

مقاله پژوهشی

بررسی مقایسه‌ای اثرات عصاره چای سیاه (*Camella sinensis*) بر رفتار شبه‌اضطرابی در موش‌های صحرایی نر و ماده

منوچهر یوسفی*

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی سراوان، سراوان، ایران
*مسئول مکاتبات: m_usofi2001@yahoo.com

DOI: 10.22034/ascij.2022.1967865.1428

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۵

چکیده

اختلال اضطرابی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های روانی در جهان است و به یکی از حوزه‌های پژوهشی بسیار مهم در داروسازی تبدیل شده است. بر اساس یک باور سنتی، چای سیاه (*Camella sinensis*) به‌عنوان یک دارو که فواید زیادی دارد شناخته شده است. اما مصرف بیش‌ازحد آن هم دارای عوارضی می‌باشد. از مهمترین این موارد می‌توان به تپش قلب و اضطراب اشاره کرد که شدت این عوارض ممکن است بین مردان و زنان متفاوت باشند؛ بنابراین مطالعه حاضر باهدف مقایسه اثرات شبه اضطرابی چای سیاه در موش‌های صحرایی نر و ماده انجام شد. برای انجام آزمایش از ۲۸ سر، موش صحرایی شامل ۱۴ نر و ۱۴ ماده استفاده شد. نرها به دو گروه کنترل و تیمار و ماده‌ها هم به همین شکل تقسیم‌بندی شدند. در زمان آزمایش به گروه‌های تیمار به مدت ۲۴ ساعت دمنوش چای سیاه و به گروه کنترل طی این مدت به‌جای دمنوش آب آشامیدنی داده شد. سپس رفتار موش‌ها به‌منظور بررسی فعالیت آرام‌بخشی (کاهش فعالیت حرکتی) و اضطراب در ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع مورد آزمایش قرار گرفت. تمامی داده‌ها با استفاده از آزمون T-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. این مطالعه نشان داد که چای سیاه در موش‌های نر دارای اثرات اضطراب‌زایی و در ماده دارای اثرات ضد اضطرابی می‌باشد. احتمالاً اثرات شبه اضطرابی چای سیاه وابسته به جنس است و ممکن است این اثرات تحت تأثیر هورمون‌های جنسی قرار گیرند.

کلمات کلیدی: اضطراب، چای سیاه، موش صحرایی، ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع.

مقدمه

استفاده کرده‌اند (۱۲). چای سیاه با نام علمی *Sinensis* (*Camellia* (CS) واجد سه واریته *Assamica*، *Sinensis* و *Lasiocalyx* می‌باشد که واریته *Sinensis* در ایران کشت می‌گردد. برای واریته CS سه نوع چای به نام‌های چای سبز، چای سیاه و جای اولانگ (*oolong*) وجود دارد. تفاوت این سه چای در میزان اکسایش ترکیبات پلی فنلیک آن‌ها است که در چای سیاه از همه بیشتر و در چای سبز از همه کمتر انجام

اختلالات خلقی، اضطراب و خواب مشکلات روانپزشکی شایعی هستند که از دوران باستان با داروهای گیاهی درمان می‌شدند. داده‌های یک نمونه ملی از ۲۰۵۵ نفر که طی سال‌های ۱۹۹۷-۱۹۹۸ مصاحبه شدند، نشان داد که ۵۷ درصد از افراد حملات اضطراب رنج می‌برند و ۵۴ درصد از افراد مبتلا به افسردگی شدید هستند که در طول ۱۲ ماه گذشته از داروهای گیاهی برای درمان اختلال خود

جنس موش‌های صحرائی نر و ماده مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی بود که در آن ۱۴ موش صحرائی نر با وزن ۱۵۰ تا ۲۰۰ گرم و ۱۴ موش ماده با وزن ۱۰۰ تا ۱۵۰ گرم به‌طور تصادفی انتخاب و مورد بررسی قرار گرفتند. موش‌ها در سراسر دوره آزمایش تحت شرایط محیطی و درجه حرارت مطلوب تقریباً ۲۲ درجه سانتی‌گراد و سیکل روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته قرار گرفته و دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند. موش‌های صحرائی نر به دو گروه کنترل نر و آزمایشی نر (موش‌های صحرائی تیمار شده با چای سیاه) و همچنین موش‌های صحرائی ماده به دو گروه کنترل ماده و آزمایشی ماده (موش‌های تحت درمان با چای سیاه) تقسیم‌بندی شدند. به مدت ۲۴ ساعت قبل از قرار دادن موش‌های مربوط به گروه‌های آزمایشی در دستگاه سنجش اضطراب در آبخوری آن‌ها از دم‌نوش چاه سیاه به میزان ۳ گرم (پس از جوشاندن و سرد شدن) در یک لیتر آب آشامیدنی استفاده شد که دسترسی آزادانه به آن داشتند. پس از ۲۴ ساعت رفتار موش‌ها از نظر فعالیت حرکتی و اضطراب مورد آزمایش قرار گرفت. برای ارزیابی میزان اضطراب از دستگاه ماز بعلاوه ای شکل مرتفع که یک مدل استاندارد جهت ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است استفاده شد. این دستگاه از چوب ساخته شده و شامل دو بازوی باز (هر یک ۵۰×۵۰ سانتی‌متر) و دو بازوی بسته (هر یک ۵۰×۱۰×۴۰ سانتی‌متر) و یک کفه مرکزی (۱۰×۱۰ سانتی‌متر) است. به‌طوری‌که بازوهای باز روبروی هم و بازوهای بسته هم روبروی یکدیگر قرار دارند و حدود ۵۰ سانتی‌متر از کف اتاق بالاتر قرار می‌گیرد. این مدل

می‌شود (۹). ترکیب شیمیایی چای سیاه شامل آلکالوئیدها (کافئین و تئوفیلین)، پلی‌فنول‌ها، آمینواسیدها (تیانین)، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، کلروفیل، ترکیبات فرار، املاح و عناصر کمیاب می‌باشد (۱). چای سیاه با تخمیر برگ آن تولید می‌شود که طی آن کاتچین‌ها (نوعی ترکیب پلی‌فنولی) تغییر شکل می‌دهند (۱۰). در چای سبز به نسبت چای سیاه کاتچین‌ها به مقدار قابل ملاحظه‌ای یافت می‌شوند. پلی‌فنول‌ها رایج‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های مواد غذایی هستند و از طریق مهار رادیکال‌های آزاد نقش مهمی در پیشگیری از بیماری‌های مزمن از جمله سرطان دارند. بر اساس برخی از مطالعات مشاهده‌ای اما نه همه، مصرف زیاد چای سیاه با کاهش خطر بیماری قلبی و مرگ ناشی از بیماری قلبی مرتبط است (۷، ۱۹).

این گیاه به‌عنوان یک نوشیدنی پرمصرف، ضریب ایمنی بالایی دارد. انتظار می‌رود که عوارض جانبی آن مشابه عوارض قهوه باشد که شامل سوزش سردل، گاستریت، بی‌خوابی، اضطراب و آریتمی‌های قلبی (تپش قلب خوش‌خیم یا اختلالات جدی‌تر ریتم قلب) می‌باشند (۳).

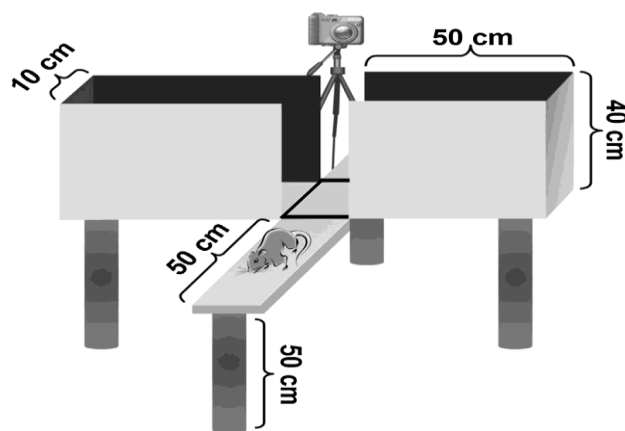
انتظار می‌رود تمام تداخلات دارویی که می‌تواند با کافئین رخ دهد با چای سیاه رخ دهد. تفاوت بین جنسیت در تظاهرات بیماری روانی، به‌طور خاص، در شدت علائم و سطح عملکرد در طول دوره بیماری مشاهده شده است (۲، ۴، ۲۲).

یافته‌ها همچنین نشان می‌دهند که اثرات متقابل بین مواد افیونی درون‌زا و سیستم‌های استرس ممکن است بین مردان و زنان متفاوت باشد (۸).

بنابراین با توجه به موارد مذکور و این که پاسخ متفاوت مبتنی بر جنسیت به درمان وجود دارد بنابراین در این مطالعه اثرات شبه اضطرابی چای سیاه در دو

مدت‌زمان ماندن در بازوهای باز و بسته ارزیابی و ثبت گردید (۵، ۱۴، ۱۵). تعداد کل ورودی‌ها به دو بازو به‌عنوان یک فعالیت حرکتی در نظر گرفته می‌شود (۵). تمامی داده‌ها با استفاده از آزمون t -test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و به‌صورت میانگین \pm M.E.S نشان داده شدند. اختلاف $p < 0/05$ بین گروه‌های مورد آزمایش از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

تجربی سنجش اضطراب غیرشرطی بوده و نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد (۱۶). در صبح روز آزمون حیوانات به آزمایشگاه منتقل شدند و سپس برای سنجش اضطراب، حیوان در ماز بعلاوه ای مرتفع (در قسمت کفه و رو به بازوی باز) قرار داده شد و به مدت ۵ دقیقه شاخص‌های مهم ارزیابی اضطراب شامل: تعداد ورود به بازوی باز و بسته، تعداد کل ورود به بازوهای باز و بسته،

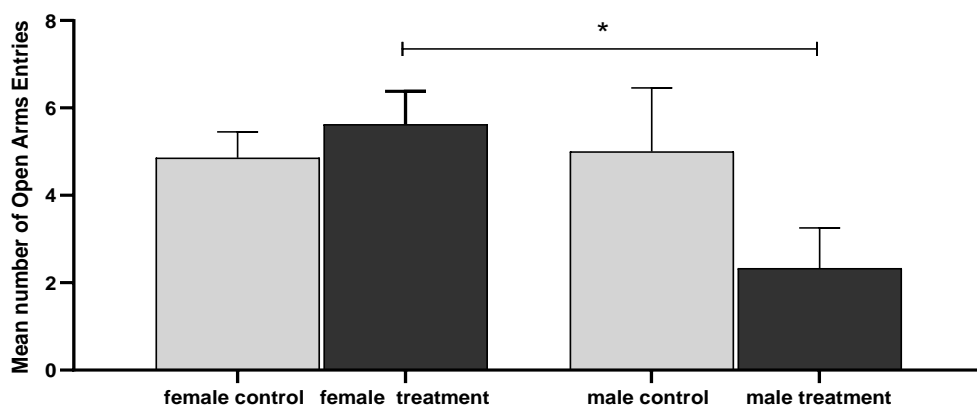


شکل ۱- ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع

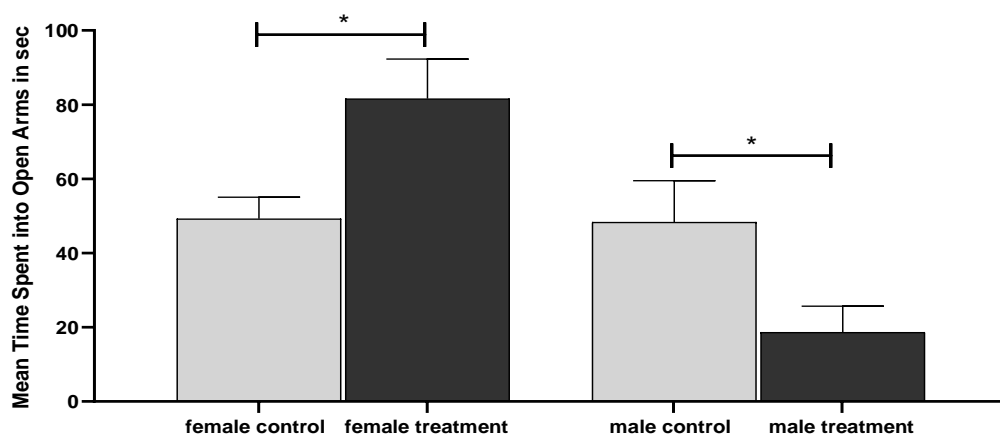
نتایج

داده‌ها بر طبق نمودار ۱ نشان می‌دهد که تعداد ورودی در بازوهای باز در گروه آزمایشی نر نسبت به موش‌های گروه کنترل نر کاهش داشته اما این کاهش معنی‌دار نبود ($p = 0/15$). در موش‌های ماده هیچ اختلاف معنی‌داری بین دو گروه آزمایشی و کنترل وجود نداشت. با وجود این، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی نر و ماده در تعداد ورودی در بازوهای باز وجود داشت ($p = 0/016$). داده‌ها بر طبق نمودار ۲ نشان می‌دهد که مدت‌زمان اقامت در بازوهای باز در موش‌های ماده بین دو گروه کنترل و آزمایشی به‌طور معنی‌داری افزایش یافته درحالی‌که این پارامتر در موش‌های نر به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

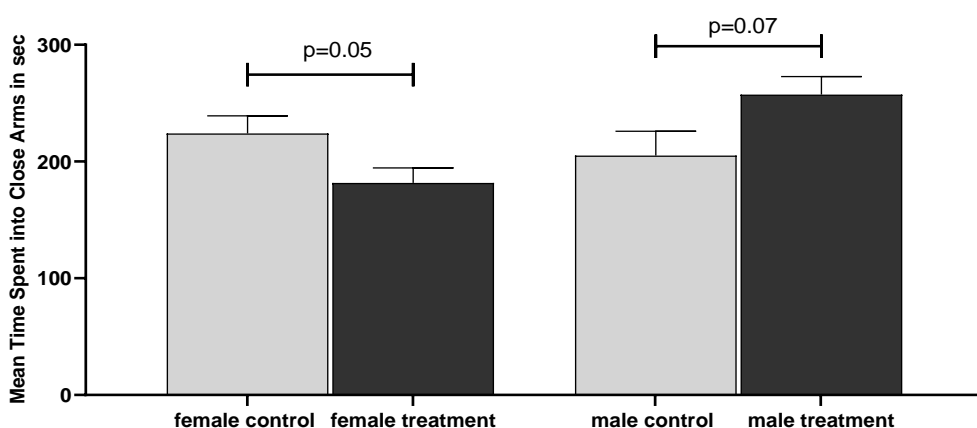
داده‌ها بر طبق نمودار ۳ نشان‌دهنده آن است که در مدت‌زمان اقامت در بازوهای بسته بین موش‌های ماده تفاوت وجود دارد به‌طوری‌که بین گروه آزمایشی ماده در مقایسه با گروه کنترل ماده تمایل به کاهش اقامت داریم ($p = 0/05$). در صورتی‌که در نرها بین دو گروه مذکور تمایل به افزایش اقامت را داریم ($p = 0/07$). داده‌ها بر طبق نمودار ۴ نشان‌دهنده آن است که گروه آزمایشی ماده در مقایسه با گروه کنترل ماده تمایل به ورودی کمتری دارد ($p = 0/08$). اما در موش‌های نر تغییری مشاهده نشد. بر طبق نمودار ۵ نیز هیچ تغییری در کل ورودی‌ها به بازوهای باز و بسته مشاهده نگردید.



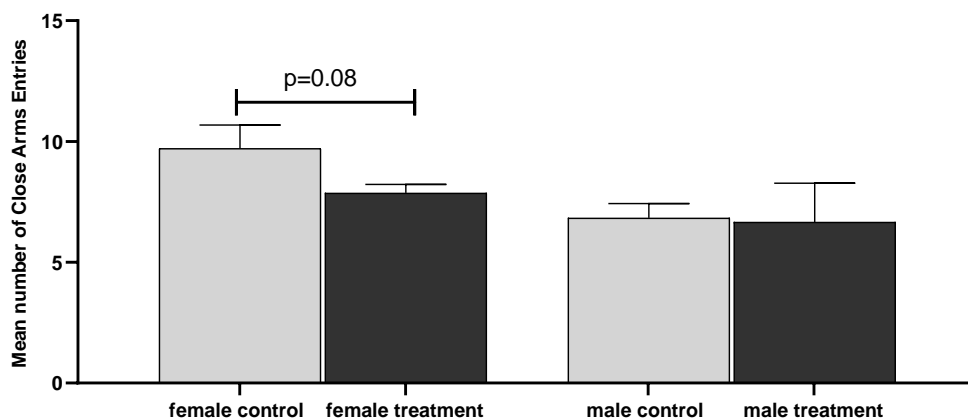
نمودار ۱- تعداد ورود در بازوهای باز را نشان می‌دهد به طوری که تعداد ورودی گروه آزمایشی نر نسبت به ماده کاهش معنی‌داری داشته است. *: نشانگر اختلاف معنی‌دار $p < 0.05$



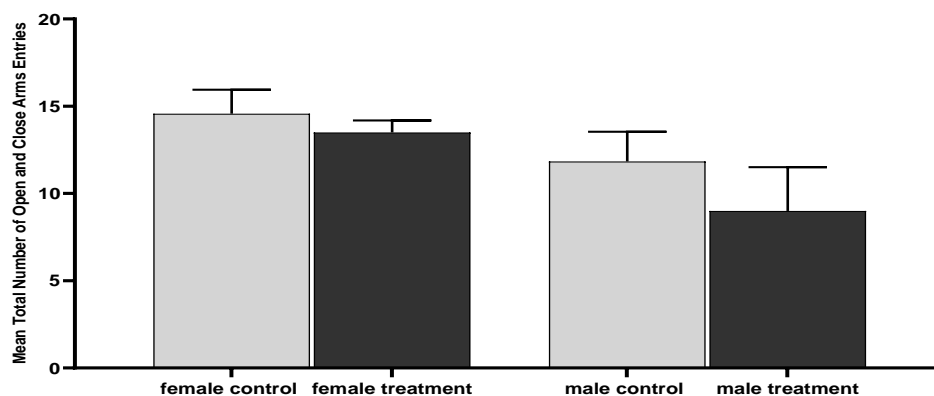
نمودار ۲- مدت زمان اقامت در بازوهای باز را نشان می‌دهد به طوری که در ماده‌ها زمان اقامت در گروه آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته در حالی که در نرها کاهش معنی‌داری بین دو گروه وجود دارد. *: نشانگر اختلاف معنی‌دار $p > 0.05$



نمودار ۳- مدت زمان اقامت در بازوهای بسته را نشان می‌دهد. اگرچه اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود نداشت اما میانگین زمان اقامت در گروه آزمایشی ماده کمتر از کنترل ماده و در گروه آزمایشی نر بیشتر از کنترل نر بود.



نمودار ۴- تعداد ورود در بازوهای بسته را نشان می‌دهد. اگرچه اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود نداشت اما میانگین ورودی‌ها در گروه آزمایشی ماده کمتر از گروه کنترل ماده بود.



نمودار ۵- تعداد کل ورودی به بازوهای باز و بسته را نشان می‌دهد.

بحث

غیراختصاصی را نشان دهد که بار مشترک فعالیت حرکتی و اضطراب است، درحالی‌که ورودی بازوهای بسته به‌شدت و به‌طور انتخابی، نشان‌دهنده فعالیت حرکتی می‌باشند (۶، ۱۸). یافته‌های این مطالعه نشان داد که در موش‌های صحرائی نر، گروه آزمایشی نسبت به گروه کنترل، زمان اقامت کمتری در بازوهای باز داشت. در صورتی‌که در موش‌های ماده پارامتر زمان گذرانده شده در بازوهای باز افزایش یافت به‌طوری‌که این افزایش معنی‌دار بود.

در ماز بعلاوه ای شکل مرتفع افزایش مدت زمان اقامت در بازوهای باز و ورودی به این بازوها بدون تغییر فعالیت حرکتی به‌عنوان یک نشانگر قوی برای اثر ماده ضد اضطراب در نظر گرفته می‌شود (۱۴). همچنین به‌طور خاص، یک همبستگی بین ورودی‌ها به بازوهای بسته با فعالیت حرکتی وجود دارد (۱۸). داروهایی که باعث تحریک و افزایش فعالیت حرکتی می‌شوند تعداد ورودی‌های به بازوهای بسته را افزایش می‌دهند (۲۳). افزایش کل ورودی به بازوهای باز و بسته ممکن است یک اثر فعالیت حرکتی

به‌هرحال طبق مطالعه حاضر، این اثرات در موش‌های نر متفاوت از ماده‌ها است. در مطالعه‌ای آمده است که چای سیاه قادر به تقویت میل جنسی است و توانایی بالا بردن سطح تستوسترون سرم را دارد (۱۷).

همچنین تحقیقات نشان می‌دهد که استروژن می‌تواند بر تولید سروتونین و همچنین بیان و اتصال سروتونین به گیرنده‌های ناقل در مسیر آن تأثیر بگذارد (فرآیندهایی که تأثیر مستقیمی بر اثربخشی SSRIs دارند) (۱۱). بنابراین با توجه به اثر متفاوتی که هورمون‌های جنسی بر نوروترانسمیترهای دخیل در اضطراب دارند و همچنین دیگر تفاوت‌های جنسیتی که وجود دارند، شاید بتوان اثرات متفاوت چای سیاه در موش‌های صحرایی نر و ماده را توجیه کرد..

نتیجه‌گیری

به‌طور کل نتایج بیانگر اثرات اضطراب‌زایی چای سیاه در موش‌های نر و اثرات کاهنده آن در ماده‌ها است و نشان‌دهنده این مطلب است که احتمالاً اثرات شبه اضطرابی چای سیاه وابسته به جنس است و ممکن است این اثرات تحت تأثیر هورمون‌های جنسی قرار گیرند. همچنین با توجه به شباهت‌های ژنتیکی پستانداران، ممکن است مصرف چای در انسان هم دارای چنین اثراتی باشد.

تقدیر و تشکر

نویسنده، از آزمایشگاه مجتمع آموزش عالی سراوان و همه کسانی که در اجرای این مطالعه همکاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی می‌نماید.

منابع

1. Aghbali A., Abbasbadi F.M., Delazar A., Hosseini S.V., Shahneh F.Z., Baradaran B., Janani M. 2014. Induction of apoptosis and cytotoxic activities of Iranian orthodox black tea extract (BTE) using in vitro

زمان سپری‌شده در بازوهای بسته که نشان‌دهنده وجود اضطراب است در نرها تمایل به افزایش ولی در ماده‌ها تمایل به کاهش را نشان داد. همچنین تعداد ورودی موش‌های نر و ماده به بازوهای بسته در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه‌های کنترل تغییری نکرد که نشان‌دهنده عدم تأثیر دوز بکار رفته در این مطالعه روی فعالیت‌های حرکتی حیوان است. با توجه به این‌که در ماده‌ها افزایش زمان سپری‌شده در بازوهای باز بدون تغییر فعالیت حرکتی رخ داده است بنابراین می‌توان عنوان کرد که چای سیاه در ماده‌ها دارای یک اثر ضد اضطرابی است.

برخی از مطالعات قبلی نشان داده‌اند که چای سیاه در موش‌های صحرایی نر دارای اثرات ضد اضطرابی وابسته به دوز است (۲۰).

در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شده است که اگرچه چای سیاه در موش‌های صحرایی نر که تحت استرس قرار گرفته‌اند دارای اثرات ضد اضطرابی می‌باشد اما در همان مطالعه هیچ اثر ضد اضطرابی بین گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده چای مشاهده نگردید و این اثر فقط بین گروه‌های تحت استرس مشاهده شد (۲۱).

در گزارشی دیگر نیز نشان داده شده است که چای سبز (به عنوان یک واریته از CS) پس از تجویز به مدت ۵ هفته در موش‌های صحرایی نر دارای اثرات ضد اضطرابی می‌باشد (۱۳).

بنابراین طول دوره زمانی تجویز دارو می‌تواند عاملی برای اثرات ضد اضطرابی آن باشد که در مطالعه حاضر فقط ۲۴ ساعت تجویز دارو را داشتیم. مطالعات قبلی همچنین نشان داده اند که CS باعث افزایش سطح سروتونین می‌شود و داروهایی که سطح سروتونین را افزایش می‌دهند بعد از ۳-۴ هفته اثرات مفید آنها ظاهر می‌شود. بنابراین در مراحل اولیه درمان ممکن است عوارض جانبی از جمله اضطراب داشته باشند.

10. Jankun J., Selman S.H., Swiercz R., Skrzypczak-Jankun E. 1997. Why drinking green tea could prevent cancer. *Nature*, 387:561.
11. Keers R., Aitchison K.J. 2010. Gender differences in antidepressant drug response. *International Review of Psychiatry*, 22:485-500.
12. Kessler R.C., Soukup J., Davis R.B., Foster D.F., Wilkey S.A., Van Rompay M.I., Eisenberg D.M. 2001. The use of complementary and alternative therapies to treat anxiety and depression in the United States. *American Journal of Psychiatry*, 158:289-294.
13. Mirza B., Ikram H., Bilgrami S., Haleem D.J., Haleem M.A. 2013. Neurochemical and behavioral effects of green tea (*Camellia sinensis*): a model study. *Pakistan Journal of Pharmacological Sciences*, 26:511-516.
14. Pellow S., Chopin P., File S.E., Briley M. 1985. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 14:149-167.
15. Pellow S., File S.E. 1986. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 24:525-529.
16. Pinheiro S.H., Del-Ben C.M., Graeff F.G. 2007. Elevated mazes as animal models of anxiety: effects of serotonergic agents. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 79:71-85.
17. Ratnasooriya W.D., Fernando T.S.P. 2008. Effect of black tea brew of *Camellia sinensis* on sexual competence of male rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 118:373-377.
18. Rodgers R.J., Johnson N.J.T. 1995. Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 52:297-303.
- models. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4:255.
2. Boyd A., Van de Velde S., Vilagut G., De Graaf R., Florescu S., Alonso J., Kovess-Masfety V., Investigators E.W. 2015. Gender differences in mental disorders and suicidality in Europe: results from a large cross-sectional population-based study. *Journal of Affective Disorders*, 173:245-254.
3. Cannon M.E., Cooke C.T., McCarthy J.S. 2001. Caffeine-induced cardiac arrhythmia: an unrecognized danger of healthfood products. *Medical Journal of Australia*, 174:520-521.
4. Ceskova E., Prikryl R., Libiger J., Svancara J., Jarkovsky J. 2015. Gender differences in the treatment of first-episode schizophrenia: results from the European First Episode Schizophrenia Trial. *Schizophrenia Research*, 169:303-307.
5. Clément Y., Joubert C., Kopp C., Lepicard E.M., Venault P., Misslin R., Cadot M., Chapouthier G. 2007. Anxiety in mice: a principal component analysis study. *Neural Plasticity*, 2007.
6. Espejo E.F. 1997. Structure of the mouse behaviour on the elevated plus-maze test of anxiety. *Behavioural Brain Research*, 86:105-112.
7. Hakim I.A., Alsaif M.A., Alduwaihy M., Al-Rubeaan K., Al-Nuaim A.R., Al-Attas O.S. 2003. Tea consumption and the prevalence of coronary heart disease in Saudi adults: results from a Saudi national study. *Preventive Medicine*, 36:64-70.
8. Huhn A.S., Berry M.S., Dunn K.E. 2018. Systematic review of sex-based differences in opioid-based effects. *International Review of Psychiatry*, 30:107-116.
9. Jafari K., Gharibzadeh S., Faghihi M., Karimian S.M., Hamzehloo M., Keshavarz M. 2006. Effect of Iranian black tea extract and its isolated thearubigins on intestinal transit time in mice. *Journal of Kerman University of Medical Sciences*, 13:37-42.

norvegicus. *Indian Journal of Pharmacology*, 42:283.

22. Talonen S., Väänänen J., Kaltiala-Heino R. 2017. Gender differences in first onset Schizophrenia spectrum psychoses. *Nordic Journal of Psychiatry*, 71:131-138.

23. Varty G.B., Cohen-Williams M.E., Morgan C.A., Pylak U., Duffy R.A., Lachowicz J.E., Carey G.J., Coffin V.L. 2002. The gerbil elevated plus-maze II: anxiolytic-like effects of selective neurokinin NK1 receptor antagonists. *Neuropsychopharmacology*, 27:371-379.

19. Sesso H.D., Paffenbarger Jr R.S., Oguma Y., Lee I.M. 2003. Lack of association between tea and cardiovascular disease in college alumni. *International Journal of Epidemiology*, 32:527-533.

20. Shastry R., Ullal S.D., Karkala S., Rai S., Gadgade A. 2016. Anxiolytic activity of aqueous extract of *Camellia sinensis* in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 48:681.

21. Tabassum I., Siddiqui Z.N., Rizvi S.J. 2010. Effects of *Ocimum sanctum* and *Camellia sinensis* on stress-induced anxiety and depression in male albino *Rattus*

Comparative Study of the Effects of Black Tea (*Camella sinensis*) Extract on Anxiety-like Behavior in Male and Female Rats

Manouchehr Yousefi*

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Saravan Higher Education Complex, Saravan,
Iran

Abstract

Anxiety disorder is the most common of all mental illnesses in the world and has become one of the interesting research topics in pharmaceuticals. According to a traditional belief, black tea (*Camella sinensis*) is known as a medicine that has many benefits. But because of its high consumption, it has side effects that can be mentioned as arrhythmia and anxiety which severity of these complications may be different between men and women. Therefore, the present study was conducted to compare the anxiety-like effects of *Camella sinensis* in male and female rats. 28 rats including 14 males and 14 females were used for the experiment. Males were divided into control and treatment groups and females were divided in the same way. During the experiment, the treatment groups were given black tea for 24 hours, and the control group was given drinking water during this period. Then, the behavior of the rats was tested to investigate the motor activity and anxiety in the elevated plus maze. Data were analyzed by T-test and all data were shown as Mean \pm SEM. This study showed that black tea has anxiogenic effects in male rats and anxiolytic effects in female rats.

Keywords: Anxiety, Black Tea, Rat, Elevated Plus Maze.

