

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YAŞ VE ANKSİYETENİN ÖĞRENME VE HAFIZA ÜZERİNE
ETKİLERİNİN SIÇANLARDA ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan
Ayşegül KÜÇÜK**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr.Asuman GÖLGELİ**

**Fizyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Mayıs 2006
KAYSERİ**

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YAŞ VE ANKSİYETENİN ÖĞRENME VE HAFIZA ÜZERİNE
ETKİLERİNİN SIÇANLARDA ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan
Ayşegül KÜÇÜK**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr.Asuman GÖLGELİ**

**Fizyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından SBY-04-12 nolu
proje ile desteklenmiştir**

**Mayıs 2006
KAYSERİ**

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Davranış, genler ve çevre arasındaki etkileşimin sonucudur. Dışardan gelen bir strese maruz kalan organizmada birçok davranışsal değişiklikler görülür. Bu değişiklikler anksiyetenin göstergesidir. Anksiyete bireyin günlük aktivitelerini değiştirebileceği gibi sinir sisteminin yüksek fonksiyonlarından biri olan öğrenme ve hafızayı da etkiler. Öğrenme kompleks bir olaydır ve fizyolojik koşullardaki değişikliklerden etkilenir. Bu nedenle organizmanın iç ve dış ortamını bozan stres endokrin sistem ve sinir sisteminde biyokimyasal ve fonksiyonel değişikliklere yol açar, bu da öğrenmeyi etkiler.

Son yıllarda öğrenme ve hafıza ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Ancak öğrenmenin beyni nasıl etkileyerek davranışı değiştirdiği, yeni bilginin nasıl kazanıldığı ve bir kere kazanıldıktan sonra nasıl korunduğu ile ilgili sorular halen netlik kazanmamıştır.

Çalışmamızda anksiyetenin ve yaşlanmanın emosyonel ve spasyal öğrenme üzerine etkisini araştırmayı amaçladık. Bu amaçla yükseltilmiş T-labirent düzeneği ve kedi dışkısı kullanarak anksiyete oluşturduk. Anksiyete oluşturduğumuz hayvanlara Moris yüzme testini ardışık günlerde ve gün içinde tekrarlayarak öğrenme performanslarını değerlendirdik. Ayrıca yükseltilmiş T-labirent düzeneğini kullanarak emosyonel öğrenmelerini test ettik. Bu testlerin öncesinde ve sonrasında açık alan düzeneğine aldığımız hayvanların lokomotor aktivite, emosyonel davranış ve otonom

fonksiyonlarını belirledik. Hayvanların hareketlerini gözlemleyerek elde ettiğimiz verileri, kanda kortikosteron (CORT) ve idrarda 5-Hidroksiindolasetik asit (5-HIAA) tayini yaparak karşılaştırdık.

Prof.Dr.Asuman GÖLGELİ danışmanlığında **Ayşegül KÜÇÜK** tarafından hazırlanan “**Yaş ve Anksiyetenin Öğrenme Ve Hafıza Üzerine Etkilerinin Sıçanlarda Araştırılması**” konulu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Fizyoloji** Anabilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

..../..../2006

(Tez savunma sınav tarihi yazılacak)

JÜRİ :

İmza

Üye :

Üye :

Üye :

Üye :

Üye :

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU

TEŞEKKÜR

Anabilimdalı olanaklarından bilimsel katkıları ile en iyi Őekilde yararlanmamı sağlayan Fiziyołoji Anabilim Dalı BaŐkanımız Sayın Prof.Dr.Sami AYDOĐAN'a,

ÇalıŐmamın her safhasında bilgi ve deneyimlerini aktaran danıŐman hocam Sayın Prof.Dr.Asuman GÖLGELİ'ye,

Gerek ders gerekse tez dőnemimde yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof.Dr.Cem SÜER, Prof.Dr.Nurcan DURSUN, Prof.Dr.Meral AŞÇIOĞLU, Prof.Dr.Bekir ÇOKSEVİM, Prof.Dr.Nazan DOLU'ya,

Uyum içinde çalışma ortamı sağlayan sevgili asistan arkadaşlarıma,

Tezimin biyokimyasal analizlerinde yol gösteren Sayın Prof.Dr.Nedret KOÇ ve Merkez Laboratuvarı çalıŐanlarına ve Sayın Uzm.Dr.Recep SARAYMEN'e ,

Deneyler süresince tüm olanaklarıyla, özverili yardımlarıyla yanımda olan DEKAM çalıŐanlarına,

Maddi-manevi desteklerini her zaman hissettiğim değerli aileme sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

YAŞ VE ANKSİYETENİN ÖĞRENME VE HAFIZA ÜZERİNE ETKİLERİNİN SIÇANLARDA ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Yaşın ve anksiyetenin davranış, öğrenme ve hafıza üzerine etkilerini araştırmayı planladığımız bu çalışmada anksiyete modellerinden yükseltilmiş T-labirent düzeneği ve kedi dışkısı kullanıldı. Anksiyete oluşturulan sıçanlarda spasyal öğrenmenin nasıl etkilendiği ise Moris su tankı kullanılarak test edildi. Tüm bu deneylerin öncesinde ve sonrasında açık alan düzeneğinde hayvanların lokomotor aktivite, keşifsel davranış ve otonom fonksiyonlarına bakıldı. Davranış deneylerinin başında ve sonunda metabolizma kafeslerinde bekletilen hayvanların 18 saat süresince idrarı toplanarak, 5-HIAA miktarı tesbit edildi. Tüm denemelerin sonrasında anestezi verilen hayvanın kanında CORT miktarı tayini yapıldı. Bu amaçla 20 adet kontrol ve 20 adet deney grubu olmak üzere toplam 40 adet Sprague Dawley cinsi genç ve yaşlı erkek sıçan kullanıldı.

Açık alan parametrelerinden defekasyon hariç çizgi geçme, arka ekstremiteleri üzerinde yükselme ve kaçınma sayısı ile oturma süresi stres sonrası hem genç hem de yaşlı sıçanlarda azaldı. Özellikle gençlerin yaşlılara göre stresten daha fazla etkilendiği, serotonin metaboliti olan 5-HIAA'nın azalması ve kanda CORT artması ile desteklendi.

Yükseltilmiş T-labirent düzeneğinin kapalı koluna koyarak şartlı korku, açık koluna koyarak şartsız korkularını test ettiğimiz sıçanların emosyonel öğrenmelerinin bozulmadığını, ancak yaşlanma ile birlikte kaçma cevaplarının uzayarak öğrenmenin zorlaştığını bulduk.

Moris yüzme testine aldığımız hayvanların tekrarlayan denemelerde platformun yerini bulmuş olması çevre ipuçlarını kullanmayı öğrendiğini, ancak deney ve kontrol grubunu birbirleri ile karşılaştırdığımızda deney grubu hayvanların daha uzun sürede platforma ulaşmış olması anksiyetenin spasyal öğrenmeyi zorlaştırdığını gösterdi.

Sonuç olarak yükseltilmiş T-labirent düzeneği ve kedi dışkısı uygulaması ile anksiyete oluşturduğumuz sıçanlarda, CORT ve 5-HIAA ölçümü ile desteklenen anksiyetenin, özellikle yaşlı sıçanlarda emosyonel ve spasyal öğrenmeyi bozmadığını ama güçleştirdiğini söyleyebiliriz.

Anahtar kelimeler: öğrenme-hafıza, anksiyete, yaş, 5-Hidroksiindolasetik asit, kortikosteron

INVESTIGATION REGARDING THE EFFECTS OF AGE AND ANXIETY ON LEARNING AND MEMORY IN RATS

ABSTRACT

This study aims to investigate the effects of age and anxiety on behavior, learning and memory in rats. Morris water maze was used to assess how spatial learning was affected on rats with anxiety. Before and after all these experiments, locomotor activity, exploratory activity and autonomic functions of the rats were tested in open field area. At the beginning and at the end of behavior tests, urines of those rats kept in metabolism cages for 18 hours were collected so as to determine 5-HIAA levels. Following these tests, rats were anesthetized and their serum CORT levels were analyzed. For this purpose 40 Sprague Dawley rats, 20 of which as experiment group and the remaining 20 as control group, were used.

Except for defecation, after anxiety, all parameters in open field such as line crossing, rearing, sitting and number of grooming were decreased in both young and aged animals. Having found out that the levels of 5-HIAA, which is a serotonin metabolite, were decreased and serum CORT were increased, it is supported that especially the aged rats were much more affected from anxiety compared to the young ones.

Elevated T-maze results show that emotional learning did not change while conditioned performance was tested in the closed arm and unconditioned performance was tested in the open arm. Nevertheless, it is observed that aging led to extensions in avoidance responses and thus caused difficulty in learning.

In Morris water maze test, rats showed higher performance in reaching the platform in repetitive trials; this demonstrates that they have learned by environmental cues. When comparing the control group with the experimental group, it is observed that experimental group had not better performance in reaching the platform, and this supports that anxiety affects spatial learning.

As a conclusion, it could be stated that especially in aged rats, anxiety that is created by elevated T maze and cat odor, and supported with 5-HIAA and serum CORT, causes difficulty in emotional and spatial learning.

Key words: learning-memory, anxiety, age, 5-Hydroxyindoleacetic acid, corticosterone

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	I
KABUL VE ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLO LİSTESİ	VIII
ŞEKİL LİSTESİ	IX
KISALTMALAR	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. ÖĞRENME VE HAFIZA	3
2.1.1. Öğrenme ve Öğrenme Tipleri.....	3
2.1.2. Hafıza ve Hafıza Tipleri	6
2.1.3. Hafıza ve Öğrenmeden Sorumlu Beyin Yapıları.....	9
2.1.4. Öğrenmenin Test Edilmesi (Moris Yüzme Testi)	11
2.2. ANKSİYETE VE ANKSİYETE MODELLERİ.....	12
2.2.1. Anksiyete.....	12
2.2.2. Anksiyete Modelleri	12
2.3. DAVRANIŞ-BEYİN İLİŞKİSİ.....	18
2.4. STRES VE STRES HORMONLARI.....	19
2.4.1. Stres	19
2.4.2. Stres Hormonları	19
2.4.2.1. Kortikosteron (CORT)	23
2.4.2.2. Serotonin (5-HT) ve 5-Hidroksiindolasetik Asit (5-HIAA)	23

	<u>Sayfa No</u>
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. DAVRANIŞ DENEYLERİ	28
3.1.1. Açık Alan Düzeneği (Open Field Area)	28
3.1.2. Yükseltilmiş T-labirent Düzeneği (Elevated T-maze).....	29
3.1.3. Moris Yüzme Testi (Morris Water Maze).....	30
3.1.4. Kedi Dışkısına (Cat Odor) Maruz Bırakma	32
3.2. BİYOKİMYASAL ANALİZLER.....	32
3.2.1. İdrarda 5-Hidroksiindolasetik Asit Tayini.....	32
3.2.2. Kanda Kortikosteron Tayini	33
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	35
4. BULGULAR	37
4.1. AÇIK ALAN PARAMETRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	37
4.2. YÜKSELTİLMİŞ T-LABİRENT PARAMETRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	43
4.3. MORİS YÜZME TEST PARAMETRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	46
4.4. 5-HİDROKSİİNDOLASETİK ASİT TAYİNİ.....	50
4.5. KORTİKOSTERON TAYİNİ	52
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	53
6. KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Tablo 3.1. Deney ve kontrol grubuna uygulanan testler ve günleri.	28
Tablo 4.1. Açık alan düzeneğinde 1. ve 6. günlerde sıçanların çizgi geçme sayısının ortalama ve standart sapma değerleri	38
Tablo 4.2. Açık alan düzeneğinde 1. ve 6. günlerde sıçanların arka ekstremiteleri üzerinde yükselme sayısının ortalama ve standart sapma değerleri	39
Tablo 4.3. Açık alan düzeneğinde 1. ve 6. günlerde sıçanların defekasyon sayısının ortalama ve standart sapma değerleri	41
Tablo 4.4. Açık alan düzeneğinde 1. ve 6. günlerde sıçanların kaşınma sayısının ortalama ve standart sapma değerleri	42
Tablo 4.5. Açık alan düzeneğinde 1. ve 6. günlerde sıçanların oturma süresinin ortalama ve standart sapma değerleri	43
Tablo 4.6. Yükseltilmiş T-labirent düzeneğinde sıçanların ortalama bazal ve sakınma süreleri ve standart sapma değerleri	44
Tablo 4.7. Yükseltilmiş T-labirent düzeneğinde sıçanların ortalama kaçma süreleri ve standart sapma değerleri	45
Tablo 4.8. Platformu bulmak için geçirilen toplam sürenin ortalama ve standart sapma değerleri	46
Tablo 4.9. Platformsuz yarı alanda geçirilen sürenin ortalama ve standart sapma değerleri	48
Tablo 4.10. Moris yüzme testine alınan sıçanların ortalama retansiyon süreleri ve standart sapma değerleri	50
Tablo 4.11. Deneyin 7. gününde grupların kortikosteron seviyelerinin ortalama ve standart sapma değerleri	52

ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Şekil 2.1. Öğrenme ve hafızadan sorumlu beyin yapıları	10
Şekil 2.2. Duygulara bağlı olarak ortaya çıkan tepkilerde rol alan beyin yapıları ve birbirleriyle bağlantıları.....	18
Şekil 2.3. Steroid hormon sentez yolu	22
Şekil 2.4. Serotonin biyosentezi ve metabolizması	24
Resim 3.1. Açık alan düzeneği	29
Resim 3.2. Yükseltilmiş T-labirent düzeneği	30
Resim 3.3. Moris su tankı	31
Resim 3.4. Metabolizma kafesi	33
Resim 3.5. Abdominal aortadan kan alma işlemi	34
Şekil 4.1. Açık alan düzeneğinde 1. ve 6. günlerde sıçanların çizgi geçme sayısının ortalama ve standart hata değerleri.....	39
Şekil 4.2. Açık alan düzeneğinde 1. ve 6. günlerde sıçanların arka ekstremiteleri üzerinde yükselme sayısının ortalama ve standart hata değerleri.....	40
Şekil 4.3. Yükseltilmiş T-labirent düzeneğinde sıçanların kaçma cevapları	45
Şekil 4.4. Moris yüzme testinde platformu bulmak için geçen toplam süre	47
Şekil 4.5. Moris yüzme testinde platformsuz yarı alanda geçirilen süre.....	49
Şekil 4.6. Moris yüzme testi uygulanan sıçanların retansiyon süreleri.....	49
Şekil 4.7. 5-Hidroksiindolasetik asit standart eğrisi	51
Şekil 4.8. 5-Hidroksiindolasetik asit ortalama ve standart hata değerleri.....	51
Şekil 4.9. Kortikosteron standart eğrisi	52

KISALTMALAR

ACTH	: Adreno-kortikotropik hormon
BS	: Bazal süre
CORT	: Kortikosteron
CRH	: Kortikotropin–salgılatıcı hormon
GABA	: Gama aminobutirik asit
5-HTTP	: 5-Hidroksitriptofan
5-HT	: 5-Hidroksitriptamin, serotonin
5-HIAA	: 5-Hidroksiindolasetik asit
HPA	: Hipotalamo-pitüter adrenal aks
HPLC	: High performance liquid chromatography
MAO	: Monoamin oksidaz
MYT	: Moris yüzme testi
S1	: Sakınma 1 süresi
S2	: Sakınma 2 süresi

2. GENEL BİLGİLER

Deney hayvanlarında anksiyete oluşturan, davranış parametrelerini değerlendiren çok çeşitli yöntemler vardır. Bu yöntemlerin bir çoğu ile aynı zamanda öğrenme ve hafıza fonksiyonları da değerlendirilir. Öğrenme deneylerinde sıçan, fare, maymun, tavşan, civciv, salyangoz gibi hayvanlar kullanılır. Bu deneylerde kullanılan hayvanın türü, yaşı, fizyolojik gereksinimlerini karşılama biçimi ve düzeyi, hayvanın geçmişi, bioritmi öğrenme deneylerinin sonuçlarını etkileyen parametrelerdir. Öğrenme deneylerinde hayvanın beklenen davranışı gösterebilmesi için çeşitli uyaranlar uygulanarak, hayvanın uyararı öğrenmesi sağlanır. Bu amaçla kullanılan uyaranların en önemlileri; açık alan, yükseklik, ağırlı uyaran, zorunlu yönlendirme, kötü koku, kötü tat, görsel uyaran ve işitsel uyarandır (1). Bu uyaranların herbiri hayvan için bir stres faktörüdür. Stres insanda olduğu gibi hayvanda da davranışsal, otonomik ve hormonal fonksiyonlarda uzun süreli değişikliklere neden olur (2).

2.1. ÖĞRENME VE HAFIZA

2.1.1. Öğrenme ve Öğrenme Tipleri

Beynin informasyonları alımı ve bunların nöral ağlarda işlenmesi öğrenme, bilginin depolanabilmesi ve yeniden kullanılabilme yeteneği hafıza olarak tanımlanır. Öğrenme deneyime bağlı davranış modellerinin değiştirilmesini içerir. Bu nedenle öğrenme ve hafıza bireyselliğin temelini oluşturur (3).

Öğrenme yalnızca bilgi edinme demek değildir. Dil öğrenme, matematik ya da tarih bilgisi edinme gibi bilgilenmelerin yanı sıra yüzme, gitar çalma, otomobil kullanma gibi bedensel beceriler kazanma, bazı şeylerden hoşlanma, bazılarında da hoşlanmama, toplumsal tutum ve değerleri kazanma gibi çeşitli düşünsel, duygusal ve sosyal davranışlarda oluşan kazanılmış değişiklikler öğrenme kapsamında değerlendirilir (4).

Öğrenme - hafıza sinir sisteminin yüksek fonksiyonlarından biri olarak bilinir. Pek çok nörolog öğrenmeyi nöronların esnekliği olarak adlandırılan genel fenomenlerin özel bir durumu ya da nöronların yapı ve fonksiyonlarını değiştirebilme yeteneği olarak açıklar. Öğrenme ve hafıza ile ilgili nöronal değişimler sinaps düzeyinde oluşur. Öğrenme üzerindeki birçok araştırma, öğrenmede rol alan nöronal bağlardaki sinaptik değişimlerin temel mekanizmasını oluşturan biyokimyasal olayların açıklığa kavuşturulması konusuna odaklanır (5).

Öğrenme merkezi sinir sisteminde nörokimyasal değişikliklere neden olur. Hafıza deposunun hücresel çalışmalarındaki ilerlemeler ise öğrenmenin daha basit formları olan habitüasyon, sensitizasyon ve klasik şartlanmanın incelenmesiyle başlamıştır. Bu öğrenme tiplerinin hepsi de duyuşal nörondaki nörokimyasal bir değişikliğin sonucudur (6).

Genel olarak iki tür öğrenmeden söz edilir (3).

1. Nonassosiatif öğrenme: Bu öğrenmede öğrenilen olay veya informasyonların birbiriyle ilişkisi gerekli değildir.

a) Habitüasyon (alışkanlık): Uyarının önem taşımadığı bir öğrenme şeklidir. Ağrı vermeyen herhangi bir uyarının uzun süreli tekrarlanmasıyla cevap giderek azalır.

b) Sensitizasyon (duyarlılık): Uyarının kendisi önemlidir. Birey ağrı verici uyarılara karşı daha çabuk cevap vermeyi öğrenir.

2. Assosiyatif öğrenme: İki farklı uyarın arasındaki ilişki öğrenilir. Assosiyasyon kortekslerinin bu işlevde önemli görev yaptığı kabul edilir.

a) Klasik koşullanma: Sensitizasyondan daha karmaşık bir öğrenme türüdür. Şartlı uyarınla şartsız uyarın eşleştirilir ve şartlı uyarın cevap oluşturmada daha güçlü hale gelir. Klasik şartlanmada şartlı ve şartsız uyarının zamanlaması kritiktir. Şartlı uyarın mutlaka şartsız uyarından önce gelmelidir. Bu süre ortalama 0.5 sn dir (7).

İlk kez Pavlov tarafından gösterilmiştir. Pavlov deneylerinde fizyolojik bir uyarana verilen basit bir refleks yanıtının giderek fizyolojik olmayan bir uyararla değiştirilebileceğini ortaya koymuştur. Salyanın salgılanması için fizyolojik uyarın, besinin ağza alınmasıdır. Ancak besin önce görülüp sonra ağza alınırsa, insan veya hayvanlarda bir süre sonra besin ağza alınmadan sadece görüldüğünde de salya salgılanır. Bu bir koşullu reflektir. Ancak bu koşullu refleks her defasında gıdanın görülmesinden hemen önce bir zil çalarak koşullanma daha da geliştirilebilir. Sonuçta sadece zilin çalması, salya salgılanmasına yol açar. Burada hayvan zil çaldığı zaman besin verileceğini öğrenmiştir. Bu öğrenme işlevinde serebral korteks işlev görür (3).

b) Enstrümental koşullanma: Assosiyatif öğrenmenin önemli bir yolu olup bazen operant koşullanma olarak da ifade edilir. Hayvana, belli bir davranış, bir alet aracılığıyla ödül veya ceza öğeleri kullanılarak öğretilir. Örneğin hayvanın bir düğmeye her basışında kendisine yiyecek verilirse (ödül), düğmeye basmaya devam eder. Ancak her düğmeye basınca, acı duymakta ise (ceza), hayvan düğmeye basmaz. Enstrümental ve klasik koşullanma istenmeyen durumun düzeltilmesi bakımından kliniklerde uygulanır. Örneğin kronik alkoliklere, alkol ve emetikler birlikte uygulanarak onların alkol alımı ile birlikte bulantı ve kusma duyuları eşleştirilir ve alkolün bırakılması sağlanabilir.

Öğrenme yeteneği nöronal sistemlerin adapte olabilmeleri ve plastisitelerini (sinaptik gelişim ve değişimler) gerektirir. Bu plastisite ve sinaptik değişiklikler, onların anatomik bağlantılarına, elektrofizyolojik ateşlenme paternlerine, protein sentezindeki değişimlere ve nörotransmitter sistemlerine bağlı olarak ortaya çıkar. Ayrıca ikincil haberci sistemlerin aktivasyonu da öğrenmede rol oynar. Özellikle uzun süreli aktivasyonlarda fonksiyonel değişimler yanında, yapısal değişikliklerde görülür. Özel yolların aktivasyonu ile hem hippokampus hem de serebellumda çeşitli sinaptik ileti saatler, günler hatta daha uzun sürelerde baskılanır ve güçlendirilir. Bu aktivitelerin ortaya çıkmasında rol oynayan mekanizmalar uzun süreli potansiyasyon (Long-term potentiation: LTP) ve uzun süreli depresyon (Long-term depression: LTD) olarak ifade edilir (3).

Öğrenme uyarana bağlı olarak hızlandırılabilir veya inhibe edilir. Ayrıca motivasyon ve ödül öğrenmeyi hızlandırır. Çeşitli çalışmalar, limbik sistemde ödül ve ceza merkezlerinin bulunduğunu ortaya koymuştur. Serbral kortekste, öğrenme kalıpları oluşurken, gönderilen impulslar ödül merkezlerini stimüle ederken, ceza merkezine impuls gönderilmez. Bu da öğrenmenin kortikal ve subkortikal düzeyde birçok devreyi içerdiğini gösterir. Bazı nöropeptidler merkezi sinir sisteminde motivasyonu artırarak öğrenme ve hafıza oluşumunu etkilerler. Bebeklerde öğrenme, deneme-yanılma şeklinde olur. Bebeklerde dil öğrenimi, bir ve iki yaş arasında birkaç kelime ile sınırlıdır. İki ile beş arasında ise dil öğrenme çok hızlı olup yaklaşık günde 10 kelimeye çıkar. Üç yıl içerisinde bir çocuğun öğrendiği sözcük sayısı 15000'e kadar çıkabilir. Bebekler ve küçük çocuklar hergün çok büyük miktarlarda bilgi öğrenir, öyle ki beş yaşına kadar öğrendikleri yaşamın geri kalan bölümünde öğrendiklerinden daha fazla olabilir (3).

2.1.2. Hafıza ve Hafıza Tipleri

Geçmişteki olayları bilinçli ya da bilinçsiz düzeyde tekrar hatırlama yeteneğidir (8). Bireyin kendini oluşturmasını ve toplumda yer edinmesini sağlar. Hafızasız yaşamak olanaksızdır. Yalnızca telefon numaraları ya da arkadaşların adları ve doğum günleri değil, kim olduğumuz, nasıl yürüyeceğimiz, nasıl konuşacağımız, neyi ve kimi sevip sevmeyeceğimiz gibi bireyselliğin temelini oluşturan herşey hafızamızda bulunur. Hafıza kısa süreli ve uzun süreli olarak tanımlanır. Kısa süreli hafızada hiçbirşey birkaç dakikadan fazla kalmaz. Bu süreden uzun bir zaman diliminde hatırlanan herşey, uzun süreli hafızadadır. Bu bilgiler burada günler, haftalar, aylar, yıllar ve hatta yaşam boyu kalır. Hafızada depolama işlevi bilginin öğrenilmesinden hemen sonra başlar, saatler ve hatta günler alır. Bu işlev için beyinde elektriksel ve kimyasal olaylar arasında çeşitli etkileşimler ve yeni internöral bağlantıların oluşmasıyla gelişen mekanizmalar görev alır ki bu da oldukça uzun bir zaman gerektirir. Öğrenilen bilginin depolanması sırasında informasyonların % 1'i seçilir. Ancak beynin depolama kapasitesi sınırsızdır. Depolanan bilgide öncelik sırası kişiden kişiye değişir (3).

Hafızanın oluşmasında birbiriyle ilişkili 3 basamak görülür.

1. Kısa süreli hafıza (primer hafıza)
2. Orta süreli hafıza (sekonder hafıza)
3. Uzun süreli hafıza (tersiyer hafıza)

Kısa süreli hafıza: Öğrenmeden hemen sonraki saniyeler içerisinde gelişir. Bu hafızaya klasik örnek, telefon rehberine baktıktan sonra numarayı çevirinceye kadar hatırlamaktır. Kısa dönemli hafızadaki bilgiler, yeni bilgi tarafından maskelendiği için kısa zamanda silinerek kaybolur veya hipokampusta bir süre saklandıktan sonra uzun süreli hafızaya aktarılır. Bu hafızada tek seferde en fazla dokuz şey saklanabilir. Çoğu kişi bir seferde yedi şeyden fazlasını hatırlayamaz. Farklı türdeki bilgiler hafızada farklı yollarla depolanır. Kısa dönemli hafızada, bilgilerin çoğu ses olarak saklanır. Kısa dönemdeki hafıza oluşumunda nöron grupları arasındaki uyarı devreleri iş görür (3).

Kısa süreli hafızanın açıklaması presinaptik fasilitasyon – inhibisyon ve sinaptik iletide artış meydana getiren sinaptik potansiyasyondur (9).

Orta süreli hafıza: Bilgilerin bu hafızaya yerleşmesi için 30 dakika ile 3 saat gerekir. Kapasitesi yüksek olup, bilgiler burada dakikalardan yıllara kadar saklanır. Ancak bilgilerin geri çağrılıp kullanılması yavaştır, hatırlanması zordur. Primer hafızadaki bilgilerin sekonder hafızaya aktarılmasında, benzerlik ve ayrılıklar daha kolay karşılaştırılabildiğinden kodlama yapılır. Detaydan çok genelleme ön planda tutulur. Tekrarlama gerektirir. Bu hafızada bilgiler daha önce veya sonra alınan bilgi ile karışma sonucu unutulabilir (3).

İlkel hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, bu tür hafızaların ya presinaptik uçlarda ya da postsinaptik zarda yer alan ve bir kaç dakikadan birkaç haftaya kadar sürebilen geçici kimyasal veya fiziksel değişikliklerden veya her ikisinden kaynaklanabileceğini göstermiştir (9).

Uzun süreli hafıza: Bilgilerin bu uzun süreli hafızaya yerleşimi çok uzun zaman alır. Bunun için çok sık tekrar gerekir. Uzun dönemli hafıza hiçbir zaman dolmaz. Sınırsız bir kapasitesi vardır. Yaşam boyu bu hafızaya yeni bilgiler depolanmaya devam eder. Bu hafızada sözcükler çoğunlukla işitildiği halleriyle değil, anlamlarına göre saklanır. Ayrıca görüntüler, sesler ve kokular da uzun süreli hafızada saklanır. Bu bildiğimiz herşeyin uzun dönemli hafızada saklanması demektir. Uzun süreli hafıza sinir sisteminde nöronal bağlantıların kalıcı, fonksiyonel, biyokimyasal ve yapısal değişikliklerini gerektirir.

İnsanda hafıza dört karakteristik özellik gösterir.

a. Hafıza basamaklar tarzında oluşur ve devamlı bir değişimi içerir. Kısa süreli hafıza, orta süreli hafıza, uzun süreli hafıza sırası takip edilir.

b. Kısa süreli hafıza, ilgili nöron gruplarında uyarı devreleri ile ilgilidir. Bunlar; yansıyan devre, presinaptik kolaylaştırma ve postsinaptik kolaylaştırma olarak sıralanabilir.

c. Uzun süreli hafıza, beyinde fiziksel, biyokimyasal değişimleri ve nöronal devreler arasında integrasyonu temsil eder. Hafızayı kodlayan fiziksel değişiklikler serebral korteksin birden fazla değişik bölgelerinde yerleşiktir. Kortekste hafıza ile ilgili nöronal devreler, hipokampus ve limbik sistemin diğer yapılarındaki nöronal devrelerle etkileşirler. Sinapslarda kullanıma bağlı olarak mevcut sinapsların hipertrofisi, nöronların dendrit çapında ve dolayısıyla ileti hızında artış ve yeni sinapsların oluşumu gibi değişimler gözlenir. Uzun süreli hafızanın oluşumunda RNA sentezinde artış ve buna bağlı olarak protein sentezinde artış gibi biyokimyasal değişimler olur. Duysal impuls girişindeki artış, RNA sentezini ve protein sentezini artırdığı gibi, sinapslardaki modifikasyonu da etkiler. Böylece sinapsların gelişimini ve devamlılığını sağlar. Duysal impuls girişindeki azalma ise RNA sentezini dolayısıyla protein sentezini azaltır, nöronların yapısal ve biyokimyasal bütünlüğünü ve sinaptik bağlantıların bütünlüğünü bozar.

d. İçinde bulunduğumuz ana ait, birkaç dakika veya saat önce cereyan eden olaylara ait işlevsel hafıza veya uzak geçmişe ait olayların hatırlanmasında referans hafıza oluşumunda farklı nöronal mekanizmalar rol oynar (3,10).

Hafıza yukarıdaki sınıflamalar dışında klasik olarak deklaratif (semantik: explicit veya episodik) ve refleksif (procedural: implicit) hafıza olmak üzere ikiye ayrılır.

Deklaratif (Semantik: explicit, episodik) hafıza: Olayların ve gerçeklerin bilinçli bir şekilde hatırlanmasını ifade eder. Yalnızca bilinçlilik durumunda hatırlanır ve medyal temporal lobun işlevi olarak kabul edilir. İnsanda devam eden olayların anlık hatırlanması veya arşive kaldırılmış bilginin (günler öncesi olayların) kısa süreli olarak hatırlanması olarak tanımlanan çalışan hafıza (working memory) ve uzak geçmişteki olayların uzun süreli hatırlanması olarak ifade edilen referans hafızayı da içerir. Çalışan hafıza, insanın gelecek için plan yapılmasına, çeşitli fikir ve düşüncelerini sıraya koymasına olanak sağlar (3,11,12).

Refleksif (Procedural: implicit) hafıza: Çeşitli yeteneklerinin toplamını (yargılamaya ait) yansıtır. Beceri, alışkanlıklar, klasik koşullanma ve nonassosiyatif öğrenmeyi içerir. Hatırlamak için bilinçlilik gerektirmez. Bu nedenle deneyimler, davranışları bilinçsiz olarak değiştirir. Bu tip hafıza oluşumu temporal lobdan bağımsızdır. Öğrenme modeline bağlı olarak serebellum, bazal ganglionlar, amigdala ve korteksin bazı alanlarıyla ilişkilidir (3,11-13).

Yukarda belirtilen genel sınıflandırılmalar dışında hafıza saklanan bilgi tipine göre de değişik şekillerde sınıflandırılır (14).

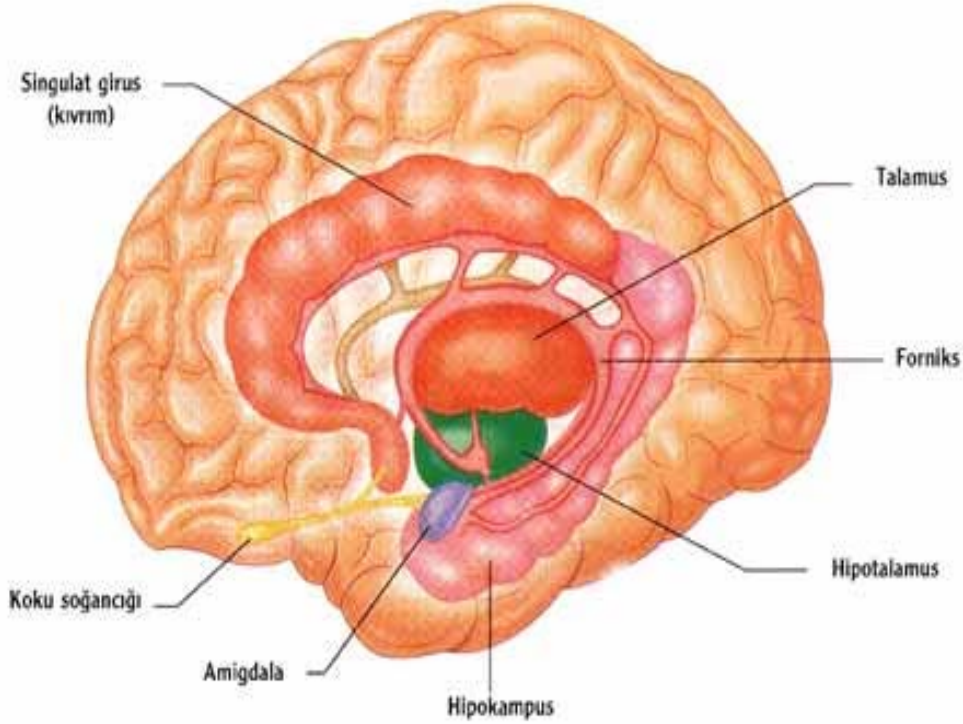
1. Bilgi verici hafıza: Bir deneyim sonucunda oluşan entegre bir hafıza olup farklı komponentleri içerir. Bunlar:

- Çevre ile ilgili hafıza
- Zaman bağlantıları ile ilgili hafıza
- Deneyimler ile ilgili hafıza
- Deneyimin anlamı ile ilgili hafıza
- Kişinin değerlendirilmesi ile ilgili hafıza

2. Beceri ile ilgili hafıza: Kişinin motor aktiviteleri ile ilgilidir. Tenis oynama, yüzme, araba kullanma becerileri bu tip hafıza sonunda gerçekleşir (14).

2.1.3. Hafıza ve Öğrenmeden Sorumlu Beyin Yapıları

Değişik biçimlerde tanımlanan hafıza tipleri, beynin farklı bölgelerine yerleşik farklı nöronal devrelerde işleme tabi tutulurlar. Ancak görülmektedir ki hafıza oluşumunda frontal, parietal, oksipital ve temporal loblar hipokampus ve limbik sistemin diğer yapıları arasındaki nöronal ağlar görev yapar (Şekil 2.1). Anlık hafızadaki bilgilerin uzun süreli hafızaya aktarılması için kodlama işlemi, hipokampus, entorhinal, peririnal ve parahipokampal korteks kısımları hipokampusun diensefalon ile bağlantıları ve talamus hafızanın oluşum süreçlerinde önemli görev yapar. Talamus, hafıza ile ilgili bilgileri, prefrontal korteks aracılığıyla ön beyne gönderir. Burası kodlanmış bilgilerin depolandığı alandır. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar, assosiyasyon bölgelerinde değişik hafıza alanlarının bulunduğu ve her alanın değişik bir bilgiyi kodladığı gösterilmiştir (3).



Şekil 2.1. Öğrenme ve hafızadan sorumlu beyin yapıları

Öğrenme ve hafıza olaylarında en önemli fonksiyonu gören hipokampus, serebral korteksin; lateral ventrikülün ventral yüzeyini oluşturmak üzere yukarı ve içeri kıvrılıp, uzanmış parçasıdır. Hipokampusun bir ucu amigdaloid çekirdeklerine bitişirken, diğer kenarlarından biri temporal lobun ventromedial korteksinin oluşturduğu parahipokampal girus ile kaynaşır (15).

Hipokampus piramidal hücreler içeren CA1-CA4 alanı ve granül hücrelerini içeren dentat girus alanlarını kapsar. Ayrıca entorhinal korteks ve subicular kompleks yapılarıyla yakından ilişkili olan neokortikal alanla komşudur. Entorhinal korteks neokorteks alandan polimodal duysal girişleri alır. Dentat girus ise prefrontal yollarla direkt, fiber yollarla dolaylı olarak CA3 bölgesindeki piramidal hücrelere duysal bilgileri taşır. Beyin sapı retiküler formasyon hipokampusu kolinerjik ön beyin nükleusları yoluyla dolaylı olarak etkiler. Noradrenerjik locus seruleus nöronlarından ve serotonerjik rafe nükleustan sinyaller CA3'e direkt olarak projekte olur. Bu nedenle CA3 beyin sapı ve kortikal alandan gelen bilgilerin bileşimi için önemli bir odaktır (16-19).

2.1.4. Öğrenmenin Test Edilmesi

Öğrenmeyi test eden çok çeşitli yöntemler vardır. Moris yüzme testi de spasyal öğrenmenin test edilmesinde kullanılan en güvenilir yöntemlerden birisidir.

Moris Yüzme Testi (Morris Water Maze): Laboratuar hayvanlarında spasyal öğrenme ve hafızanın araştırılmasında kullanılmak üzere, ilk olarak 1980' li yıllarda Richard Morris tarafından tanımlanmıştır (20). Daha sonra çeşitli çalışmalarda metod modifiye edilmiştir. Zaman içerisinde Moris yüzme havuzu, Moris labirenti, su labirenti (Moris tarafından en fazla kullanılanı), yüzme labirenti, spasyal navigasyon gibi isimler almıştır. Ancak günümüzde en sık kullanılanı Moris yüzme testidir (21).

Moris yüzme testi kemirgenlerde nörokognitif bozuklukların test edilmesinde kullanılan geçerli bir yöntemdir (21). Moris yüzme testi ile hem referans hafıza hem de çalışan hafıza test edilir. Referans hafıza tekrarlayan denemeler sonucunda hafızada kalan sabit bilgilerdir. Çalışan hafızada ise tekrara gerek yoktur. Örneğin çalışmamızda da test etmeyi amaçladığımız, hayvanın belli bir kadranda sabit duran platformu bulması referans hafızayı test eder. Ancak platformun yeri her gün değiştirilerek aynı deney tekrarlanırsa, çalışan hafıza test edilir (22).

Moris yüzme testi, içi opaklaştırılmış suyla (süt tozu ya da toksik olmayan beyaz boya ile) dolu yuvarlak bir havuzun içerisine bırakılan deney hayvanının platformu, etraftaki ipuçlarını kullanarak bulması ve bu sayede su içerisinde kalmaktan kurtulması esasına dayanır (20,23,24). Suyun sıcaklığının hayvanın vücut sıcaklığına yakın olması gerekir, çünkü sıcaklığın artması hayvanın hareketlerinin azalmasına, sıcaklığın azalması ise hipotermiye neden olur. Suyun opaklaştırılmasının nedeni, hayvanın platformu görmesini engellemektir. Deneyin amacına göre platform görünür ya da gizli olarak kullanılır. Gizli platform suyun 1-2 cm altına konulur, hayvandan çevresel ipuçlarından faydalanarak yer-yön bulması, platformun yerini öğrenmesi beklenir. Görünür platform ise ya platformun üzerine konulan bir bayrakla belirlenir ya da platform suyun 1-2 cm üzerine çıkarılır. Böylece motor ve görsel aktivite değerlendirilir (24-27).

Deneysel çalışmalar planlanırken ya da sonuçlar analiz edilirken hayvanın vücut ağırlığı, fiziksel gelişimi, yaşı, türü, cinsi, tankın boyutu, deney protokolü, strese ya da enfeksiyona maruz kalışı gibi çeşitli faktörlerin yüzme hızını etkileyeceği göz önünde bulundurulmalıdır. Özellikle havuz ve kaçış platformunun büyüklüğü belirlenirken,

platformu bulmanın çok kolay ya da çok zor olmayacağı şekilde bir ayarlama yapılmalıdır (21,28).

2.2. ANKSİYETE VE ANKSİYETE MODELLERİ

2.2.1. Anksiyete

İçten 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 düzeyden uyarır, harekete geçirir ve böylece kişiye kendini koruma fırsatını verir. 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 başlıca nörotransmitterler (noradrenalin, serotonin, GABA ve muhtemelen diğerleri) rol oynar (29-31).

2.2.2. Anksiyete Modelleri

Literatürde çok çeşitli anksiyete hayvan modelleri mevcuttur (18). Ancak insandaki anksiyete durumunu yansıtan bir hayvan modeli halen yoktur. Deney hayvanlarında, bazı çevresel koşullar insanlardaki anksiyeteye benzeyen bir durum meydana getirebilir ve ilaçların anksiyolitik etkileri bu deneysel modellerle incelenebilir. Bu durumu meydana getiren çevresel koşullar 3'e ayrılır: cezalandırma, ödüllendirme ve yeni bir çevre. Bu koşullar beyinde davranışsal inhibisyon sistemini aktive ederler, bu olay da hayvanların sürdürdüğü davranışı (yeme, içme gibi) baskılar ve ayrıca uyanıklık ve dikkatte artma yapar (32).

En fazla kullanılan modeller şartlı zıtlasma, merdiven testi, sosyal izolasyon, savunmaya yönelik gömme testi, yeni besinin supresyonu, sosyal etkileşim, delikli kutu, sıcak tabaka, dört tabaka testi, pasif sakinme testi, ayak şoku verme, yükseltilmiş artı labirent ve derivelere, yükseltilmiş T-labirent ve kemirgenlere özel kedi kokusuna maruz bırakma sayılabilir.

Şartlı Zıtlasma Testi (Operant Conflict Test): Çok geniş alanda kullanılan bir anksiyete modelidir. Bu model, pozitif pekiştirme (su ve yem gibi) ve cezalandırma (şok) ilkesine dayanır (29). İnsanda ilaçların antianksiyete etkilerinin tanımlanmasında kullanılan yegane testtir. Aslında şartlı zıtlasma testi Masserman ve Yum (1946) tarafından geliştirilen sakinme testinin esasına dayanır (33), fakat şartlı konfigürasyon ilk olarak 1960 yılında Geller ve Seifter tarafından tanımlanmıştır (34).

Operant Zıtlasma testinin, çok zaman alması, su ve yiyecek tüketiminin hayvanın motivasyonuna bağlı olması gibi birtakım dezavantajları da vardır.

a) Geller Seifter Zıtlasma Testi (Geller Seifter Conflict Test): Cezalandırma esasına dayanır (34,35). Özel bir kafes içine konulan, bir süre aç ve susuz bırakılan hayvan, pedala basınca şekerli su verilerek deneyin ilk döneminde 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 yapılır. Ancak aynı anda hayvanın ayağına elektroşok uygulanarak cezalandırma da yapılır. Böylece sesli veya ışık uyarısıyla cezalandırma dönemine geçildiği belirtilir. Cezalandırma döneminde pedala basış sayısı düşer. Bu test ile bazı ilaçların etkileri de araştırılmıştır (36).

b) Vogel Zıtlasma Testi (Vogel Conflict Test): Şartlı zıtlasma testinin diğer bir versiyonudur. 1971'de Vogel ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Esas olarak Geller Seifter testine benzer, ancak Vogel testinde elektriksel uyarı belirli aralıklarla hayvan su içerken verilir (18,34,37,38). Bu testin çeşitli modifikasyonları mevcuttur. Johnston ve arkadaşlarının yaptığı modifiye Vogel testinde; 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 (39,40). Vogel konflikt testi potansiyel anksiyolitik

ajanların etkilerinin araştırılmasında kullanılır. Fakat potansiyel sedasyon, ataksi gibi nonspesifik etkileri ölçmede eksik kalır (41).

Merdiven Testi (Staircase Test): Anksiyolitik aktiviteyi ölçmek için kullanılan bir yöntemdir. Etrafı duvarlarla çevrili, üstü açık, beş basamaktan oluşan bir merdivende yapılır. Ortama bırakılan deney hayvanının çıktığı basamak sayısını arttıran ilaçlar anksiyolitik, bu alanda arka ekstremiteleri üzerinde yaptığı yükselme (rearing) sayısını azaltan ilaçlar da sedatif etkiye sahip kabul edilmiştir (38,42).

Sosyal İzolasyon Testi (Social Isolation Test): Annesinden ayrılmış 10 günlük yavru sıçanların çıkardığı ve insanların duyamadığı ultrasonik çığlıkların, ultrasonik titreşimlere duyarlı bir mikrofonla, sıklık ve şiddetinin kaydedilmesi esasına dayanır. Bu çığlıklar doğumdan aşağı yukarı 14 gün sonra gözler açılınca kaybolur. Benzodiazepinlerin lokomotor aktiviteyi bozmayan dozlarda çığlıkların sayısını selektif olarak azalttıkları, anksiyojenik maddelerin ise artırdığı bulunmuştur (41).

Savunmaya Yönelik Gömme Testi (Defensive Burying Test): Duvarlarla çevrili test apereyinin zeminine konulan yatak şeklindeki materyale elektriksel uyarın verilmesi ve deney hayvanının istenmeyen durumlarda, (elektrik şoku aldığıında) başını altına sokacak şekilde gömmesi esasına dayanır. Bu davranış anksiyolitiklerden etkilenir (29,35,37,38).

Yeni Besinin Supresyonu (Novelty Supressed Feeding): Kırk sekiz saat boyunca aç bırakılan hayvanın kendi ortamından farklı yeni bir ortama bırakılması ile, önüne konulan yemin ne kadarını tükettiği tespit edilir. Yeniden kendi ortamına alınan hayvana aynı yem verilerek hayvanın yemi yemesi için geçen süre kaydedilir. Hayvan kendi ortamındayken 1 dakikadan az bir sürede yemi tüketirken, farklı ortamda ortalama 4-5 dakikada tüketir (39,43).

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 davranışlarının (partneri ile uyumu, takip etme, kaçınma, kavga etme) gözlenmesi esasına dayanır (40,44,45). Sosyal etkileşim testinin davranışsal, psikolojik ve farmakolojik yönden erkek sıçanlar için uygun olduğu, ancak dişi sıçanlar ve fareler için uygun olmadığı bulunmuştur. Dişi sıçanlar için uygun olmayışı, dişilerin test alanına uyum sağlamada güçlük çekmesi şeklinde (41) fareler

için uygun olmayışı da farelerin sıçanlara göre daha agresif olması şeklinde açıklanmıştır (42,43).

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. Daha sonra kat ettikleri yol, arka ekstremiteleri üzerinde yükselmeleri ve ziyaret ettikleri delik sayısı kaydedilir (46).

Sıcak Tabaka Testi (Hot Plate Test) : Ağrı eşiğinin saptanmasında kullanılan bir testtir. 27.5 x 22.5 cm ebatlarında, 55 °C'ye kadar ısıtılmış kare şeklinde bir düzendir. Bu düzener içine konulan hayvanın, su içme, sıçrama gibi aletin içine konulduğu zaman ilk yaptığı hareketler kaydedilir (46,47).

Dört Tabaka Testi (Four Plate Test): Zemini dört eşit parçaya bölünmüş bir düzendir. Hayvanlar, kutunun içine bırakılarak, 15 sn serbestçe dolaşmalarına izin verilir, daha sonra 2 mA'lık, maksimum 0.5 sn süren elektrik şokları alır. Hayvanın bu süre içerisinde geçtiği bölmeler sayılır (43,48).

Pasif sakınma Testi (Passive Avoidance Test): Düzener biri büyük, karanlık ve şoklu, diğeri küçük, aydınlık ve şoksuz olmak üzere iki bölmeden oluşur. 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 öğrendi kabul edilir (43,48).

Ayak Şoku Testi (Foot Shock Test): Hayvanların elektrik şokuna duyarlılığını test etmek için kullanılan bir yöntemdir. Deney düzeneği 49.5x31x34 cm ebatlarında, tabanında elektrik jeneratörüne bağlı bir ızgara bulunan bir kutudur. Kutunun içine konulan hayvanın 0.5 sn süren 0.5, 1, 2 ve 4 mA şiddetinde elektrik şoku aldığı anda verdiği tepkilerin test edilmesi esasına dayanır. Test edilen parametreler sıçrama, ses çıkarma sayısı ve kaçma süresidir (43,48).

Yükseltilmiş + labirent (Elevated Plus Maze Test) ve Deriveleri: 1985 yılında File ve arkadaşları tarafından tanımlanan, keşifsel bir modeldir (18). Emosyonel aktiviteyi test etmekte kullanılır (47,49,50). İlaçların davranışsal, fizyolojik ve farmakolojik etkilerini test etmede kullanılan, iki açık ve iki kapalı kolu olan + şeklinde yerden belli bir yükseklikte bulunan bir deney düzeneğidir. Farklı ebatlarda hazırlanarak fare ve sıçanlara uygulanır (51,52). Bu test hem anksiyolitik hem de anksiyojenik ajanları test

etmek için kullanılabilir (53). Açık kola giriş ve bu kolda kalış süresine bakılır. Anksiyolitik ajanların bu iki parametreyi artırdığı anksiyojenik ajanların ise düşürdüğü bulunmuştur (23,32,54,55). Yükseltilmiş + labirent testinin performansı mevsimsel değişikliklere de bağlıdır. Y-maze ve O-maze olmak üzere çeşitli derivelere de vardır (49,56).

Yükseltilmiş T-labirent (Elevated T-maze): 1993 yılında Graeff ve arkadaşları tarafından yükseltilmiş artı yada X-labirentin bir derivesi olarak düzenlenmiştir. Pleksiglastan hazırlanmış, yerden belirli bir yükseklikte bulunan, fare ve sıçan için farklı ebatlarda, 3 kollu bir deney düzeneğidir (57-62). Aynı hayvanda hem şartlı korku (conditioned fear) hem de şartsız korku (unconditioned fear) cevapları elde edilmektedir. Öğrenilmiş korkuyu yansıtan şartlı sakınma cevapları (inhibitory avoidance), ardışık 3 deneme boyunca hayvanın kapalı kolu terk etme, şartsız korkuyu yansıtan kaçma cevabı ise, açık kolu terk etme süresidir. Şartlı sakınma cevabının anksiyete bozukluğu ile, kaçma cevabının ise panik bozukluklarla ilişkili olduğu ileri sürülmektedir. Tekrarlayan denemelerle emosyonel öğrenme ve kısa süreli hafıza da değerlendirilir (35,58,59,63-69).

Açık Alan Düzeneği (Open Field Area): Deney hayvanının herhangi bir işlem öncesi duygusal durumunu ve bu durumda meydana gelebilecek değişiklikleri saptamak için günümüzde kullanılan en popüler metodlardan biridir (70-72). Aynı zamanda anksiyete benzeri davranışların, lokomotor aktivite ve sedasyonun tespitinde kullanılabilen bir yöntemdir (71,73). Fare, domuz, koyun, tavşan, kedi, eşek, primatlar, piliç, arı ve istakoz olmak üzere çok çeşitli türlere uygulanabilme kolaylığı sağlar (70,71). Yuvarlak (74-76), kare (77), dikdörtgen, ışıklandırılmış (69,73,76,78), ortamı tünel, platform ve kolonlar ile zenginleştirilmiş (71) olmak üzere çok değişik formları vardır (18,71,79,80). İlk olarak 1934 yılında hayvanların emosyonel durumlarını test etmek için Hall ve arkadaşları tarafından yuvarlak formu tanımlanmıştır (18,71). Daha sonra 1971 yılında Soubrie ve arkadaşları kare şeklindeki formunu modifiye etmişlerdir. Hayvanın türüne göre farklı ebatlarda hazırlanan, tabanı çizgilerle bölmelere ayrılmış, etrafı duvarlarla çevrili, üstü açık kare şeklinde pleksiglas bir kutudur (18,28,71,79,80).

Açık alanda anksiyete davranışı iki faktör tarafından tetiklenir. 1. hayvanın kendi ortamından alınıp, tek başına bilmediği bir ortama bırakılması, 2. agorafobi dediğimiz geniş alan korkusudur. Çünkü üstü açık ve geniş ortam hayvanda sıkıntı yaratır bu kemirgenlerin doğasında var olan bir durumdur (71,77).

Deney süresi 2-20 dakika arasında değişmekle birlikte en sık kullanılanı 5 dakikadır. Bu süre içerisinde hayvanın horizontal (bir kareden diğerine geçiş) ve vertikal (arka ekstremiteleri üzerinde yükselme) hareketleri, kaşınma davranışı ve defekasyon sayısı tespit edilir. Lokomotor aktivite çizgi geçme sayısı ile (line crossing), çevreyi keşfetme davranışı (rearing) ise arka ekstremiteleri üzerinde yükselmeyle değerlendirilir. Kaşınma (grooming) ve defekasyon sayısı otonom fonksiyonların göstergesi sayılır (71,77). Kaşınma davranışı hayvandaki stereotipik aktivite ile ilişkilidir. Artmış stereotipik aktivite deney hayvanının patolojik anksiyetesi hakkında dolaylı olarak fikir verebilir ancak doğrudan anksiyete modeli olarak kullanılamaz (81).

Açık alan düzeneğindeki hayvanın kenarlarda mı yoksa merkezde mi daha fazla gezdiği önemlidir. Emosyonel hayvan alanın ortasına gitmekten kaçınacak, daha az hareket edecek, daha fazla defekasyon yapacaktır (71,73). Fare ve sıçanların duvara yakın kısımlarda vakit geçirme isteği 'thigmotaxis' olarak isimlendirilir (71).

Açık alan anksiyolitiklerin (benzodiazepinler, serotonin ligandları, nöropeptidler), stimülanların (amfetamin, kokain), sedatiflerin (nöroleptik) ve epileptojenik ilaçların araştırılmasında da kullanılmaktadır. Lokomotor aktivitedeki artış stimülan etkinin, vertikal aktivite ve lokomotor aktivitedeki azalma ise sedasyonun göstergesidir (71).

Kedi Kokusu (Cat Odor) Uygulama: Savunma davranışı ve anksiyetenin nöronal, farmakolojik, davranışsal ve otonomik yönünü açıklamada kullanılan geçerli bir yöntemdir (82). Hayvanda herhangi bir ağrıya neden olmadan emosyonel durumunu değiştirir (83). Sıçanlarda şartsız korku modeli oluşturmada kullanılır (84). Kedi idrarı, kedi dışkısı, kedi tüyü, kedi kıyafeti (77) ya da direkt olarak kedinin kendisi ile (83) karşı karşıya kalan sıçanda meydana gelen korku onun doğuştan kazandığı bir durumdur (85). Özellikle doğal stresörlere karşı davranışsal ve nöroendokrin cevabın tespitinde kullanılmaktadır. Kedinin kendisiyle ya da kokusuyla kısa süreli karşılaşma (5 dakika) hipotalamo-pitüter adenal aksı (HPA) aktive eder ve plazma kortikosteron seviyesini artırır. Kedi kokusuna maruz bırakılan hayvanın kediye sürülen bezi ya da kedinin

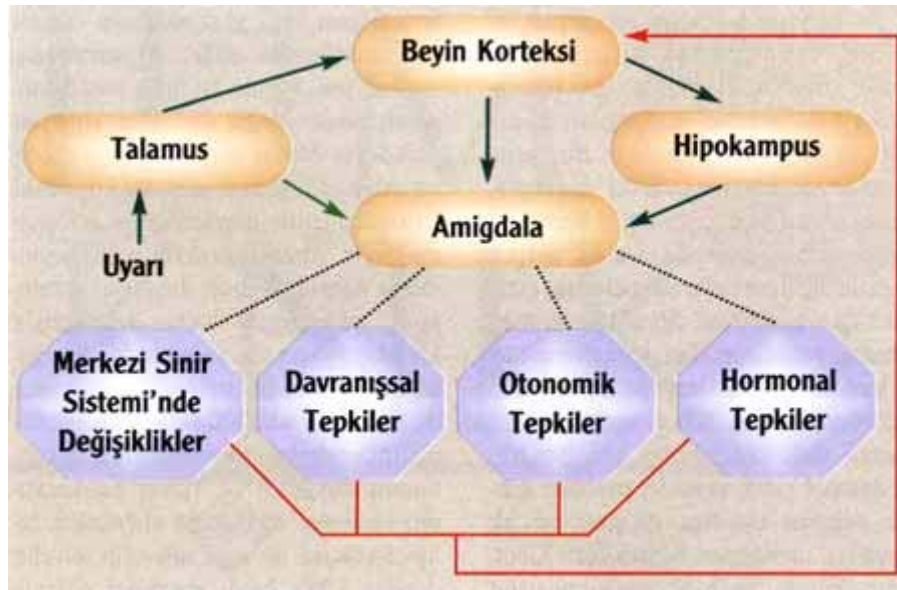
kıyafetini koklama sayısına, beze ya da kıyafete yakınlığına, ona dokunmasına ve kaçınma davranışlarına bakılır ve değerlendirilir (86).

Amigdala emosyonel davranış ve dikkatten sorumludur. Korku durumunda medyal amigdaloid nükleusta c-fos ekspresyon seviyesi artar. Aynı şekilde kedi kokusuna maruz kalan sıçanlarda da medyal posteroventral amigdaloid nükleusta c-fos ekspresyon seviyesinin arttığı tespit edilmiştir (86). Kedi kokusunun lokomotor aktivite üzerinde etkisiz olduğunu, ancak medyal prefrontal korteks ve amigdala kortikosteron ve dopamin metabolizmasını artırdığını bildiren çalışmalar vardır (83).

Bu test artı labirentten farklı olarak fobik anksiyeteyi test eder, benzodiazepinleri taramada duyarsızdır (77).

2.3. DAVRANIŞ-BEYİN İLİŞKİSİ

Davranış, çevre ve eğitim faktörleriyle aşırı etkileşim içinde şekillenen karmaşık düzeyde bir beyin aktivitesinin genel adıdır. Bu karmaşık beyin aktivitesi temel ve yüksek serebral fonksiyonların üzerinde ve sayesinde şekillenir (Şekil 2.2). Örnek olarak alınan davranış biçimi temel ve yüksek serebral fonksiyonlar açısından elemanlarına ayrıştırıldığında bu katkı görülebileceği gibi, böylelikle o davranış biçiminin ortaya konulmasında rol alan biyolojik mekanizma ya da lokalizasyonda tahmin edilebilir (87,88).



Şekil 2.2. Duygulara bağlı olarak ortaya çıkan tepkilerde rol alan beyin yapıları ve birbirleriyle bağlantıları

2.4. STRES ve STRES HORMONLARI

2.4.1. Stres

Bugün insanların karşı karşıya olduğu aşırı yüklenme anlamında kullanılan bir kavramdır. Organizmanın bedensel ve ruhsal sınırlarının tehdit edilmesi ve zorlanması ile ortaya çıkar. Stres etmeni ile karşılaşan organizmada, hem fizyolojik hem psikolojik düzeyde bir dizi olaylar meydana gelir (89,90). Fizyolojik düzeydeki stres tepkisinin özelliği, stres vericilerinin türüne bağlı olmaksızın ortaya çıkan sabit bir tepki olmasıdır. Bu tepki, organizmanın dengesini bozma tehlikesi gösteren, dış şartta otonom sinir sisteminden yöneltilen “savaş veya kaç” tepkisidir. Çünkü insan ya da hayvan karşılaştığı tehdit edici durumlarda, mücadele ederek veya uzaklaşarak kendini korumak zorundadır. Stresi meydana getiren olaylar stres vericileri (stresör) olarak tanımlanır (90,91). Stresörler; travma, şiddetli egzersiz, gürültü, ısı, nem, çevre kirliliği, yiyecek kısıtlaması, cerrahi girişimler ve immobilizasyon (hareketsizlik) gibi fiziksel, değişik çevre faktörleri ve kültürel değişimler gibi sosyal nitelikli olabilir.

Stres serebral kortekste başlar. Strese sebep olan uyarıyı taşıyan sinirler, bu uyarıyı hipotalamusa getirirler. Hipotalamus, özelleşmemiş stres tepkisinin hormonlarla ilgili yönünü ve otonom sinir sistemini kontrol eden yapıdır (91,92).

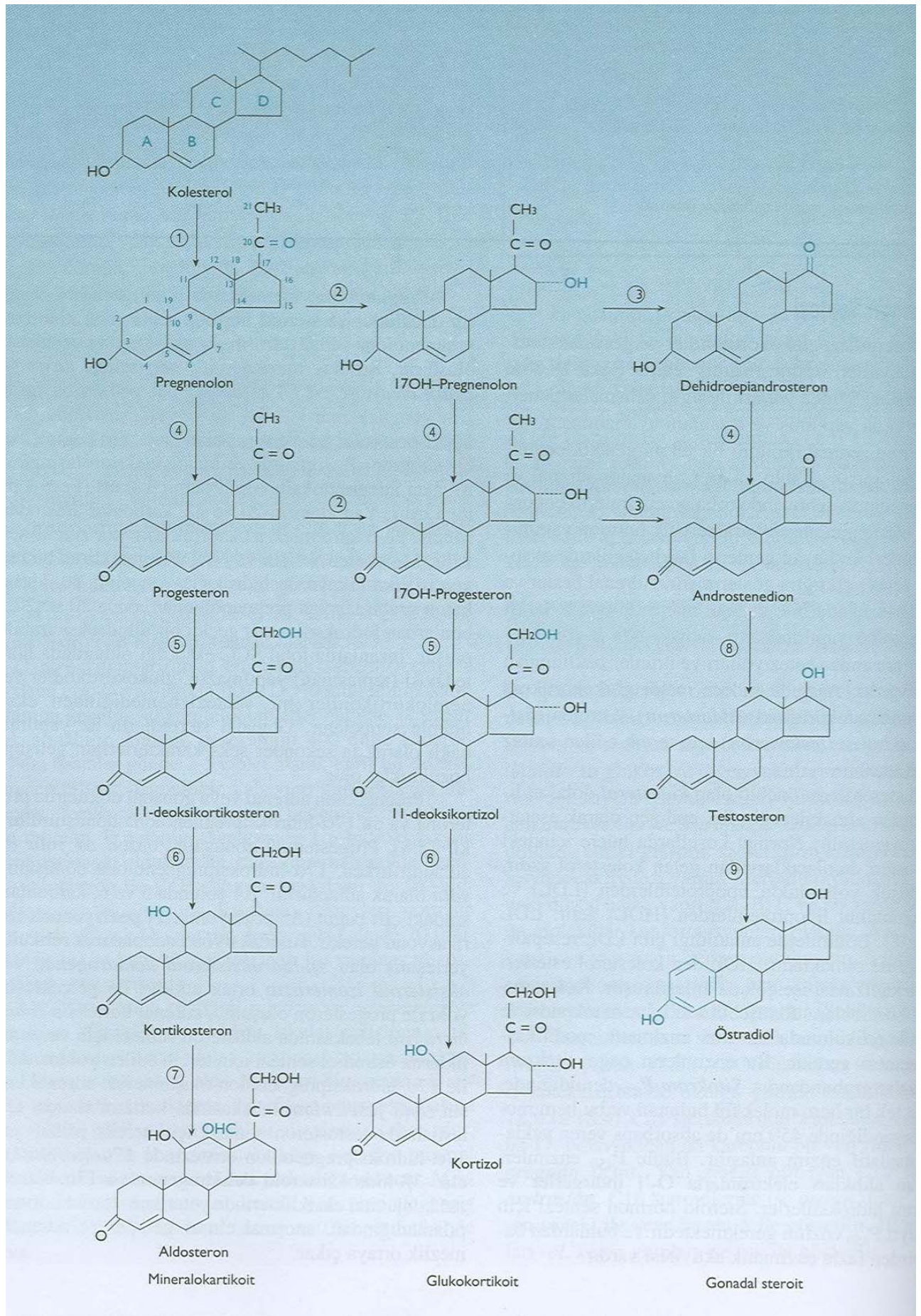
2.4.2. Stres Hormonları

Hormonlar ve nöromodülatör peptidler büyüyen, gelişen, farklılaşan ve yaşlanan beyin üzerinde spesifik ve sıklıkla multipl-reseptör proteinler vasıtasıyla önemli etkilere sahiptirler. Beyin üzerindeki hormonal etkiler organizasyon ve aktivasyon ile ilgili etkiler olarak sınıflandırılır. Organizasyon ile ilgili etkiler nöron farklılaşması, büyümesi ve gelişmesi sırasında ortaya çıkan etkilerdir. Bu etkiler merkezi sinir sisteminde yapısal değişikliklere ve beyin kapasitesi ile ilgili fonksiyonlarda kalıcı bir organizasyona yol açarlar. Örnek olarak gonadal hormonların cinsiyete spesifik normal çiftleşme davranışının gelişimi üzerindeki rolleri gösterilebilir. Buna karşılık aktivasyonel etkiler, yerleşmiş beyin fonksiyon düzeninin hormonlar tarafından modifiye edilmesiyle ortaya çıkan geri döndürülebilir etkilerdir. Bazı nöropeptidler önemli aktivasyonel etkiler gösterir. Örneğin kortikotropin–salgılatıcı hormon (CRH), akut strese davranış cevabını düzenler veya gastrin salgılatan bir peptid homoloğu olan bombesin santral termoregülasyonu değiştirir (92,93).

Hormon ve peptidlerin beyin üzerindeki etkileri periferik etkilerden bağımsız, fakat onlarla uyumludur. Oksitosin tarafından annelik davranışı, CRH tarafından anksiyete ve uyarılma, insülin tarafından açlık ve kolesistokininin tarafından tokluğun uyarılması hormonların beyin üzerindeki etkilerinin periferik etkileriyle nasıl uyumlu bir etkileşim içinde bulunabileceğine örnektir. Adrenal steroidler ile beyin ilişkisi oldukça ilginçtir. Stres, limbik sinyaller, sirkadien ritimler ve glukokortikoid değişimi hipotalamo-pitüter adrenal aksın aktivitesini düzenleyen en önemli mekanizmalardır (94).

Stres oluşturan durumlar kişilere göre farklı olmakla birlikte, strese karşı organizmanın gösterdiği fizyolojik tepkiler şaşılacak derecede benzerdir. Bu tepkiler istemsiz olarak oluşur ve düzenli bir sıra izler. Hissedilen ve algılanan her türlü duygu önce beynin belirli bölgeleri tarafından değerlendirilir. Bu bölgeler neokorteks ve limbik sistemdir. İster görüntü gibi bir duyum olsun, ister düşünce gibi zihinsel uyarın olsun bu bölgeler ilk değerlendirmeyi hızla yaptıktan sonra derhal hazırladıkları yeni mesajı hipotalamusa gönderirler. Hipotalamusun birinci görevi, beyin tarafından algılanan bir uyarana karşı organizmayı hazırlıklı tutmaktır. Hipotalamus algılanan uyarının cinsine göre hassas bir ayırım yapar ve kendine göre kodladığı özel sinyallerini ilgili yerlere gönderir. Hipotalamus kısa süreli cevap için; sempatik sistemi ya da parasempatik sinir sistemini uyarır. Böbrek üstü medullasından, epinefrin ve norepinefrin salınmasına neden olan sempatik aktivasyon strese artmaktadır. Parasempatik sinir sisteminin aktivasyonu ile vagus uyarılarak, vagotonik reaksiyon (başağrısı, kusma vs.) gelişir. Hipotalamus etkileri daha uzun süren bir başka yolda seçer. Hipotalamusun uyarılması, CRH salınmasına neden olur. CRH ön hipofiz bezinden Adrenokortikotropin (ACTH) salgılatır. ACTH genel dolaşım ile ulaştığı böbrek üstü bezi korteksinden kortizol salgılanmasını sağlar. ACTH'nin stresteki görevi yalnızca kortizol sekresyonunu uyarmak değildir. ACTH kortizol salınmasını uyarmasından bağımsız olarak, öğrenmeyi ve hafızayı kolaylaştıran peptidlerden biridir. Bu nedenle, psikososyal stresler tarafından tetiklenen ACTH salgılanmasındaki artış, strese karşı uygun cevapların öğrenilmesini kolaylaştırarak kişinin stresle başa çıkmasına yardım eder. Ayrıca stres etmenine yanıt olarak hipofizden ACTH ile aynı granülde bulunan endojen opioidlerden β endorfin serbestlenir. β endorfin stres etmenine karşı afektif etkilerini merkezi sinir sisteminde düzenler ve analjezi oluşturur. İnsan öfkelenildiği zaman veya sınırlarını zorlayan bir durumla karşılaştığı zaman, hipotalamus hipofiz aracılığıyla saniyenin onda biri kadar bir zaman içinde böbrek üstü korteksine ve böbrek üstü bezi

medullasına özel olarak kodlanmış mesajları gönderir. Böbrek üstü bezi medullası kendisine yönelmiş mesajı alır almaz, ortak isimleri katekolamin olan epinefrin ve norepinefrin salgılar. Bu maddelerin salgılanması, savaş veya kaç tepkisini başlatır. Bu tepki vücudun canlılığını korumaya yönelik faaliyetlerin başlaması demektir. Sempatik sinir sistemi kişinin kontrolü altında değildir. Bir başka deyişle, kalbin hızlı çarpması, solunumun hızlanması, savaş-kaç tepkileri önemli ölçüde kişinin iradesi dışında çalışır. Kişinin içinde bulunduğu öfke anında, hipofiz aracılığıyla aynı zamanda bütün hormon bezlerine hormonları salgılamaları için mesaj gönderilir. Böylece, mesaj tiroid bezinden pankreasa kadar her yere gönderilmiş ve bol miktarda hormon salgılanmış olur. Vücudun stres durumuna adapte olabilmesi için; hipofiz bezinden ACTH, adrenal korteksten glukokortikoidler (kortizol), adrenal medulladan epinefrin ve sempatik sinir uçlarından norepinefrin salgınır (Şekil 2.3). Bu hormonlar, vücudun strese adaptasyonunu sağlar ve stres hormonları olarak bilinirler. Stres hormonları, kardiyovasküler sistemi, enerji meydana getirici sistemi ve bağışıklık sistemlerini etkileyerek vücudun ihtiyacına uygun değişiklikleri yaratır (17,92,95,96).



Şekil 2.3. Steroid hormon sentez yolu (**1.** Kolesterol yan zincirini kıran enzim, **2.** 17 α -hidroksilaz, **3.** 17, 20-desmolaz, **4.** 3 β -hidroksisteroid dehidrogenaz izomeraz kompleksi, **5.** 21-hidroksilaz, **6.** 11 α -hidroksilaz, **7.** kortikosteron metiloksidaz, **8.** 17 α -hidroksisteroid dehidrogenaz, **9.** aromataz)

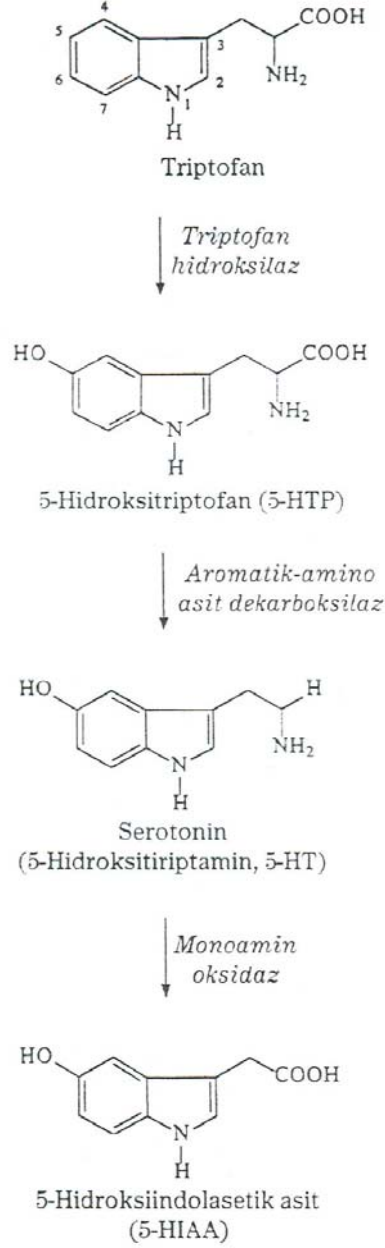
2.4.2.1. Kortikosteron (CORT)

Stresin etkisiyle, HPA aksında meydana gelen değişiklikler sonucu salınan hormon ve nöromodülatör faktörler öğrenme ve hafıza oluşumunun altında yatan nörobiyolojik mekanizmaları etkiler. Stres etkili öğrenme ve hafıza bozukluklarında CORT salınımının en önemli faktör olduğu düşünülmektedir. Kortikosteroid reseptörlerinin regülasyon ve fonksiyon bozukluğu depresyon ve anksiyete gibi stres ilişkili psikiyatrik bozuklukların patogenezinde önemli rol oynar (27,93).

2.4.2.2. Serotonin (5-HT) ve 5-Hidroksiindolasetik Asit (5-HIAA)

Serotonin (5-hidroksitriptamin) sölenteratlardan omurgalılara kadar değişik hayvanlarda, bakterilerde ve pek çok bitkide bulunur. İnsanlarda ise barsaklarda kromaffin hücrelerde, santral veya periferik nöronlarda sentezlenir ve barsak mukozası, pineal bez ve merkezi sinir sistemi dahil olmak üzere pek çok dokuda yüksek konsantrasyonda bulunur (97-99). Serotoninin vücutta ağrının algılanması, davranışların normal ve anormal olarak özellikle affektif hastalıklarda düzenlenmesi, uykunun, vücut sıcaklığının ve kan basıncının düzenlenmesi gibi fizyolojik görevleri vardır (73,98).

Serotonin biojenik bir amin olup, vücutta, fenilalanin hidroksilaz reaksiyonuna benzer bir reaksiyonla triptofandan sentezlenir. Ürün, 5-hidroksitriptofan, dekarboksile olarak serotonin oluşur (98,100).



Şekil 2.4. Serotoninin biyosentezi ve metabolizması

Diyetle alınan triptofanın yaklaşık %1 ile % 3 kadarı normal olarak bu yoldan metabolize olur. Daha sonra 5-HTP'den dekarboksilasyonla 5-HT oluşur. Enzimatik karboksilsizleştirme karsinoid tümörlerde çok aktiftir. Farmakolojik olarak en aktif indol amin 5-HT'dir. Ancak dokulara veya trombositlere bağlı olduğu zaman biyolojik aktivitesini kaybettiği anlaşılmaktadır. Bir tümör dokusunda veya tümörden salındığı zaman kanda hızla oksidatif olarak aminsizleştirilir.

Serotoninin Monoamin oksidaz (MAO) tarafından oksidatif olarak aminsizleştirilmesi, 5-hidroksiindol yolunda miktarca en belirgin metabolit olan 5-HIAA oluşumuna yol açar (Şekil 2.4). 5-HIAA'nın küçük bir kısmı o-sülfat esteri olarak konjuge edilirse de çoğu serbest olarak atılır.

Klinik olarak serotonin depresyon ve karsinoid tümörlerde rol oynar. Serotoninin en önemli fizyolojik rolü beyinde serotoninerjik nöronlarda bir iletici olmasıdır. İnsanlarda serotoninin uyku, ağrının algılanması, sosyal davranış, şizofreni ve mental depresyon gibi bir dizi davranış kalıbında rolü olduğu ileri sürülmektedir. Pek çok çalışma majör depresyonu olan bireylerde merkezi sinir sisteminde serotoninerjik nöron işlevlerinde değişiklikler olduğuna işaret etmiştir. Bu ilişkiye ait kanıtlar:

- a) Depresyonlu kişilerin beyin-omurilik sıvısında 5-HIAA düzeylerinin azaldığının defalarca bildirilmiş olmasından,
- b) Depresyonu olan bireylerin ölüm sonrası alınan beyin dokularında 5-HT ve 5-HIAA konsantrasyonlarının azalmış olmasından,
- c) 5-HT'nin bir öncülü olan 5-HTP'nin yalnız beyin omurilik sıvısında 5-HIAA konsantrasyonu azalmış olan depresyonlu kişilerde etkili bir antidepresan olduğu gözleminden kaynaklanmaktadır. Aynı zamanda, böyle serotonin eksik bireylerde amitriptilin ve trazodon gibi antidepresan ilaçlarla tedavi iyi klinik yanıt oluşturmaktadır. Bu farmakolojik ajanlar 5-HT'nin presinaptik nöronlar tarafından geri alınmasını baskılayarak serotoninerjik kavşaklarda 5-HT konsantrasyonunu artırmaktadır. Serotonin geri alınmasını seçici olarak baskılayan ilaçlar depresyon tedavisinde gittikçe artan sıklıkta kullanılmaktadır (99,101).

5-Hidroksiindolasetik asit ölçümü: Klinik laboratuvarlarda kanda ve idrarda ana hormonun (5-HT) ölçümü, konsantrasyonun çok düşük olması ve yöntem zorluklarından dolayı önemli oranda kısıtlanmıştır. Bunun sonucu olarak idrarda 5-HIAA ölçülmesi daha kolay olabilmekte ve karsinoid tümörlerin tanısında en sık kullanılan test olmaya devam etmektedir. Bu olgularda, serotonin metaboliti çok büyük, sıklıkla 350 mg/günü geçen miktarlarda atılmaktadır ve basit kalitatif test (tarama) ile pozitif sonuç elde edilmektedir. Ancak tümörün küçük olduğu ve henüz metastaz yapmadığı olgularda erken tanı için ve atılımın zorlukla 8 mg'ı geçtiği bazı karsinoid tümörlerde daha duyarlı ve özgül kantitatif testler gerekmektedir (99).

5-Hidroksiindolasetik asit için tarama yöntemi: Tarihsel olarak, nitrozonaftol/nitröz asit veya dimetilaminobenzaldehid (Ehrlich aldehidi) reaktifi kullanılan fotometrik yöntemler kalitatif tarama testi olarak kullanılmıştır.

Bu test, 5-hidroksiindollerin 1-nitrozo-2-naftol ve nitröz asit ile reaksiyona girince mor renk oluşmasına dayanır. Girişim oluşturabilecek diğer kromojenler etilen diklorür ile ekstre edilir.

Bu tarama yöntemi için genellikle rastgele alınmış idrar örneği yeterlidir. Kantitatif ölçümler için koruyucusuz olarak toplanmış 24 saatlik bir idrar örneği gereklidir. Toplanma süresi boyunca örneğin buzdolabında bekletilmesi gerekir. Laboratuara ulaştığı zaman idrar örneği iyice karıştırılır ve toplam idrar hacmi ölçülerek kaydedilir. İdrar 5-HIAA düzeyi 25 mg/gün'den (<131 mmol/gün) düşük olan test sonuçları negatif kabul edilir (99).

5-hidroksiindolasetik asit için kantitatif yöntemler: 5-HIAA'nın kantitatif ölçümü için fotometri, florometri, gaz kromatografisi, radyoimmünometrik yöntemler, floresans polarizasyon immünometrik yöntem ve HPLC kullanılmaktadır. Sonuncusunun pek çok çeşidi vardır. Bazıları türevlendirerek veya türevlendirmeden floresans ile saptama yapar, ancak çoğu elektrokimyasal yöntemi kullanır. Elektrokimyasal ölçümlü sıvı kromatografisi çok düşük miktarlardaki 5-HIAA'nın özgül olarak ölçümü için tercih edilen yöntemdir.

Fotometrik yöntemde 5-HIAA, diğer fenolik asitler ile ilaç metabolitleri asidifiye edilmiş idrardan dietil etere ekstre edilir. Eter fazına kantitatif olarak geçişi sağlamak için doyuracak miktarda sodyum klorür eklenir. Daha sonra, 5-HIAA fosfat tampona (0.1 mol/L, pH:7) geri ekstre edilir ve 37 °C'de nitrozonaftol ve nitröz asit ile reaksiyona girerek mor renk oluşturur. pH 7'deki fosfat tampon etkin bir özütleme sağlayabilmek için seçilmiştir. Çünkü daha yüksek pH değerlerinde 5-HIAA yapıcı gittikçe daha kararsız bir hale gelir. Bir asit grubu içermeyen idrar fenollerini pH 7'de yüksüzdürler ve geride, eter fazında kalarak oldukça temiz bir özüt elde edilmesini sağlarlar. Bundan sonra 2-merkaptetanolün eklenmesi ile yoğun mavi bir kromofor oluşur (99).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 20 adet kontrol ve 20 adet deney grubu olmak üzere toplam 40 adet Sprague Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar genç ve yaşlı olmak üzere iki grupta toplandı. Genç grubu; ağırlıkları 200-250 g arasında değişen 3 aylık sıçanlar, yaşlı grubu; ağırlıkları 400-450 g arasında değişen 20 aylık sıçanlar oluşturdu. Gruplar 10' ar hayvan içerdi. Her bir hayvan yalnız bir kere kullanıldı. Tüm denemeler aydınlık karanlık siklusunun aydınlık fazında yapıldı. Ortam ısısı 25 ± 2 °C olacak şekilde ayarlandı. Her denemeden sonra düzenekler % 20'lik alkolle silindi.

Davranış parametrelerinin değerlendirilmesi Deneysel Klinik Araştırma Merkezi (DEKAM)'nde, kanda kortikosteron tayini Merkez Laboratuvarı Seroloji bölümünde, idrarda 5-Hidroksiindolasetik asit tayini Biyokimya Anabilimdalında yapıldı. İdrar ve kan örnekleri çalışılacağı güne kadar Fizyoloji Anabilimdalında derin dondurucuda bekletildi.

Yaşın anksiyete üzerine etkisini araştırmak amacıyla iki farklı yaş grubundaki sıçanlara anksiyete modellerinden yükseltilmiş T-labirent düzeneği ve kedi dışkısına maruz bırakma yöntemi kullanıldı. Anksiyete oluşturulan sıçanlarda spasyal öğrenmenin nasıl etkilendiği ise Moris su tankı kullanılarak test edildi. Tüm bu deneylerin öncesinde ve sonrasında hayvanların lokomotor aktivitelerine, kişisel davranışlarına ve otonom fonksiyonlarına bakıldı. Davranış deneylerinin başında ve sonunda metabolizma

kafeslerinde bekletilen hayvanların 18 saat süresince idrarı toplanarak, 5-HIAA miktarı tesbit edildi. Tüm denemeler bittikten sonra anestezi edilen hayvanın kanı alındı ve kortikosteron miktarı tayin edildi.

Tablo 3.1. Deney ve kontrol grubuna uygulanan testler ve günleri

Günler	Deney Grubu	Kontrol Grubu
1.gün	Açık alan - Metabolizma kafesi	Açık alan - Metabolizma kafesi
2.gün	İdrar toplama - Kedi dışkısı - T-labirent 1 - MYT 1	İdrar toplama - MYT 1
3. gün	Kedi dışkısı - T-labirent 2 – MYT 2	MYT 2
4. gün	Kedi dışkısı - T-labirent 3 - MYT 3	MYT 3
5. gün	Kedi dışkısı - T-labirent 4 - MYT 4	MYT 4
6. gün	Açık alan - Kedi dışkısı - Metabolizma kafesi	Açık alan - Metabolizma kafesi
7. gün	İdrar toplama - Kedi dışkısı - T-labirent 5 - MYT retansiyon - Kan alma	İdrar toplama - MYT retansiyon - Kan alma

(MYT: Moris yüzme testi)

3.1. DAVRANIŞ DENEYLERİ

Çalışmamızda Tablo 3.1’de görüldüğü gibi deney grubu hayvanlarına açık alan, istenmeyen bir kokuya (kedi dışkısı) maruz bırakılma, yükseltilmiş T-labirent ve Moris yüzme testi uygulandı. Kontrol grubu hayvanlarına ise anksiyete oluşturulmadan yani yükseltilmiş T-labirent ve kedi dışkısı kullanılmadan diğer testler uygulandı.

3.1.1. Açık Alan Düzeneği (Open Field Area)

100x100x30 cm ebatlarında, zemini 16 eşit kareye ayrılmış pleksiglastan yapılmış, kare şeklinde bir düzenek olup (Resim 3.1), bu düzeneğe deney hayvanı hep ortadan olacak şekilde yavaşça bırakıldı. Beş dakikalık test süresince çizgi geçme sayısı (merkez ve kenarda), arka ekstremiteleri üzerinde yükselme sayısı, kaşınma süresi ve sayısı, hareketsiz kalma (oturma) süre ve sayısı, defekasyon sayısı değerlendirildi. Merkez açık alanın ortasında kalan dört kareyi, kenar ise diğer kareleri temsil etmektedir (102-104). Her bir hayvandan sonra düzeneğin içerisi % 20’lik alkol ile silindi.



Resim 3.1. Açık alan düzeneği

3.1.2.Yükseltilmiş T-labirent Düzeneği (Elevated T-maze)

Anksiyete oluşturmak için yerden 50 cm yükseklikte, biri kapalı diğer ikisi açık olmak üzere 3 kolu olan bir düzenek kullanıldı. Kollardan birisi 40 cm. yüksekliğinde bir duvar ile kapalı iken, açık kollar 1 cm yüksekliğinde plexiglas ile çevrildi (Resim 3.2).

Deney aletinin kapalı kolunun distal sonuna yüzü açık kola dönük şekilde konulan hayvanın 4 patisi ile bu kolu terk etmesi için geçen toplam süre bazal çıkma süresi olarak değerlendirildi. Bu uygulama 30 sn arayla iki kez daha tekrarlandı ve şartlı korkuyu ya da öğrenilmiş korkuyu yansıtan kapalı koldan çıkma süreleri sakınma 1 ve sakınma 2 süreleri olarak elde edildi. Sakınma 2 belirlendikten 30 sn. sonra deney düzeneğinin sağ açık kolunun distal sonuna konulan deney hayvanının bu kolu 4 patisi ile terk etmesi için geçen toplam süre kaydedildi. Şartsız korkuyu yansıtan açık kolu terk etme süresi kaçma süresi olarak değerlendirildi. Deney hayvanı bu denemeler sırasında kapalı koldan çıkmamış veya açık kolu terk etmemişse deney 300 sn sonra sonlandırıldı. Yükseltilmiş T-labirent her deneme sonrasında % 20'lik alkol ile silindi (58,59,63-65,67,68,105).



Resim 3.2. Yükseltilmiş T-labirent düzeneği

3.1.3. Moris Yüzme Testi (Morris Water Maze)

Öğrenme testi çapı 180 cm, derinliği 60 cm olan, süt tozu ile opaklaştırılmış su ile dolu yuvarlak bir havuzda yapıldı. İçine deney hayvanının ipuçlarından faydalanarak bulacağı 10 cm çapında gizli bir platform konuldu (Resim 3.3). Platform kadranlardan birisinin ortasına, suyun 1-2 cm kadar altında olacak şekilde sabitlendi (20,24). Suyun sıcaklığı 23 ± 1 °C olacak şekilde ayarlandı. Hayvanın tankın içinde yüzmesi, yönünü tesbit etmesi ve platformu bulmasına bakıldı. Platform lifli yapıda bir kumaş ile kaplanarak sıçanın bu bölgede düşme tehlikesi yaşamadan, kendini güvende hissetmesi sağlandı. Testin yapıldığı odanın duvarlarına hayvanın su içinden de görebileceği şekilde renkli geometrik şekiller ya da resimler asıldı. Deneyin başından sonuna kadar odada hiçbir şeyin yeri (dolap, perde, ışık vs.) değiştirilmedi. Hatta deney hep aynı kişi tarafından yapıldı, kıyafet, parfüm vs. değişikliği yapılmadı. Hayvanın çevre ipuçlarını kullanarak çevre ve platform arasında ilişki kurması ve platformun yerini bulması sağlandı (21,24,25,95,106-110).

Moris su tankı kuzey, güney, doğu ve batı kutuplar olmak üzere 4 kısma ayrıldı. 10 dakika aralıklarla günde 4 kez, 4 gün öğrenme denemeleri yapıldı, 5. gün test fazına alındı (73). Hayvanlar her gün farklı bir kutuptan bırakıldı ve platforma ulaşma süreleri tesbit edildi (acquisition learning, learning trial). Su içine bırakılan hayvana platformu bulması için 2 dakika süre verildi. Bu süre içinde platformu bulamaması durumunda hayvan platforma yönlendirilerek, zarar vermeden platform üzerine alındı ve 30 sn süresince etrafı tanınmasına izin verildi. Daha sonra platform üzerinden alınarak havlu kağıt ile kurutuldu. Test fazında ise platform kaldırıldı ve hayvanın platformlu alanda ne kadar süre geçirdiği 30 ve 60 sn'lik dilimlerde ayrı ayrı değerlendirildi (retansiyon süresi: probe trial). Tankın suyu her gün deney öncesi yeniden doldurularak süt tozu ile opaklaştırıldı (23,28,47,107,111).



Resim 3.3. Moris su tankı

3.1.4. Kedi Dışkına (Cat Odor) Maruz Bırakma

20x20x15 cm'lik, zemininde ızgara tel bulunan kafeslerde yapıldı. Kafeslere ızgaranın altında kalacak şekilde, içinde kedi dışkısı bulunan, gazlı beze sarılmış bir paket konuldu. 10 dakika süresince hayvanın tek başına bu kafes içinde kalmasına izin verildi. Her bir hayvan için kafese yeni bir paket konuldu (77,84).

3.2. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

Davranış deneyleri öncesinde ve sonrasında metabolizma kafeslerine alınan hayvanların 18 saat süresince idrarı toplandı (Resim 3.4). Davranış deneyleri bittikten ve idrar alındıktan sonra anestezi edilen hayvandan 2 cc kan alındı. Toplanan idrarlar ve alınan kan Fizyoloji Anabilimdalında buzdolabında -20 °C'de bekletildi. Tüm grupların davranış deneyleri tamamlandıktan sonra, idrar ve kan örnekleri çözülerek, idrarda 5-HIAA fotometrik tayini ve kanda kortikosteron kiti ile CORT tayini yapıldı.

3.2.1. İdrarda 5-Hidroksiindolasetik Asit (5-HIAA) Tayini

Kullanılacak reaktifler

- Nitrozo naftol reaktifi (% 0.1)
- Nitröz asit reaktifi (2 N H₂SO₄'ten 4.8 ml, % 2.5'lik NaNO₂'den 0.2 ml)
- Etil asetat

Numunelerin çalışılması

1. Test tüplerine 2 cc idrar ve 2 cc reaktif (Nitrozo naftol reaktifi + Nitröz asit reaktifi) konularak iyice karıştırıldı.
2. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi.
3. Tüplere 10 ml etilasetat ilave edilerek ekstraksiyon yapıldı ve fazların ayrılması beklendi.
4. Üstteki faz (etil asetat fazı) ortamdan uzaklaştırıldı.
5. Ekstraksiyon 10 ml etilasetatla tekrarlandı.
6. Oda ısısında 30 dakika bekletildi.
7. 540 nm'de okundu.

Kör: Aynı işlemler idrar yerine distile su konularak kör içinde yapıldı (99).



Resim 3.4. Metabolizma kafesi

3.2.2. Kanda Kortikosteron (CORT) Tayini

Davranış deneylerinden 1 saat sonra anestezi edilen hayvandan Resim 3.5’de görüldüğü gibi abdominal aortadan kan alındı. Santrifüj edilerek ayrılan serum, çalışılacak güne kadar $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ’de buzdolabında saklandı.



Resim 3.5. Abdominal aortadan kan alma işlemi

Çalışmada “Corticosterone Enzyme Immunoassay” kiti (Katalog no: 900-097, 96 Well Kit) kullanılarak aşağıdaki işlem basamakları uygulandı.

1. Tüm ajanlar kullanılmadan 30 dakika önce dolaptan çıkarıldı.
2. Tüm standartlar ve örnekler iki kez çalışıldı.
3. Prosedürde belirtilen şekilde kit kutucuklarına gerekli solusyonlar konuldu. Kullanılmayan kutucuklar 4 °C’de dolapta saklandı.
4. Çalışılan kısmın doğruluğu, kutucuklarda oluşması beklenen renklere göre teyit edildi.
5. Kitin kutucuklarında hazırlanan solusyonlar oda sıcaklığında 2 saat 500 rpm’de inkübe edildi.
6. Kitin kutucukları boşaltıldı, yıkama solusyonu ile yıkandı. Bu işlem ard arda 3 defa yapıldı.
7. Yıkanan kutucuklar havlu üzerinde kurutuldu.
8. Yıkanan kutucuklara konjugat, sonra da p-Npp konuldu.
9. 1 saat çalkalamadan oda sıcaklığında bekletildi, inkübe edildi.

10. Tüm kutulara reaksiyon durdurucu stop solusyonu eklendi.
11. 405 nm'de spektrofotometrede hemen okundu.

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Genç ve yaşlı grup karşılaştırması için eşleştirilmiş T testi (paired samples T test), grup içi karşılaştırmada ise bağımsız verilerde T testi (independent samples T test) kullanıldı.

Açık Alan Parametrelerinin Değerlendirilmesi

- Grupların birbiriyle karşılaştırılması non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis ile
- Stres öncesi ve sonrası değerlerin birbiriyle karşılaştırılması Wilcoxon testi ile yapıldı.

Yükseltilmiş T-labirent Parametrelerinin Değerlendirilmesi

- Grupların birbiriyle karşılaştırılması non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis ile,
- Grup içi karşılaştırma Friedman testi ile,
- Grup içi karşılaştırmada fark istatistiksel olarak anlamlı ise anlamlılığın hangi gruplar arası olduğunu tesbit etmek için Wilcoxon testi kullanıldı. Bonferroni düzeltmesi yapıldı.

Moris Yüzme Testi Parametrelerinin Değerlendirilmesi

- Grupların birbiriyle karşılaştırılması non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis ile,
- Grup içi karşılaştırma Friedman testi ile,
- Grup içi karşılaştırmada fark istatistiksel olarak anlamlı ise anlamlılığın hangi gruplar arası olduğunu tesbit etmek için Wilcoxon testi kullanıldı. Bonferroni düzeltmesi yapıldı.
- Retansiyon süreleri tek yönlü varyans analizi (ANOVA, Scheffe) ve T-testi ile değerlendirildi.

5-Hidroksiindolasetik Asit Tayini

- Tek yönlü varyans analizi (ANOVA, Scheffe) ve T-testi ile değerlendirildi.

Kortikosteron Tayini

- Tek yönlü varyans analizi (ANOVA, Scheffe) ve T-testi ile değerlendirildi.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yaşlanma, bütün fonksiyonlarda azalmayla ortaya çıkan fizyolojik bir süreçtir. Kuvvet kaybı, azalan lokomotor aktivite, motor koordinasyon eksikliği, öğrenme ve hafızanın azalması yaşlanmanın göstergesidir. Bunun üzerine çeşitli stresörler de eklendiği zaman öğrenme bozuklukları daha belirgin hale gelmektedir. Öğrenme performansında hayvanların cinsi, türü, soy farklılığı, hastalık durumu ve beslenme bozukluğu da önemlidir (112).

Literatürde yaşın ve çeşitli anksiyete modellerinin öğrenme üzerine etkisini araştıran çok sayıda çalışma vardır (32,110,112-114). Bizim amacımız, iki farklı yöntem kullanarak anksiyete oluşturulmuş hayvanlarda hem spasyal hem de emosyonel öğrenmeyi test etmek ve yaşla etkilenip etkilenmediğini araştırmaktır. Bu amaçla çalışmamızda anksiyete modellerinden yükseltilmiş T-labirent düzeneğini ve kedi dışkısına maruz bırakmayı birlikte kullandık. Spasyal öğrenmelerini Moris su tankında yer-yön tayini yaptırarak, emosyonel öğrenmelerini ise yükseltilmiş T-labirent düzeneğinde sakınma ve kaçma cevaplarını gözlemleyerek test ettik. Bu testlerin öncesinde ve sonrasında açık alan düzeneğinde davranış parametrelerine bakarak, anksiyetenin lokomotor aktiviteyi, keşifsel hareketleri ve otonom fonksiyonları nasıl etkilediğini değerlendirdik.

Açık Alan Düzeneğine Alma: Deneysel hayvan bu test düzeneğine alınca, hayatını devam ettirdiği ortamın dışına alınmasına cevap olarak artmış lokomotor aktivite, etrafı tanımaya, kutudan çıkmaya yönelik keşif hareketleri, kaçınma ve defekasyon yapma gibi emosyonel durumunu yansıtan davranışlar sergilediği bildirilmiştir (115). Davranış çalışmalarında elde edilen veriler; kullanılan hayvanın türüne, cinsine, laboratuvar ortamına, deneyi yapan kişiye, çalışmanın yapıldığı saate göre değişir. Bunun en güzel örneği Thifault ve arkadaşlarının C57BL/6J ve A/J cinsi farelerde yaptığı çalışmadır. Bu iki farklı fare cinsinin motor aktivite, koordinasyon ve spasyal öğrenmelerini aynı laboratuvar şartlarında test etmelerine rağmen, C57BL/6J farelerin A/J'lere göre tüm denemelerde daha aktif olduğunu bulmuşlar ve açık alanda B6 farelerin daha aktif olmasını da düşük anksiyete seviyeleri ile ilişkilendirmişlerdir (112,116). Candland ve arkadaşları da açık alan düzeneğinde lokomotor aktivite ve defekasyon parametrelerini farklı türlerde değerlendirmişler ve türler arası farklılıklar gözlemişlerdir. Özellikle fare ve sıçanlarda yaşla birlikte aktivitenin ve defekasyonun arttığını, ancak tekrarlayan denemelerde sıçanlarda defekasyonun azaldığını, farelerde ise arttığını belirtmişlerdir. Aynı çalışmada cinsiyetin ve yaşın etkisi değerlendirilmiş ve dişilerin erkeklerden, gençlerin de yaşlılardan daha aktif olduğu bulunmuştur (70). Farklı yaş grubundaki farelerde (5, 11, 17, 23 aylık) stresin etkisini, açık alan parametrelerini test ederek değerlendiren Pardon ve arkadaşları, motor aktivitenin ve keşifsel davranışın yaşla birlikte azaldığını, ancak stresle arttığını belirtmişlerdir (117).

Biz çalışmamızda hem yaşın hem de stresin lokomotor aktivite ve keşifsel davranışlarda azalmaya neden olduğunu gösterdik. Geçilen kareleri merkez ve kenarda yer alanlar olarak ayırdığımızda, kenarda geçilen kare sayısının merkezdekine göre tüm gruplarda yüksek olması, hayvanların köşe ve kenarlarda kendini daha güvenli hissetmesinden kaynaklanmaktadır. 1. ve 6. günlerde açık alan değerleri karşılaştırıldığında deney gruplarında hem çizgi geçme hem de arka ekstremiteleri üzerinde yükselme sayısının farklı olması bu günler arasında uygulanan testlere bağlıdır. Yükseltilmiş T-labirent ve kedi dışkısı hayvanlarda strese neden olarak lokomotor aktivitelerini ve keşifsel davranışlarını azaltmıştır. Bu azalma hayvanların emosyonel aktivitelerindeki artışın göstergesidir.

Bulgularımızla uyumlu olan bir çalışmada, açık alanda gençlerin yaşlılara göre daha aktif, yaşlıların strese cevaplarının, duygusallıklarının ve motivasyonlarının daha düşük olduğu bildirilmiş, bu durumun da hayvanın geçmişinde yaşadığı stresten ve genetik durumundan kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanmıştır (118).

Açık alan düzeneğinde bakılan parametrelerden birisi olan defekasyon oranı hayvanın emosyonel durumunun göstergesidir. Yeni bir ortama (açık alan, labirentler, su tankı, farklı kafes) alınan hayvanda defekasyon oluşan korkuya otomatik bir cevap olarak gelişir (119). Hayvan kendi ortamını oluşturmak, kokusunu ve yabancı maddeyi bu ortama vermek için defekasyon yapar. Açık alanda korkunun en önemli göstergesinin defekasyon olduğu bildirilmiştir (111). Anksiyete, korku ve kognisyon birbiri ile ilişkili fenomenlerdir. Anksiyete istenmeyen bir uyarın sonrasında kişide meydana gelen duygusal etkilenmedir, kontrol edilmesi oldukça zordur. Korku ise anksiyeteden farklıdır, daha komplekstir. Tehlike durumunda kendisini koruma amaçlı ortaya çıkar. Her ikisinin de bilişsel fonksiyonlarda bozulmalara neden olduğu gösterilmiştir (120). Korku ve aktivite arasındaki ilişkiyi açıklamaya çalışan bir çok görüş vardır. Bazı araştırmacılara göre korkan hayvan, etrafı daha fazla keşfetmeye yönelik hareketler yapar, aktif olur, araştırma faaliyeti devam ettikçe de korku azalır, diğer gruba göre korkan hayvan korkusu azalana kadar bir köşeye siner, daha az keşif hareketleri yapar şeklindedir. Ancak yapılan tüm çalışmalara rağmen bu ilişki kesinleşmemiştir (70,121). Biz de çalışmamızda strese maruz kalan grupta defekasyon sayısının arttığını gördük, ancak bunu istatistiksel olarak anlamlı bulamadık.

Kedi Dışısına Maruz Bırakma: Kedi kokusu medyal amigdala, ventromedyal ve dorsomedyal hipotalamus, dorsal preamillar nükleus ve periaduktal gri maddede savunma davranışını aktive eder. Dielenberg ve arkadaşları bu bölgelere ilave olarak kedi kokusu ile karşılaşan sıçanın tepkisinin posteroventral medyal amigdalanın güçlü ve selektif aktivasyonuna bağlı olduğunu belirtmişlerdir (82).

Kediyle ya da onun kokusu ile karşılaşmanın kemirgenlerde uzun süreli ve güçlü huzursuzluk, korku oluşturduğu (donma), bunun da keşifsel ve temizlenme davranışlarını baskıladığı bildirilmiştir (82,86,122). Hatta daha önce hiç kediyle ya da kokusuyla karşılaşmamış laboratuvar hayvanları da donma davranışı göstermektedir. Çünkü bu tepki tüm kemirgenlerde doğuştan vardır. Donma, hayvanın hareketsiz kalması, yalnızca başını hareket ettirmesi ile karakterize bir durumdur (77,82,123).

Çalışmamızda kullandığımız sıçanlar da daha önce kedi dışkısı ile hiç karşılaşmamış olmasına rağmen, kafesine kedi dışkısı konulduğu zaman önce bilinçsiz, hızlı hareketler yaptı, sonra kafesin köşesine çekildi ve hareketsiz kaldı. Bu da bize kedi dışkısının sıçanlarda anksiyeteye neden olduğunu gösterdi. Donma davranışını kedi dışkısına maruz bırakmanın hemen ardından yükseltilmiş T-labirent düzeneğine aldığımız sıçanlarda da gördük. Hayvanlar deney süresince kapalı kolda köşeye çekilerek hareketsiz kaldı. Bu bulgumuz Rodgers ve arkadaşlarının kediyile karşılaşmanın ardından, artı labirentteki bulgularına benzemektedir (124).

Sıçanları hem kedi kokusuna maruz bırakan, hem de kedinin kendisini sabitleyerek sıçanın karşısına çıkararak Robert ve arkadaşları ve bu iki durumun farkını göstermek için bu uygulamanın ardından hayvanlara hole board ve artı labirent testlerini uygulamışlar, hayvanların açık kola girme sayı ve süresinin iki grupta tamamen zıt olduğunu, kedi kokusuna maruz bırakılanların kontrole göre daha uzun süre risk alma davranışı gösterdiğini, ancak kedi ile direkt karşılaşan grupta kontrole göre risk alma davranışının azaldığını bulmuşlardır (83). Çok kısa bir süre kediyile karşı karşıya kalan sıçanda anksiyete durumunun 21 gün devam ettiği de literatürde gösterilmiş ve bu durumun insandaki post travmatik stres bozukluğuna benzer olduğu belirtilmiştir (122).

Yükseltilmiş T-labirent Düzeğine Alma: Anksiyete oluşturmak için yükseltilmiş artı labirent ile yapılan çok sayıda çalışma bulunmasına karşın (29,32-34,124), bu metod ile korku tiplerinin ayrımı yapılamamaktadır. Graeff ve arkadaşları, öğrenilmiş korku ile doğuştan var olan korkunun (açık alanda ve yüksekte kalmak) ayırt edilmesinde kullanılan bir model olan yükseltilmiş T labirent testini geliştirmişlerdir (63). Yaşantı sonucu öğrenilen korku jeneralize anksiyete bozukluğu ile, doğuştan var olan korku ise panik bozuklukla ilişkilendirilmiştir (66,69). Hayvanların doğasında var olan açık alanda kalma korkusu kapalı kola konulan hayvanın açık kola geçmesini engelleyecektir. Bu durum inhibitör sakınmayı (şartlı korku) öğrenmesini sağlayacaktır. Diğer yandan açık kollardan birisine konulan hayvan hemen kapalı kola girmek ve kendini güven altına almak isteyecektir. Bu da kaçma cevabının (şartsız korku) göstergesi olarak kabul edilmiştir (58,59,63-65,67,69). Nitrik oksidin (NO) bu iki korkuya etkisinin araştırıldığı çalışmada, NO'nun sadece yaşantı sonucu öğrenilen korkuda önemli olduğu, doğuştan varolan korkuyla ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır (125).

Farklı tipteki korkuların oluşumunda farklı beyin bölgeleri rol oynar. Yükseltilmiş T-labirentte sakınma reaksiyonunun medyal amigdaloïd nükleus, paraventriküler talamik nükleus, anterior-dorsomedyal hipotalamik nükleus ve medyan rafe nükleustaki, tek yönlü kaçışın ise bazolateral amigdaloïd nükleus, paraventriküler talamik nükleus ve dorsal periaduktal gri maddede Fos benzeri immunoreaktiviteyi arttırdığı bildirilmiş ve buradan amigdalanın her iki tip korku ayırımında da önemli olduğu sonucuna varılmıştır (57,126). Zanoveli ve arkadaşları da dorsal periaduktal gri maddedeki serotoninin inhibitör sakınma ve tek yönlü kaçış davranışını modüle ettiğini belirtmişlerdir (127).

Trisiklik antidepresan grubuna giren imipramin sıçanlara akut ve kronik olarak verildiğinde, yükseltilmiş T-labirentte şartsız korkuyu tanımlayan açık koldan kaçış süresini uzatması, imipraminin antipanik etkisinin olduğu şeklinde açıklanmıştır (59). Yükseltilmiş T-labirent çalışmaları panik ve jeneralize anksiyetenin etki mekanizmalarının araştırılmasının yanı sıra ilaçların anksiyolitik (63,67) ve antipanik etkinliklerini (59,60,67) çalışmak açısından da elverişli bir deney düzeneğidir. Özellikle anksiyolitiklerden benzodiazepin reseptör agonisti diazepam ve 5-HT_{1A} reseptör agonisti buspiron ve ipsapironun inhibitör sakınmayı bozduğu, tek yönlü kaçışı değiştirmede gösterilmiştir (57,126,128). Bu test ayrıca sıçanlarda inhibitör sakınmayı, kısa süreli hafızayı da araştırma imkanı sağlar (64).

Cohen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kedi kokusu uyguladıktan sonra, artı labirente alınan hayvanların kapalı ve açık kollara giriş süresinin azaldığı belirtilmiştir (122). Benzer sonucu biz de ardışık günlerde kedi kokusunun ardından yükseltilmiş T-labirent düzeneğine aldığımız hayvanların tekrarlayan denemelerinde gördük. Düzeneğin kapalı koluna ilk kez konulan hayvanın etrafı tanımak, karanlıktan kurtulmak amacıyla bu koldan çıkması, fakat tekrarlayan denemelerde (sakınma 1 ve sakınma 2) kapalı koldan çıkma süresinin azalması gerekir. Hayvanın kapalı koldan açık kola çıktığı zaman yüksekte kalacağını ve bu ortamın kendisi için güvensiz olacağını öğrenmesi beklenir. Aynı zamanda kaçma süresi olarak belirttiğimiz açık kola konulan hayvanın da açık ve yüksek alan korkusundan dolayı hemen kapalı kola girmesi normal bir durumdur. Ancak biz çalışmamızda kapalı kola koyduğumuz hayvanın ilk denemede açık kola çıkmadığını ve bunu tekrarlayan denemelerde de yaptığını gördük. Hayvanların kapalı koldan çıkmamasını kedi dışkısının gerçekten yüksek seviyede anksiyete oluşturarak, hayvanda donma davranışı oluşturması şeklinde

açıklayabiliriz. Açık kola koyduğumuz hayvanın ise kapalı kola girmiş olmasını şartsız korku cevabının anksiyeteden etkilenmediği şeklinde yorumlayabiliriz.

Moris Yüzme Testi Uygulaması: Kognitif fonksiyonların değerlendirilmesi radyal labirent ve Moris yüzme testi ile yapılmaktadır. Ancak özellikle referans spasyal öğrenme dediğimiz yer yön tayini yapılacağı zaman Moris yüzme testi tercih edilmektedir (26,28).

Spasyal öğrenme performansı beynin hipokampus, striatum, bazal ön beyin, serebellum, serebral korteks gibi çeşitli bölgelerindeki lezyonlar sonucunda bozular (21,108,113). İki farklı fare cinsi ile yapılan çalışmada, yüzme testinde C57BL/6J farelerin B6 farelere göre platformu bulmada daha başarısız olması, fornix seviyesindeki beyin anomalisine bağlanmıştır (116). Buradan Moris yüzme testinde verilen görevlerde hipokampus ilişkili yolların önemi açıkça görülmektedir. Görünür platformu bulamamaları ise artmış anksiyete, sudan kaçmadaki motivasyonun azalması, retinal ya da beyin görme yollarındaki anomaliler olmak üzere birden fazla faktöre bağlanmıştır (112,116). Spasyal öğrenme, ventral hipokampal lezyonlardan etkilenmez iken, dorsal komponentte bir lezyon olduğu zaman etkilenmektedir. Ventral hipokampal lezyonlardan ise anksiyete etkilenmektedir (78).

Cinsiyet farklılığının spasyal öğrenme performansında önemli olduğu gösterilmiştir (26). Veng ve arkadaşları F 344 sıçanlarda erkek ve dişi farklılıklarının spasyal öğrenme üzerine etkisini araştırmış, erkek ve dişilerin genç dönemde hemen hemen benzer performans gösterdiğini, ancak yaşlanma ile performansın azaldığını belirtmişlerdir (108). Altı aylık sıçanlarla yapılan bir başka çalışmada ise performansın dişilerde ve erkelerde aynı olduğu bulunmuştur (129).

Moris yüzme testi performansında tekrarın önemi fazladır. Deneme sayısı arttıkça hayvan daha fazla ip ucunu hafızasına alacak ve özel haritalar oluşturarak bunları kullanacaktır. Vicens ve arkadaşları erken dönemde (2 aylık) Moris yüzme testine aldıkları farelerin sonraki dönemlerinde (8 ve 16. aylar) spasyal öğrenmelerini test etmişler ve erken dönemde yapılan uygulamaların sonraki dönem için faydalı olduğu sonucuna varmışlardır (130).

Yaşlanma, insanda spasyal öğrenme ve hafızayı da içeren kognitif fonksiyonlarda dereceli azalmalara neden olur. Benzer durum sıçanlarda da tesbit edilmiştir (22). Yaşlanma ile birlikte motor ve refleks cevapların kontrolünde azalma olmaktadır. Motor performans bozuklukları yaşlanma ile strial dopamin sistemde oluşan nörodejeneratif değişikliklere bağlıdır. Shukitt-Hale bu bozulmanın hangi yaşlarda başladığını araştırmak için 6, 12, 15, 18 ve 22 aylık hayvanlara çeşitli testler uygulayarak, motor performanslarını ve spasyal öğrenmelerini test etmiş ve spasyal öğrenme bozukluklarının 12 ve 15 aylıklarda başladığını belirtmiştir (131). Yaşlı hayvanın spasyal öğrenme kapasitesini araştıran çalışmalar, genellikle yeni çevrenin öğrenilmesi sırasındaki performans odaklanmaktadır (132,133). Yaşlı beyin davranış kalıplarının, hipokampal disfonksiyon gelişmesiyle, gençlerden daha farklı olması kaçınılmazdır. Yaşlı sıçanlarda spasyal öğrenme bozulduğunda hipokampal CREB 1 azalırken, CREB 2 değişmemektedir (134). Hipokampal CA3 nöronlardaki apikal dendritlerindeki atrofının kognitif fonksiyonlarda bozulmalara neden olduğu gösterilmiştir (17,95). Hipokampustaki nöronal kayıplar stereolojik metodla gösterilmeye çalışılmış ancak bu yöntem davranışsal testler kadar başarılı olmamıştır (107). Üç hafta süre ile dışardan verilen kortikosteronun CA1 ve CA4 bölgelerinde hasar oluşturduğu, spasyal öğrenmeyi bozduğu bildirilmiştir (107,135). Bu iki çalışmada görüldüğü gibi kortikosteronun uzun süreli etkisi kognitif fonksiyonlar üzerine olumsuz yönde etki gösterirken, orta şiddetli bir stres faktörü sonrası oluşan düşük seviyeli etkisinin kognitif fonksiyonlar üzerine olumlu etkisi vardır (95). Her ne kadar düşük kortikosteron seviyesinin öğrenme ve bellek fonksiyonlarını arttırdığı, yüksek seviyesinin de azalttığı bilirse de keşifsel ve araştırmacı davranışları nasıl etkilediği henüz netleşmemiştir (95). Çünkü davranış parametreleri hayvanın deney öncesi bulunduğu kafesten, deneyin yapıldığı ana kadar pek çok faktörden etkilenmektedir. Deney öncesi konulduğu kafes çeşitli subjelerle zenginleştirilmiş ise, hayvan deney için yeni bir ortama alındığı zaman ortama hemen adapte olacak ve davranışları değişmeyecektir. Davranışlarının çok fazla etkilenmemesi HPA-aks cevap sistemlerinin daha fazla adaptif olmasına bağlanabilir (95). Kafeste kalan hayvan sayısı da spontan lokomotor aktiviteyi ve anksiyete seviyesini etkilemektedir. Tek tek kafeslerde bekletilen farelerin grup halinde yaşayan farelere oranla lokomotor aktivitelerinin fazla olduğu bulunmuş, ancak spasyal öğrenmenin bu koşullardan etkilenmediği belirtilmiştir (51). Moffat ve arkadaşları kendi ortamlarında barındırdıkları hayvanları genç, orta yaşlı ve yaşlı olarak

sınıflandırdıktan sonra spasyal öğrenmelerini test etmiş ve sonuçta yaşlıların gençlere göre daha zor öğrendiklerini tekrarların artmasıyla yaşlılarında yer-yön bulma kabiliyetlerinin arttığını belirtmişlerdir (113).

İki dakika verilerek bu süre içinde platformu bulması beklenen hayvanlardan genç olanların ilk uygulama-denemelerde daha çabuk bulduğu, yaşlı olanların daha geç bulduğu görülmüştür. Ancak uygulama ve deneme sayısı arttıkça yaşlı grubun da öğrenme performansı artmıştır. Deney ve kontrol grupları karşılaştırıldığında ise kontrol grubu hayvanların platformu daha kısa sürede bulmuş olması, anksiyetenin spasyal öğrenmeyi hem gençlerde hem de yaşlılarda etkilediğini gösterir.

Moris yüzme testi uygulayarak platformun yerini çevresel ipuçları, ve tekrarlayan denemelerle öğretmeye çalıştığımız sıçanların, platformu kaldırarak retansiyon sürelerini değerlendirdiğimizde platformun yerini en iyi öğrenen grubun genç kontrol, en zor öğrenen grubun ise yaşlı deney olduğunu gördük. Yaşlıların gençlere göre bu zayıf performansını, yaşlanma ile kognitif fonksiyonlardaki bozulmayla birlikte hatırlamanın zorlaşmasına bağladık.

Moris yüzme testi uygulanan hayvanlarda öğrenme performansının bozulması her zaman spasyal öğrenmenin bozulduğunu göstermez. Hayvanın bulunduğu ortamdaki rahatsız olması, korkması da öğrenme performansını etkiler. Bu nedenle çalışmalarda gerek sensorimotor koordinasyon ve motor öğrenme testlerinin, gerekse korku durumlarının moris yüzme testi ile birlikte değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiştir (136).

5-Hidroksiindolasetik asit Tayini: Serotonerjik sistem gelişimsel, yeme, uyku ağrı ve obsesif kompulsif bozukluk, şizofreni, depresyon, anksiyete bozuklukları gibi bir çok hastalıktan sorumlu tutulmuştur (128). Ancak bütün bu bozuklukların beyindeki geniş ölçekli nöron ağlarının işlevlerinin bozulmasıyla ilişkili olduğu, serotoninin bu nöron ağlarının işlevini düzenleyen nörotransmitterlerden biri olduğu unutulmamalıdır. Örneğin seçici serotonin geri alım önleyicilerinin depresyonu düzeltilmesi, depresyonda serotonin sisteminin bozuk olduğunu göstermez. İşlevi bozulmuş olan nöron devrelerinin serotonerjik uyarıların değiştirilmesiyle tekrar eski işlevlerine kavuşturulabileceğini gösterir. En eski nörotransmitterlerden biri olan serotoninin beyin gelişimi ve nöronların organizasyonunda da önemli rolleri olduğuna dair bulgular vardır. Başkalarına karşı şiddet kullanmış ya da şiddet içeren yöntemlerle intihar etmiş

kişilerin beyin omurilik sıvılarında 5-HIAA azalmış olarak bulunmuştur (137). Depresyonlu kişilerdeki duygu durumu bozukluklarının 5-HT'den kaynaklandığı farzedilmiş, ancak 5-HT ile depresyon arasındaki ilişki henüz tam olarak açıklanamamıştır (73). Campbell ve arkadaşları da serotonin 2C reseptörünün açık alanda akut korku benzeri davranış oluşturduğunu göstermiştir (138).

Bizde çalışmamızda diğer çalışmalardan farklı olarak serotoninin en belirgin metaboliti olan 5-HIAA'nın anksiyete oluşturulan sıçanlardaki idrar seviyesini araştırdık. 18 saatlik idrarlarını toplayarak 5-HIAA tayini yaptığımız sıçanların sadece genç gruplarında bulduğumuz farklılık davranış parametreleri ile paralellik göstermektedir. Ancak yaşlı gruplar arasında fark olmaması, 5-HIAA'nın erken yaşlar için uygun bir tarama yöntemi iken, yaşlılar için uygun olmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Kortikosteron Tayini: Yeni ve rahatsız edici bir uyarın (stresör) organizmada nörokimyasal, endokrin ve davranışsal, cevaplarda değişiklikler oluşturur (96). Bu stresörler hipotalamopitüiter-adrenal aksı devreye girdirir. HPA-aksının aktivasyonu hipotalamik CRH'nın salınımını başlatır. CRH ön hipofiz bezinden ACTH salgılatır. ACTH'da insanda kortizol, sıçanda kortikosteron salgılanmasına neden olur (139,140). Anksiyetenin artmasıyla kortikosteron seviyesinin arttığı, azalmasıyla da düştüğü gösterilmiştir (55). Landgraf yüksek ve düşük anksiyete düzeyine sahip gruplarla yaptığı çalışmada, yüksek anksiyeteye sahip sıçanların düşüklere göre daha fazla ACTH ve CORT salgıladıklarını göstermiş ve bu bulgularının da psikiyatrik hastaların bulgularına benzediğini belirtmiştir (120). Psikiyatrik kişilerin anksiyete veya depresyon seviyesinin tayininde ya 24 saatlik idrar miktarında ya da beyin omurilik sıvılarından alınan örneklerde kortizol tayini yapılır (141). Ancak stres sonrası sıçanlarda kortizol seviyesi artışı insandaki gibi değildir. Sıçanda minimal düzeyde arttığı için tayini de çok zordur. Bu nedenle özellikle sıçanlarla yapılan çalışmalarda kortizol yerine kortikosteron tayini önerilmektedir (140,141).

Sıçanlarda kortikosteron seviyesinin diurnal değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (142). Sürekli olarak hareketsizlik stresi uyguladıkları hayvanların sabah ve akşam saatlerinde kan örneklerini alan Brennen ve arkadaşları bu iki örneği radyoimmunoassay (RIA) yöntemi ile karşılaştırarak, sabah saatlerinde alınan plazma örneklerinde, stres uygulanan grupta CORT seviyesinin arttığını ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu, akşam saatlerinde ise stresli ve stressiz grubun benzer sonuçlar gösterdiğini

bulmuşlardır. Sadece sabah saatlerinde aldıkları idrar örneklerindeki CORT miktarının ise stresli ve stressiz grup arasında anlamlı fark gösterdiğini bulmuşlar, buradan da akut ve sürekli tekrarlayan streste, idrarda 24 saatlik CORT seviyesinin ölçülmesinin uygun olacağını bildirmişlerdir (141,143).

Hareketsizlik stresi uygulanan çalışmalarda bu stresten 1 saat sonra plazmada CORT seviyesinin 2 kat kadar arttığı görülmüştür. Aynı çalışmada bu değişikliklerin görülmesinin stresin türü ve süresine bağlı olduğu da vurgulanmıştır (143).

Kronik stresin ACTH ve CORT üzerine etkisi deneysel paradigmalara bağlıdır (144). Bazı araştırmacılar kronik strese maruz kalan organizmada adaptasyon gelişeceğini, böylece de akut strese göre ACTH ve CORT seviyesinin düşeceğini belirtmişlerdir (144-146). Ancak başka bir araştırmacı grubu ise kronik stres sonrası CORT seviyesinin arttığını söylemişlerdir (146,147). Hareketsizlik stresi ile postravmatik anksiyete oluşturulan sıçanlarda ACTH'nın değil de kortikosteron miktarının ölçülmesinin daha uygun olduğu, bu bulgunun insan çalışmaları ile paralellik gösterdiği belirtilmiştir (122).

Yükseltilmiş T-labirent ve kedi dışkısı kullanarak anksiyete oluşturduğumuz genç sıçanlarda CORT seviyesini kontrol grubuna göre daha yüksek bulmamız bu hayvanlarda gerçekten anksiyete oluştuğunu göstermektedir. Yaşlı grupta deney ve kontrol arasında CORT seviyesinin farklı olmaması ise yaşlıların stresten daha az etkilenmesine ve yaşlanma ile zaten azalan hormon seviyesine bağlanabilir.

Sonuç olarak, yükseltilmiş T-labirent düzeneğinde kapalı kola girme, Moris yüzme testinde platformu bulma sürelerinin gençlere göre yaşlı sıçanlarda uzaması, yaşlanmayla emosyonel ve spasyal öğrenmenin güçleşmesi şeklinde yorumlanabilir. Kedi dışkısına maruz bırakılarak anksiyete oluşturulan sıçanlarda bu sürelerin daha da uzaması, emosyonel ve spasyal öğrenmenin bozulmadığını ancak zorlaştığını gösterir.

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Kayseri’de doğdu. İlk öğrenimini Arif Eminoğlu ilkokulunda, orta ve lise öğrenimini ise TED Kayseri Koleji’nde tamamladı. 1994 yılında Erciyes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans eğitime başlayıp, 1998 yılında bu bölümden mezun oldu. Aynı yıl içinde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 1999 yılında Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim dalına Araştırma Görevlisi olarak atandı. 2001 yılında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim dalında Doktora öğrenimine başladı ve 2006 yılında tamamladı.

4. BULGULAR

Çalışmada kullanılan genç ve yaşlı hayvanların ağırlıkları değerlendirildiğinde (genç grup: 233.8 ± 12.3 , yaşlı grup: 432.4 ± 9.6) istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p < 0.05$). Gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında (genç deney: 231.3 ± 14.6 , genç kontrol: 236.3 ± 9.6 , yaşlı deney: 436.1 ± 10.9 , yaşlı kontrol: 428.8 ± 7.0) istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0.05$).

4.1. AÇIK ALAN PARAMETRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Açık alan düzeneğinde sıçanların çizgi geçme sayısının 1. ve 6. günlerdeki değerleri dört grup için Tablo 4.1'de sunulmuştur.

Tablo 4.1. Açık alan düzeneğinde 1. ve 6. günlerde sıçanların çizgi geçme sayısının ortalama ve standart sapma değerleri

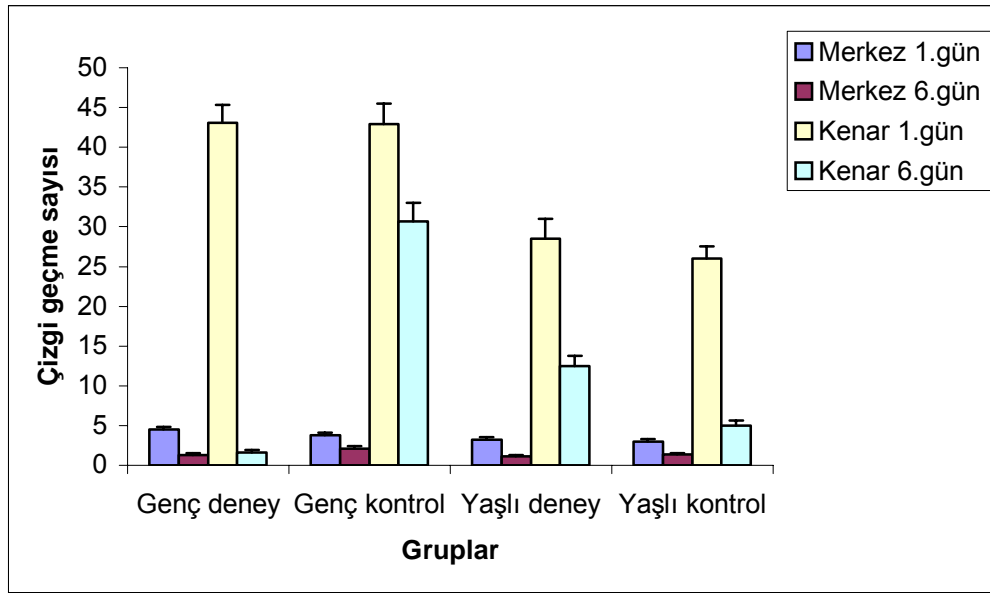
Gruplar	Çizgi Geçme Sayısı (sayı/5 dakika)					
	1.gün	6.gün	P	1.gün	6.gün	P
	Merkez (X ± SD)	Merkez (X ± SD)		Kenar (X ± SD)	Kenar (X ± SD)	
Genç deney (n=10)	4.5 ± 1.7	1.3 ± 0.6	0.008	43.1 ± 7.1	1.6 ± 1.1	0.005
Genç kontrol (n=10)	3.8 ± 1.3	2.1 ± 0.9	0.027	42.9 ± 8,4	30.7 ± 7.3 *	0.007
Yaşlı deney (n=10)	3.2 ± 1.1	1.1 ± 0.7	0.011	28.5 ± 8,1 *	12.5 ± 4.3 *	0.005
Yaşlı kontrol (n=10)	3.0 ± 1.0	1.4 ± 0.5	0.011	26.0 ± 4,9 ▲	5.0 ± 1.9 ▲♣	0.005
X ²	5.562	7.319		23.876	35.303	
p	0.135	0.062		0.001	0.001	

(*: genç deney grubundan farklı, ▲: genç kontrol grubundan farklı, ♣: yaşlı deney grubundan farklı)

Açık alanda sıçanların çizgi geçme sayıları merkezde ve kenarda olmak üzere ayrı ayrı değerlendirildiğinde tüm gruplar (genç deney, genç kontrol, yaşlı deney, yaşlı kontrol) için kenarlarda geçilen kare sayısının merkezdekine göre daha fazla olduğu gözlemlendi (Şekil 4.1).

Dört grubun merkezde geçilen kare sayısı 1. ve 6. günler için ayrı ayrı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p>0.05$). Ancak gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında dört grupta da 6. günlerde geçilen kare sayısının 1. güne göre azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p<0.05$), (Tablo 4.1).

Kenarda geçilen kare sayısı dört grup için karşılaştırıldığında 1. gün ve 6. günleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Gruplar kendi içinde karşılaştırıldığı zaman da merkezde geçilen kare sayısına benzer olarak, kenarda geçilen kare sayısının da 6. günde 1. güne göre azaldığı ve bu azalmanın dört grup içinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p<0.05$), (Tablo 4.1).



Şekil 4.1. Açık alan düzeneğinde 1. ve 6. günlerde sıçanların çizgi geçme sayısının ortalama ve standart hata değerleri

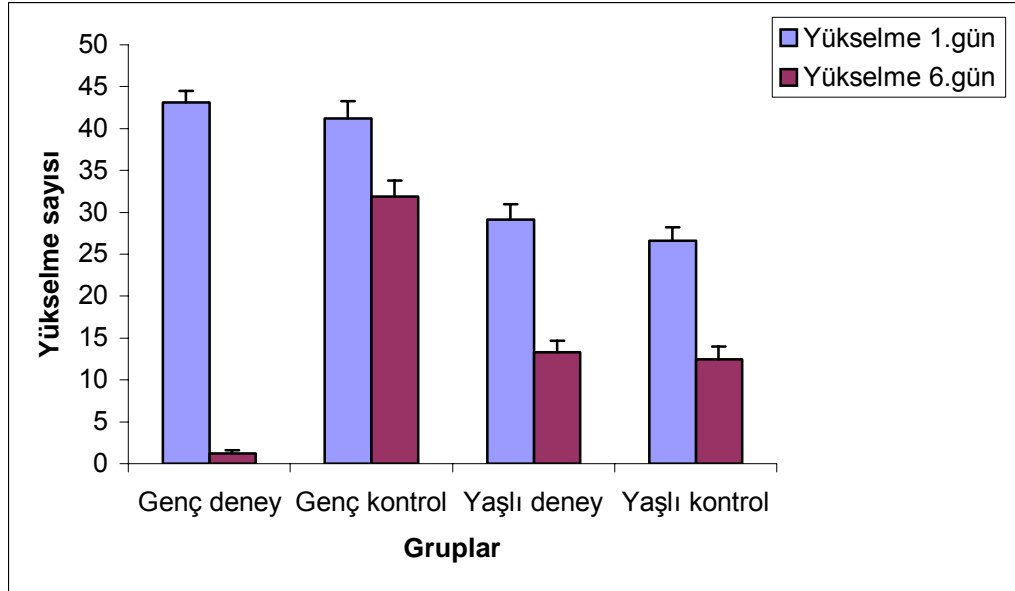
Açık alan düzeneğinde sıçanların arka ekstremiteleri üzerinde yükselme sayısının 1. ve 6. günlerdeki değerleri dört grup için Tablo 4.2’de sunulmuştur.

Tablo 4.2. Açık alan düzeneğinde 1. ve 6. günlerde sıçanların arka ekstremiteleri üzerinde yükselme sayısının ortalama ve standart sapma değerleri

Gruplar	Yükselme Sayısı (sayı/5 dakika)		
	1.gün (X ± SD)	6.gün (X ± SD)	P
Genç deney (n=10)	43.1 ± 4.5	1.2 ± 1.3	0.005
Genç kontrol (n=10)	41.2 ± 6.6	31.9 ± 6.0 *	0.014
Yaşlı deney (n=10)	29.1 ± 6.2 *	13.3 ± 4.6 *	0.007
Yaşlı kontrol (n=10)	26.6 ± 5.2 *	12.5 ± 4.7 ▲	0.005
X ²	26.419	32.743	
P	0,001	0,001	

(*: genç deney grubundan farklı, ▲: genç kontrol grubundan farklı, ♣: yaşlı deney grubundan farklı)

Yükselme sayıları gruplar arası karşılaştırmada hem 1. günde hem de 6. günde istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$), (Tablo 4.2). Grup içi karşılaştırmada 1. ve 6. günler arasında dört grupta da istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi ($p<0.05$), (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Açık alan düzeneğinde 1. ve 6. günlerde sıçanların arka ekstremiteleri üzerinde yükselme sayısının ortalama ve standart hata değerleri

Açık alan düzeneğinde sıçanların defekasyon sayısının 1. ve 6. günlerdeki değerleri dört grup için Tablo 4.3’de sunulmuştur.

Tablo 4.3. Açık alan düzeneğinde 1. ve 6. günlerde sıçanların defekasyon sayısının ortalama ve standart sapma değerleri

Gruplar	Defekasyon Sayısı (sayı/5 dakika)		
	1.gün (X ± SD)	6.gün (X ± SD)	p
Genç deney (n=10)	2.6 ± 2.4	4.3 ± 1.7	0.152
Genç kontrol (n=10)	3.1 ± 2.1	2.8 ± 2.3	0.682
Yaşlı deney (n=10)	2.7 ± 2.6	4.3 ± 2.9	0.215
Yaşlı kontrol (n=10)	2.1 ± 1.5	3.4 ± 2.8	0.337
X ²	0.768	2.385	
p	0.857	0.496	

Açık alan düzeneğinde, 1. ve 6. günlerde gözlenen sıçanların defekasyon sayısı karşılaştırıldığında gruplar arası istatistiksel fark bulunmadı, her bir gruptaki sıçanların 1. ve 6. gün defekasyon sayıları karşılaştırıldığında da bütün gruplar için anlamlı fark elde edilmedi ($p>0.05$) (Tablo 4.3).

Açık alan düzeneğinde sıçanların kaşınma sayısının 1. ve 6. günlerdeki değerleri dört grup için Tablo 4.4’de sunulmuştur.

Tablo 4.4. Açık alan düzeneğinde 1. ve 6. günlerde sıçanların kaşınma sayısının ortalama ve standart sapma değerleri

Gruplar	Kaşınma Sayısı (sayı/5 dakika)					
	Sayı		P	Süre		P
	1.gün (X ± SD)	6.gün (X ± SD)		1.gün (X ± SD)	6.gün (X ± SD)	
Genç deney (n=10)	2.9 ± 1,7	5.9 ± 1.5	0.009	43.9 ± 21.5	93.4 ± 30.3	0.007
Genç kontrol (n=10)	2.2 ± 1,9	2.9 ± 1.8*	0.370	34.8 ± 23.0	42.2 ± 33.5	0.594
Yaşlı deney (n=10)	4.3 ± 1,7	4.6 ± 1.8	0.762	13.6 ± 5.8 *	33.1 ± 14.7	0.009
Yaşlı kontrol (n=10)	3.5 ± 2,0	6.3 ± 2.0 [▲]	0.052	20.6 ± 26.8	66.2 ± 33.5	0.059
X²	5.817	13.337		11.037	14.944	
p	0.121	0.004		0.012	0.002	

(*: genç deney grubundan farklı, ▲: genç kontrol grubundan farklı)

Birinci günde dört grubun kaşınma sayıları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamsız (p=0.121) bulunurken, 6. günde gruplar arası fark anlamlı (p=0.004) bulundu. Grup içi karşılaştırmada sadece genç deney grubunun 1. ve 6. günleri arasında anlamlı farklılık gözlemlendi (p=0.009), (Tablo 4.4).

Kaşınma süreleri, gruplar arası karşılaştırmada hem 1. gün (p=0.012) hem de 6. günde (p=0.002) anlamlı bulunurken, grup içi karşılaştırmada genç kontrol grubu hariç (p=0.594), diğer gruplarda 1. ve 6. gün arasındaki fark anlamlı bulundu (p<0.05), (Tablo 4.4).

Açık alan düzeneğinde sıçanların oturma süresinin 1. ve 6. günlerdeki değerleri dört grup için Tablo 4.5’de sunulmuştur.

Tablo 4.5. Açık alan düzeneğinde 1. ve 6. günlerde sıçanların oturma süresinin ortalama ve standart sapma değerleri

Gruplar	Oturma Süresi (sn)		
	1.gün (X ± SD)	2.gün (X ± SD)	p
Genç deney (n=10)	22.7 ± 17.1	269.7 ± 17.6	0.005
Genç kontrol (n=10)	20.0 ± 15.5	28.1 ± 17.0*	0.445
Yaşlı deney (n=10)	14.9 ± 12.1	86.6 ± 28.7*	0.005
Yaşlı kontrol (n=10)	18.2 ± 23.9	74.3 ± 32.7 [▲]	0.008
X ²	1.872	30.321	
p	0.599	0.001	

(* : genç deney grubundan farklı, ▲ : genç kontrol grubundan farklı)

Grupların oturma sürelerinin 1. günleri birbiriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken (p=0.599), 6. günleri karşılaştırıldığında anlamlı fark bulundu (p<0.05). Grup içi karşılaştırmada genç kontrol hariç (p=0.445), diğer gruplarda 1. ve 6. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (p<0.05), (Tablo 4.5).

4.2.YÜKSELTİLMİŞ T-LABİRENT PARAMETRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Yükseltilmiş T-labirent düzeneğinde genç ve yaşlı sıçanların ortalama bazal, sakınma 1 ve sakınma 2 süreleri Tablo 4.6’da, ortalama kaçma süreleri ise Tablo 4.7’de gösterilmiştir.

Tablo 4.6. Yükseltilmiş T-labirent düzeneğinde sıçanların ortalama bazal ve sakınma süreleri ve standart sapma değerleri

T-labirent uygulaması		Bazal ve sakınma süreleri (sn)		X ²	p
		Genç Deneç (n=10) (X ± SD)	Yaşlı Deneç (n=10) (X ± SD)		
BS	1	215.7 ± 82.3	267.7 ± 51.6	2.77	0.096
	2	300 ± 0.0	296.1 ± 12.3	1.00	0.317
	3	285.6 ± 45.5	300.0 ± 0.0	1.00	0.317
	4	300.0 ± 0.0	295.4 ± 14.5	1.00	0.317
	5	300.0 ± 0.0	300.0 ± 0.0	0.00	1.000
S1	1	296.3 ± 11.7	295.4 ± 13.8	0.370	0.543
	2	300 ± 0.0	300 ± 0.0	0.000	1.000
	3	287.5 ± 39.5	300 ± 0.0	1.000	0.317
	4	300 ± 0.0	288.5 ± 36.3	1.000	0.317
	5	300 ± 0.0	300 ± 0.0	0.000	1.000
S2	1	300 ± 0.0	300 ± 0.0	0.000	1.000
	2	300 ± 0.0	300 ± 0.0	0.000	1.000
	3	300 ± 0.0	300 ± 0.0	0.000	1.000
	4	300 ± 0.0	300 ± 0.0	0.000	1.000
	5	300 ± 0.0	300 ± 0.0	0.000	1.000

(BS: bazal süre, S1: sakınma 1 süresi, S2: sakınma 2 süresi)

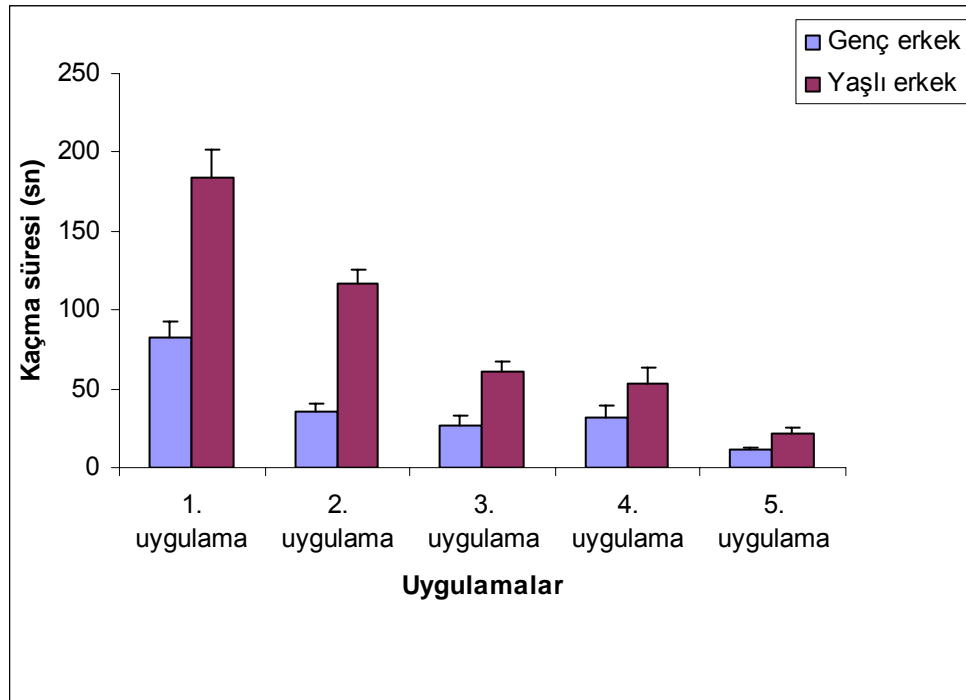
Yükseltilmiş T-labirent düzeneğine alınan genç ve yaşlı sıçanların hem bazal süre hem de sakınma 1 ve sakınma 2 süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p > 0.05$), (Tablo 4.6).

Tablo 4.7. Yükseltilmiş T-labirent düzeneğinde sıçanların ortalama kaçma sürelerinin ortalama ve standart sapma değerleri

T-labirent uygulaması	Kaçma Süresi (sn)		X ²	p
	Genç Deneş (n=10) (X ± SD)	Yaşlı Deneş (n=10) (X ± SD)		
1	82.9 ± 31.2	183.9 ± 55.9	12.632	0.001
2	34.9 ± 19.1 ^{a,b}	117.2 ± 27.4 ^a	13.730	0.001
3	27.2 ± 19.1 ^{a,b}	61.0 ± 20.6 ^{a, b, c}	7.841	0.005
4	31.4 ± 25.7 ^{a,b}	52.7 ± 34.1 ^{a, b, c}	4.490	0.034
5	11.4 ± 4.2 ^a	21.4 ± 11.2 ^{a, c}	6.779	0.009

(a: 1. uygulamadan farklı, b: 5. uygulamadan farklı, c: 2. uygulamadan farklı)

Yükseltilmiş T-labirentte sıçanların kaçma değerleri hem genç hem de yaşlı grupta beş uygulama için de istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$), (Tablo 4.7), (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Yükseltilmiş T-labirent düzeneğinde sıçanların kaçma cevapları

4.3. MORİS YÜZME TEST PARAMETRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Moris yüzme testi uygulanan sıçanların platformu bulması için geçen toplam süre Tablo 4.8’de, platformsuz yarı alanda geçirilen toplam süre Tablo 4.9’da sunulmuştur.

Tablo 4.8. Platformu bulmak için geçirilen toplam sürenin ortalama ve standart sapma değerleri

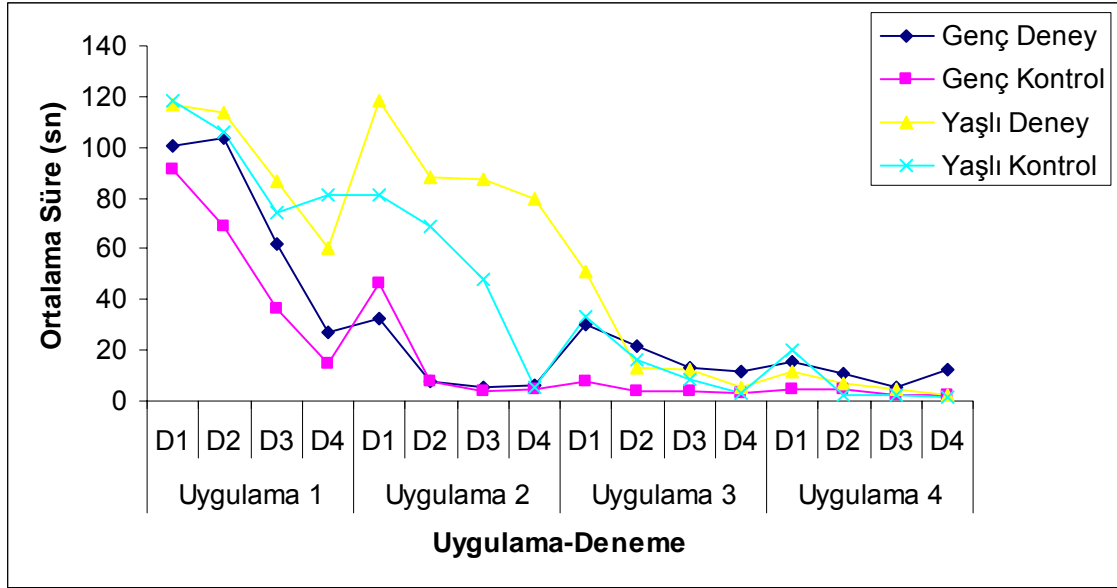
Uygulama	Deneme	Platformu Bulma Süresi (sn)				P
		Genç deney (n=10) (X ± SD)	Genç kontrol (n=10) (X ± SD)	Yaşlı deney (n=10) (X ± SD)	Yaşlı kontrol (n=10) (X ± SD)	
1. uygulama	1	100,5 ± 32,5	91,6 ± 33,4	116,6 ± 9,2	118,5 ± 7,9	0,049
	2	103,4 ± 27,4	69,0 ± 40,4	113,8 ± 13,5	106,2 ± 19,7 ^a	0,004
	3	62,1 ± 39,0 ^a	36,6 ± 21,0 ^a	86,8 ± 30,8 ^a	74,1 ± 24,3 ^a	0,004
	4	26,9 ± 17,2 ^a	14,6 ± 13,2 ^a	60,2 ± 33,9 ^a	81,0 ± 13,5 ^a	0,001
2. uygulama	1	32,2 ± 9,8 ^a	46,3 ± 41,3 ^a	118,7 ± 7,2	81,4 ± 38,1 ^a	0,001
	2	7,4 ± 2,9 ^b	7,4 ± 3,8 ^b	88,4 ± 18,4 ^b	69,2 ± 47,1	0,001
	3	5,1 ± 0,9	3,9 ± 1,6	87,1 ± 21,7	48,1 ± 23,5	0,001
	4	6,3 ± 1,3	4,6 ± 3,2	79,9 ± 12,4	5,5 ± 2,9	0,001
3. uygulama	1	30,4 ± 37,2 ^a	7,5 ± 4,9 ^{a,b}	51,3 ± 33,7 ^{a,b}	33,2 ± 33,2 ^{a,b}	0,024
	2	21,9 ± 33,7	3,8 ± 1,9	13,1 ± 7,2	16,6 ± 12,1	0,179
	3	13,5 ± 24,5	3,6 ± 1,5	12,3 ± 8,0	8,5 ± 15,3	0,462
	4	11,6 ± 15,7	3,0 ± 0,6	5,4 ± 4,0	3,2 ± 2,4	0,086
4. uygulama	1	15,4 ± 10,9 ^{a,b}	4,9 ± 2,5 ^{a,b}	11,8 ± 4,6 ^{a,b,c}	19,8 ± 9,8 ^{a,b}	0,001
	2	10,5 ± 8,3	4,3 ± 2,1	6,6 ± 3,6 ^d	2,2 ± 1,2 ^d	0,003
	3	5,8 ± 4,5	2,7 ± 0,6	4,4 ± 2,6 ^e	2,1 ± 0,8 ^e	0,016
	4	12,4 ± 22,0	2,5 ± 0,7	2,0 ± 0,9 ^f	1,6 ± 0,6 ^f	0,103

(a: 1. uygulama 1. denemeden farklı, b: 2. uygulama 1. denemeden farklı

c: 3. uygulama 1. denemeden farklı, d: 3. uygulama 2. denemeden farklı

e: 3. uygulama 3. denemeden farklı, f: 3. uygulama 4. denemeden farklı)

Moris yüzme test uygulanan sıçanların tekrarlayan uygulama-denemeler sonunda platformu bulma süresi kısalmış ve gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Gençler denemelerin başında platformu yaşlılara göre daha çabuk bulmuş ancak tekrarlayan denemelerde yaşlıların da platformu bulma süresi kısalmıştır (Tablo 4.8), (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Moris yüzme testinde platformu bulmak için geçen toplam süre
(D1: 1. deneme, D2: 2. deneme, D3: 3. deneme, D4: 4. deneme)

Tablo 4.9. Platformszuz yarı alanda geçirilen sürenin ortalama ve standart sapma değerleri

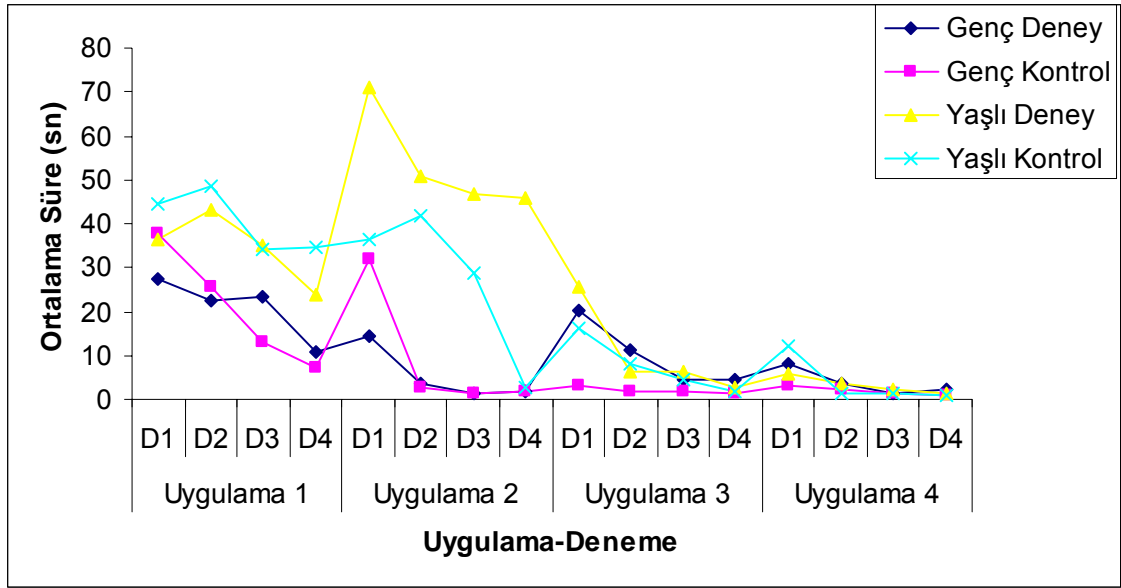
Uygulama	Deneme	Platformszuz Yarı Alanda Geçirilen Süre (sn)				p
		Genç deney (n=10) (X ± SD)	Genç kontrol (n=10) (X ± SD)	Yaşı deney (n=10) (X ± SD)	Yaşı kontrol (n=10) (X ± SD)	
1. uygulama	1	27,5 ± 21,6	37,9 ± 22,3	36,3 ± 20,4	44,3 ± 12,4	0,308
	2	22,4 ± 10,3	25,8 ± 23,6	43,1 ± 18,9	48,5 ± 18,0	0,006
	3	23,4 ± 25,2	13,0 ± 16,5 ^a	35,2 ± 17,1	34,1 ± 16,7	0,047
	4	10,7 ± 11,6 ^a	7,1 ± 8,0 ^a	23,8 ± 16,2	34,8 ± 17,7	0,001
2. uygulama	1	14,3 ± 5,05	31,7 ± 33,6	71,2 ± 12,8 ^a	36,2 ± 17,7	0,001
	2	3,5 ± 2,0	2,5 ± 1,9	50,9 ± 20,6	41,9 ± 32,9	0,001
	3	1,4 ± 0,5	1,2 ± 0,6	46,8 ± 17,8	28,8 ± 21,0	0,001
	4	1,6 ± 0,8	1,7 ± 1,2	45,8 ± 16,9	2,9 ± 2,2	0,001
3. uygulama	1	20,4 ± 36,7	3,1 ± 2,7 ^{a,b}	25,6 ± 21,1 ^b	16,2 ± 15,7 ^{a,b}	0,164
	2	11,2 ± 20,5	1,6 ± 0,8	6,2 ± 4,9	8,1 ± 5,9	0,276
	3	4,7 ± 9,9	1,7 ± 0,8	6,5 ± 4,1	4,4 ± 8,6	0,495
	4	4,4 ± 8,0	1,2 ± 0,4	2,9 ± 2,1	1,6 ± 1,0	0,325
4. uygulama	1	8,3 ± 7,9 ^{a,b}	3,2 ± 3,1 ^{a,b}	5,9 ± 3,2 ^{a,b,c}	12,0 ± 6,5 ^{a,b}	0,009
	2	3,6 ± 5,2	2,2 ± 1,6	3,6 ± 2,5	1,5 ± 0,9 ^d	0,339
	3	1,3 ± 0,4	1,2 ± 0,4 ^e	2,3 ± 1,7 ^e	1,2 ± 0,4 ^e	0,032
	4	2,2 ± 1,6	1,1 ± 0,3	1,3 ± 0,6 ^f	1,1 ± 0,3	0,029

(**a**: 1. uygulama 1. denemeden farklı, **b**: 2. uygulama 1. denemeden farklı

c: 3. uygulama 1. denemeden farklı, **d**: 3. uygulama 2. denemeden farklı

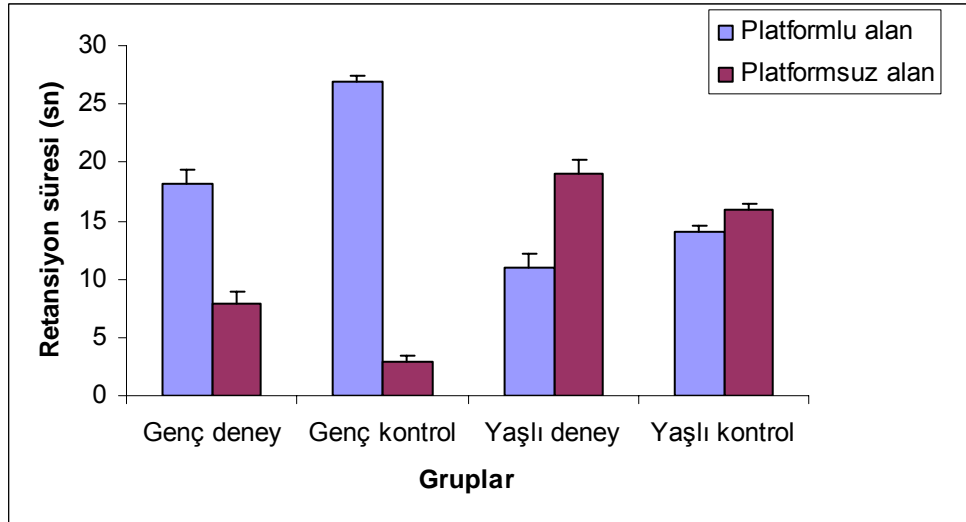
e: 3. uygulama 3. denemeden farklı, **f**: 3. uygulama 4. denemeden farklı)

Dört grubun platformszuz yarı alanda geçirdikleri süre değerlendirildiğinde ilk uygulama-denemelerde gençler yaşıllara göre platformun yerini daha önce buldu. Sonraki denemelerde ise yaşılların platformu bulma süresi kısaldı (Tablo 4.9), (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Moris yüzme testinde platformsuz yarı alanda geçirilen toplam süre (D1: 1. deneme, D2: 2. deneme, D3: 3. deneme, D4: 4. deneme)

Dört gün dört deneme süresince sabit yerde bulunan platform son günde kaldırıldıktan sonra hayvanların 30 sn lik zaman diliminde bu bölgede geçirdiği sürenin (retansiyon süresi) gruplar arası karşılaştırması Şekil 4.6’da verilmiştir.



Şekil 4.6. Moris yüzme testi uygulanan sıçanların retansiyon süreleri

Dört grubun retansiyon süreleri birbirleri ile karşılaştırıldığında platformlu alanda en fazla süre geçiren grubun genç kontrol grubu (27.0 ± 1.5), en az zaman geçiren grubun ise yaşlı deneysel grubu (11.0 ± 4.0) olduğu görülmektedir (Şekil 4.6).

Tablo 4.10. Moris yüzme testine alınan sıçanların ortalama retansiyon süreleri ve standart sapma değerleri

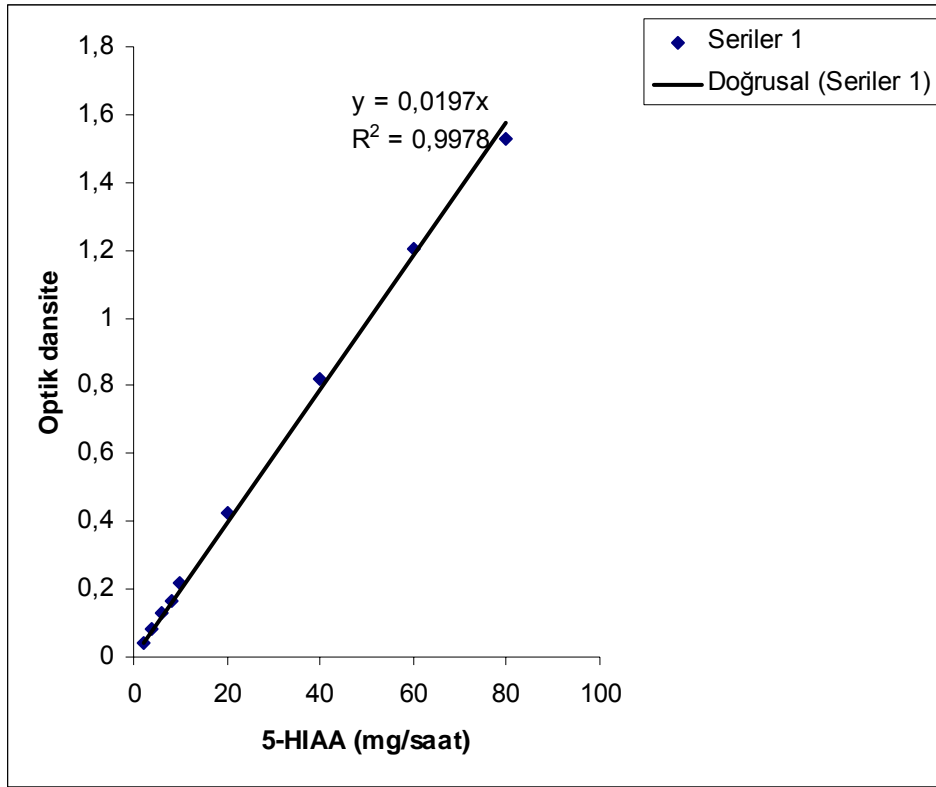
Gruplar	Retansiyon süresi (sn)	
	Platformlu yarı alan ($X \pm SD$)	Platformsuz yarı alan ($X \pm SD$)
Genç deney (n=10)	18.1 \pm 4.1	7.9 \pm 3.7
Genç kontrol (n=10)	27.0 \pm 1.5 ^a	3.0 \pm 1.5 ^a
Yaşlı deney (n=10)	11.0 \pm 4.0 ^a	19.0 \pm 4.0 ^a
Yaşlı kontrol (n=10)	14.1 \pm 1.7 ^{b,c}	15.9 \pm 1.7 ^{b,c}
F	49.5	59.9
p	0.001	0.001

(a: genç deney grubundan farklı, b: yaşlı deney grubundan farklı, c: genç kontrol grubundan farklı)

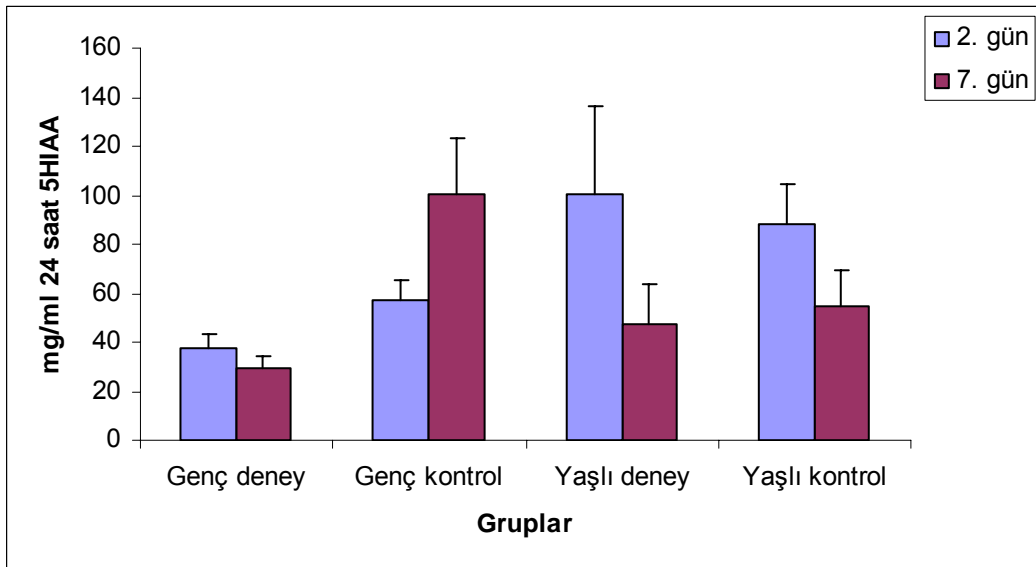
Dört grubun platformlu yarı alanda geçirdikleri süreler ve platformsuz yarı alanda geçirdikleri süreler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p < 0.05$), (Tablo 4.10).

4.4. 5-HİDROKSİİNDOLASETİK ASİT TAYİNİ

Çalışmanın 1. ve 6. gününde metabolizma kafesine alınan hayvanların 2. ve 7. günlerde toplanmış olan idrarlarında tayin edilen 5-HIAA miktarının standart eğrisi Şekil 4.7’de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. 5-Hidroksiindolasetik asit standart eğrisi

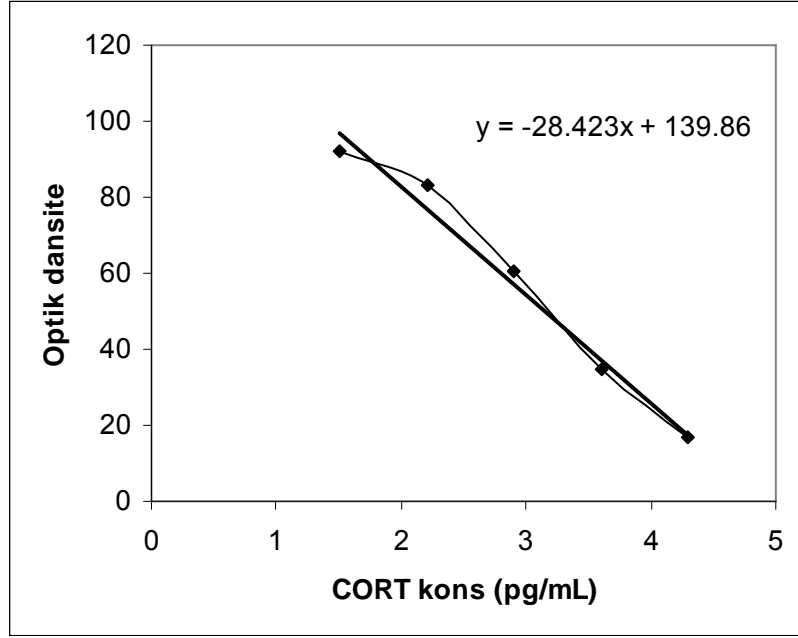


Şekil 4.8. 5- Hidroksiindolasetik asit ortalama ve standart hata değerleri

Dört grubun 2. ve 7. günlerdeki değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılmasında 2. günde fark gözlenmezken ($p=0.152$), 7. günde gruplar arası anlamlı fark ($p=0.027$) gözlemlendi. Farklılık gençlerin deney ve kontrol grupları arasında bulundu ($p=0.008$), (Şekil 4.8).

4.5. KORTİKOSTERON TAYİNİ

Çalışmanın 7. gününde kanları alınarak CORT seviyesine bakılan sıçanların, CORT konsantrasyonuna göre optik dansitelerinin standart eğrisi Tablo 4.9'da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Kortikosteron standart eğrisi

Tablo 4.11. Deneyin 7. gününde grupların kortikosteron seviyelerinin ortalama ve standart sapma değerleri

Gruplar	n	Kortikosteron miktarı (pg/mL) (X ± SD)
Genç deney	10	20.0 ± 0.0
Genç kontrol	10	11.27 ± 1.41 ≠
Yaşlı deney	10	10.64 ± 2.04 ≠
Yaşlı kontrol	10	12.19 ± 2.50
F		61.19
p		0.001

(≠: genç deney grubundan farklı)

Kortikosteron seviyeleri dört grup için karşılaştırıldığında gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Anlamlı farklılık hem genç grubun deney ve kontrolü arasında hem de genç ve yaşlı deney grupları arasında gözlemlendi ($p < 0.05$), (Tablo 4.11).

6. KAYNAKLAR

1. Yamantürk P. Yeni ilaçların geliştirilmesinde kullanılan deneysel öğrenme ve bellek modellerinin irdelenmesi, I. Ulusal Sinirbilimleri Kongre Bildiri Özetleri, 16-20 Mart 2002, Eskişehir.
2. Stam R, Bruijnzeel AW, Wiegant VM. Long lasting stress sensitisation. *European Journal of Pharmacology* 2000; 405:217-224
3. Yiğit R. Kontrol Sistemleri, Sindirim ve Boşaltım Fizyolojisi. Ziya Ziylan, Öğrenme ve Bellek, Nobel Tıp Kitabevleri, 2001: 293-298
4. Köknel Ö, Özüğurlu K, Bahadır GA. Davranış Bilimleri, İstanbul, Bayrak Matbaacılık, 1989: 85-115
5. Barry SF, Randolph BS, Stephen MR. *Synopsis of Neuropsychiatry*. New York, Maple Press, 2000: 112-287
6. Agras WS, Wilson GT. Learning theory. In: Sadock BJ, Sadock VA. *Comprehensive Textbook of Psychiatry*, 7 th ed, Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2000: 413-425
7. Hawkins RD, Abrams TW, Carew TJ, Kandel ER. A cellular mechanism of classical conditioning in *Aplysia*: activity dependent amplification of presynaptic facilitation. *Science* 1983; 219: 400-405

8. Ganong WF. Tıbbi Fizyoloji. Gökbel H. Sinir sisteminin yüksek fonksiyonları: Şartlı Refleksler, Öğrenme ve İlişkili Olaylar. Barış Kitabevi, Cilt 1, 17. Baskı, 329-333
9. Guyton AC, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji. Serebral korteks; Beynin entellektüel işlevleri; öğrenme ve bellek. Alemdar ofset, Savaş kitabevi, Nobel Kitabevi, 1996: 742-747
10. Vander AJ, Sherman JH, Luciano DS. İnsan Fizyolojisi Bilinç ve davranış, Bilimsel ve Teknik Yayınları Çeviri Vakfı (6. baskı), Medikal kitabevi, İstanbul 1997: 379-381
11. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. Cellular mechanisms of learning and the biological basis of individuality. In: Principles of Neural Science, 4th ed., McGraw-Hill Companies, 2000:1247-1277
12. Lang AJ, Craske MG. Information processing in anxiety and depression. Behavioral Research Therapy 1997;35(5):451-455
13. Gazzaniga MS. The new cognitive neurosciences. In: Randy LB. Neuroimaging of Memory The Mit Press Cambridge, 1999: 817-828
14. Yıldırım BD. Davranış Bilimlerine Giriş. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Antıp aş. Yayınları, 1998: 83-153
15. Guyton AC, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji. Beynin davranışsal ve motivasyonel mekanizmaları- Limbik sistem ve hipotalamus. Alemdar ofset, Savaş kitabevi, Nobel Kitabevi, 1996: 757
16. Bickford CJ. Alpha 7-nicotinic receptor and the neurobiology of psychosis schizophrenia. Bull National Institute of Mental Health 1998; 24(2):189-202
17. Gazzaniga MS. The new cognitive neurosciences. In: Bruce SM. Stress, Sex and the structural and functional plasticity of the hippocampus. The Mit Press Cambridge, 1999: 176-182
18. Ohl F. Testing for anxiety. Clinical Neuroscience Research 2003; 3:233-238
19. Parra P, Gulyas AI, Miles R. How many subtypes of inhibitory cells in the hippocampus? Neuron 1998;20:983-993

20. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods* 1984;11:47-60
21. Rudi DH, Peter PD. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews* 2001; 36:60-90
22. Groen T, Kadish I, Wyss JM. Old rats remember old tricks; memories of the water maze persist for 12 months. *Behavioural Brain Research* 2002; 136:247-255
23. 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
24. Schimanski LA, Nguyen PV. Multidisciplinary approaches for investigating the mechanisms of hippocampus-dependent memory: a focus on inbred mouse strains. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 2004; 28:463-483
25. Lalonde R, Qian S, Strazielle C. Transgenic mice expressing the PS1-A246E mutation effects on spatial learning exploration, anxiety and motor coordination. *Behavioural Brain Research* 2003; 138:71-79
26. Kanit L, Yılmaz Ö, Taşkiran D, Balkan B, Furedy JJ, et al. Nicotine interacts with sex in affecting rat choice “look out” and “navigational” cognitive styles in the Morris water maze place learning task. *Brain Research Bulletin* 1998; 46: 441-445
27. Vera K, Jana J, Ondrej K, Pavel S, Ivan K, et al. Combined restraint and cold stress in rats: effects on memory processing in passive avoidance task and on plasma levels of ACTH and corticosterone. *Behavioural Brain Research* 2003; 142:143-149
28. 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
29. 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, 136-138
30. Küçük A. Depresyon ve Anksiyete Modeli Oluşturulan Deney Hayvanlarında Yaş ve Cinsiyetin Davranış Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Temmuz 2001.

31. Myhrer T. Neurotransmitter systems involved in learning and memory in the rat: a meta-analysis based on studies of four behavioral tasks. *Brain Research Review* 2003; 41: 268-28
32. Rodgers RJ, Cao BJ, Dalvi A. Animal models of anxiety, an ethological perspective. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1997; 30:289-304
33. Masserman JH, Yum KS. An analysis of the influence of alcoholism experimental neuroses in cats. *Psychosom Medical* 1946; 8:36-52
34. Geller I, Seifler J. The effect of meprobamates, d-amphetamine and promazine an experimentally induced conflict in the rat. *Psychopharmacologia* 1960; 11:482-491
35. Treit D. Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review. *Neuroscience&Biobehavioural Reviews* 1985; 9: 203-222
36. Kayaalp SO. *Tıbbi Farmakoloji*. Cilt II (9. baskı), Feryal Matbaacılık, Ankara 2000, 885-888
37. 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 pp 133-141
38. Frye CA, Petralia SM, Rhodes ME. Estrous cycle and sex differences in performance on anxiety tasks coincide with increases in hippocampal progesterone and $3\alpha, 5\alpha$ -THP. *Pharmacology Biochemistry&Behavior* 2000; 67:587-596
39. 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 199-223
40. Porsolt RD, Martin P, Lenegre A, Fromage S, Drieu K. Effects of an extract of Ginkgo Biloba (EGB 761) on 'Learned Helplessness' and other models of stress in rodents. *Pharmacology Biochemistry&Behavior* 1990; 36: 963-971

41. 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
42. 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
43. Boulton AA, Baker GB, Martin-Iverson MT. Neuromethods: Animal models in Psychiatry, II. In: Sanger DJ, Animal models of anxiety and the screening and development of novel anxiolytic drugs, The Humana Press, 1991, pp 150-186
44. 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
45. 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
46. Van Gaalen MM, Steckler T. Behavioural analysis of four mouse strains in an anxiety test battery. *Behavioural Brain Research* 2000; 115:95-106
47. Li XL, Aou S, Hori T, Oomura Y. Spatial memory deficit and emotional abnormality in QLETF rats. *Physiology&Behavior* 2002; 75:15-23
48. 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
49. 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
50. 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

51. 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
52. 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
53. 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
54. 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
55. Ferguson GD, Herschman HR, Storm DR. Reduced anxiety and depression like behavior in synoptatagmin IV (-/-) mice. *Neuropharmacology* 2004; 47:604-611
56. 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
57. Strauss CVA, Maisonnnette 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
58. 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
59. 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
60. 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

61. 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
62. Sena LM, Bueno C, Pobbe RLH, Andrade TGCS, Zangrossi H, 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
63. 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
64. Zangrossi H, Graeff FG. Behavioural validation of the elevated T-maze, a new animal model of anxiety. *Brain Research Bulletin* 1997; 44:1-5
65. 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
66. 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
67. Graeff FG, Netto CF, Zangrossi H. The elevated T-maze as an experimental model of anxiety. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews* 1998; 23:237-246
68. 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
69. 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
70. Candland DK. The open field: some comparative data. *Annals New York Academy of Sciences* 1969; 159:831-851
71. 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

72. Phillips KM. Effects of time and administration of ethanol on open field behavior in hamsters. *Physiology & Behavior* 1982; 29: 785-787
73. 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
74. Nowak G, Szewezyk 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
75. Medico M, Nicosia A, Grech M, Onesta M, Sessa G, et al. Riluzole restores motor activity in rats with post-traumatic peripheral neuropathy. *Neuroscience Letters* 2004; 358:37-40
76. Shalev U, Kafkafi N. Repeated maternal separation does not alter sucrose-reinforced and open field behaviors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2002; 73:115-122
77. 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
78. Bannerman DM, Grubb M, Deacon RMJ, Yee BK, Feldon J, et al. Ventral hippocampal lesions affect anxiety but not spatial learning. *Behavioural Brain Research* 2003; 139:197-213
79. 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
80. Trauth JA, Seidler FJ, Slotkin TA. Persistent and delayed behavioral changes after nicotine treatment in adolescent rats. *Brain Research* 2000; 880:167-172
81. 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

82. Dielenberg RA, McGregor IS. Defensive behavior in rats towards predatory odors; a review. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews* 2001; 25:597-609
83. 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
84. Dielenberg RA, Arnold JC, McGregor IS. Low-dose midazolam attenuates predatory odor avoidance in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1999; 62:197-201
85. Lang PJ, Davis M, Öhman A. Fear and anxiety, animal models and human cognitive psychophysiology. *Journal of Affective Disorders* 2000; 61:137-159
86. 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
87. Tanrıdağ O. Teoride ve Pratikte Davranış Nörolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri, 1994: 47-48
88. Tozar Z. *Bilim ve Teknik Dergisi*, 2005: 447
89. Koloğlu S. Temel ve Klinik Endokrinoloji. Arslan M. Psikiyatrik rahatsızlıklarda endokrin faktörlerin rolü. *Medical Network & Nobel*, 1. Baskı, 1996:125
90. Ziylan Z. Stres: Sessiz düşman, 30. Ulusal Fizyoloji Kongresi Bildiri Özetleri, 31 Ağustos-3 Eylül 2004, Konya.
91. Yiğit R. Genel Fizyoloji. Tamer Ş. Stres Fizyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri, Savaş cilti, 2001: 29-30.
92. Yiğit R. Genel Fizyoloji. Tamer Ş. Stres Fizyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri, Savaş cilti, 2001: 33-39.
93. Gass P, Reichardt HM, Strekalova T, Henn F, Tronche F. Mice with targeted mutations of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors: Models for depression anxiety? *Physiology&Behavior* 2001; 73:811-825
94. Koloğlu S. Temel ve Klinik Endokrinoloji. Akalın S. Beyin Fonksiyonları Üzerine Hormonal Etkiler, *Medical Network & Nobel*, 1. Baskı, 1996:109

95. Larsson F, Winblad B, Mohammed AH. Psychological stress and environmental adaptation in enriched vs. impoverished housed rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2002; 73:193-207
96. Keeney AJ, Hogg S, Marsden CA. Alterations in core body temperature, locomotor activity and corticosterone following acute and repeated social defeat of male NMRI mice. *Physiology&Behavior* 2001; 74:177-184
97. Some M, Beck O, Helander A. Acute interaction between ethanol and serotonin metabolism in the rat. *Life Sciences* 1997; 61:577-583
98. Some M, Helander A. Urinary excretion patterns of 5-hydroxyindole-3-acetic acid and 5-hydroxytryptophol in various animal species: Implications for studies on serotonin metabolism and turnover rate. *Life Sciences* 2002; 71:2341-2349
99. Aslan D. *Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler*. Palme Yayıncılık (5. baskıdan çeviri), 2005: 538-541
100. Pamela C, Richard A. *Lippincott Biyokimya*. Nobel Tıp Kitabevleri (2. baskı), İstanbul 1997: 265-266
101. Moore TM, Scarpa A, Raine A. A meta-analysis of serotonin metabolite 5-HIAA and antisocial behavior. *Aggressive Behavior* 2002; 28:299-316
102. Harro J, Haidkind R, Harro M, Modiri AR, Gillberg PG, et al. Chronic mild unpredictable stress after noradrenergic denervation attenuation of behavioural and biochemical effects of DSP-4 treatment. *European Neuro-psychopharmacology* 1999; 10: 5-16
103. Volke V, Soosaar A, Koks S, Bourin M, Manniströ PT, et al. 7- Nitroindazole a nitric oxide synthase, inhibitor has anxiolytic-like properties in exploratory models of anxiety. *Psychopharmacology* 1997; 131: 399-405
104. Kathleen MP. Effects of time and administration of ethanol on open field behavior in hamsters. *Physiology&Behavior* 1982; 29:785-787
105. Conde C, Costa V, Tomaz C. Measuring emotional memory in the elevated T-maze using a training to criterion procedure. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1999; 63(1):63-69

106. Attaway CM, Compton DM, Turner MD. The effects of nicotine on learning and memory: A neuropsychological assessment in young and senescent Fischer 344 rats, *Physiology&Behaviour* 1999; 67(3):421-431
107. 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
108. Veng LM, Granholm AC, Rose GM. Age related sex differences in spatial learning and basal forebrain cholinergic neurons in F344 rats. *Physiology&Behavior* 2003; 80:27-36
109. Wu W, Yu LC. Roles of oxytocin in spatial learning and memory in the nucleus basalis of Meynert in rats. *Regulatory Peptides* 2004; 120:119-125
110. Villarreal JS, Gonzalez-Lima F, Berndt J, Barea-Rodriguez EJ. Water maze training in aged rats: effects on brain metabolic capacity and behavior. *Brain Research* 2002; 939:43-51
111. Stafstrom CE, Chronopoulos A, Thurber S, Thompson JL, Holmes GL. Age dependent cognitive and behavioral deficits after kainic acid seizures. *Epilepsia* 1993; 34(3):420-432
112. Hengemihle JM, Long JM, Betkey J, Jucker M, Ingram DK. Age related psychomotor and spatial learning deficits in 129/SVJ mice. *Neurobiology of Aging* 1999; 20:9-18
113. Moffat SD, Zonderman AB, Resnick SM. Age differences in spatial memory in a virtual environment navigation task. *Neurobiology of Aging* 2001; 22:787-796
114. Geinisman Y, Ganeshina O, Yoshida R, Berry RW, Disterhoft JF, Gallagher M. Aging, spatial learning and total synapse number in the rat CA1 stratum radiatum. *Neurobiology of Aging* 2004; 25:407-416
115. Shimosato K, Watanabe S. Concurrent evaluation of locomotor response to novelty and propensity toward cocaine conditioned place preference in mice. *Journal of Neuroscience* 2003; 23:103-110

116. Thifault S, Lalonde R, Sanon N, Hamet P. Comparisons between C57BL/6J and A/J mice in motor activity and coordination, hole-poking and spatial learning. *Brain Research Bulletin* 2002; 58(2):213-218
117. Pardon MC, Perez-Diaz F, Joubert C, Cohen-Salmon C. Age dependent effects of a chronic ultramild stress procedure on an open field behaviour in B6D2F1 female mice. *Physiology&Behavior* 2000; 70:7-13
118. Sprott RL, Eleftheriou BE. Open field behavior in aging inbred mice. *Gerontologia* 1974; 20:155-162
119. Candland DK, Napy ZM. Open field behavior in the rat: What does it mean? *Annals of the New York Academy of Science* 1969; 159:831-851
120. Landgraf R. HAB/LAB rats: an animal model of extremes in trait anxiety and depression. *Clinical Neuroscience Research* 2003; 3:239-244
121. Galea LAM, Wide JK, Barr AM. Estradiol alleviates depressive like symptoms in a novel animal model of post partum depression. *Behavioral Brain Research* 2001; 122: 1-9
122. Cohen H, Benjamin J, Kaplan Z, Kotler M. Administration of high-dose ketoconazole, an inhibitor of steroid synthesis prevents posttraumatic anxiety in an animal model. *European Neuropsychopharmacology* 2000; 10:429-435
123. Hubbard DT, Blanchard DC, Yang M, Markham CM, Gervacio A, et al. Development of defensive behaviour and conditioning to cat odor in the rat. *Physiology&Behavior* 2004; 80:525-530
124. Rodgers RJ, Haller J, Holmes A, Halasz J, Walton TJ, et al. Corticosterone response to the plus maze: High correlation with risk assesment in rats and mice. *Physiology&Behavior* 1999; 68:47-53
125. Calizto AV, Vandresen N, Nucci G, Moreno H, Faria MS. Nitric oxide may underlie learned fear in the elevated T-maze. *Brain Research Bulletin* 2001; 55:37-42
126. Zangrossi H, Viana MB, Zanoveli J, Bueno C, Nogueira RL, et al. Serotonergic regulation of inhibitory avoidance and one-way escape in the rat elevated T-maze. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews* 2001; 25:637-645

127. Zanoveli JM, Nogueira RL, Zangrossi H. Serotonin in the dorsal periaqueductal gray modulates inhibitory avoidance and one-way escape behaviors in the elevated T-maze. *European Journal of Pharmacology* 2003; 473:153-161
128. Mora PO, Netto CF, Graeff FG. Role of 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor subtypes in the two types of fear generated by the elevated T-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1997; 58:1051-1057
129. Bucci DJ, Chiba AA, Gallagher M. Spatial learning in male and female Long-Evans rats. *Behavioral Neuroscience* 1995; 109:180-183
130. Vicens P, Redolat R, Carrasco MC. Effects of early spatial training on water maze performance a longitudinal study in mice. *Experimental Gerontology* 2002; 37:575-581
131. Shukitt-Hale B, Mouzakis G, Joseph JA. Psychomotor and spatial memory performance in aging male Fischer 344 rats. *Experimental Gerontology* 1998; 33:615-624
132. Lamberty Y, Klitgaard H. Consequences of Pentylentetrazole kindling on spatial memory and emotional responding in the rat. *Epilepsy&Behavior* 2000; 1:256-261
133. Schrijver NCA, Bahr NI, Weiss IC, Würbel H. Dissociable effects of isolation rearing and environmental enrichment on exploration, spatial learning and HPP activity in adult rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2002; 73:209-224
134. Brightwell JJ, Gallagher M, Colombo PJ. Hippocampal CREB1 but not CREB2 is decreased in aged rats with spatial memory impairments. *Neurobiology of Learning and Memory* 2004; 81:19-26
135. Arbel I, Kadar T, Sşlbermann M, Levy A. The effectes of long-term corticosterone administration on hippocampal morphology and cognitive performance of middle-aged rats. *Brain Research* 1994; 657:227-235
136. Hölscher C. Stress impairs performance in spatial water maze learning tasks. *Behavioural Brain Research* 1999; 100:225-235
137. Yüksel N. Psikofarmakoloji, Çizgi Tıp Yayınevi, 2. Baskı, Ankara, 2003

138. Campbell BM, Merchant KM. Serotonin 2C receptors within the basolateral amygdala induce acute fear like responses in an open field environment. *Brain Research* 2003; 993:1-9
139. Harris RBS, Gu H, Mitchell TD, Endale L, Russo M, et al. Increased glucocorticoid response to a novel stress in rats that have been restrained. *Physiology&Behavior* 2004; 81:557-568
140. Gregus A, Wintink AJ, Davis AC, Kalynchuk LE. Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. *Behavioural Brain Research* 2005; 156:105-114
141. Brennan FX, Ottenweller JE, Seifu Y, Zhu G, Servatius RJ. Persistent stress-induced elevations of urinary corticosterone in rats. *Physiology&Behavior* 2000; 71:441-446
142. Hulse RE, Kunkler PE, Fedynyshyn JP, Kraig RP. Optimization of multiplexed bead-based cytokine immunoassays for rat serum and brain tissue. *Journal of Neuroscience Methods* 2004; 136:87-98
143. Rogoz Z, Budziszewska B, Kubera M, Basta-Kaim A, Jaworska-Feil L, et al. Effects of combined treatment with imipramine and metyrapone on the immobility time, the activity of Hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis and immunological parameters in the forced swimming test in the rat. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2005; 56(1):49-61
144. Kant GJ, Eggleston T, Landman-Roberts L, Kenion CC, Driver GC, et al. Habituation to repeated stress in stressor specific. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1985; 22:631-634
145. Kant GJ, Leu JR, Anderson SM, Mougey EH. Effects of chronic stress on plasma corticosterone, ACTH and prolactin. *Physiology and Behavior* 1987; 40:775-779
146. Amario A, Castellanos JM, Balasch J. Adaptation of anterior pituitary hormones to chronic noise stress in male rats. *Behavioral Neural Biology* 1984; 41:71-76
147. Irwin J, Ahluwalia P, Zacharko RM, Anisman H. Central norepinephrine and plasma corticosterone following acute and chronic stressors: influence of social isolation and handling. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1986; 24:1151-1154