

## Aydınlık Karanlık Kutusu Testi'nin Biyolojik ve Biyolojik Olmayan Faktörler Açısından İncelenmesi

Hasan Çalışkan<sup>1</sup>, Koray Hamza Cihan<sup>2</sup>, Zakir Osmanov<sup>2</sup>, Süleyman Kılınç<sup>2</sup>, Mitat Can Öztürk<sup>2</sup>, Murat Kılıçdağı<sup>2</sup>, Mehmet Oğuzhan Kaya<sup>2</sup>, Şükrü Hakan Gencer<sup>2</sup>, Ahmet Ergün<sup>1</sup>, Nezahat Zaloğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziyojji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara

E mail: hasanmonica@hotmail.com

### Özet

Aydınlık karanlık kutusu testi davranış fiziyojjisinde kullanılan şartsız bir anksiyete testidir. Bu derlemede aydınlık karanlık kutusu testinde bazı noktaları standardize etmek amacıyla biyolojik ve biyolojik olmayan faktörler açısından incelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** anksiyete testleri, aydınlık karanlık kutusu testi

### Abstract

The lightdarkbox test is an unconditional anxiety test used in behavioral physiology. In this review, some points in the light dark box test have been examined in terms of biological and non-biological factors in order to standardize.

**Keywords:** anxiety tests, Light Dark Box Test

### Giriş

Anksiyetenin altında yatan mekanizmaları anlamak ve yeni tedavi ajanları geliştirebilmek için hayvan anksiyete testleri sıklıkla kullanılmaktadır. Genel olarak şartlı ve şartsız olmak üzere ikiye ayrılan anksiyete testlerinden şartlı olan anksiyete testleri elektrik ve ağırlı uyaran içermesi nedeniyle terk edilmektedir.

Aydınlık karanlık kutusu şartsız doğal bir anksiyete düzeneğidir. 1980 yılında Crawley ve Goodwin tarafından tanımlanmıştır (Crawley ve Goodwin, 1980). Sıçanların nokturnal yani gececi olmaları esasına dayanan test düzeneği eşit iki bölmeden oluşur. Bu bölmelerden birisi yüksek ışıkla aydınlatılmış diğeri ise karanlıktır. Karanlık ve aydınlık bölmeler arasında geçiş söz konusudur. İnsanların karanlıktan korkmasına denk gelecek şekilde sıçan ve fareler de yüksek ışıktan korkarlar. Artan anksiyete ile denekler aydınlık bölmeden karanlık bölmeye kaçarlar.

Deney düzeneğinde bakılan parametreler 1987 yılında modifiye edilmiştir (Belzung ve ark., 1987). Genel olarak anksiyolitik etkisi olan ajanlar aydınlık bölmede geçen süreyi ve bölmeler arası geçiş sayısını arttırmaktadır (Imaizumi ve ark., 1994a,b).

Aydınlık Karanlık Kutusu Testi'nde bakılan davranışlar ve parametreler: İki ayağı üzerine kalkma davranışı (*rearing*), iki ayağı üzerine kalkma davranışı ilk gerçekleşinceye kadar geçen süre (*rearing latency*), dışkılama ve üriantasyon varlığı, aydınlık bölmede geçen süre, karanlık bölmede geçen süre, bölmeler arası geçiş sayısı sayılabilir. Anksiyolitik ajanlar ve tedavi programları rodentlerde aydınlık bölmede geçen süreyi, aydınlık bölme ile karanlık bölmede geçiş sayısını arttırmaktadır.

Bu derlemede aydınlık karanlık kutusu testine etki eden parametreler biyolojik ve biyolojik olmayan faktörler açısından incelenmiştir.

## Aydınlık Karanlık Kutusu Testi'nin Biyolojik Faktörler Açısından İncelenmesi

### 1. Tür

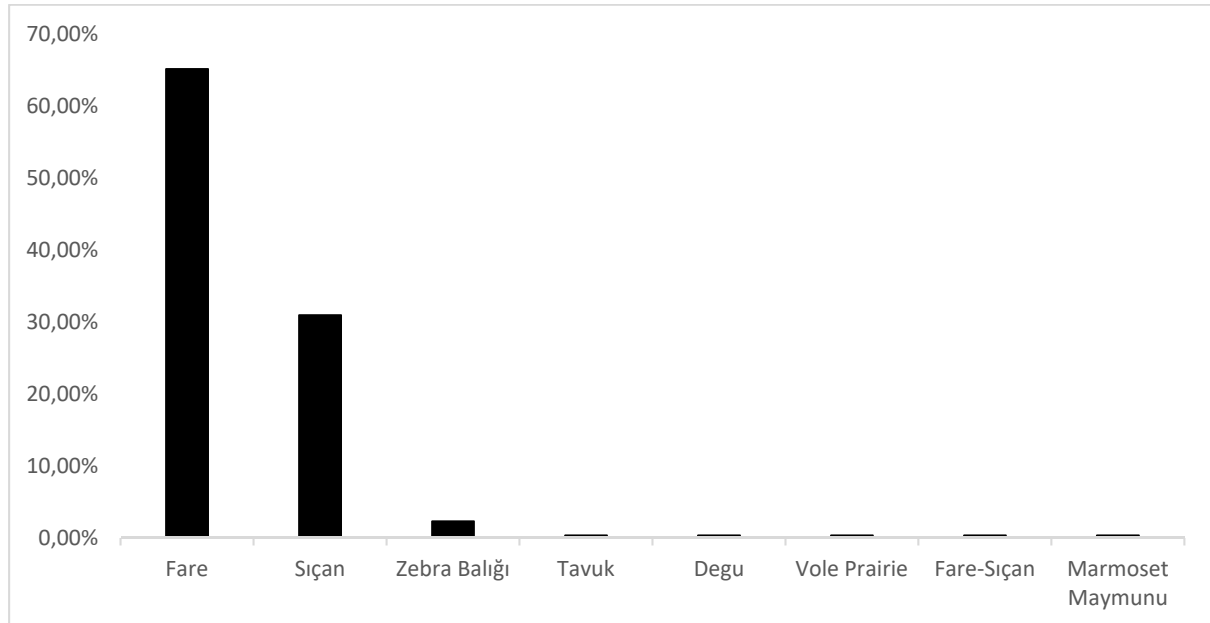
Aydınlık karanlık kutusu testi ile yapılan çalışmalar incelendiğinde farklı hayvan türlerinin kullanıldığı görülmektedir. Fare (C57BL/6N Fare, Swiss Albino Fare, CD1 Fare), sıçan (Sprague Dawley Sıçan, Wistar Albino Sıçan), zebra balığı, tavuk, degu, Vole Prairie, marmoset maymunu ile yapılan çalışmalar mevcuttur (Soulimani ve ark., 1997 ; Hebb ve ark., 2003 ; Singh ve ark., 2013 ;

Sun ve ark., 2014 ; Wang ve ark., 2014 ; Ashkenazy-Frolinger ve ark., 2015 ; Femenía ve ark., 2015 ;

Kesby ve ark., 2015 ; Marco ve ark., 2015 ; Pelloux ve ark., 2015 ; Van Der Pol ve ark., 2015).

Pubmed'de yer alan 307 makale incelendiğinde araştırmalarda %65,14 fare, %30,94 sıçan, %2,28 zebra balığı, %0,32 tavuk, %0,32 Degu, %0,32 Vole prairie, %0,32 fare-sıçan ve %0,32 marmoset maymunu kullanıldığı görülmektedir (Çalışkan ve ark.,2017a).

Bu veriler ışığında daha çok fare olmak üzere sıklıkla fare veya sıçanların kullanıldığı bir deney düzeneği olduğu anlaşılmaktadır. Son yıllarda toksikoloji deneylerinden sonra nörofizyolojik çalışmalara da zebra balığının girdiği görülmektedir (Singh ve ark., 2013).



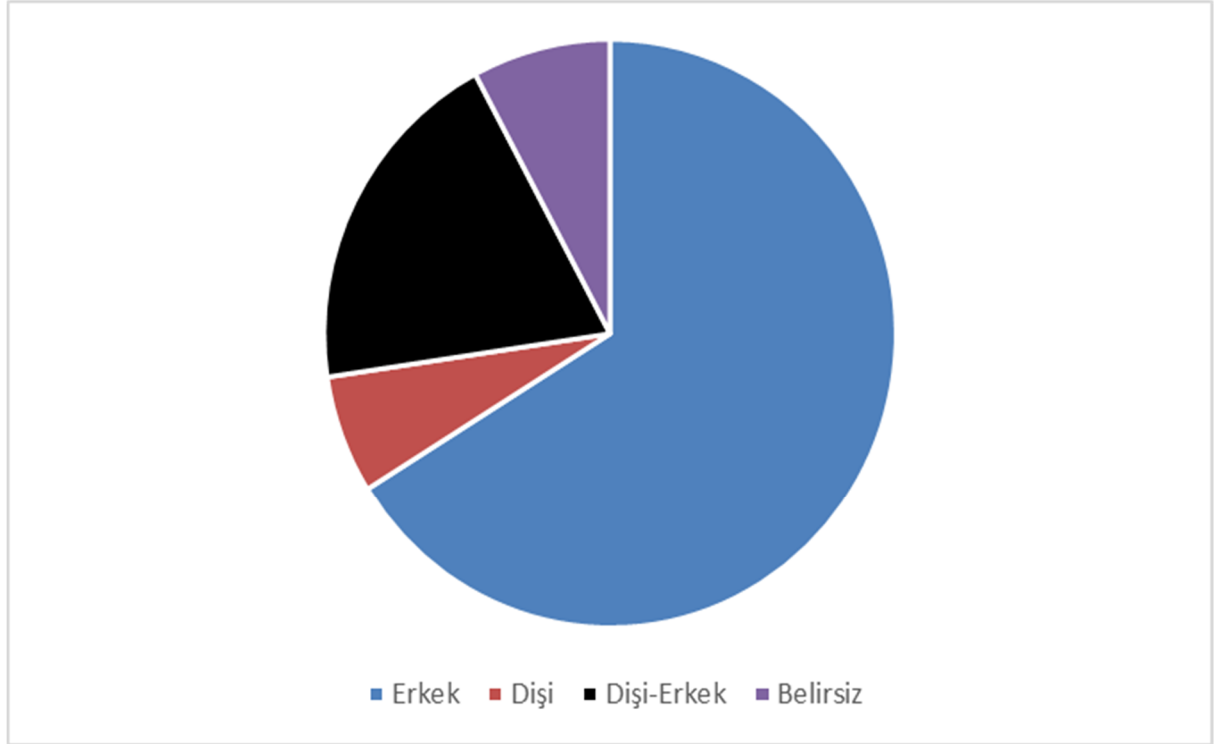
Şekil 1. Aydınlık Karanlık Kutusu Testi'nde Tür Seçimi (Çalışkan ve ark.,2017a)

Tablo 1. Aydınlik Karanlık Kutusu Testi'nde Tür Seçimi

Tür	Araştırmacılar
C57BL/6NFare	Kesby ve ark., 2015
Swiss Albino Fare	Soulimani ve ark., 1997
CD1 Fare	Hebb ve ark., 2003
SpragueDowleySıçan	Femenía ve ark., 2015
Wistar Sıçan	Pelloux ve ark., 2015
Zebra Balığı	Singh ve ark., 2013
Tavuk	Van Der Pol ve ark., 2015
Degu	Ashkenazy-Frolinger ve ark., 2015
Vole Prairie	Sun ve ark., 2014
Fare-Sıçan	Marco ve ark., 2015
Marmoset Maymunu	Wang ve ark., 2014

## 2. Cinsiyet

Araştırmalarda cinsiyet seçimi incelendiğinde %66,12 erkek, %19,54 dişi-erkek, %7,81 cinsiyeti belirsiz, %6,51 dişi hayvan kullanılmıştır. Aydınlik karanlık kutusu testinde erkek deneklerin dişi deneklerden daha çok kullanıldığı görülmektedir. Bunun sebebi olarak da dişilerdeki hormonal dalgalanmaların bazal anksiyete seviyelerini etkileyebilmeleri gösterilmektedir. Erkek hayvanların daha çok kullanılması Açık Alan Testi, Yükseltilmiş Artı Labirent Testi, Misket Gömme Testi gibi diğer anksiyete testleri ile ortaktır (Çalışkan ve ark., 2017a). Bazı araştırmacılar çalışmalarında ilginç olarak cinsiyet belirtmemiştir.



Şekil 2. Aydınlik Karanlık Kutusu Testi'nde Cinsiyet Seçimi (Çalışkan ve ark.,2017a)

### 3. Yaş ve Her Gruptaki Denek Sayısı

Araştırmanın özelliğine bağlı olarak rodentlerin yaşı belirgin olarak farklılık göstermektedir. Deneklerin yaş aralığı 4-48 haftalık arasında değişmektedir (Gammie ve ark., 2008 ; Mikulecká ve Mares, 2009 ; Adamczyk ve ark., 2012 ; Zlomuzica ve ark., 2012 ; Van'tVeer ve ark., 2013 ; Van Der Pol ve ark., 2015). Bir çalışmada 4 günlük tavuk kullanıldığı görülmektedir (Van Der Pol ve ark., 2015). Pubmed verileri incelendiğinde araştırmacıların belirli bir yaş üzerinde çalışmadığı anlaşılmaktadır.

Çalışmalarda her bir grupta kullanılan denek sayısı 5-60 arasında değişmektedir (Hebb ve ark., 2003 ; Ramos ve ark., 2008 ; Popova ve ark., 2010 ; Izidio ve ark., 2011 ; Wang ve ark., 2014 ; Savignac ve ark., 2016 ; Sharko ve ark., 2016).

Tablo 2. Çalışmalarda Kullanılan Hayvanların Yaş Aralığı

Yaş	Araştırmacılar
4 günlük	Van Der Pol ve ark., 2015
4 haftalık	Mikulecká ve Mares, 2009
7-12 haftalık	Van'tVeer ve ark., 2013
16 haftalık	Gammie ve ark., 2008
16-36 haftalık	Adamczyk ve ark., 2012
48 haftalık	Zlomuzica ve ark., 2012

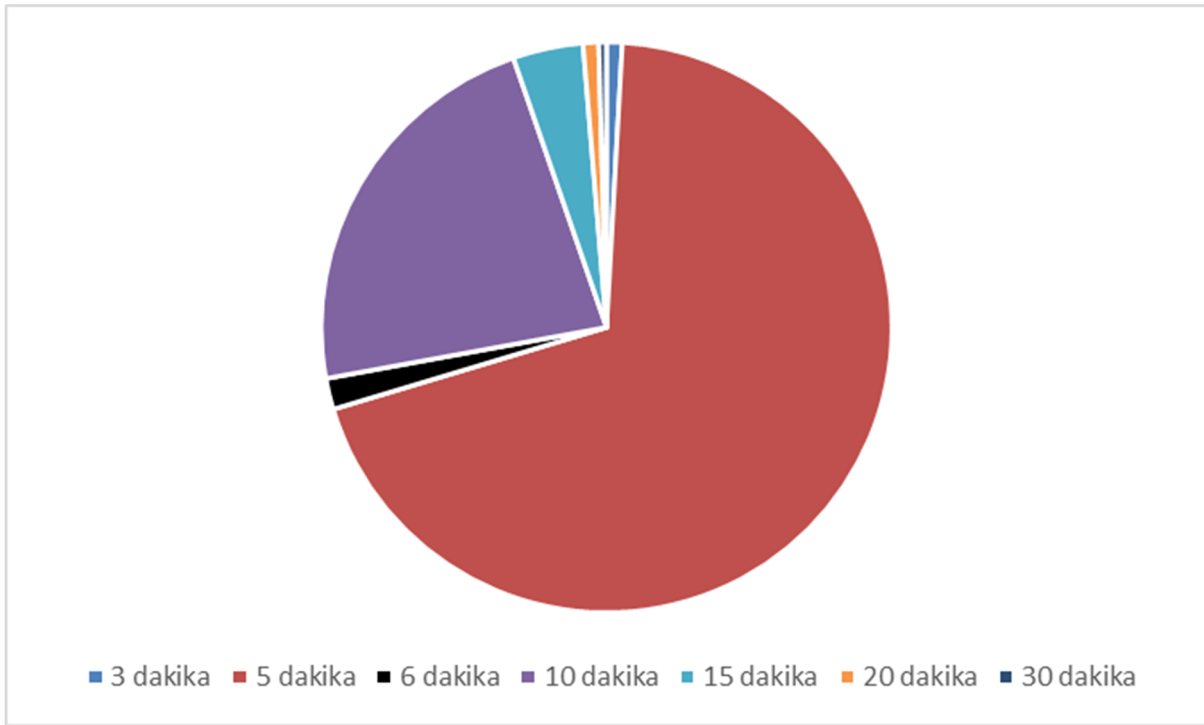
Tablo 3. Çalışmalarda Her Gruptaki Denek Sayısı

Her Gruptaki Hayvan Sayısı	Araştırmacılar
5	Hebb ve ark., 2003
10	Popova ve ark., 2010
12	Wang ve ark., 2014
14-16	Sharko ve ark., 2016
27-28	Savignac ve ark., 2016
43	Izidio ve ark., 2011
60	Ramos ve ark., 2008

## Aydınlık Karanlık Kutusu Testi'nin Biyolojik Olmayan Faktörler Açısından İncelenmesi

### 1. Test Süresi

Pubmed'de yer alan 226 makale incelendiğinde araştırmalarda test süresi olarak %69,46 5 dakika, %22,56 10 dakika, %3,98 15 dakika, %1,76 6 dakika, %0,88 3 dakika, %0,88 20 dakika ve %0,44 30 dakika belirlendiği görülmektedir. Aydınlik karanlık kutusu testi'nin sıklıkla 5 dakika uygulandığı anlaşılmaktadır. Bununla birlikte deney süresi 3-30 dakika arasında değişmektedir (Grisel ve ark., 2008 ; Zhang ve ark., 2010 ; Fuster-Matanzo ve ark., 2011 ; Takashima ve ark., 2011 ; Deacon ve ark., 2012 ; Kirshenbaum ve ark., 2014 ; Zhang ve ark., 2014). Yükseltilmiş Artı Labirent Testi, Açık Alan Testi, Delikli Tahta Testi gibi diğer anksiyete testleri aydınlık karanlık kutusu testi ile kombine edilmektedir (Gupta ve ark., 2014; Colla ve ark., 2015). Farklı anksiyete ve depresyon testleri deneklerde yorgunluk ile sonuçlanabilir. Bu yüzden farklı test süreleri uygulanabilir ve test süreleri düşürülebilir. Deney protokolünde gündüz açık alan testi, yükseltilmiş artı labirent, zorunlu yüzme testi gibi davranış deneyleri uygulandığında gece periyodunda (20:00-24:00) aydınlık karanlık kutusu testi uygulanabilir.



Şekil 3. Aydınlik Karanlık Kutusu Testi'nin Uygulandığı Süreler (Çalışkan ve ark., 2017b)

Tablo 4. Aydınlik Karanlık Kutusu Testi'nin Uygulandığı Süreler

Test Süresi	Araştırmacılar
3 dakika	Deacon ve ark., 2012
5 dakika	Zhang ve ark., 2010
6 dakika	Kirshenbaum ve ark., 2014
10 dakika	Takashima ve ark., 2011
15 dakika	Fuster-Matanzo ve ark., 2011
20 dakika	Grisel ve ark., 2008
30 dakika	Zhang ve ark., 2014

## 2. Işık Yoğunluğu

Çalışmalarda kullanılan ışık yoğunluğu 20-2200 lx arasında değişmektedir (Turri ve ark., 2001; Kita ve ark., 2004; Biala ve Kruk, 2007; Lehmann ve ark., 2010; Markovics ve ark., 2012; Miranda-Morales ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2014; Kirshenbaum ve ark., 2014). Aydınlik karanlık kutusu testi'nin uygulama süresi ve deney düzeneğinin boyutuna bağlı olarak kullanılan ışık yoğunluğu değişebilmektedir; ancak yapılan çalışmalarda 800-850 lx kullanımı siktir.

Tablo 5. Aydınlik Karanlık Kutusu Testi'nde Kullanılan Işık Yoğunluğu (Çalışkan ve ark., 2017b)

Işık Yoğunluğu	Araştırmacılar
20 lx	Turri ve ark., 2001
40 lx	Lehmann ve ark., 2010
200 lx	Miranda-Morales ve ark., 2014
400 lx	Zhang ve ark., 2014
850 lx	Biala ve Kruk, 2007
1000 lx	Markovics ve ark., 2012
1400 lx	Kita ve ark., 2004
2000 lx	Kirshenbaum ve ark., 2014

### 3. Diğer Biyolojik Olmayan Faktörler

Aydınlık karanlık kutusu testi 07:00 -24:00 saatleri arasında; %94,53 gündüz vaktinde ve %5,47 gece vaktinde uygulanmıştır. Test odası sessiz olmalıdır. Bütün davranışlar video kamera ile kayıt altına alınmalıdır. Adaptasyon, bakım ve ilaç uygulama yöntemi test sonuçlarını etkileyebilmektedir. Cihaz etanol ile temizlenmeli ve tamamen kuruyuncaya kadar beklenmelidir. Çalışmalarda kullanılan temizleme solüsyonları %10-70 etanol içermektedir. Aydınlik karanlık kutusu testi 23-25 °C sıcaklık ve %50-70 nem oranına sahip odalarda uygulanmalıdır. Bunların dışında yapılan çalışmalarda mevsimsel parametreler bildirilmemiştir.

### Sonuç

Pubmed verileri incelendiğinde aydınlık karanlık kutusu testi; açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testinden sonra en sık tercih edilen anksiyete testidir. Davranış testi olarak zorunlu yüzme testi gibi depresyon testleri ile ve diğer anksiyete testleriyle birlikte deneklerin davranışları incelenmektedir. Aydınlik karanlık kutusu diğer anksiyete testlerinde olduğu gibi erkek denek kullanımı, gündüz periyodunda uygulama açısından benzerdir. Farklı davranış deneylerinin anksiyete benzeri davranışları arttırabilir ve yorgunluğa neden olabilir. Bu gibi durumlarda aydınlık karanlık kutusu testi akşam periyodunda uygulanabilir.

### Kabuller

Yazarlar herhangi bir finansal katkı almadıklarını beyan etmektedirler. Bu derleme yer alan veriler 2017 yılında İstanbul'da gerçekleşen 3. Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi'nde 259 ve 260 numaralı poster olarak İngilizce dilinde sunulmuştur.

### Kaynaklar

ADAMCZYK A, MEJIAS R, TAKAMIYA K, YOCUM J, KRASNOVA IN, CALDERON J, CADET JL, HUGANIR RL, PLETNIKOV MV, WANG T. 2012. GluA3-deficiency in mice is associated with increased social andaggressive behavior and elevated dopamine in striatum .*Behav Brain Res.* 1;229(1):265-72.

ASHKENAZY-FROLINGER T, EINAT H, KRONFELD-SCHOR N. 2015. Diurnalrodents as an advantageous model fo raffective disorders: novel data from diurnaldegu (Octodondegus).*J NeuralTransm (Vienna)*.122 Suppl 1:S35-45.

BELZUNG C, MISSLIN R, VOGEL E, DODD RH, CHAPOUTHIER G. 1987. Anxiogenic effects of methyl-beta-carboline-3-carboxylate in a light / dark choice situation. *Pharmacol Biochem Behav.* 28 (1): 29-33.

BIAŁA G, KRUK M. 2007. Amphetamine-induced anxiety-related behavior in animal models .*Pharmacol Rep.*59(6):636-44.

COLLA AR, ROSA JM, CUNHA MP, RODRIGUES AL. 2015. Anxiolytic-likeeffects of ursolicacid in mice. *Eur J Pharmacol.*758:171-6.

CRAWLEY J, GOODWIN FK. 1980. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines.*PharmacolBiochemBehav.*13(2):167-70.

ÇALIŞKAN H, ERGÜN A, ÖZTÜRK MC, GENÇER ŞH, KILINÇ S, KAYA MO, KILIÇDAĞI M, OSMANOV Z. 2017. In Light Dark Box In Terms Of Biological Factors Analysis. *3<sup>rd</sup> International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacie Congress Poster Presentation.* Poster-0260: 435p.

ÇALIŞKAN H, OSMANOV Z, KILINÇ S, ÖZTÜRK MC, KILIÇDAĞI M, KAYA MO,  
GENÇER

ŞH, ERGÜN A. 2017. In Light Dark Box Test Non Biological Factors Analysis. 3rd International  
Convention of Pharmaceuticals and Pharmacie Congress Poster Presentation. Poster-0259: 434p.

DEACON RM, DULU TD, PATEL NB. 2012. Nakedmole-rats: behavioural phenotyping and  
comparison with C57BL/6 mice. *Behav Brain Res.* 16;231(1):193-200. FEMENÍA T, MAGARA S,

DUPONT CM, LINDSKOG M. 2015. Hippocampal-Dependent Antidepressant Action of the H3  
Receptor Antagonist Clobenpropit in a Rat Model of Depression. *Int J  
Neuropsychopharmacol.* 11;18(9).

FUSTER-MATANZO A, LLORENS-MARTÍN M, DE BARREDA EG, ÁVILA J, HERNÁNDEZ  
F. 2011. Different susceptibility to neurodegeneration of dorsal and ventral  
hippocampal dentate gyrus: a study with transgenic mice over expressing GSK3 $\beta$ . *PLoS One.*  
6(11):e27262. GAMMIE SC,

SEASHOLTZ AF, STEVENSON SA. 2008. Deletion of corticotropin-releasing factor binding  
protein selectively impairs maternal, but not intermale aggression. *Neuroscience.* 2;157(3):502-12.

GRISEL JE, BARTELS JL, ALLEN SA, TURGEON VL. 2008. Influence of beta-Endorphin on  
anxious behavior in mice: interaction with EtOH. *Psychopharmacology (Berl).* 200(1):105-15.

GUPTA D, RADHAKRISHNAN M, KURHE Y. 2014. Anxiolytic-like effects of alverine citrate in  
experimental mouse models of anxiety. *Eur J Pharmacol.* 742: 94-101.

HEBB AL, ZACHARKO RM, DOMINGUEZ H, LAFOREST S, GAUTHIER M, LEVAC C,  
DROLET G. 2003. Changes in brain cholecystokinin and anxiety-like behavior following exposure  
of mice to predator odor. *Neuroscience.* 116(2):539-51.

IMAIZUMI M, MIYAZAKI S, ONODERA K. 1994a. Effects of xanthine derivatives in a  
light/dark test in mice and contribution of adenosine receptors. *Methods Find. Exp. Clin.  
Pharmacol.* 16: 639-644.

IMAIZUMI M, SUZUKI T, MACHIDA H, ONODERA K. 1994b. A fully automated apparatus for  
a light/dark test measuring anxiolytic or anxiogenic effects of drugs in mice. *Jpn. J.  
Psychopharmacol.* 14: 83-89.

IZIDIO GS, OLIVEIRA LC, OLIVEIRA LF, PEREIRA E, WEHRMEISTER TD, RAMOS A.  
2011. The influence of sex and estrous cycle on QTL for emotionality and ethanol consumption.  
*Mamm Genome.* 22(5-6):329-40.

KESBY JP, KIM JJ, SCADENG M, WOODS G, KADO DM, OLEFSKY JM, JESTE DV,  
ACHIM CL, SEMENOVA S. 2015. Spatial Cognition in Adult and Aged Mice Exposed to High-  
Fat Diet. *PLoS One.* 8;10(10).

KIRSHENBAUM GS, BURGESS CR, DÉRY N, FAHNESTOCK M, PEEVER JH, RODER JC.  
2014. Attenuation of mania-like behavior in Na<sup>(+)</sup>, K<sup>(+)</sup>-ATPase  $\alpha 3$  mutant mice by prospective  
therapies for bipolar disorder: melatonin and exercise. *Neuroscience.* 28;260:195-204.

KITA A, KOHAYAKAWA H, KINOSHITA T, OCHI Y, NAKAMICHI K, KURUMIYA S,  
FURUKAWA K, OKA M. 2004. Antianxiety and antidepressant-like effects of AC-5216, a novel  
mitochondrial benzodiazepine receptor ligand. *Br J Pharmacol.* 142(7):1059-72.

LEHMANN ML, BRACHMAN RA, LISTWAK SJ, HERKENHAM M. 2010. NF-kappa B activity affects learning in aversive tasks: possible actions via modulation of the stress axis. *Brain Behav Immun.* 24(6):1008-17.

MARCO EM, RAPINO C, CAPRIOLI A, BORSINI F, LAVIOLA G, MACCARRONE M. 2015. Potential Therapeutic Value of a Novel FAAH Inhibitor for the Treatment of Anxiety. *PLoSOne.* 11;10(9).

MARKOVICS A, KORMOS V, GASZNER B, LASHGARARA A, SZOKE E, SANDOR K, SZABADFI K, TUKA B, TAJTI J, SZOLCSANYI J, PINTER E, HASHIMOTO H, KUN J, REGLODI D, HELYES Z. 2012. Pituitary adenylatecyclase-activating polypeptide plays a key role in nitroglycerol-induced trigeminovascular activation in mice. *NeurobiolDis.* 45(1):633-44.

MIKULECKÁ A, MARES P. 2009. Effects of mGluR5 and mGluR1 antagonists on anxiety-like behavior and learning in developing rats. *Behav Brain Res.* 1;204(1):133-9.

MIRANDA-MORALES RS, NIZHNIKOV ME, WATERS DH, SPEAR NE. 2014. New evidence of ethanol's anxiolytic properties in the infant rat. *Alcohol.* 48(4):367-74.

PELLOUX Y, COSTENTIN J, DUTERTE-BOUCHER D. 2015. Differential involvement of anxiety and novel type reference levels on oral ethanol consumption in rats. *Psychopharmacology (Berl).*232(15):2711-21.

POPOVA NK, NAUMENKO VS, CYBKO AS, BAZOVKINA DV. 2010. Receptor-genescross-talk: effect of chronic 5-HT(1A) agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin treatment on the expression of key genes in brain serotonin system and on behavior. *Neuroscience.* 11;169(1):229-35.

RAMOS A, PEREIRA E, MARTINS GC, WEHRMEISTER TD, IZÍDIO GS. 2008. Integrating the open field, elevated plus maze and light/dark box to assess different types of emotional behaviors in one single trial. *Behav Brain Res.* 21;193(2):277-88.

SAVIGNAC HM, COUCH Y, STRATFORD M, BANNERMAN DM, TZORTZIS G, ANTHONY DC, BURNET PW. 2016. Prebiotic administration normalizes lipopolysaccharide (LPS)-induced anxiety and cortical 5-HT<sub>2A</sub> receptor and IL-1 $\beta$  levels in male mice. *Brain Behav Immun.* 52: 120-31.

SHARKO AC, KAIGLER KF, FADEL JR, WILSON MA. 2016. Ethanol-induced anxiolysis and neuronal activation in the amygdala and bed nucleus of the striaterminalis. *Alcohol.* 50: 19-25.

SINGH A, SUBHASHINI N, SHARMA S, MALLICK BN. 2013. Involvement of the  $\alpha$ 1-adrenoceptor in sleep-waking and sleep loss-induced anxiety behavior in zebra fish. *Neuroscience.* 2013. 15;245:136-47.

SOULIMANI R, YOUNOS C, JARMOUNI S, BOUSTA D, MISSLIN R, MORTIER F. 1997. Behavioural effects of *Passiflora incarnata* L. and its indole alkaloid and flavonoid derivatives and maltol in the mouse. *J Ethnopharmacol.* 57(1):11-20.

SUN P, SMITH AS, LEI K, LIU Y, WANG Z. 2014. Breaking bonds in male prairie vole: long-term effects on emotional and social behavior, physiology, and neurochemistry. *Behav Brain Res.* 15;265:22-31.

TAKASHIMA N, ODAKA YS, SAKOORI K, AKAGI T, HASHIKAWA T, MORIMURA N, YAMADA K, ARUGA J. 2011. Impaired cognitive function and altered hippocampal



synapsemorphology in mice lacking *Lrrtml1*, a gene associated with schizophrenia. *PLoSOne*. 6(7):e22716.

TURRI MG, DATTA SR, DEFRIES J, HENDERSON ND, FLINT J. 2001. QTL analysis identifies multiple behavioral dimensions in ethological tests of anxiety in laboratory mice. *CurrBiol*. 15;11(10):725-34.

VAN DER POL CW, MOLENAAR R, BUITINK CJ, VANROOVERT-REIJRINK IA, MAATJENS CM, VAN DEN BRAND H, KEMP B. 2015. Lighting Schedule and dimming period in early life: consequences for broiler chicken leg bone development . *PoultSci*.94(12):2980-8.

VAN'TVEER A, BECHTHOLT AJ, ONVANI S, POTTER D, WANG Y, LIU-CHEN LY, SCHÜTZ G, CHARTOFF EH, RUDOLPH U, COHEN BM, CARLEZON WA JR. 2013. Ablation of kappa-opioid receptors from brain dopamine neurons has anxiolytic-like effects and enhances cocaine-induced plasticity. *Neuropsychopharmacology*.38(8):1585-97.

WANG Y, FANG Q, GONG N. 2014. A modified light-dark box test for the common marmoset. *NeurosciBull*.30(3):394-400.

ZHANG H, SAKHARKAR AJ, SHI G, UGALE R, PRAKASH A, PANDEY SC. 2010. Neuropeptide Y signaling in the central nucleus of amygdala regulates alcohol-drinking and anxiety-like behaviors of alcohol-preferring rats. *AlcoholClinExpRes*. 1;34(3):451-61.

ZHANG X, WANG B, JIN J, AN S, ZENG Q, DUAN Y, YANG L, MA J, CAO X. 2014. Early deprivation reduced anxiety and enhanced memory in adult male rats. *Brain ResBull*. 108:44-50.

ZLOMUZICA A, VIGGIANO D, DEGEN J, BINDER S, RUOCCO LA, SADILE AG, WILLECKE K, HUSTON JP, DERE E. 2012. Behavioral alterations and changes in Ca/calmodulin kinase II levels in the striatum of connexin36 deficient mice .*Behav Brain Res*.1;226(1):293-300.

