

DEPRESYON OLUŞTURULAN SIÇANLARDA YAŞIN AÇIK ALAN PARAMETRELERİNE ETKİSİ

Effects of age on open field parameters in depression developed rats

Ayşegül Küçük¹, Asuman Gölgeli², Mustafa Arslan³

Abstract

Purpose: We aimed to study the effects of age on open field parameters after the behavioural despair test, a depression model, in rats.

Materials and Methods: Ten young and ten adult male rats were used. Before and after the behavioural depression session, the animals were individually placed in the open field in order to evaluate behavioural parameters.

Results: After the behavioural despair test, all parameters in the open field decreased in both young and old rats, although these decreases were not statistically significant in the old rats ($p>0.05$). In addition, the decreases in grooming and defecation were not statistically significant in the young rats ($p>0.05$). All parameters increased in young rats compared to the aged rats in the open field. Statistical differences were found only in line crossings, the indicator of locomotor activity ($p<0.05$).

Conclusion: Behavioural despair test can be a depression model for both young and aged rats, although young rats were more sensitive than old rats in this test.

Key Words: Aging; Rat; Immobilization; Depression; Behaviour.

Özet

Amaç: Çalışmamızda sıçanlara, deneysel depresyon modellerinden birisi olan davranışsal ümitsizlik testi uygulayarak, yaşın açık alan davranış parametrelerine etkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: 10 adet genç ve 10 adet yaşlı erkek sıçana davranışsal ümitsizlik ve açık alan testi uygulandı. Davranışsal ümitsizlik testi öncesinde ve sonrasında hayvanlara açık alan testi uygulanarak davranış parametreleri test edildi.

Bulgular: Genç ve yaşlı sıçanlarda davranışsal ümitsizlik testi sonrası kaydedilen açık alan parametrelerinin hepsinde, ümitsizlik testi öncesi uygulanan açık alan parametrelerine göre azalma gözlemlendi. Ancak bu azalma yaşlı sıçanlarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Kaşınma ve defekasyondaki azalma genç sıçanlarda da anlamlı değildi ($p>0.05$). Yaşlı sıçanların açık alan test parametrelerinin hepsinde genç sıçanlara göre azalma gözlemlendi. İstatistiksel anlamlılık hayvanın lokomotor aktivitesini gösteren çizgi geçme sayısında ortaya çıktı ($p<0.05$).

Sonuç: Davranışsal ümitsizlik testi hem genç hem de yaşlı sıçanlar için bir depresyon modeli oluşturabilirken, genç sıçanların bu teste daha duyarlı olduğu, ayrıca yaşla davranış parametrelerinin azaldığı söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Yaşlanma; Sıçan; Hareketsizlik; Depresyon; Davranış.

^{1,2,3} Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji
Anabilimdalı, 38039, Kayseri

Geliş tarihi: 11 Mayıs 2004

GİRİŞ

Davranışsal ümitsizlik testi genellikle deney hayvanlarında antidepresan etkinliği taramak ve yeni ilaçların antidepresan aktivitelerinin olup olmadığını kanıtlamak için geliştirilmiş bir yöntemdir (1). Değişik ebatlarda hazırlanan cam silindirelerle hem sıçan hem de farelere uygulanabilir. Cam silindir içerisinde bulunan suya bırakılan hayvan kurtulmak için yüzme, sıçrama ve dalma hareketleri yapacak, ancak bir müddet sonra hareketsiz kalacaktır. İmmobilizasyon postürü denilen bu durum insanların kaçamadıkları depresyon durumuyla eşleştirilmektedir. İmmobilizasyon sırasında santral katekolamin seviyesi azalmakta, serotonerjik aktivite fazla değişmemektedir (2).

Porsolt ve arkadaşları, depresyonun hayvan modeli olarak kullanılan davranışsal ümitsizlik testinin sıçanlarda ve farelerde türe bağlı olarak değişeceğini göstermişlerdir (3). Ancak literatürde bu testin antidepresanların etkinliğini araştırmak için spesifik bir test olmadığı da ileri sürülmüştür (4). Başka bir çalışmada da bu test ile yükseltilmiş artı labirent birlikte kullanılmış, anksiyete ve depresyon ilişkisi araştırılmıştır (5).

Açık alan, deney hayvanının emosyonel durumuna göre farklı davranış sergilediği ve bu davranış parametrelerinin gözlenip, değerlendirilebildiği basit ama güvenilir bir düzenektir. Her tür deney hayvanına uygulanabilme kolaylığı taşıır (6, 7).

Sunulan çalışmada genç ve yaşlı sıçanlarda davranışsal ümitsizlik testi kullanılarak oluşturulan depresyonun, açık alan testiyle gösterilmesi amaçlanmıştır. Bunun için erkek sıçanlar davranışsal ümitsizlik testi öncesinde ve sonrasında açık alan testine alınmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

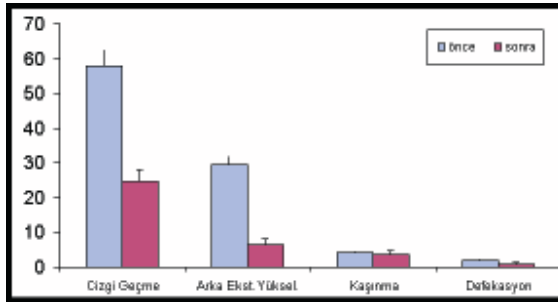
Çalışmamızda ağırlıkları 160-180 gr. ve 200-250 gr arasında değişen genç (4 aylık) ve yaşlı erkek (20 aylık) Wistar Albino sıçanlar kullanıldı. Hayvanların normal olarak alması gereken oranda yem ve su ihtiyacı karşılandı.

Açık alan testi, deney hayvanlarına davranışsal ümitsizlik testi öncesi ve sonrasında uygulandı. Davranışsal ümitsizlik testi 15 cm si sıcaklığı $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ olan su ile dolu, 40 cm yüksekliğinde, 21 cm çapında cam bir silindirde yapıldı; her bir hayvandan sonra su değiştirildi. Deney hayvanları su dolu silindir kabın içerisine yavaşça bırakıldı ve 15 dakikalık test süresi içinde ne kadar hareketsiz kaldığı gözlemlendi. Sudan çıkarılan sıçanlar kağıt havlu yardımıyla kurutularak sıcak bir ortama bırakıldı (8). Bu şekilde depresyon oluşturulan sıçanlar yaklaşık 1 saat sonra tekrar açık alan düzeneğine alındı. Açık alan düzeneği zemini 16 eşit kareye bölünmüş, 100x100x30 cm ebatlarında saydam olmayan pleksiglas bir kutudur (7). Dört dakikalık deney süresi içinde sıçanların çizgi geçme, arka ekstremiteleri üzerinde yükselme, kaçınma, defekasyon sayıları kaydedildi. Sıçanlar buldukları kareyi dört ekstremiteleri ile terk edince bir kare geçmiş olarak kabul edildi. Her bir hayvandan sonra açık alan düzeneğinin içi % 20'lik alkolle temizlendi.

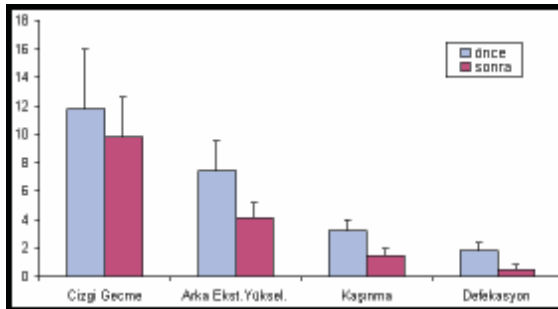
Davranış parametresi olarak belirlenen çizgi geçme, arka ekstremiteleri üzerinde yükselme, kaçınma, defekasyon sayıları istatistiksel açıdan değerlendirildi. Aynı grup hayvanın davranış parametreleri davranışsal ümitsizlik testi önce ve sonrası için Wilcoxon T testi, genç ve yaşlı ratların karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi kullanıldı.

BULGULAR

Genç ve yaşlı sıçanlarda davranışsal ümitsizlik testi sonrası kaydedilen çizgi geçme, arka ekstremiteyi üzerinde yükselme, kaşınma ve defekasyon sayılarında azalma gözlemlendi. Ancak bu azalma dört parametre için de yaşlı sıçanlarda istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ($p>0.05$). Genç sıçanlarda davranışsal ümitsizlik testi sonrasında çizgi geçme ve arka ekstremiteyi üzerinde yükselmedeki azalma anlamlı bulunmuş ($p<0.05$), ancak kaşınma ve defekasyondaki azalma anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Genç ve yaşlı sıçanların davranış parametreleri karşılaştırıldığında test öncesi değerlerden çizgi geçme ve arka ekstremiteyi üzerinde yükselmede yaşla ortaya çıkan azalma anlamlı ($p<0.05$), test sonrası ise sadece çizgi geçme sayısındaki azalma anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur.



Şekil 1. Genç sıçanlarda davranışsal ümitsizlik testi öncesi ve sonrasında açık alan parametrelerinin ortalama değerleri.



Şekil 2. Yaşlı sıçanlarda davranışsal ümitsizlik testi öncesi ve sonrasında açık alan parametrelerinin ortalama değerleri.

TARTIŞMA

Kemirgen populasyonlarında davranışsal araştırmalar genellikle deney hayvanının öğrenme yeteneği, strese verdiği cevaplar ve psikomotor aktivitelerdeki değişikliklerle ilgilidir. Deney hayvanlarının duygusal durumunu gözlemek için açık alan düzeneği (open field area) geliştirilmiştir. Bu düzenek şartsız korku oluşturulan anksiyete modellerinden biridir (6,9). Çünkü böyle bir ortama yerleştirilen hayvan kendi ortamından farklı bir ortamda bulunduğu için huzursuz olacak ve etrafı keşfetme isteği ile lokomotor aktivitesi artacaktır.

Depresyon modeli olarak kullanılan davranışsal ümitsizlik testi ilk olarak Porsolt ve arkadaşları tarafından farelerde geliştirilmiştir (10). Bu testte hareketsiz kalma süresini antidepresan aktiviteye sahip ilaçlar kısaltmakta, anksiyolitikler etkilememekte, major trankilizanlar ve psikostimülanlar ise bu süreyi uzatmaktadır (1). Depresyonun nörobiyolojisini araştırmak amacıyla sıçanlarda davranışsal ümitsizlik testi uygulanmış, santral dopaminerjik ve alfa adrenerjik aktiviteyi arttıran ilaçlar hareketsiz kalma süresini azaltmışlardır (2). Katekolamin aktivitesini azaltan ilaçlar ise hareketsiz kalma süresini arttırmıştır. Serotonini inhibe eden ilaçlar bu süreyi etkilememiştir (2). Ancak bu modelde kafein, triiodotironin ve pentobarbütalde hareketsiz kalma süresini azaltınca çok uygun bir antidepresan tarama testi olmadığı sonucuna varılmıştır (4). Erkeklerde immobilizasyon süresinin dişilerden uzun olduğu, hem davranışsal ümitsizlik testinde hem de açık alan testinde dişilerin daha aktif olduğu bulunmuş. Ancak bu iki test arasında tam olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Dişi sıçanlarda östros siklusunun (proöstrous, östrous, diöstrous-1 ve diöstrous-2) farklı bölümlerinde immobilizasyon süresinin farklı olmadığı gösterilmiştir (11). Prasad ve arkadaşları anksiyete ve depresyonun biyolojik temelini araştırmak amacıyla bir çalışma yapmış ve dehydroepiandrosteronun sıçanlarda yüksek dozlarda davranışsal ümitsizliği azaltırken, düşük dozlarda etkilemediğini bulmuştur (12). Aynı yıllarda

Alonso ve ark. da doğum öncesi strese maruz bırakılan sıçanlarda motor lateralizasyon, davranışsal ümitsizlik ve dopaminerjik beyin asimetrisi ilişkisini araştırarak, yüksek düzeyde davranışsal ümitsizlik gösteren sıçanların, düşük düzeyde davranışsal lateralizasyon gösterdiklerini belirtmiştir (13). Lazarini ve arkadaşları davranışsal ümitsizlik testinde santral sinir sistemi depresanı olan Croton yağının immobilizasyon süresini artırdığını göstermişlerdir (14). Davranışsal ümitsizlik testi ile depresyon oluşturulan fare ve sıçanlarda davranışsal ve farmakolojik cevapta türler arasında da farklılıklar gösterilmiştir (3). Anksiyete ve depresyon modeli arasındaki ilişki, farelerde zorlaştırılmış yüzme testi (davranışsal ümitsizlik testi) ve yükseltilmiş T-labirentle oluşturulmuş, ancak aralarında bir ilişki gösterilememiştir. Yükseltilmiş T-labirent öncesi davranışsal ümitsizlik testi yapılmca anksiyojenik aktivite 1 hafta sonrasında da gözlenmiştir. Davranışsal ümitsizlik testi uygulayarak depresyon oluşturduğumuz farelerde son 3 dakikayı değerlendirmeye aldığımızda 4. ve 5. dakikalarda sadece yaşlı erkekler, genç erkeklerden daha uzun süre hareketsiz kalmışlardır. Hareketsiz kalma süresinin uzaması depresif durumun artmasını gösterir (5,15).

Bizde çalışmamızda depresyon modeli oluşturmada kullanılan davranışsal ümitsizlik testinin genç ve yaşlı sıçanlarda açık alan parametrelerini ne şekilde etkilediğini araştırmak için testin öncesi ve sonrasında deney hayvanları açık alan düzeneğine aldık. Açık alan düzeneğinde yaşlı hayvanların lokomotor aktivitesinde azalmayla orantılı olarak daha az aktif olmaları, strese daha az cevap vermeleri, daha az duyarlı olmaları beklenmektedir (6). Çizgi geçme sayısındaki azalma lokomotor aktivitedeki azalmayı, arka ekstremiteleri üzerinde yükselmedeki artış çevreye ilginin artmasını ve huzursuzluğu, kaşınma ve defekasyon sayısındaki değişiklikler strese verdikleri cevabı gösterir.

Davranışsal Ümitsizlik testi ile oluşturulan depresyon sonrasında bu değerler hem genç hem de yaşlı sıçanlarda değişmiştir. Bu bulgular davranışsal ümitsizlik testinin depresyon oluşturmak için sıçanlarda kullanılabilir bir yöntem olduğunu destekler. Yaşlı ve genç sıçanlar davranış parametreleri açısından karşılaştırıldığında, yaşlı sıçanların açık alan parametrelerinin hepsinde genç sıçanlara göre azalma bulunmuştur. Bu da yaşla davranış parametrelerinin azaldığını gösterir. Yaşlanmayla bütün fonksiyonlardaki azalmayla orantılı olarak lokomotor aktivitenin azalması ve strese verilen cevabın da gençlere göre daha düşük olması beklenir. Strese verilen cevaptaki azalma, yaşlı organizmanın geçmişinde yaşadığı stres ile ilgili olabilir.

Sonuç olarak, davranışsal ümitsizlik testi hem genç hem de yaşlı sıçanlar için bir depresyon modeli oluşturabilirken, genç sıçanların bu teste daha duyarlı olduğu söylenebilir. Yaşlı sıçanların lokomotor aktiviteleri azalmıştır. Yaşlı sıçanların strese verdikleri cevap daha düşüktür.

KAYNAKLAR

1. Porsolt RD, Anton G, Blavet N, et al. Behavioural despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* 1978;47: 379-391.
2. Porsolt RD, Bertin A, Blavet N, et al. Immobility induced by forced swimming in rats: effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. *Eur J Pharmacol* 1979; 57:201-210.
3. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioural Despair in rats and mice: Strain differences and the effects of imipramine. *Eur J Pharmacol* 1978;51:291-294.
4. Schechter MD, Chance WT. Non specificity of 'Behavioural Despair' as an animal model of depression. *Eur J Pharmacol* 1979;60:139-142.
5. 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.
6. Sprott RL, Eleftheriou BE. Open field behavior in aging inbred mice. *Gerontologia* 1974;20:155-162.
7. Volke V, Soosaar A, Koks S, et al. 7-Nitroindazole, a nitric oxide synthase inhibitor, has anxiolytic-like properties in exploratory models of anxiety. *Psychopharmacology* 1997;131:399-405.
8. Deak T, Bellamy C, Agostino L, et al. Behavioral responses during the forced swim test are not affected by anti-inflammatory agents or acute illness induced by lipopolysaccharide. *Behav Brain Res* 2005;160:125-134.
9. Rodgers RJ, Cao BJ, Dalvi A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Braz J Med Biol Res* 1997;30:289-304.
10. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Intern Pharmacodyn Therap* 1977;225-327.
11. Alonso SJ, Castellano MA, Afonso D, et al. Sex differences in behavioral despair: Relationships between behavioral despair and openfield activity. *Physiol Behav* 1989;49:69-72.
12. Prasad A, Imamura M, Prasad C. Dehydroepiandrosterone decreases behavioral despair in high but not low anxiety rats. *Physiol. Behav.* 1997;62:1053-1057.
13. Alonso SJ, Navarro E, Santana C, et al. Motor lateralization, behavioral despair and dopaminergic brain asymmetry after prenatal stress. *Pharmacol Biochem Behav* 1997;58(2):443-448.
14. Lazarini CA, Uema AH, Brandao GMS, et al. Croton zehntneri essential oil: effects on behavioral models related to depression and anxiety. *Phytomedicine* 2000;477-481.
15. Mantovani M, Matteussi AS, Rodrigues ALS. Antidepressant-like effect of lead in adult mice. *Braz. J Med Biol Res* 1999;32:1555-1560.