tratamentos com drogas e lesões cerebrais²⁰. A incapacidade de distinguir as diferenças entre o novo e o objeto familiar indica que o tratamento prejudicou a capacidade de memória espacial do animal.

Com a finalidade de compreendermos estas relações, camundongos nadadores foram submetidos a um tratamento crônico com baixas doses de etanol e aos testes de reconhecimento de objetos e campo aberto.

2. Material e Métodos

Animais.

Foram utilizados camundongos da linhagem Swiss, machos, 4 semanas de idade, com peso médio 12g, procedentes do biotério central da Universidade Regional de Blumenau. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, com 10 animais, a 26°C, e alimentados com ração padrão e água ad libitum.

Treinamento.

O exercício físico utilizado foi à natação, realizada em um tanque com água a temperatura de 25±1°C. Os camundongos foram divididos aleatoriamente em dois grupos: os nadadores (n = 30) e os sedentários (n = 30). Os camundongos, foram treinados a nadar por 30 minutos/dia, 5 dias na semana, durante 8 semanas. Este exercício corresponde a uma intensidade abaixo do limiar anaeróbico. Uma semana antes de iniciarmos o treinamento com os animais, foram colocados na piscina com água rasa, para se adaptarem ao ambiente. A primeira semana de treinamento durou 5 minutos; 10 minutos na segunda semana, 20 na terceira semana e 30 minutos na quarta semana. Os 30 minutos de exercício contínuos foram realizados até o final do período de

treinamento de oito semanas. Os camundongos sedentários foram colocados na água rasa, durante 30 minutos, em cinco dias da semana, sendo utilizados como controle. No final do período de treinamento, 24 horas após a última sessão de exercícios e tratamento com etanol, todos os camundongos foram submetidos individualmente ao pré-teste.

Tratamento Crônico com Etanol.

Os animais sedentários ou nadadores foram tratados com salina ou etanol (0,1 ou 0,2 g/kg, via oral, solução a 14%) durante os últimos 14 dias do término do treinamento de natação. Após 24 horas do último tratamento, foram submetidos ao pré-teste, seguidos após 2 e 24 horas dos testes comportamentais de reconhecimento de objetos e campo aberto.

Reconhecimento de objetos.

A memória de reconhecimento de objetos é a capacidade de discriminar entre os objetos que tenham sido previamente encontrados e objetos que não tenham. Roedores possuem uma tendência natural para gastar mais tempo explorando novos objetos que aqueles conhecidos, podendo esta preferência, serem utilizadas como um índice de reconhecimento de objetos¹⁹. O campo aberto é uma caixa de madeira circular com 40 cm de diâmetros e 50 cm de altura. Dois objetos semelhantes foram colocados equidistantes um do outro e os animais foram submetidos ao pré-teste durante 5 minutos. Após um período de retenção de 2 e 24 horas, os animais foram submetidos a um teste de 5 minutos, com um objeto familiar do pré-teste e um objeto diferente. Os objetos foram de vidro com 12 cm de altura e 6 cm de largura. Nos testes foram registrados os seguintes parâmetros: tempo gasto para explorar cada objeto (novo e familiar), sendo considerado exploração quando o animal fica com o focinho até 0,5 cm do objeto. A principal medida foi à razão de discriminação dos objetos; sendo estabelecida pelo tempo gasto em explorar o novo objeto dividido pela soma dos tempos gastos para explorar o novo objeto e o objeto familiar ($t_{\text{novo}} / t_{\text{novo}} + t_{\text{familiar}}$).

Campo Aberto.

Para analisar as modificações na atividade motora, os animais foram submetidos à tarefa de campo aberto. O teste do campo aberto consistiu na mensuração das variáveis comportamentais

dos indivíduos experimentais, colocados em uma arena limitada por uma parede circular. O interior desta arena, de 280 cm de diâmetro, teve o assoalho pintado de preto. Para testar a atividade exploratória e locomotora duas e 24 horas após o pré-teste, os animais foram colocados no campo aberto para livre exploração por cinco minutos; onde foram anotadas as percentagens dos tempos nas seguintes categorias comportamentais: tempo de motilidade (locomoção entre quadrantes), tempo de imobilidade (ficar imóvel), tempo de exploração (elevar os membros superiores, apoiado nos inferiores) e tempo de autolimpeza (passar os membros superiores sobre a cabeça).

Análise estatística.

Os resultados foram expressos com média \pm erro padrão da média e submetidos à análise de variância de duas vias (two-way ANOVA tests), onde foram comparados os grupos de não treinados (controles) com os nadadores submetidos aos diferentes tratamentos com salina ou etanol, seguido pelo pós-teste de Newman-Keuls. Um nível de significância menor que 5% foi utilizado em todas as análises comportamentais realizadas individualmente.

3. Resultados

O tempo na exploração de objetos familiares e novos objetos foram realizados em dois períodos após pré-teste. Roedores ao reconhecerem os objetos familiares aumentam o tempo de exploração dos novos objetos¹⁹. No teste de reconhecimento de objetos, análise de variância de duas vias mostrou que os camundongos tratados com salina e submetidos ao exercício de natação apresentavam uma razão de discriminação maior que os submetidos ao exercício de natação e tratados com etanol, bem como aos animais controles tratados com salina durante os testes de 2 ($F_{2,54} = 7.429$; $p < 0,001$) e 24 horas ($F_{2,54} = 3.507$; $p < 0,001$), caracterizando a presença de memória a curto e longo prazo (figura 1A). Análise de variância de duas vias também demonstrou diferenças significativas no tempo de exploração de novos objetos durante o teste de 24 horas para os animais nadadores tratados com salina em relação aos outros grupos ($F_{2,54} = 7.983$; $p < 0,001$), o mesmo não ocorrendo no teste de 2 horas ($F_{2,54} = 2.820$; $p > 0,05$; figura 1B). Análises estatísticas não mostraram diferenças significativas na percentagem de tempo de exploração de objetos familiares entre os camundongos tratados com solução salina ou diferentes doses de etanol nos

testes realizados 2 ($F_{2,54} = 2.282$; $p > 0,05$) e 24 horas ($F_{2,54} = 1.872$; $p > 0,05$; figura 1C).

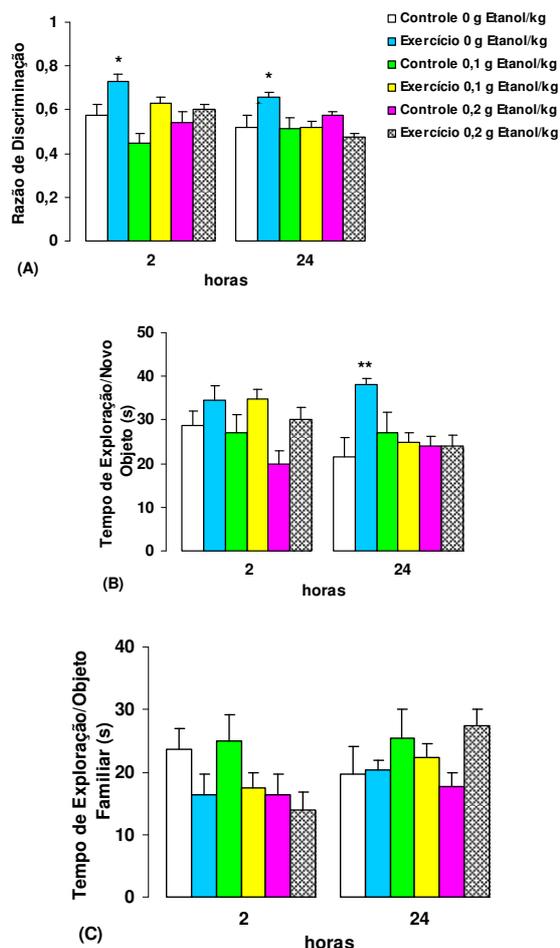


Figura 1. Reconhecimento de objetos após exercício de natação e tratamento com etanol 2 e 24 horas após treinamento. (A) Razão de discriminação (tnovo/tnovo + tfamiliar). (B) Tempo de exploração dos novos objetos. (C) Tempo de exploração dos objetos familiares. Linhas verticais representam o erro padrão da média e as barras a média dos subgrupos de camundongos (n = 10; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; teste de Newman-Keuls).

Análise de variância de duas vias não mostrou aumento significativo no tempo de motilidade nos testes realizados no período de 2 ($F_{2,54} = 2.255$; $p > 0,05$) e 24 horas ($F_{2,54} = 2.964$; $p > 0,05$) após o pré-teste (figura 2A); bem como no tempo de imobilidade nos períodos de 2 ($F_{2,54} = 0.7008$; $p > 0,05$) e 24 horas ($F_{2,54} = 0.4670$; $p > 0,05$; figura 2B). Análise de variância mostrou aumento significativo no tempo de exploração dos camundongos nadadores tratados com salina quando comparados com os demais grupos, nos testes realizados 2 ($F_{2,54} = 26.178$; $p < 0,001$) e 24 horas ($F_{2,54} = 28.715$; $p < 0,001$; figura 2C). Não foram demonstradas diferenças estatísticas significativas no tempo de auto-limpeza nos testes de 2 ($F_{2,54} = 1.768$; $p > 0,05$) e 24 horas ($F_{2,54} = 2.354$; $p > 0,05$; figura 2D).

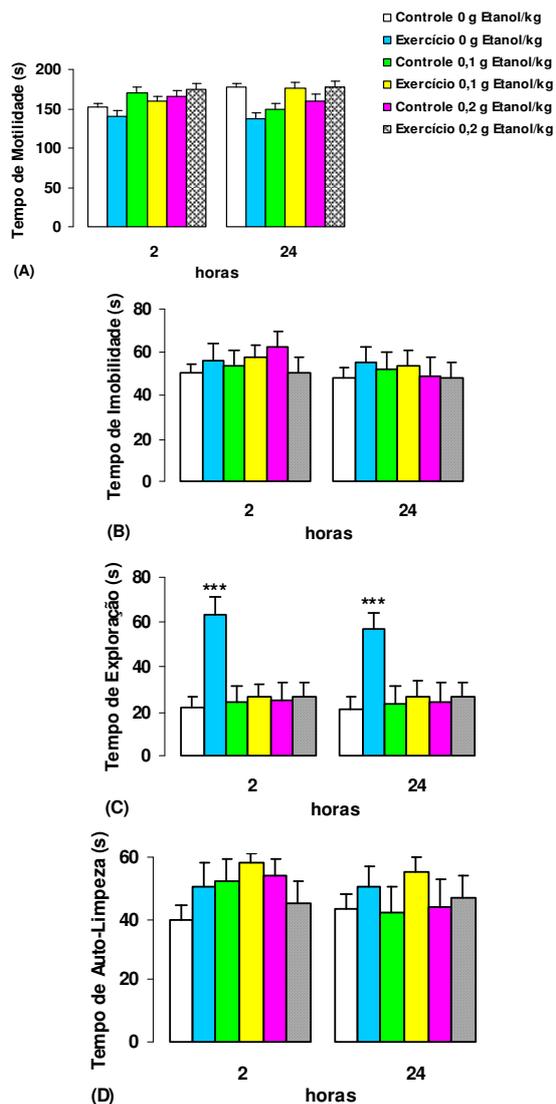


Figura 2. Campo aberto 2 e 24 horas após tratamento com etanol em camundongos não treinados e nadadores. (A) Tempo de motilidade. (B) Tempo de imobilidade. (C) Tempo de exploração. (D) Tempo de auto-limpeza. Linhas verticais representam o erro padrão da média e as barras a média dos subgrupos de camundongos (n = 10, ***p<0,001, teste de Newman-Keuls).

4. Discussão

Os resultados demonstram que o exercício de natação modifica de forma significativa a memória espacial de camundongos adultos. Animais nadadores exploram mais os novos objetos que os não treinados, quando estes são tratados com solução salina. Os camundongos nadadores apresentam memória a curto e longo prazo para o reconhecimento de objetos, quando comparado com os animais controles não treinados, como demonstrado na razão de discriminação entre os objetos (figura 1). Estes resultados estão de acordo com estudos anteriores, realizados com objetivo de entender as

bases neurobiológicas da memória e aprendizagem relacionadas à atividade física. O treinamento na roda de corrida melhora a memória espacial em roedores^{1, 2, 3, 4, 5} e, o desempenho de ratos no labirinto aquático de Morris, através do aumento na atividade do sistema colinérgico¹³. Outros mecanismos que oferecem suporte aos nossos resultados experimentais, causados pela atividade física, envolvem o aumento da neurogênese no hipocampo⁴, a redução do estresse oxidativo⁵ e, o aumento nos níveis do fator neurotrófico derivado do cérebro⁶. Porém, animais nadadores submetidos ao tratamento crônico com baixas doses de etanol, mostraram que o tratamento impediu o incremento no desempenho obtido com os animais tratados com salina (figura 1).

A melhora na memória espacial causada pela atividade física poderia estar relacionada com ativação de alguns subtipos de receptores da serotonina. A atividade física e o etanol aumentam a sensibilidade do receptor 5-HT₂ e diminui do autoreceptor 5-HT_{1A}, sendo que a retirada do etanol inverte esta relação. O aumento na expressão do receptor 5-HT₂ no hipocampo estaria relacionado à melhora na memória hipocampo-dependente²¹, sendo estes resultados prejudicados com a retirada do etanol, pelo aumento na atividade do receptor 5-HT_{1A} e redução do receptor 5-HT₂.

O aumento na atividade do receptor 5-HT_{1A} e redução do receptor 5-HT₂ também poderiam explicar os resultados obtidos nos animais submetidos ao campo aberto, onde a retirada do etanol em camundongos não treinados ou nadadores, não modificou de forma significativa os tempos de motilidade e imobilidade, quando estes animais foram submetidos 2 e 24 horas após o pré-teste (figura 2). O aumento na motilidade e diminuição da imobilidade em animais submetidos ao campo aberto estão relacionados com a redução na ansiedade²²; sendo que a manutenção na atividade dos receptores 5-HT₂ impediria a manifestação de um comportamento ansiolítico. Embora a relação fisiológica entre os processos de memória e ansiedade ainda não estejam estabelecidos, vários estudos sugerem que as bases moleculares da memória sejam moduladas por vários tipos de estresse, inclusive o emocional.

Trabalhos realizados anteriormente, mostram que camundongos não treinados e não submetidos à gavagem, apresentam memória a curto, mas não a longo prazo²³; enquanto nossos resultados mostram que camundongos não treinados e tratados por via oral com salina, não mostram a

capacidade de reconhecer novos objetos nos períodos de 2 ou 24 horas após o pré-teste. Uma hipótese para explicar os resultados, seria o estresse provocado pela manipulação diária dos animais e, ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, com liberação de glicocorticóides. Magarinos et al. (1996)²⁴, em um estudo realizado com roedores, mostraram uma forte correlação entre situações estressantes repetidas e atrofia dos neurônios piramidais CA-3, localizados no hipocampo. Mesmo por um curto período, altas doses de glicocorticóides podem agir de maneira neurotóxica, afetando os mecanismos de memória e aprendizagem²⁵. Estes resultados indicam que alguns cuidados devem ser tomados ao se interpretar efeitos do exercício de natação sobre as funções cognitivas, já que uma parte deles, embora nem todos, podem ser atribuídos ao estresse inerente ao protocolo utilizado. Assim, os dados obtidos não mostram diferenças entre os grupos nos níveis de emocionalidade (ansiedade), nestes parâmetros comportamentais analisados no teste de campo aberto.

Segundo Leasure e Jonas (2008)²⁶, ratos submetidos a exercício forçado ou voluntário, aumentam à atividade exploratória. Nossos resultados confirmam estes dados, com aumento na atividade exploratória de camundongos nadadores tratados com solução salina. Porém, o tratamento crônico destes animais nadadores com baixas doses de etanol, impede a manifestação desta resposta comportamental (figura 2C). Entretanto, camundongos nadadores submetidos ao tratamento agudo com etanol apresentam este aumento na atividade exploratória quando submetidos ao campo aberto²³. Alguns estudos demonstram que a serotonina atua através de vários receptores no cérebro com objetivo de modular às principais vias dopaminérgicas no sistema mesolímbico; onde o bloqueio do autoreceptor 5-HT_{1A} pelo etanol, aumenta atividade dopaminérgica e motora²⁷. Assim, agonistas do autoreceptor 5-HT_{1A} são capazes de diminuir à atividade motora em camundongos²⁸, através da redução na atividade dopaminérgica. Rodes e Garland (2003)²⁹ mostraram que ratos hiperativos tratados com bloqueadores de recaptção de dopamina diminuem a atividade motora na roda de corrida. Portanto, a redução no tempo de exploração quando os camundongos nadadores são submetidos à retirada de baixas doses de etanol, sugere modificações na relação 5-HT₂/5-HT_{1A}; sendo que o receptor 5-HT_{1A} poderia ser um, mas não o único, elemento envolvido na complexa etiologia da atividade exploratória.

Neste sentido, podemos supor que alguns subtipos de receptores 5-HT possuem a capacidade de modular a memória espacial e atividade motora em camundongos nadadores submetidos ao tratamento crônico com baixas doses de etanol. Entretanto, os mecanismos neurobiológicos relacionados com estes resultados não estão claros. As medidas comportamentais realizadas podem ser relacionadas umas com as outras, mas não refletem, necessariamente, os mesmos mecanismos fisiológicos. Baseado nestas hipóteses, uma melhor compreensão da neurodinâmica do cérebro deve ser feita, considerando as oscilações causadas por subtipos de receptores e, como estes são recrutados, conforme o tratamento ou as condições do ambiente onde vivem os animais.

5. Conclusões

Os dados experimentais mostram que o exercício de natação melhora a memória espacial e atividade exploratória em camundongos, não sendo observadas estas respostas comportamentais quando os animais sofrem a retirada do tratamento crônico com etanol. Portanto, o álcool e o exercício físico são capazes de modular os mecanismos neurais relacionados com memória espacial e atividade exploratória, mas sua neuroquímica ainda permanece desconhecida, havendo à necessidade do desenvolvimento de outras pesquisas para desvendar estes paradigmas comportamentais.

6. Agradecimentos

Ao programa PIBIC/CNPq/FURB.

7. Referências

1. Alaei H, Moloudi R, Sarkaki AR, Azzi-Malekabadi H, Hanninen O. Daily running promotes spatial learning and memory in rats. *Pathophysiology* 2007; 14(2):105-108.
2. Alaei H, Moloudi R, Sarkaki AR. Effects of treadmill running on mid-term memory and swim speed in the rat with Morris water maze test. *Journal of Bodywork and Movement Therapies* 2008; 12(1):72-75
3. Fordyce DE, Wehner JM. Physical activity enhances spatial learning performance with an associated alteration in hippocampal protein kinase C activity in C57BL/6 and DBA/2 mice. *Brain Research* 1993; 619(1-2):111-119
4. Clark PJ, Brzezinska WJ, Thomas MW, Ryzhenko NA, Toshkov SA, Rhodes JS. Intact neurogenesis is required for benefits of exercise on spatial memory but not motor performance or contextual fear conditioning in C57BL/6J mice. *Neuroscience* 2008; 155(5):1048-1058

5. Radak Z, Told A, Szabo Z, Siamilis S, Nyakas C, Silye G, Jakus J, Goto S. The effects of training and detraining on memory, neurotrophins and oxidative stress markers in rat brain. *Neurochemistry International* 2006; 49(4):387-392.
6. Huang AM, Jen CJ, Chen HF, Yu L, Kuo YM, Chen HI. Compulsive exercise acutely upregulates rat hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *Journal of Neural Transmission* 2006; 113(7):803-811.
7. Isaacs KR, Anderson BJ, Alcantara AA, Black JE, Greenough WT. Exercise and the brain: angiogenesis in the adult rat cerebellum after vigorous physical activity and motor skill learning. *Journal Cerebral Blood Flow & Metabolism* 1992; 12(1):110-119
8. Arida RM, Scorza CA, Da Silva AV, Scorza FA, Cavalheiro EA. Differential effects of spontaneous versus forced exercise in rats on the staining of parvalbumin-positive neurons in the hippocampal formation. *Neuroscience Letters* 2004; 364(1):135-138.
9. Alaei H, Borjeian L, Azizi M, Orian S, Pourshanazari A, Hanninen O. Treadmill running reverses retention deficit induced by morphine. *European Journal of Pharmacology* 2006; 536(1-2):138-141.
10. Thomas JD, Sather TM, Whinery L. A. Voluntary exercise influences behavioral development in rats exposed to alcohol during neonatal brain growth spurt. *Behavioral Neuroscience* 2008; 122(6):1264-1273
11. Mollenauer S, Bryson R, Speck C, Chamberlin JR. Voluntary wheel running reduced the effects of acute ethanol on activity and avoidance in C57BL/6J mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1991; 39(3):821-824.
12. Boehm SL, Ponomarev I, Jennings AW, Whiting PJ, Rosahl TW, Garrett EM, Blednov YA, Harris RA. Gamma-aminobutyric acid A receptor subunit mutant mice: new perspectives on alcohol actions. *Biochemical Pharmacology* 2004; 68(8):1581-1602.
13. Ang ET, Dawe GS, Wong PT, Moochhala S, Ng YK. Alterations in spatial learning and memory after forced exercise. *Brain Research* 2006; 1113(1):186-193.
14. Garcia-Moreno LM, Conejo NM, Capilla A, García-Sánchez O, Senderek K, Arias J L. Chronic ethanol intake and object recognition in young and adult rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2002; 26(5):831-837.
15. Matthews DB, Simson PE, Best PJ. Ethanol alters spatial processing of hippocampal place cells: a mechanism for impaired navigation when intoxicated. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 1996; 20(1):404-407.
16. Ryabinin AE, Miller MN, Durrant S. Effects of acute alcohol administration on object recognition learning in C57BL/6J mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2002; 71(1-2):307-312.
17. Lukoyanov NV, Madeira MD, Paula-Barbosa MM. Behavioral and neuroanatomical consequences of chronic ethanol intake and withdrawal. *Physiology & Behavior* 1999; 66(1):337-346.
18. Matthews DB, Morrow AL. Effects of acute and chronic ethanol exposure on spatial cognitive processing and hippocampal function in the rat. *Hippocampus* 2000; 10(1):122-133.
19. Ennaceur A, Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. I: Behavioral data. *Behavioural Brain Research* 1988; 31(1):47-59.
20. Ennaceur A, Meliani K. Effects of physostigmine and scopolamine on rats performance in object recognition and radial-maze test. *Psychopharmacology* 1992; 109(1):321-330
21. Sarnyai Z, Sibille EL, Pavlides C, Fenster RJ, McEwen BS, Toth M. Impaired hippocampal-dependent learning and functional abnormalities in the hippocampus in mice lacking serotonin (1A) receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 2000; 97(26):14731-14736.
22. Getachew B, Hauser SR, Taylor RE, Tizabi Y. Desipramine blocks alcohol-induced anxiety and depressive-like behaviors in two rat strains. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2008; 91(1):97-103.
23. Cruz JGP, Dal Magro DD, Cruz JN, Roecker R. Efeitos da administração aguda de etanol sobre a aprendizagem no reconhecimento de objetos em camundongos nadadores. *Revista Eletrônica de Farmácia* 2009; 6(2):123-138.
24. Magarinos AM, McEwen BS, Flugge G, Fuchs E. Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews. *Journal of Neuroscience* 1996; 16(10):3534-3540.
25. Gould E, Tanapat P, McEwen BS, Flugge G, Fuchs E. Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1998; 95(6):3168-3171.
26. Leasure JL, Jones M. Forced and voluntary exercise differentially affect brain and behavior. *Neuroscience* 2008; 156(3):456-465.
27. Alex KD, Pehek EA. Pharmacologic mechanisms of serotonergic regulation of dopamine neurotransmission. *Pharmacology & Therapeutics* 2007; 113(2):296-320.
28. Chojnacka-Wojcik E. Involvement of dopamine autoreceptors in the hypoactivity induced by 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) in mice. *Polish Journal of Pharmacology and Pharmacy* 1992; 44(2):135-146.
29. Rhodes JS, Garland T. Differential sensitivity to acute administration of ritalin, apomorphine, SHC 23390, but not raclopride in mice selectively bred for hyperactive wheel-running behavior. *Psychopharmacology* 2003; 167(3):242-250.