

DENEY HAYVANLARINDA ANKSİYETE MODELLERİ VE ANKSİYETENİN DEĞERLENDİRİLMESİ Anxiety Models in Experimental Animals and Evaluation of Anxiety

Ayşegül KÜÇÜK¹, Asuman GÖLGELİ²

Özet : Anksiyete çok farklı duyguları ve semptomları içeren emosyonel bir durumdur. Anksiyetenin 2 tipi vardır. Birincisi; bir olayla ilişkili olarak kişinin kendi kontrolü dışında, belirli bir süre ve şiddette ortaya çıkan ve fizyolojik koşullarda beklenen bir yanıt, ikincisi ise süresi ya da şiddeti bakımından uygun olmayan ve fizyolojik koşullarda beklenmeyen bir yanıt şeklinde gelişebilir. Anksiyete çalışmalarında kullanılmak üzere deney hayvanlarında anksiyete oluşturmak ve anksiyeteyi veya anksiyete üzerinde çeşili ilaçların önleyici ya da tedavi edici etkisini araştırmak için çeşitli düzenekler ve testler geliştirilmiştir. Bunlar; yeni bir çevre uygulanmasına bağlı anksiyete oluşturma ve değerlendirme yöntemleri olan yükseltilmiş artı labirent ve deriveleri, yükseltilmiş T-labirent, açık alan, merdiven, sosyal izolasyon, yeni çevrenin beslenmeyi baskılaması, sosyal etkileşim, delikli kutu, yabancı bir kokuya maruz bırakma, ödüllendirme-cezalandırma uygulamasına dayanan şartlı zıtlama testleri ve cezalandırma uygulamasına dayanan savunmaya yönelik gömme, pasif sakınma, ayak şoku verme, sıcak tabaka, dört tabaka testleridir. Bu derlemede farklı koşullarda anksiyetenin oluşması ya da anksiyete tedavisinde kullanılacak ilaçların değerlendirilmesi amacı ile literatürde kullanılan deney hayvanı anksiyete modelleri ve bu modellerde anksiyeteyi değerlendirme yöntemleri bir arada verilerek, yöntemler arasında bir kıyaslama yapma imkanı sunulması amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Anksiyete, anksiyete modelleri, hayvan davranışı

Summary : Anxiety is an emotional state of different feelings and symptoms. There are 2 types of anxiety: First one is a physiologically expected response, which occurs at a particular time and severity in an uncontrolled manner. Second one is a physiologically unexpected response, which occurs at an inappropriate time and severity. Several tests and equipments have been developed to form anxiety on experimental animals and to make investigations on anxiety or the prognostic or diagnostic effects of anxiety-related drugs. These are the methods for establishing and evaluating anxiety models in a new environment, such as elevated plus maze and derives, elevated T-maze, open field, staircase test, social isolation, novelty suppressed feeding, social interaction, holeboard, predatory odor; operant conflict tests for reward-punishment applications; and experiments with punishment procedures such as defensive burying, passive avoidance, foot shock, hot plate and four plate tests. These review, aimed to give all the methods on the anxiety models used in the literature for establishing anxiety and evaluating the effects of anxiety-related drugs and to compare these methods.

Key words: Anxiety, anxiety models, animal behavior

¹ Araş.Gör.Erciyes Ün.Sağlık Bil.Ens.Fizyoloji AD, Kayseri
² Prof.Dr.Erciyes Ün.Tıp.Fak.Fizyoloji AD, Kayseri

Anksiyete, içten ya da dıştan kaynaklanabilecek tehlike beklentisi ile duyulan endişe ve korku duygusudur. Anksiyete duygusu, yaralanma, hastalık ve ölümden kaçış reaksiyonudur. Yaklaşan tehlikeyi

haber vererek sinir sisteminin tüm birimlerini (merkezi ve periferik sinir sistemi, otonom sinir sistemi) ve endokrin sistemi en üst düzeyde uyarır, harekete geçirir dolayısıyla kişiye kendini koruma fırsatını vermeye yöneliktir. Anksiyete bir semptom olarak birçok mental hastalıkta karşılaştığımız bir belirtidir. Bu belirtiler çoğu kez temporolimbik-hipotalamo-hipofizer-adrenal aksın uyarılarak harekete geçirilmesi sonucu ortaya çıkarlar. Böylece, merkezi ve periferik sinir sistemi ile otonom sinir sistemi ve nöro-psikoendokrin sistem bir bütün olarak, kendine yönelen tehdide karşı savunma ve de saldırı durumuna geçmiş olur. Bu sistemlerin harekete geçişinde noradrenalin, serotonin, GABA vb. birçok nörotransmitter rol oynar (1,2).

Anksiyete farklı şekillerde oluşabilir. Bir olayla ilişkili olarak; kişinin kendi kontrolü dışında kısa süreli hoşnutsuzluk, mutsuzluk veya korku ile karakterize bir deneyim şeklinde veya çok yoğun stres altındaki sağlıklı bireylerde gözlenen artmış kas gerginliği, önemsiz ağrıların büyük rahatsızlık yaratması, irritabilite, üzüntü şeklinde ve fizyolojik koşullarda beklenen düzeyde bir yanıt olarak gözlenebileceği gibi belirli bir uyarana karşı, süresi ve şiddeti bakımından uygun olmayan endişe, korku şeklinde de gözlenebilir. (1).

Anksiyete modelleri anksiyete ve panik davranışların altında yatan etki mekanizmalarını araştırmada olduğu kadar, yeni ilaçların anksiyolitik ve antipanik etkilerinin araştırılmasında da kullanılmaktadır. Literatürde çok çeşitli hayvan anksiyete modeli bulunmaktadır (3,4). Ancak insandaki anksiyete durumunu tam olarak yansıtan bir model mümkün değildir. Buna karşın deney hayvanlarında farklı çevre koşulları ile insanlardaki anksiyeteye benzeyen değişiklikler meydana getirilebilir ve ilaçların anksiyolitik etkileri bu deneysel modellerle incelenebilir. Anksiyete benzeri değişiklikleri meydana getiren koşullar 3'e ayrılır: yeni bir çevre, ödüllendirme-cezalandırma ve cezalandırma uygulamaları. Bu koşullar beyinde davranışsal inhibisyon sistemini aktivite ederek hayvanların sürdürdüğü yeme, içme gibi davranışlarını baskılar (5).

Bu derlemede; yukarıda bildirilen koşullara bağlı kalarak anksiyete oluşturma yöntemleri ve oluşan anksiyeteyi değerlendirmede kullanılan testler sunulmuştur.

A. Yeni Bir Çevre Uygulanmasına Bağlı Anksiyete Oluşturma ve Değerlendirme Testleri

A.1. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (Elevated Plus Maze Test) ve Deriveleri: 1985 yılında File ve arkadaşları (6) tarafından tanımlanan, kişisel bir modeldir. Emosyonel aktiviteyi test ederek ilaçların davranışsal, fizyolojik ve farmakolojik etkilerini araştırmak için kullanılır (7-11,12). Yerden belli bir yükseklikte iki açık ve iki kapalı kolu olan artı şeklinde bir deney düzeneğidir. Farklı ebatlarda hazırlanarak fare ve sıçanlar için kullanılabilir (10,11). Kapalı kola konulan hayvanın açık kola girmesi için geçen süre ve bu kolda kalış süresini değerlendirmek için kullanılır. Anksiyolitik ajanların bu iki süreyi artırdığı, anksiyojenik ajanların ise azalttığı bulunmuştur (13-16). Yükseltilmiş artı labirent testindeki performans mevsimsel değişikliklere bağlıdır ve bu konu çalışmalar sırasında dikkate alınmalıdır. Yükseltilmiş artı labirent düzeneğinin Y-maze ve O-maze gibi çeşitli deriveleri de çalışmalarda kullanılmaktadır (17,18).

A.2. Yükseltilmiş T-labirent (Elevated T-maze) Testi: 1993 yılında Graeff ve arkadaşları (19) tarafından yükseltilmiş artı ya da X-labirentin bir derivativesi olarak düzenlenmiştir. Fare ve sıçan için farklı ebatlarda ve pleksiglastan hazırlanan, yerden belirli bir yükseklikteki, 3 kollu bir deney düzeneğidir (20-25). Aynı hayvanda hem şartlı korku (conditioned fear) hem de şartsız korku (unconditioned fear) cevaplarının elde edilmesi için kullanılabilir. Öğrenilmiş korkuyu yansıtan şartlı sakınma cevapları (inhibitory avoidance), ardışık her 3 denemede hayvanın kapalı kolu terk etmesi için geçen süreler ile, şartsız korkuyu yansıtan kaçma cevabı ise, açık kolu terk etmesi için geçen süre ile değerlendirilir. Şartlı sakınma cevabının anksiyete bozukluğu ile, kaçma cevabının ise panik bozukluklarla ilişkili olduğu ileri sürülmektedir. Aynı düzende tekrarlayan denemelerle emosyonel öğrenme ve kısa süreli hafızanın değerlendirilmesi de yapılabilir (21,22,26-32).

A.3. Açık Alan (Open Field Area) Testi: Deney hayvanının herhangi bir işlem öncesi duygusal durumunu ve işlem sonrasında meydana gelebilecek değişiklikleri saptamak için en çok kullanılan testlerden biridir (33-35). Aynı zamanda anksiyeteye bağlı gelişen duyguların, lokomotor aktivite ve sedasyonun tespitinde de kullanılabilen bir testtir (34,36). Daire, kare, dikdörtgen şeklinde ve ortamı ışıklandırılmış, tünel, platform ve kolonlar ile zenginleştirilmiş olan çok değişik formları vardır (4,31,32,36-39). İlk olarak 1934 yılında hayvanların emosyonel durumlarını test etmek için Hall ve arkadaşları (40) tarafından daire tabanlı olanı tanımlanmıştır. Daha sonra 1971 yılında Soubrie (41) kare şeklinde olanını geliştirmiştir. Fare, domuz, koyun, tavşan, kedi, eşek, primatlar, piliç, arı ve istakoz olmak üzere çok çeşitli türlere uygulanabilme kolaylığı sağlar (33,34). Hayvanın türüne göre farklı ebatlarda hazırlanan, tabanı çizgilerle bölmelere ayrılmış, etrafı duvarlarla çevrili, üstü açık pleksiglastan yapılmış bir kutudur (4,34,36-44). Açık alana bırakılan hayvanda anksiyete davranışı hayvanın kendi ortamından alınıp tek başına bilmediği bir ortama bırakılması ve agorofobi dediğimiz geniş alan korkusu olmak üzere iki faktör tarafından tetiklenir. Çünkü açık ve geniş ortam kemirgenlerde sıkıntı yaratan bir durumdur (34). Test sırasında hayvanın açık alanda bırakılma süresi 2-20 dakika arasında değişmekle birlikte genellikle 5 dakikadır. Bu süre içerisinde hayvanın horizontal düzlemdeki hareketleri (bir kareden diğerine geçiş), vertikal düzlemdeki hareketleri (arka ekstremiteleri üzerinde yükselme), kaşınma davranışı ve defekasyon sayısı tespit edilir. Locomotor aktivite çizgi geçme sayısı ile, çevreyi keşfetme davranışı ise arka ekstremiteleri üzerinde yükselme sayısı ile doğru orantılıdır. Kaşınma ve defekasyon sayısı otonom fonksiyonların göstergesi sayılır (34). Kaşınma davranışındaki artış hayvandaki stereotipik aktivite ile ilişkilidir. Artmış stereotipik aktivite deney hayvanının anksiyetesi hakkında dolaylı olarak fikir verebilir ancak doğrudan anksiyete değerlendirilmesinde kullanılamaz (45). Açık alan düzeneğindeki hayvanın kenarlarda mı yoksa merkezde mi daha fazla gezdiği önemlidir. Alıştığı ortamın dışına alınan hayvan alanın ortasına gitmekten kaçınacak, daha az hareket edecek,

daha fazla defekasyon yapacaktır. Fare ve sıçanların duvara yakın kısımlarda vakit geçirme isteği 'thigmotaxis' olarak isimlendirilir (34,36).

A.4. Merdiven Testi (Staircase Test): Anksiyolitik aktiviteyi ölçmek için kullanılan hızlı ve kolay bir yöntemdir. Etrafı duvarlarla çevrili, üstü açık, beş basamaktan oluşan bir merdivende yapılır. Ortama bırakılan deney hayvanının çıktığı basamak sayısını arttıran ilaçlar anksiyolitik, vertikal düzlemde arka ekstremiteleri üzerinde yaptığı hareketlerin sayısını azaltan ilaçlar da sedatif etkili olarak kabul edilmiştir (46,47).

A.5. Sosyal İzolasyon Testi (Social Isolation Test): Annesinden ayrılmış 10 günlük yavru sıçanların çıkardığı ve insanların duyamadığı ultrasonik çığlıkların, sıklık ve şiddetinin ultrasonik titreşimlere duyarlı bir mikrofonla kaydedilmesi esasına dayanır. Bu çığlıklar doğumdan aşağı yukarı 14 gün sonra gözler açılınca kaybolur. Benzodiazepinlerin lokomotor aktiviteyi bozmayan dozlarda çığlıkların sayısını seçici olarak azalttıkları, anksiyojenik maddelerin ise artırdığı bulunmuştur (48).

A.6. Yeni Çevrenin Beslenmeyi Baskılaması (Novelty Supressed Feeding): Kırk sekiz saat gibi uzun bir süre aç bırakılan hayvanın kendi kafesinden başka bir kafese alınması sonucu tükettiği yem miktarının tesbiti yapılır. Yeniden kendi ortamına alınan hayvana aynı yem verilerek hayvanın yemi yemesi için geçen süre kaydedilir. Kendi ortamında olan hayvanın 48 saat sonunda önüne konulan yemi 1 dakikadan az bir sürede tükettiği, farklı ortama alınan hayvanın ise 4-5 dakikada tükettiği bulunmuştur (49).

A.7. Sosyal Etkileşim Testi (Social Interaction Test): Ağırlıklarına ve cinsiyetlerine göre gruplandırılan hayvanların çiftler halinde önce kendi ortamlarında daha sonra farklı bir ortamda tutulup, bu ortamlardaki partneri ile uyumu, takip etme, kaşınma, kavga etme gibi davranışlarının gözlenmesi esasına dayanır (50-52). Sosyal etkileşim testinin hayvanlarda davranış, psikolojik durum ve anksiyolitiklerin etkilerinin araştırılmasında erkek sıçanlar için uygun olduğu, dişi sıçanlar ve fareler için uygun olmadığı bildirilmiştir. Dişi sıçanlar için uygun olmayışı, dişilerin test alanına uyum sağlamada güçlük çekme-

si şeklinde (48) fareler için uygun olmayışı da farelerin sıçanlara göre daha agresif olması ile açıklanmıştır (47,53).

A.8. Delikli Kutu Testi (Holeboard Test): Zemini 2.2 cm çapında, 16 delikten oluşan bir düzendir. Hayvanlar 30 dakika boyunca düzeneğin orta kısmına bırakılarak, buldukları yeri tanımları sağlanır. Uyum döneminden sonra kutuda kat ettikleri yol, arka ekstremiteleri üzerinde yükselmeleri ve ziyaret ettikleri delik sayısı kaydedilir ve açık alan testinde bildirilen temel prensibe göre değerlendirilir (54).

A.9. Yabancı Kokuya Maruz Bırakma (Predatory Odor): Savunma davranışı ve anksiyetenin nöronal ve davranışsal yönünü açıklamada kullanılan geçerli bir yöntemdir (55). Hayvanda herhangi bir ağrıya neden olmadan emosyonel durumu değiştirir (56). Kedi idrarı, kedi dışkı, kedi tüyü, kedi kıyafeti (57) ya da doğrudan kedinin kendisi ile (56) karşı karşıya kalan sıçanda meydana gelen korku hayvanın doğuştan kazandığı bir duygudur (58), sıçanlarda şartsız korku modeli oluşturmada kullanılır (57). Bu tür bir uygulama özellikle doğal stresörlere karşı davranışsal ve nöroendokrin cevabın tesbiti için uygundur. Kedinin kendisiyle ya da kokusuyla 5 dakika gibi kısa süreli karşılaşma hipotalamo-pitüter adrenal aksı (HPA) aktive eder ve plazma kortikosteron seviyesini artırır. Kedi kokusuna maruz bırakılan sıçan vb. hayvanın kediyeye sürülen bezi ya da kedinin kıyafetini koklama sayısını, beze ya da kıyafete yakınlığını, ona dokunmasını ve kaşınma davranışlarını değerlendirmek için kullanılır (60).

B. Ödüllendirme-Cezalandırma Uygulamasına Dayanan Anksiyete Oluşturma ve Değerlendirme Testleri

B.1.Şartlı Zıtlaşma Testi (Operant Conflict Test): Literatürde çok farklı araştırmalarda kullanılan bir yöntem olup, su ve yem vererek ödüllendirme ya da ayak şoku vererek cezalandırma ilkesine dayanır (61). Operant Zıtlaşma testinin, çok zaman alması, su ve yiyecek tüketiminin hayvanın motivasyonuna bağlı olması gibi birtakım sakıncaları vardır. Buna karşın ilaçların antianksiyete etkilerinin tanımlanmasında kullanılan yegane testtir. Aslında şartlı zıtlaşma testi Masserman ve Yum

(1946) (62) tarafından geliştirilen sakinme testinin esasına dayanır, fakat şartlı konfigürasyon ilk olarak 1960 yılında Geller ve Seifter (63) tarafından tanımlanmıştır.

B.1.1.Geller Seifter Zıtlaşma Testi (Geller Seifter Conflict Test): Cezalandırma esasına dayanır (25,63). Deneyin ilk döneminde özel bir kafes içine konulup, bir süre aç ve susuz bırakılan hayvan, kafesteki pedala basınca şekerli su verilerek arada bir ödüllendirilir. Ödüllendirilen basışlar arasında kalan ödüllendirilmemiş basışların sayısı sabit değildir. Bu dönemde hayvanın pedala kaç kez bastığı kaydedilir. Sonra ödüllendirme cezalandırma dönemine geçilir. Bu dönemde her pedala basışta ödüllendirme yapılırken aynı anda hayvanın ayağına elektroşok uygulanarak cezalandırma yapılır. Ancak ses veya ışık uyarısıyla cezalandırma dönemine geçildiği belirtilir. Cezalandırma döneminde pedala basış sayısı düşer. Bu test ilaçların anksiyolitik vb. etkilerinin araştırılması için kullanılan uygun bir yöntemdir (5).

B.1.2.Vogel Zıtlaşma Testi (Vogel Conflict Test): Şartlı zıtlaşma testinin modifiye şeklidir. 1971'de Vogel ve arkadaşları (64) tarafından tanımlanmıştır. Esas olarak Geller Seifter testine benzer, ancak Vogel testinde elektriksel uyarı belirli aralıklarla hayvan su içerken verilir (46). Bu testin çeşitli modifikasyonları mevcuttur. 24 saat susuz bırakılan sıçanların 5 dakika su almasına izin verilir, daha sonra su kabını her 21. yalamada ayaktan elektriksel şok uygulanır. Toplam test süresi 3 dakikadır. Bu süre içinde hayvanların aldıkları şok sayılır Vogel konflikt testi potansiyel anksiyolitik ajanların etkilerinin araştırılmasında kullanılır. Fakat potansiyel sedasyon, ataksi gibi nonspesifik etkileri ölçmede yetersiz kalır (48).

C. Cezalandırma Uygulamasına Dayanan Anksiyete Oluşturma ve Değerlendirme Testleri

C.1. Savunmaya Yönelik Gömme Testi (Defensive Burying Test): Duvarlarla çevrili test apereyinin zeminine konulan yatak şeklindeki materyale elektriksel uyarı verilmesi ve deney hayvanının elektrik şoku alması gibi istenmeyen durumlarda, başını altına sokacak şekilde gömmesi esasına dayanır (25,46,65).

C.2. Pasif sakınma Testi (Passive Avoidance Test): Bu testte kullanılan düzeneğe iki bölmedir. Bölmelerden biri büyük, karanlık ve hayvana elektrik şoku uygulanmasına uygun şekilde tasarlanmış, diğeri küçük, aydınlık ve hayvanın elektrik şoku almadığı bölmedir. Küçük ve aydınlık bölmeye konulan hayvanın karanlık bölmeye geçmesi için geçen süre kaydedilir. 30 sn sonra işlem tekrarlanır. Eğer 2. kez aydınlık bölmeye konulan hayvan elektrik şoku alacağını anlayarak karanlık bölmeye geçmez ise olayı öğrenmiş kabul edilir (50,53).

C.3. Ayak Şoku Testi (Foot Shock Test): Hayvanların elektrik şokuna duyarlılığını test etmek için kullanılan bir yöntemdir. Deney düzeneği 49.5x31x34 cm ebatlarında, tabanı elektrik jeneratörüne bağlı ızgarayla kaplı bir kutudur. Kutunun içine konulan hayvanın her seferinde 0.5 sn süren; 0.5, 1, 2 ve 4 mA şiddetinde elektrik şoku alması sonucu verdiği tepkilerin test edilmesi esasına dayanır. Değerlendirilen parametreler sıçrama sayısı, ses çıkarma sayısı ve kaçma süresidir (50,53).

C.4. Sıcak Tabaka Testi (Hot Plate Test): Sıcak tabaka; ısı kaynağı, zamanlayıcı ve güç kaynağından oluşan, 27.5 x 22.5 cm ebatlarında, kare şeklinde bir düzeneğe ve ağrı eşiğinin saptanmasında kullanılır. Belirli bir süre bu düzeneğe konulan hayvanın, levhanın ısınması ile yalama, sıçrama gibi davranışları sayılır ve değerlendirilir. Her iki davranışın da supraspinal olarak tamamlanan tepkiler olduğu düşünülür. Testin duyarlılığı, sıcaklığın azaltılması ve ilk uyarılan davranışın reaksiyon zamanının ölçülmesi ile artırılabilir, reaksiyon zamanındaki değişiklik anksiyolitik etki için belirleyicidir (7,54).

C.5. Dört Tabaka Testi (Four Plate Test): Anksiyolitik ilaçların taranmasında kullanılan en kolay ve en hızlı cezalandırma yöntemlerinden biri olup, ilk olarak 1968 yılında Boissier ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (66). Zemini dört eşit parçaya bölünmüş düzeneğe içerisine bırakılan hayvana maksimum 0.5 sn süren 2 mA'lık elektrik şokları verilir ve bu süre içindeki bölme geçme sayısı belirlenir (50,53).

Anksiyeteyi test etmek için kullanılan hayvan anksiyete modelleri hayvanın açık alana ya da yüksek bir ortama konulması ile yeni bir çevre oluşturma, su ve yem vererek ödüllendirme ya da elektrik şoku uygulayarak cezalandırma şeklinde oluşturulabilir. Bu modeller anksiyete ve panik davranışların altında yatan etki mekanizmalarını araştırmada olduğu kadar, ilaçların anksiyolitik ve antipanik etkilerinin araştırılmasında, ayrıca tekrarlayan uygulamalar yapılarak öğrenme ve hafızanın test edilmesinde kullanılmaktadır.

Sunulan bilgiler ışığında (47,48,53) araştırmalarda kullanılacak deney hayvanının türüne ve cinsiyetine göre model seçilmesinin ve kullanılacak yöntemin, değerlendirilecek parametrenin araştırmanın amacına göre belirlenmesinin gerekliliğine dikkat edilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Eroğlu L. *Depresif hastalıkların biyokimyası prelinik çalışmalar (Affektif hastalıklar için deneysel modeller)*. Adam E. *Depresif Hastalıklar 1989*, ss 25-34.
2. Taneli B, Taneli T. *Anksiyetenin nöral mekanizmaları, I. Anksiyete sempozyumu, Dedeman Otel, Nevşehir 5-7 Haziran 1992*, ss 1-11
3. Küçük A. *Depresyon ve Anksiyete Modeli Oluşturulan Deney Hayvanlarında Yaş ve Cinsiyetin Davranış Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Ün. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, Temmuz 2001.*
4. Ohl F. *Testing for anxiety. Clinical Neuroscience Research 2003*, 3:233-238.
5. Kayaalp SO. *Tıbbi Farmakoloji. Cilt II (9. baskı), Feryal Matbaacılık, Ankara 2000*, ss 885-888.
6. Pellow S, Chopin P, File SE, et al. *Validation of open:closed arm entries in an elevated plus maze as a measure of anxiety in the rat. J. Neurosci Methods 1985*, 14:149-167.

7. Li XL, Aou S, Hori T, Oomura Y. Spatial memory deficit and emotional abnormality in QLETF rats. *Physiology&Behavior* 2002, 75:15-23.
8. Arendash GW, King DL, Gordon MN, Morgan D, Hatcher JM, et al. Progressive age related behavioral impairments in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin-1 transgenes. *Brain Research* 2001, 891:42-53.
9. Thorsell A, Caberlotto L, Rimondini R, Heilig M. Leptin suppression of hypothalamic NPY expression and feeding, but not amygdala NPY expression and experimental anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2002, 71:425-430.
10. Moragrega I, Carrasco MC, Vicens P, Redolat R. Spatial learning in male mice with different levels of aggressiveness: effect of housing conditions and nicotine administration. *Behavioural Brain Research* 2003, 147:1-8.
11. Carvajal CC, Vercauteren F, Dumant Y, Michalkiewicz M, Quirion R. Aged neuropeptide Y transgenic rats are resistant to acute stress but not maintain spatial and nonspatial learning. *Behavioural Brain Research* 2004, 153:471-480.
12. Rimondini R, Agren G, Borjesson S, Sommer W, Heilig M. Persistent behavioural and autonomic super sensitivity to stress following prenatal stress exposure in rats. *Behavioural Brain Research* 2003, 140: 75-80.
13. Rodgers RJ, Cao BJ, Dalvi A. Animal models of anxiety, an ethological perspective. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1997, 30:289-304.
14. Ferguson SA, Cada AM. Spatial learning/memory and social and nonsocial behaviors in the spontaneously hypertensive, Wistar-Kyoto and Sprague Dawley rat strains. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2004, 77:583-594.
15. Alcalay RN, Giladi E, Pick CG, Gozes I. Intranasal administration of NAP, a neuroprotective peptide, decreases anxiety-like behavior in aging mice in the elevated plus maze. *Neuroscience Letters* 2003, 1-4.
16. Ferguson GD, Herschman HR, Storm DR. Reduced anxiety and depression like behavior in synoptatagmin IV (-/-) mice. *Neuropharmacology* 2004, 47:604-611.
17. Arendash GW, King DL, Gordon MN, Morgan D, Hatcher JM, et al. Progressive age related behavioral impairments in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin-1 transgenes. *Brain Research* 2001, 891:42-53.
18. Vasconcellos APS, Tabajora AS, Ferrari C, Rocha E, Dalmaz C. Effects of chronic stress on spatial memory in rats is attenuated by lithium treatment. *Physiology&Behavior* 2003, 79:143-149.
19. Graeff FG, Viana MB, Tomaz C. The elevated T-maze; a new experimental model of anxiety and memory: effect of diazepam. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1993, 26:67-70.
20. Strauss CVA, Maisonnette SS, Coimbra NC, Zangrossi H. Effects of N-methyl D-aspartate induced amygdala lesion in rats submitted to the elevated T-maze test of anxiety. *Physiology&Behavior* 2003, 78:157-163.
21. Conde C, Costa V, Tomaz C. Effects of emotional reactivity on inhibitory avoidance in the elevated T-maze. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2000, 33:233-236.
22. Teixeira RC, Zangrossi H, Graeff FG. Behavioral effects of acute and chronic imipramine in the elevated T-maze model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2000, 65:571-576.

23. Poltronieri SC, Zangrossi H, Viana MB. Antipanic-like effect of serotonin reuptake inhibitors in the elevated T-maze. *Behavioural Brain Research* 2003, 147:185-192.
24. Carvalho-Netto EF, Nunes-de Souza RL. Use of the elevated T-maze to study anxiety in mice. *Behavioural Brain Research* 2004, 148:119-132.
25. Sena LM, Bueno C, Pobbe RLH, et al. The dorsal raphe nucleus exerts opposed control on generalized anxiety and panic-related defensive responses in rats. *Behavioural Brain Research* 2003, 142:125-133.
26. Erdoğan F, Gölgeci A, Arman F. The effects of pentylentetrazole-induced status epilepticus on behavior, emotional memory, and learning in rats. *Epilepsy&Behavior* 2004, 5:388-393.
27. Zangrossi H, Graeff FG. Behavioural validation of the elevated T-maze, a new animal model of anxiety. *Brain Research Bulletin* 1997, 44:1-5.
28. Jardim MC, Nogueira RL, Graeff FG, Nunes-de-Souza RL. Evaluation of the elevated T-maze as an animal model of anxiety in the mouse. *Brain Research Bulletin* 1999, 48:407-411.
29. Sanson LT, Corobrez AP. Long lasting inhibitory avoidance acquisition in rats submitted to the elevated T-maze model of anxiety. *Behavioral Brain Research* 1999, 101:59-64.
30. Graeff FG, Netto CF, Zangrossi H. The elevated T-maze as an experimental model of anxiety. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews* 1998, 23:237-246.
31. Zanoveli JM, Netto CF, Guimaraes FS, Zangrossi H. Systemic and intradorsal periaqueductal gray injections of cholecystokinin sulfated actapeptide (CCK-8S) induce a panic-like response in rats submitted to the elevated T-maze. *Peptides* 2004, 25:1935-1941.
32. Ramos A, Kangerski AL, Basso PF. Evolution of Lewis and SHR rat strains as a genetic model for the study of anxiety and pain. *Behavioral Brain Research* 2002, 129: 113-123.
33. Candland DK. The open field: some comparative data. *Annals New York Academy of Sciences* 1969, 159:831-851.
34. Prut I, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology* 2003, 463:3-33.
35. Phillips KM. Effects of time and administration of ethanol on open field behavior in hamsters. *Physiology & Behavior* 1982, 29: 785-787.
36. Lieben CKJ, Oorsouw K, Deutz NEP, Blokland A. Acute tryptophan depletion induced by a gelatin-based mixture impairs object memory but not affective behavior and spatial learning in the rat. *Behavioural Brain Research* 2004, 151:53-64.
37. Nowak G, Szewczyk B, Wieranska JM, Branski P, Palucha A, et al. Antidepressant like effects of acute and chronic treatment with zinc in forced swim test and olfactory bulbectomy model in rats. *Brain Research Bulletin* 2003, 61:159-164.
38. Medico M, Nicosia A, Grech M, et al. Riluzole restores motor activity in rats with post-traumatic peripheral neuropathy. *Neuroscience Letters* 2004, 358:37-40.

39. Shalev U, Kafkafi N. Repeated maternal separation does not alter sucrose-reinforced and open field behaviors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2002, 73:115-122.
40. C.S. Hall, Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity. *J Comp Physiol Psychol* 1936, 22: 345-352.
41. Soubrie P. Open field chez le rat: interrelations entre locomotion exploration et emotivite. *J. Pharmacol* 1971, 2: 457.
42. Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioural despair in rats, a new model sensitive to antidepressant treatment. *European Journal of Pharmacology* 1978, 47: 379-391.
43. Trauth JA, Seidler FJ, Slotkin TA. Persistent and delayed behavioral changes after nicotine treatment in adolescent rats. *Brain Research* 2000, 880:167-172.
44. Hidekazu M, Masaya H, Taneo F, Manabu A, Kiyofumi Y, et al. Dissociation of impairment between spatial memory and motor function and emotional behavior in aged rats. *Behavioural Brain Research* 1998, 91:73-81.
45. Binder E, Droste SK, Ohl F, Reul JM. Regular voluntary exercise reduces anxiety-related behavior and impulsiveness in mice. *Behavioral Brain Research* 2004, 155: 197-206.
46. Frye CA, Petralia SM, Rhodes ME. Estrous cycle and sex differences in performance on anxiety tasks coincide with increases in hippocampal progesterone and 3 α , 5 α -THP. *Pharmacology Biochemistry & Behavior* 2000, 67:587-596.
47. De Angelis L, File SE. Acute and chronic effects of three benzodiazepines in the social interaction anxiety test in mice. *Psychopharmacology* 1979, 64:127-129.
48. File SE. The use of social interaction as a method for detecting anxiolytic activity of chlordiazepoxide-like drugs. *Journal of Neuroscience Methods* 1980, 2: 219-238.
49. Commissaris RL, Fontana DJ. Pharmacological evaluation of potential animal models for the study of antipanic and panicogenic treatment effects. In: Boulton AA, Baker GB, Martin-Iverson MT. *Neuromethods: Animal models in Psychiatry II*, New Jersey 1991, pp 209.
50. Porsolt RD, Martin P, Fromage S, Lenegre A, Drieu K. Anti-stress effects of EGb 761 in rodent models. In: Christen Y, Costentin J, Lacour M, Effects of Ginkgo biloba extract (EGb 761) on the central nervous system, 1991, pp 135-145.
51. Tonissaar M, Philips M, Eller M, Harro J. Sociability trait and serotonin metabolism in the rat social interaction test. *Neuroscience Letters* 2004, 367:309-312.
52. Gurtman CG, Morley KC, Li KM, Hunt GE, McGregor IS. Increased anxiety in rats after 3,4-methylenedioxymethamphetamine: association with serotonin depletion. *European Journal of Pharmacology* 2002, 446:89-96.
53. Sanger DJ. Animal models of anxiety and the screening and development of novel anxiolytic drugs. In: Boulton AA, Baker GB, Martin-Iverson MT. *Neuromethods: Animal models in Psychiatry II*, New Jersey 1991, pp 150-186.
54. Van Gaalen MM, Steckler T. Behavioural analysis of four mouse strains in an anxiety test battery. *Behavioural Brain Research* 2000, 115:95-106.
55. Dielenberg RA, McGregor IS. Defensive behavior in rats towards predatory odors; a review. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews* 2001, 25:597-609.

56. Blanchard RJ, Yang M, Li C, Gervacio A, Blanchard DC. Cue and context conditioning of defensive behaviors to cat odor stimuli. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews* 2001, 25: 587-595.
57. Franke H, Kittner H. Morphological alterations of neurons and astrocytes and changes in emotional behavior in pentylenetetrazol-kindled rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2001, 70:291-303.
58. Lang PJ, Davis M, Öhman A. Fear and anxiety, animal models and human cognitive psychophysiology. *Journal of Affective Disorders* 2000, 61:137-159.
59. Dielenberg RA, Arnold JC, McGregor IS. Low-dose midazolam attenuates predatory odor avoidance in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1999, 62:197-201.
60. Sulev K, Anu P, Hendrik L, Vasar E. Cat odor exposure increases the expression of wolframin gene in the amygdaloid area of rat. *Neuroscience Letters* 2002, 322:116-120.
61. Schatzberg AF, Nemeroff CB. *The American Psychiatric Press. Textbook of Psychopharmacology, Animal models of anxiety disorders*, Koob GF, Heinrichs SC, Britton K, 2 nd ed, section 6,1998, 136-138.
62. Masserman JH, Yum KS. An analysis of the influence of alcoholism experimental neuroses in cats. *Psychosom Medical* 1946, 8:36-52.
63. Geller I, Seifler J. The effect of meprobamates, d-amphetamine and promazine an experimentally induced conflict in the rat. *Psychopharmacologia* 1960, 11:482-491.
64. Vogel JR, Beer B, Clody DE. A simple and reliable conflict procedure for testing anti-anxiety agents. *Psychopharmacologia* 1971, 21:1-7.
65. George FK, Stephen CH, Karen B. Animal models of anxiety disorders. In: Alan FS, Charles BN, *Textbook of Psychopharmacology* (2 nd ed), American Psychiatric Press, 1998, pp 133-141.
66. Boissier JR, Simon P, Aron C. A new method for the rapid screening of minor tranquilizers in mice. *Eur. J. Pharmacol* 1968, 4: 145-151.