

## ANKSİYETE MODELİ OLUŞTURULAN ERKEK FARELERDE YAŞLANMANIN EMOSYONEL ÖĞRENME VE HAFIZAYA ETKİSİ\*

### Effect of aging on emotional learning and memory in male mice used as animal model of anxiety

Ayşegül KÜÇÜK<sup>1</sup>, Asuman GÖLGELİ<sup>2</sup>

#### Özet

**Amaç:** Anksiyete modeli oluşturmak için kullanılan yükseltilmiş T-labirent ile, genç ve yaşlı farelerde, korkuya bağlı öğrenme ve hafızanın test edilmesi amaçlanmıştır. Korkuya bağlı öğrenmeyi (emosyonel öğrenme) yansıtan şartlı sakınma cevapları (inhibitory avoidance), ardışık 3 deneme boyunca hayvanın kapalı kolu terk etme süresidir. Şartsız korkuyu (doğal korku) yansıtan kaçma cevabı ise, açık kolu terk etme süresidir ve panik davranışla ilişkilidir.

**Gereç ve Yöntem:** Yükseltilmiş T-labirent yerden 38.5 cm yükseklikte, biri kapalı ikisi açık olan üç kollu bir düzenektir. Deneylerde genç yetişkin (3 ay) ve yaşlı erkek fare (18 ay sonrası) kullanılmıştır.

**Bulgular:** Genç ve yaşlı farelerin bazal çıkma süresine göre sakınma 1 ve 2 süreleri uzamış gençlerde bu uzama gençlerde her ikisi içinde anlamlı iken, yaşlılarda sakınma 2 anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Bazal çıkma süreleri yaşlılıkla değişmezken, yaşlı farelerde sakınma cevapları kısalmıştır. Yaşlı fareler daha kısa süreli kaçma cevabı göstermiştir.

**Sonuç:** Bulgularımız iki ayrı korkuya farelerin yaşlanmayla farklı cevap oluşturduğunu, yaşlılarda inhibitör sakınma cevapları kıaldığı için korkuya bağlı öğrenmenin zorlaştığını göstermektedir. Kaçma cevapları karşılaştırıldığında ise yaşlıların daha çabuk panik davranış sergiledikleri görülmektedir.

Yaşlanmayla öğrenilmiş ve doğal korku bozulduğundan hayvan modellerinde davranışın yaştan etkilenebileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Anksiyete, Fare, Kısa süreli hafıza, Yaşlılık

Yaşlanma bütün fonksiyonlarda azalmayla ortaya çıkan fizyolojik bir süreçtir. Yaşlı hayvanın spasyal bellek kapasitesini araştıran çalışmalar, genellikle yeni çevrenin öğrenilmesi sırasındaki performans

\*18. Ulusal Klinik Nörofizyoloji EEG-EMG Kongresi 5. Uluslar arası Klinik Nörofizyoloji, 1-5 Mayıs 2001, Antalya  
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi 38039 KAYSERİ  
Fizyoloji. Araş.Gör.Dr.<sup>1</sup>, Prof.Dr.<sup>2</sup>.

Geliş tarihi: 28 Temmuz 2002

#### Abstract

**Purpose:** The aim of this study was to evaluate learning and memory in the elevated male T-maze, used as the animal model of anxiety. Inhibitory avoidance representing learned fear (emotional learning) is measured by recording the time taken to leave the enclosed arm in 3 consecutive trials. Unconditioned fear (initial fear) is evaluated by recording the time to escape from the open arm, associated with panic disorder.

**Materials and Methods:** Elevated T-maze consists of 3 arms of equal dimension elevated 38.5 cm from the floor. Young adult (3 month old) and aged (18 month old) mice were used in the experiment.

**Results:** The avoidance 1 and 2 latency increased in both the young and aged rats. Baseline latency did not change with age although inhibitory avoidance latency shortened in the aged rats. Escape latency was much shorter in the young rats than in the aged rats.

**Conclusion:** These results showed that the latency of avoidance and escape responses reflected two types of fear/anxiety and differed with age; learned fear improved and escaped latency shortened in the aged rats. Therefore, there were significant differences between young and aged rats in the performance of behavioral tasks in the elevated T-maze. Learned and initial fear were distributed by aging so we concluded that age can effect behaviour in animal models.

**Key Words:** Aged, Anxiety, Mice, Short-term memory

odaklanmaktadır (1). Yaşlı beynin davranış kalıplarının hipokampal disfonksiyon gelişmesiyle gençlerden daha farklı olması kaçınılmazdır. Yaşlanmayla stresörlere verilecek cevap da değişebilir. Deney hayvanlarında anksiyete oluşturmak için literatürde 30'dan fazla modele rastlanmaktadır (2). Anksiyete oluşturmak için yükseltilmiş artı labirent (elevated plus maze) ile yapılan çok sayıda çalışma bulunmasına karşın

(3,4), bu metot ile korku tiplerinin ayrımı yapılamamaktadır. Graeff ve arkadaşları anksiyete bozuklukları ile ilgili olan şartlı korku ve panik bozukluklar ile ilgili olan şartsız korkuyu ayırabilen yükseltilmiş T labirent (elevated T-maze) testini geliştirmişlerdir (5). Bu test ayrıca sıçanlarda inhibitör sakınmayı, korkuya bağlı öğrenme ve kısa süreli hafızayı araştırma imkanı sağlar (6).

Bu çalışma; yaşlanmanın şartlı ve şartsız korkuya verilecek cevabı ne şekilde değiştireceğini, kısa süreli hafızanın nasıl etkileneceğini araştırmak amacıyla planlanmıştır. Bu amaçla genç ve yaşlı erkek farelerde yükseltilmiş T-labirent testi uygulaması yapılmıştır.

#### **MATERYAL-METOD**

Bu çalışmada ağırlıkları 20-25 g (3 aylık) ve 30-35 g (18 ay ve sonrası) arasında değişen 10 adet sağlıklı genç erkek ve 10 adet sağlıklı yaşlı erkek fare kullanıldı. Yerden yüksekliği 38.5 cm olan T-labirentin eşit uzunluktaki üç kolundan biri kapalı, diğer ikisi açıktır (7). Kapalı kolun üç kenarı 15 cm yüksekliğinde pleksiglas duvarla çevrilidir. Açık kollarında yer alan 0.25 cm yüksekliğinde pleksiglas kenarlık hayvanın labirentten düşmesini engellemektedir.

Kapalı kola fare yüzü açık kola dönük olacak şekilde yerleştirildi. Bu kolu dört patisi ile terk etme süresi başlangıç süresi (baseline latency) olarak kaydedildi. Şartlı korku (conditioned fear) oluşturmak için bu işlem arka arkaya 30 sn

aralıklarla iki kez daha tekrarlandı. Bu denemelerden ilki sakınma 1 (avoidance 1), ikincisi sakınma 2 (avoidance 2) süresi olarak alındı. Sakınma sürelerinin saptanmasından 30 sn sonra hayvan sağ açık kolun distaline konuldu ve dört patisi ile bu kolu terk etme süresi kaydedildi. Son ölçüm, kaçma latensi (escape latency) olarak adlandırılır. Bu uygulamayla panik bozukluklarla ilişkisi olan şartsız korku (unconditioned fear) oluşturulmuş oldu. Her bir hayvan bir kez kullanıldı ve her uygulama sonrası labirentin içi %20'lik alkolle temizlendi. Bulgularımız Student t-testi ve tekrarlayan ölçümler analizi (Repetead measure test) ile istatistiksel açıdan değerlendirildi.

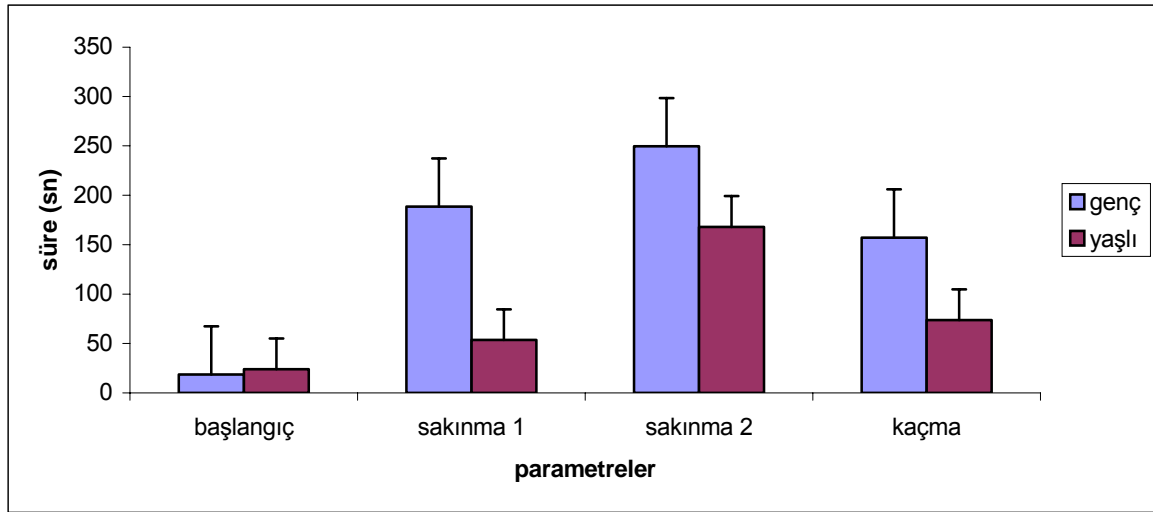
#### **BULGULAR**

Tablo 1'de genç ve yaşlı erkek farelerde yükseltilmiş T-labirent uygulamasıyla şartlı ve şartsız korkuya cevap olarak ortaya çıkan sakınma ve kaçma süreleri verilmiştir. Hem genç hem de yaşlı farelerde başlangıç süresini takiben sakınma 1 ve sakınma 2 süresi uzamıştır. Genç farelerde sakınma 1 ve sakınma 2 başlangıçtan anlamlı farklılık gösterirken yaşlı farelerde sakınma 2 hem başlangıçtan hem de sakınma 1 den farklı olmuştur. Bu bulguyla yükseltilmiş T-labirentte şartlı korkuya verilen inhibitör sakınma cevaplarının uzadığı ancak gençlerde bu cevabın daha belirgin olduğu görülür. Kaçma süresi yaşlılarda azalmış ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Genç ve yaşlı karşılaştırıldığında başlangıç süreleri değişmezken sakınma 1 yaşlıda daha kısa (anlamlı fark  $p<0.05$ ) bulunmuş, sakınma 2 de fark yoktur.

**Tablo I.** Yükseltilmiş T labirentte genç ve yaşlı erkek farelerin şartlı ve şartsız korku cevapları

Grup	Şartlı korku cevabı			Şartsız korku cevabı		
	Başlangıç süresi (sn) X±SD	Sakinma 1 süresi (sn) X±SD	Sakinma 2 süresi (sn) X±SD	f	p	Kaçma süresi (sn) X±SD
Genç fare (n=10)	18.5±3.0	188.5±36.6 <sup>a</sup>	249.5±30.6 <sup>a,b</sup>	30.6	<0.05	157.2±17.5
Yaşlı fare (n=10)	23.9±9.4	53.5±11.5	168±33 <sup>a,b</sup>	12.9	<0.05	73.7±18.8
t	0.5	3.5	1.8		3.3	
p	>0.05	<0.05	>0.05		<0.05	

a: başlangıç süresinden farklı p<0.05, b: sakınma 1 süresinden farklı p<0.05.



**Şekil 1.** Yükseltilmiş T labirentte, genç ve yaşlı erkek farelerin ortalama başlangıç, sakınma ve kaçma süreleri ve standart hataları

## TARTIŞMA

Yükseltilmiş T labirent testinde hayvanın kapalı kolu terk etme süresi şartlı korku oluşturulmasıyla

uzamaktadır (6,7). Çünkü kemirgenlerin doğasında açıklık ve yükseklik korkusu vardır (6). Jardim ve arkadaşları yükseltilmiş T labirent testinde farelerde kapalı kolu terk etme süresinin art arda yapılan üç

uygulamada da anlamlı olarak değişmediğini göstermiş, bu testin sıçanlardan daha vahşi olan fareler için uygun olmadığını ileri sürmüşlerdir (7). Ancak daha önceki bir çalışmamızda sağlıklı dişi farelerin yükseltilmiş T labirentte uzamış sakınma cevabı oluşturduklarını gösterdik (8). Bu testin fareler için de anksiyete oluşturmada uygun bir yöntem olduğunu belirtmiştik.

Bir çok çalışmada anksiyete ile hafızanın negatif güçlendirilmesi arasında yakın ilişki olduğu gösterilmiştir (9-10). Yükseltilmiş T-labirent testinde sakınma sürelerinin kısalması, emosyonel korkuya hayvanın verdiği cevabın kısalması, yani kısa süreli hafızanın bozulmasını yansıtır. Bu çalışmada da, hem genç hem de yaşlı erkek fareler yükseltilmiş T-labirentte uzamış sakınma cevapları oluşturdu. Ancak gençlerde şartlı korku cevabı, yaşlılarda ise şartsız korku cevapları daha belirgindir. İnhibitör sakınma cevabının yaşlı erkek farelerde gençlere göre daha az olması yaşlanmanın öğrenilmiş korkuyu bozduğunu, kısa süreli hafızayı etkilendiğini gösterir. Genç farelerde ortaya çıkan kaçma cevabının uzaması, doğal korku cevabının gençlerde belirgin olmadığını, yaşlı farelerin ise panik davranış sergilediğini göstermektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Tanila H, Sipila P, Shapiro M, Eichenbaum H: Brain aging: impaired coding of novel environmental cues. *J Neurosci* 1997; 17: 5167-5174.
2. Rodgers RJ, Cao BJ, Dalvi A: Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Braz J Med Biol Res* 1997; 30:289-304.
3. Andreatini R, Bacellar LFS: The relationship between anxiety and depression in animal models: a study using the forced swimming test and elevated plus-maze. *Braz J. Med. Biol. Res* 1999;32:1121-1126.
4. Lister R.G: The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology* 1987; 92:180-185.
5. Graeff FG, Viana MB, Tomaz C: The elevated T-maze, a new experimental model of anxiety and memory: effect of diazepam. *Braz. J. Med. Biol. Res* 1993; 26:67-70.
6. Zangrossi HJ, Graeff FG: Behavioral validation of the elevated T- maze a new animal model of anxiety. *Brain Res. Bull* 1997; 44:1-5.
7. Jardim MC, Nogueira RL, Graeff FG : Evaluation of the elevated T-maze as an animal model of anxiety in the mouse. *Brain Res.Bull* 1999;48:407-411.
8. Küçük A, Gölge A, Arslan M: Yükseltilmiş T-labirentle dişi farelerde anksiyete oluşturulması. *Fizyolojik Bilimler Derneği 26. Kongresi 4-8 Eylül 2000. P:137, ss 188, Eskişehir.*
9. Beuzen A, Belzung C: Link between emotional memory and anxiety states: A study by principal component analysis. *Psychology and Behavior* 1995;58:111-118.
10. Tomaz C, Dickinson-Anson H, McGaugh JL, De Souza Silva MA, Viana MB, Graeff FG: Localization in the amigdala of the amnestic action of diazepam on emotional memory. *Behavioural Brain Research* 1993;58:99-105.