

## **ANSIETATS NORMALS I ANORMALS: DE LA NEUROFARMACOLOGIA A LA PSICOGENÈTICA**

P. FERRÉ, A. TOBEÑA, R. SÁNCHEZ, J. F. NÚÑEZ, A. FERNÁNDEZ-TERUEL I R. M. ESCORIHUELA

*Unitat de Psicologia Mèdica. Departament de Psiquiatria, Toxicologia i Legislació Sanitària. Facultat de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona.*

Adreça per a la correspondència: Unitat de Psicologia Mèdica. Departament de Psiquiatria. Toxicologia i Legislació Sanitària. Facultat de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra.

### **RESUM**

Hem revisat els sistemes neuroreguladors centrals implicats en l'ansietat, fent un èmfasi especial en aquell que tradicionalment s'hi ha considerat més relacionat, el sistema GABAèrgic. Es descriuen els principals moduladors de l'acció GABAèrgica i es discuteix la importància de la composició molecular del complex  $GABA_A/Bz/Cl^-$  en determinar la seva resposta a les manipulacions farmacològiques. A més, es fa un resum dels diversos intents realitzats des de línies de recerca diferents per trobar possibles substàncies endògenes que actuin als receptors benzodiazepínics. Pel que fa a altres sistemes de neuroregulació implicats en l'ansietat, es revisen les evidències a favor del paper de la serotonina, la colecistocinina, el factor d'alliberament de la corticotropina, el glutamat i el neuropèptid Y. Finalment es parla de l'existència de diferències individuals en la susceptibilitat ansiosa i dels intents d'abordar-les mitjançant l'estudi de la possible contribució genètica en soques de rosegadors que difereixen en la reactivitat emocional.

*Paraules clau: ansietat, GABA, colecistocinina, factor d'alliberament de la corticotropina, el glutamat, el neuropèptid Y, MR-MNR, RHA-RLA, psicogenètica.*

### **ABSTRACT**

The aim of this paper is to review the main neural transmitters involved in central regulation of anxiety, with a special focus on the  $GABA_A/Bz$  system. The  $GABA_A$  receptor

modulatory sites are described and the existence of several receptor subtypes is related to the different pharmacological effects of benzodiazepines. The search for the hypothetic endogenous ligands of benzodiazepine receptors is also reviewed and discussed. In addition, evidence relating several neurotransmitters (serotonin, cholecystokinin, corticotropin releasing factor, glutamate and neuropeptide Y) with anxiety is also discussed. Finally, several studies describing the possible contribution of genetics to anxiety are presented and the use of rodent strains selected by different levels of emotional reactivity is pointed out as a promising avenue of research.

*Keywords: Anxiety, GABA, serotonin, cholecystokinin, corticotropin releasing factor, glutamate, Neuropeptide Y, MR-MNR, RHA-RLA, psychogenetics.*

En els últims 25 anys la recerca sobre la neurobiologia de l'ansietat normal i dels trastorns d'ansietat ha produït resultats importants. La regulació final dels estats ansiosos es fa en regions particulars del cervell, preferentment en alguns territoris encefàlics primitius, límbics i hipotalàmics. S'ha començat a descriure el mapa cerebral de l'ansietat i s'hi ha implicat, principalment, el sistema septohipocàmpic (Gray, 1993) i també diversos circuits amigdalins, així com el tàlem i parts de l'escorça (LeDoux, 1994). La participació d'aquests sistemes, coneguda inicialment gràcies a l'experimentació animal o als efectes de lesions accidentals en humans, s'està corroborant amb estudis fets amb tècniques de neuroimatge, com la tomografia per emissió de positrons (Drevets i Raichle, 1995).

Els episodis ansiosos produeixen una simptomatologia molt diversa: sensorial, vegetativa, motora i cognitiva. Podem notar l'ansietat quan ens ruboritzem i també perquè tenim un «nus a l'estómac» o perquè no podem deixar de preocupar-nos per un compromís social o professional. En altres casos podem notar que el cos tremola i sua o que el cor bateja amb freqüència i intensitat inusual. En altres circumstàncies les percepcions són menys característiques, com, per exemple, quan s'experimenten sensacions vertiginoses o d'instabilitat o quan sobta-

dament, i sense motiu aparent, hi ha una terrible sensació d'ofegar-se, de por a perdre el control o, fins i tot, a morir-se.

Les respostes ansioses poden ser, per tant, molt diferents però sempre són el resultat de l'activació d'efectors neurals i endocrins que posen en acció una gran varietat de reaccions agudes que poden, però, cronificar-se. Són reaccions defensives lligades a la preparació dels organismes per a l'acció en les situacions amenaçants i denoten el disparament del sistema nerviós autònom i del sistema endocrí (Sapolsky, 1995).

L'acció antiansiosa ha d'atenuar algun dels processos particulars esmentats anteriorment o bé la resposta global. L'ansiolisi pot ser el resultat d'intervencions medicamentoses o d'actuacions psicoterapèutiques ben contrastades (Marks, 1987). L'ansiolisi farmacològica (l'ús de tranquil·litzants) ha estat un fenomen social massiu durant els últims 30 anys per l'ús sistemàtic, i fins i tot abusiu, de les benzodiazepines. El coneixement dels mecanismes d'acció d'altres substàncies que interaccionen amb diferents sistemes de neurotransmissió ha propiciat, darrerament, el desenvolupament d'alternatives farmacològiques diferents de les benzodiazepines. A més dels avenços neuro-farmacològics cal afegir que treballs fets amb rosegadors criats selectivament segons fenotips hipoemotius i hiperemo-

tius en tests molt diversos indiquen que també hi poden haver elements genètics responsables de la susceptibilitat ansiosa. Cosa que confirma un bon gruix de dades prèvies, en humans, que ja havien suggerit l'existència de diferències notables en la proclivitat ansiosa (Gray, 1993; Marks i Toña, 1990; Figura 1).

### COMPLEX $GABA_A/BZ/Cl^-$

El sistema de neurotransmissió que més s'ha implicat en la regulació de l'ansietat ha estat el  $GABA_A/Bz/Cl^-$  ( $GABA_A$ /benzo-

diazepina/canal de clor), en bona mesura perquè els fàrmacs més usats en el tractament de l'ansietat incapacitant treballen a través d'aquest complex (Haefely, 1990). L'aparició d'altres compostos efectius per tractar l'ansietat, l'acció dels quals no funciona a través del  $GABA_A$ , ha posat de manifest la importància d'altres sistemes en la regulació ansiosa.

### Modulació al·lostèrica

Les propietats ansiolítiques, hipnòtiques i relaxants de les benzodiazepines són el

## Resposta de Cortisol durant les sessions d'habitució en individus amb diferències en por a les exploracions mèdiques

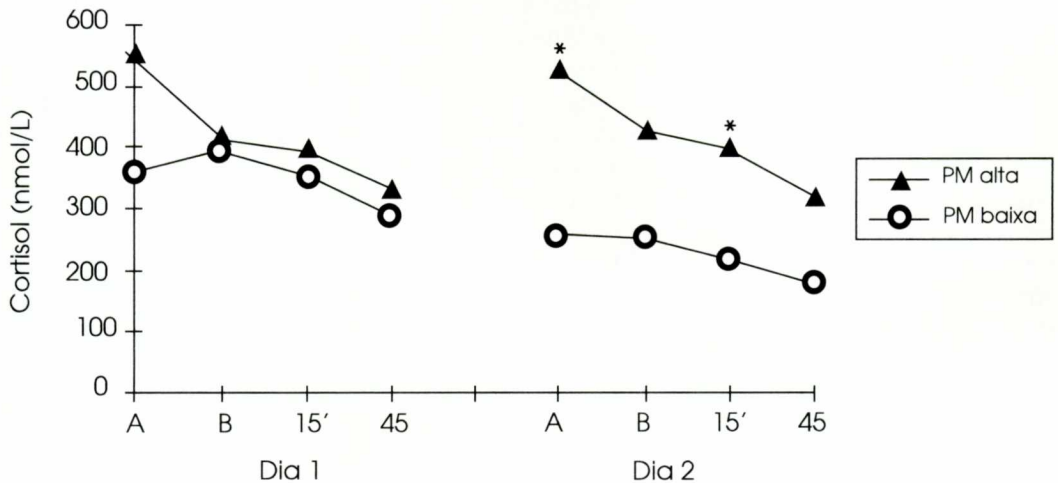


FIGURA 1. Nivells plasmàtics de cortisol (nmol/L) durant dues sessions de registre EEG/poligràfic en cambrà aïllada en individus seleccionats per diferències en la por a les exploracions mèdiques mitjançant un qüestionari (Sánchez *et al.*, 1996). En tots dos grups hi ha una reacció d'alarma inicial i una disminució progressiva de la resposta a mesura que transcorre la sessió. Els subjectes amb por basal baixa aconseguixen una major habituació fisiològica al final de la segona sessió, mentre que el grup amb por alta de base mostra una corba similar durant els dos dies. Les diferències entre els dos grups són més grans durant la segona sessió (\*  $P < 0,05$  diferències significatives en proves t-test,  $n=4$  per grup). PM: por a les exploracions mèdiques; A: moment abans d'entrar a la situació experimental; B: basal, 15 minuts i 45 minuts, temps en què es prenen mostres de sang (inici, 15 minuts, final). Entre totes dues sessions (dia 1/dia 2) hi hagué una setmana d'interval.



resultat de la seva interacció amb llocs de reconeixement d'alta afinitat al sistema nerviós central. Aquests llocs, els receptors benzodiazepínics (RBZ), formen part d'un complex macromolecular, el  $\text{GABA}_A/\text{Bz}/\text{Cl}^-$ , que conté llocs d'unió per al GABA (el neurotransmissor endogen) i un canal que permet el pas d'ions clor, l'efector del complex (Tallman *et al.*, 1980; Olsen, 1981). El GABA, en actuar als receptors  $\text{GABA}_A$ , provoca l'obertura del canal neuronal per al clor.

A la macroproteïna de membrana que forma el complex  $\text{GABA}_A/\text{Bz}/\text{Cl}^-$  hi ha també llocs d'unió per a altres substàncies (Figura 2). Aquests llocs mantenen una relació al·lostèrica, és a dir, el lligament d'algun compost en qualsevol d'ells altera la cinètica d'unió per als altres. Així, a banda dels receptors benzodiazepínics, hi ha el lloc d'unió dels barbitúrics. Tant les benzodiazepines com els barbitúrics potencien la neurotransmissió GABAèrgica (són agonistes): les benzodiazepines incrementen la freqüència d'obertura del canal i els barbitúrics, el temps que roman obert. Els barbitúrics, a més a més, tenen la capacitat (a dosis elevades) d'obrir el canal de clor fins i tot sense la presència de GABA (revisió de Drugan i Holmes, 1991). Al lloc d'unió de les benzo-diazepines es poden lligar també substàncies que disminueixen la transmissió GABA-èrgica (com algunes  $\beta$ -carbòlines), que treballen com a agonistes inversos dels receptors i mostren un efecte ansiogènic. Hi ha una tercera classe de compostos, els antagonistes dels receptors benzodiazepínics, que s'hi lliguen sense provocar cap efecte per ells mateixos, però amb la capacitat de bloquejar l'acció tant dels agonistes com dels agonistes inversos (Richards *et al.*, 1991). Hi ha encara un quart tipus de substàncies, que podrien representar una alternativa com a estratègia terapèutica a les benzodiazepines clàssiques:

són els agonistes parcials dels receptors benzodiazepínics, perquè indueixen un efecte més petit que el dels agonistes.

Al complex  $\text{GABA}_A/\text{Bz}/\text{Cl}^-$  hi ha també un lloc d'unió per a substàncies convulsives (com la picrotoxina), que interfereixen la transmissió GABAèrgica, tot actuant en un lloc molt proper al GABA per disminuir la freqüència d'obertura del canal (per a revisió, Rabow *et al.*, 1995).

Tot i que hi ha estudis conductuals, neuroquímics i electrofisiològics (per a revisió, Drugan i Holmes, 1991; Rabow *et al.*, 1995) que demostren la participació del complex  $\text{GABA}_A/\text{Bz}/\text{Cl}^-$  en l'acció de l'etanol (alcohol etílic), hi ha també evidències contradictòries, de manera que és probable que algunes accions de l'etanol (com l'acció depressora central) siguin mediades pel GABA, mentre que d'altres (com l'activació locomotora) podrien ser el resultat de l'acció en altres sistemes (Drugan i Holmes, 1991).

Majewska *et al.* (1986), per la seva banda, van demostrar la possible intervenció GABAèrgica en les accions centrals dels esteroides, en veure que dos metabòlits de les hormones esteroidals progesterona i deoxicorticosterona modulaven el complex  $\text{GABA}_A/\text{Bz}/\text{Cl}^-$ , i mostraven accions molt similars a les dels barbitúrics. Estudis posteriors (revisió de Lambert *et al.*, 1995) han evidenciat que el cervell és capaç de sintetitzar neuroesteroides, que interactuen directament amb el complex  $\text{GABA}_A/\text{Bz}/\text{Cl}^-$ , a través d'un lloc de reconeixement específic (Figura 2). Pel que fa a la seva acció, sembla talment que tenen la capacitat d'augmentar el temps que el canal de clor roman obert (com els barbitúrics) i la freqüència d'obertura del canal (com les benzodiazepines). És important remarcar que els neuroesteroides han mostrat propietats ansiolítiques, hipnòtiques, anticonvulsives i analgèsiques (Lambert *et al.*, 1995), que fan pensar en el possible ús terapèutic d'aquestes substàncies.

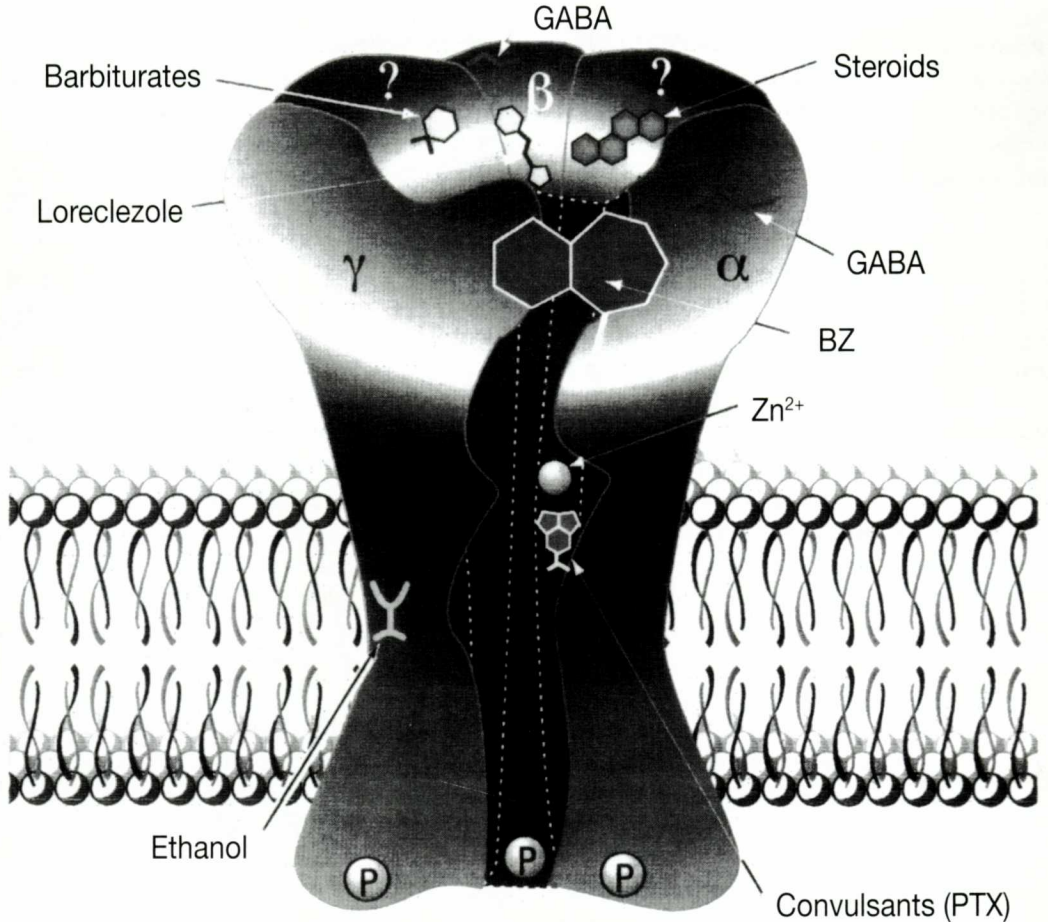


FIGURA 2. Obtinguda de McKernan i Whiting (1996). Esquema del complex macromolecular  $GABA_A/Bz/Cl$  de la membrana neuronal. S'hi troben representats els llocs d'unió del GABA, de les benzodiazepines, de les substàncies convulsives, de l'etanol, els esteroides, els barbitúrics, així com del loreclezol i del zinc (els dos darrers no són esmentats al text).

### Multiplicitat de receptors $GABA_A/Bz/Cl$

Els agonistes dels receptors benzodiazepínic (RBZ) tenen un perfil d'efectes diferents en funció de la dosi. Així, en els estudis realitzats amb models animals, generalment les dosis baixes s'han associat amb efectes ansiolítics i anticonvulsius, mentre que les elevades es relacionen amb la relaxació muscular i la sedació. Aquest fet s'ha explicat com a resultat de nivells diferencials

d'ocupació dels receptors. Hi ha una sèrie de compostos que distingeixen dos tipus de receptors benzodiazepínic: els receptors tipus I, que són molt abundants al cervell, i els de tipus II, molt presents a l'hipocamp. El fet que un dels marcadors selectius dels receptors tipus I, el zolpidem, s'usi en clínica únicament pels seus efectes hipnòtics (inducció de son), dóna suport a la possibilitat de desenvolupament de fàrmacs amb accions més selectives (Sanger *et al.*, 1994).



Encara que aquesta classificació dels receptors benzodiazepínic, feta a partir d'estudis de lligament diferencial de compostos, sigui una mica simple, els avenços en biologia molecular han corroborat la idea que és possible una selectivitat d'efectes farmacològics, tot aprofitant la unió de les substàncies amb configuracions diferents del complex  $GABA_A/Bz/Cl^-$ . S'ha vist, en aquest sentit, que el complex està format per una sèrie de subunitats, les quals es combinen donant lloc a allò que es coneix com receptors tipus I i tipus II (per a revisions, Sieghart, 1989; Olsen i Tolbin, 1990; Vicini, 1991; Sanger *et al.*, 1994). Fins ara se n'han descrit 13 subunitats (sis subunitats  $\alpha$ , tres  $\beta$ , tres  $\gamma$  i una  $\delta$ ) (McKernan i Whiting, 1996). D'altra banda, Pritchett *et al.* (1989) van evidenciar que per tenir un complex  $GABA_A/Bz/Cl^-$  plenament funcional era necessària la coincidència d'una subunitat  $\alpha$ , una de  $\beta$  i una de  $\gamma$ . A la subunitat  $\alpha$  hi ha el lloc d'unió de les benzodiazepines, a la  $\beta$ , el lloc de reconeixement del GABA, i la  $\gamma$  mitjança en la interacció al·lostèrica entre els llocs d'unió del GABA i de les benzodiazepines (per a revisió, Sanger *et al.*, 1994).

El complex pentàmer que forma el  $GABA_A/Bz/Cl^-$  (Figura 2) necessita una subunitat  $\alpha$ , una de  $\beta$  i una de  $\gamma$  per ser funcional (Pritchett *et al.*, 1989), però a partir de les 13 subunitats existents les combinacions pentàmeres possibles podrien ser 10.000. Encara no se sap si totes aquestes combinacions existeixen, però sembla que un nombre relativament reduït explica la majoria de tipus de complex  $GABA_A/Bz/Cl^-$  del cervell. Així, la combinació  $\alpha 1$  amb  $\beta 2$  i  $\gamma 2$  seria equivalent al que tradicionalment s'havia definit com el receptor benzodiazepínic tipus I. Els compostos que actuen selectivament en aquest receptor (com el zolpidem) mitjançarien en els efectes sedatius i hipnòtics de les benzodiazepines, tot i que hi ha autors que

han formulat la hipòtesi que seria responsable sobretot de les accions ansiolítiques (Sanger *et al.*, 1994). D'altra banda, el que amb estudis de lligament es va definir com receptor tipus II correspon a les combinacions  $\alpha 2\beta 3\gamma 2$  i  $\alpha 3\beta\gamma 2/3$ . Aquest subtipus és especialment abundant al sistema límbic, a l'estriat i a la medulla espinal, i podria estar implicat en la coordinació motora i els processos d'aprenentatge i memòria (McKernan i Whiting, 1996).

Altres subtipus diferenciats són, per exemple, els que contenen la subunitat  $\alpha 5$ , especialment presents a l'hipocamp, o els que contenen la subunitat  $\alpha 6$ , que de vegades apareixen en combinació amb la subunitat  $\delta$ . Sembla que una de les característiques d'aquesta subunitat  $\delta$  és que els receptors que la contenen no presenten un lloc d'elevada afinitat per les benzodiazepines (McKernan i Whiting, 1996).

### Els lligands endògens per al receptor benzodiazepínic

La recerca de possibles substàncies endògenes amb acció benzodiazepínica donà lloc a l'aïllament d'un pèptid (DBI) amb moderada afinitat pel receptor benzodiazepínic (RBZ) i amb efectes ansiogènics quan fou administrat a rates de laboratori (Guidotti *et al.*, 1983). Un grup argentí (Medina *et al.*, 1983) identificà una altra substància ansiògena, la  $\beta$ -carbolina  $\beta$ -CCM, amb alta afinitat pel RBZ, de la qual s'han trobat concentracions més elevades en l'escorça cerebral de rates sotmeses a estrès ineludible que en rates control (Medina *et al.*, 1987). I finalment, el grup del madrileny De Blas aïllà una benzodiazepina molt comuna i usada en clínica, el desmetildiazepam, com a probable endozepina natural (Sangameswaran i De Blas, 1985). Ara per ara, encara no ha estat possible confirmar si la síntesi neural del desmetildiazep-

pam és endògena o exògena i no es descarta que provingui de la ingesta de productes vegetals.

L'acció ansiogènica o ansiolítica dels hipotètics lligands endògens per al RBZ també ha estat discutida a partir d'una colla de treballs fets amb un antagonista benzodiazepínic, el flumazenil. Així, mentre que alguns resultats van indicar que el flumazenil no tenia efectes en tests de conducta, altres van descriure efectes semblants als de les benzodiazepines, i altres, paradoxalment, als de substàncies ansiogèniques (per a revisions, File i Pellow, 1986; Escorihuela *et al.*, 1994). Malgrat aquesta diversitat d'accions, el flumazenil reverteix, amb seguretat, els efectes d'agonistes i agonistes inversos de l'RBZ en diversos models animals. Al nostre laboratori, usant un conflicte complicat pels rosegadors (l'evitació activa en dos sentits -*shuttle avoidance*-), hem pogut constatar que l'ansiolisi produïda per dife-

rents substàncies benzodiazepíniques és contrarestada pel flumazenil (Figura 3, Escorihuela *et al.*, 1993).

D'altra banda, els efectes del flumazenil varien en funció de l'estat emocional del subjecte. Per exemple, en la neofòbia alimentària contraresta la reducció del temps que l'animal triga a començar a menjar quan se li ha permès familiaritzar-se amb la situació experimental (Bodnoff *et al.*, 1989). I l'ansioègesi originada per la retirada de tractaments crònics de benzodiazepines també és contrarestada pel flumazenil, mentre que en subjectes no abstinents no se'n veu cap efecte (File i Hitchcott, 1990).

Una altra estratègia ha estat considerar les diferències en emotivitat basal que sovint apareixen entre les diverses remeses de rates d'una mateixa soca, o les existents entre soques de rates obtingudes per cria selectiva. Així, al nostre laboratori hem observat que hi ha típicament dos tipus de

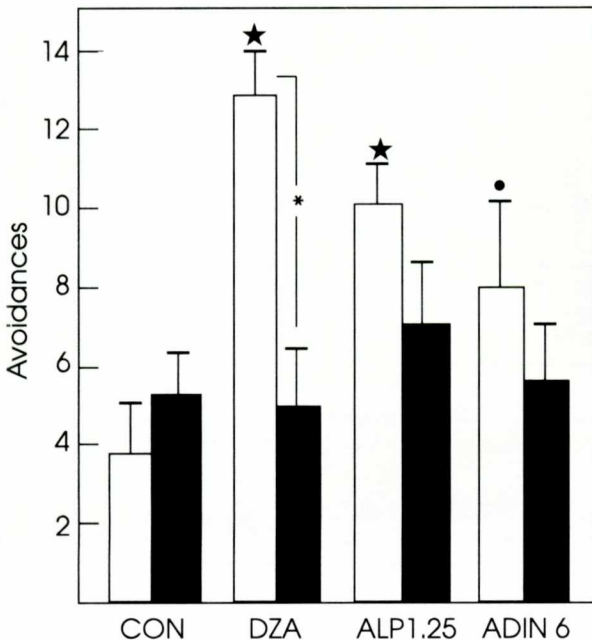


FIGURA 3. Obtinguda d'Escorihuela *et al.* (1993). Es mostra l'execució a la prova d'evitació activa en dos sentits (*shuttle avoidance*) en animals control i en rates a les quals s'havia administrat diazepam, alprazolam o adinazolam. Les barres negres representen els grups tractats amb flumazenil. La sessió d'evitació fou de 20 assaigs, cadascun dels quals constava de la presentació d'un estímul d'avís (una llum i un to), un estímul nociu de 30 segons (xoc de 0,4 mA) i de 50 segons de descans. Amb les tres benzodiazepines es produeix una millora en l'adquisició que és contrarestada per l'administració del flumazenil. ●  $p < 0,05$  vs. el grup control (prova de Duncan *one-tailed*); ★  $p < 0,05$  vs. el grup control (prova de Duncan *two-tailed*); \*  $p < 0,05$  entre els grups senya-lats (prova de Duncan *one-tailed*).



rates control no seleccionades: unes que fan aproximadament un 25 % de respostes correctes en la primera sessió del test d'evitació *shuttle* i unes altres que són capaces d'arribar a un 50 %. Les primeres són catalogades de més reactives que les segones. La taula I mostra que, quan se'ls administra flumazenil de manera aguda, les primeres incrementen considerablement el nombre d'evitacions, mentre que a les segones no hi ha cap efecte (Fernández-Teruel *et al.*, 1991).

Al laberint elevat *plus maze* també hi ha diferències en la reactivitat emotiva basal, mesurada pel nombre d'entrades i el temps d'estada als braços oberts. Paral·lelament a allò que succeeix a l'evitació *shuttle*, els efectes del flumazenil depenen d'aquestes diferències (File i Hitchcott, 1990). Finalment, en un experiment fet en col·laboració amb el Dr. Driscoll, a Zuric, usant rates hipoemotives seleccionades per alta evitació *shuttle* (RHA/Verh) i rates hiperemotives seleccionades per baixa evitació *shuttle* (RLA/Verh), observarem que el flumazenil va disminuir la conducta de congelació (*freezing*) de les RLA/Verh, i que no tingué cap efecte en les RHA/Verh (Taula II; Fernández-Teruel *et al.*, 1991).

Totes les dades anteriors són consistents amb la hipòtesi de l'existència de substàncies endògenes (endozepines), que mostren afinitat pels receptors benzodiazepínic (RBZ) associats al complex GABA<sub>A</sub>. I com a conclusió global d'aquest apartat cal dir que el conjunt de coneixements i d'aplicacions farmacològics derivats de la hipòtesi GABA/Bz de l'ansietat és, a hores d'ara, sensorial.

## ALTRES SISTEMES IMPLICATS EN LA REGULACIÓ DE L'ANSIETAT

### Sistema serotoninèrgic

A partir de l'observació que les benzodiazepines també afectaven la transmissió serotoninèrgica (per a referències, Kahn *et al.*, 1988), es postulà una possible implicació d'aquest sistema en l'ansietat. Ara bé, quan es van començar a avaluar els efectes de composts serotoninèrgics en els models animals que clàssicament s'havien emprat per a la detecció d'ansiolisi provocada per les benzodiazepines, els resultats no foren consistents, perquè depenien molt del paradig-

TAULA I. Efectes del flumazenil en l'adquisició de l'evitació activa en dos sentits (*shuttle avoidance*) en rates amb diferent emotivitat basal

	GRUP ALTA EXECUCIÓ (NO EMOTIU)		GRUP BAIXA EXECUCIÓ (EMOTIU)	
	EVITACIONS TOTALES	(n)	EVITACIONS TOTALES	(n)
VEHICLE	19,6 ± 1,8 (49,0 %)	(35)	10,7 ± 2,4 (26,8 %)	(16)
FLUMAZENIL (5 mg/kg)	22,3 ± 1,9 (55,7 %)	(7)	19,5 ± 3,6* (48,7 %)	(8)
FLUMAZENIL (10 mg/kg)	23,3 ± 1,4 (58,1 %)	(27)	21,5 ± 2,4* (53,7 %)	(14)

\*  $p < 0,05$  vs. el grup Vehicle corresponent (proves de Duncan, a Fernández-Teruel *et al.*, 1991). Entre parèntesis s'indica el percentatge d'evitacions respecte al total de 40 assaigs d'adquisició de l'evitació activa en dos sentits.



ma utilitzat, de les condicions, de la dosi o del lloc d'administració de la substància (Handley i Blane, 1993).

Malgrat la disparitat de resultats inicials, amb els avenços farmacològics i la caracterització de diversos subtipus de receptors per a la serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), van reaparèixer les esperances de vincular aquest sistema de neurotransmissió amb la regulació ansiosa, ja que es va pensar que els efectes contradictoris que s'havien observat podrien ser deguts a l'acció sobre subtipus diferents de receptors. Fins ara, s'han descrit set tipus de receptors per a la serotonina amb diversos subtipus per a cadascun d'ells (per a referències, Glennon i Dukat, 1995); el desenvolupament de substàncies selectives per als diversos subtipus ha comportat l'obtenció de compostos clínicament actius (Handley i Blane, 1993). Així, s'han observat efectes ansiolítics en diversos models animals amb els antagonistes dels re-

ceptors 5-HT<sub>3</sub>, dels 5-HT<sub>2</sub> i dels 5-HT<sub>1C</sub>, mentre que amb agonistes selectius dels receptors 5-HT<sub>2</sub> o dels 5-HT<sub>1C</sub> l'acció és ansiogènica. D'altra banda, s'ha vist que determinats agonistes parcials dels receptors 5-HT<sub>1A</sub> tenen eficàcia clínica com a ansiolítics (Handley i Blane, 1993).

Entre els agonistes parcials 5-HT<sub>1A</sub> més estudiats hi ha la buspirona (Green, 1991), que va ser introduïda per al tractament de l'ansietat al final de la dècada dels vuitanta. Tot i que aquest compost no ha mostrat efectes consistents en paradigmes de «conflicte aversiu» en rosegadors (proves en què típicament les benzodiazepines tenen la capacitat de reinstaurar una conducta suprimida per un estímul nociu), sí que s'ha mostrat efectiu en coloms (Barrett i Witkin, 1991). L'acció ansiolítica de la buspirona és especialment evident en la disminució de les vocalitzacions ultrasòniques emeses per cries de rata quan són separades de les seves mares (Barrett i Vanover, 1993).

TAULA II. Efectes del flumazenil en l'adquisició de l'evitació activa en dos sentits (*shuttle avoidance*) en rates romanes d'alta i baixa evitació

	RHA/Verh		RLA/Verh	
	Respostes de petrificació ( <i>freezing</i> )	Evitacions	Respostes de petrificació ( <i>freezing</i> )	Evitacions
Vehicle	0,0 ± 0,0 (0,0 %)	18,0 ± 2,3 (60,0 %)	16,7 ± 2,7 (55,6 %)	0,5 ± 0,3 (1,7 %)
Flumazenil 5 mg/kg	0,0 ± 0,0 (0,0 %)	20,2 ± 1,5 (67,2 %)	7,5 ± 3,0* (25,0 %)	1,0 ± 0,5 (3,3 %)
Flumazenil 10 mg/kg	0,3 ± 0,3 (1,1 %)	14,8 ± 3,3 (49,4 %)	10,2 ± 3,7 (33,9 %)	1,3 ± 0,9 (4,4 %)
Flumazenil 20 mg/kg	0,0 ± 0,0 (0,0 %)	15,8 ± 3,0 (52,7 %)	10,8 ± 4,4 (36,1 %)	0,5 ± 0,3 (1,7 %)
Flumazenil 40 mg/kg	0,0 ± 0,0 (0,0 %)	4,3 ± 4,1 (14,3 %)	21,2 ± 4,9 (67,7 %)	0,4 ± 0,4 (1,3 %)

\*p < 0,05 vs. el grup Vehicle corresponent (prova de Duncan, a Fernández-Teruel *et al.*, 1991). Entre parèntesis s'indiquen els percentatges de respostes de petrificació i d'evitacions respecte al total de 30 assaigs d'adquisició de l'evitació activa en dos sentits.

També s'ha formulat la hipòtesi que els antagonistes 5-HT<sub>1C/2</sub> (com la ritanserina) i 5-HT<sub>3</sub> (com l'ondanetró) poden tenir una acció ansiolítica. La ritanserina s'ha mostrat efectiva per al tractament de l'ansietat clínica, tot i que quan s'ha provat en models animals d'ansietat els efectes no han estat consistents. Quant als antagonistes 5-HT<sub>3</sub>, tot i no ser efectius en els paradigmes de conflicte, tenen activitat ansiolítica en altres models animals, com la prova d'interacció social, i han mostrat també efectes ansiolítics en alguns estudis preliminars amb humans (Barrett i Vanover, 1993). Finalment, sembla que les interaccions entre els receptors 5-HT<sub>1A</sub> i 5-HT<sub>1C/2</sub> poden ser molt importants, ja que en coloms s'ha vist que les substàncies que actuen en aquests dos subtipus restauren la conducta inhibida per càstig, tot i que no s'han provat encara en assaigs clínics.

### Colecistocinina

Encara que inicialment la colecistocinina (CCK) era considerada exclusivament una hormona del tracte gastrointestinal, s'ha descobert que pot actuar també com a neurotransmissor central (Crawley, 1988). El fragment octapeptid CCK-8 és la seva forma predominant al cervell (Rehfeld *et al.*, 1985). La CCK exerceix els efectes a través de dos subtipus de receptors: CCK-A (essencialment perifèrics, tot i que es poden trobar en algunes àrees cerebrals) i CCK-B (àmpliament distribuïts al cervell) (Dourish i Hill, 1987).

La CCK és molt abundant al sistema límbic i coexisteix, en algunes neurones, amb altres neurotransmissors, com la dopamina, la 5-HT o el mateix GABA. Això va fer pensar en un possible paper de la CCK en l'ansietat (Singh *et al.*, 1991). L'agonisme sobre els receptors per a la CCK té una acció ansiogènica (Harro i Vasar, 1991; Singh *et al.*, 1991) en diversos models animals d'ansie-

tat: el laberint elevat en creu, una prova basada en la por dels rosegadors als espais oberts (Pellow *et al.*, 1985); en el test d'interacció social, basat en la disminució de les conductes d'interacció entre rates quan són col·locades en ambients no familiars (File i Hyde, 1978), i la prova de llum-foscor, basada en la disminució de l'exploració provocada per l'exposició a un ambient il·luminat respecte d'un de fosc (Crawley *et al.*, 1984). L'antagonisme CCK en aquestes proves té un efecte ansiolític (Singh *et al.*, 1991). A més s'ha observat que les rates ansioses (per la seva conducta basal al laberint elevat en creu) mostren un nombre inferior de receptors per a la CCK a l'hipocamp que les rates no ansioses (Harro *et al.*, 1990). D'altra banda, tot i que en un principi no se sabia quin dels dos subtipus de receptor per a la CCK mitjançava en els efectes ansiolítics/ansio-gènics, tot suggereix (Derrien *et al.*, 1994; Chopin i Briley, 1993) que el subtipus CCK-B és l'implicat en aquestes accions.

Cal remarcar, a més, que en estudis amb voluntaris sans l'administració de CCK-4 (el terminal tetrapeptid de la CCK, agonista selectiu del subtipus CCK-B) va induir atacs de pànic (De Montigny *et al.*, 1989), encara que els efectes més grans es van produir en individus que ja patien aquest transtorn (Bradwejn *et al.*, 1990). Per tant, sembla que els antagonistes del receptor CCK-B constitueixen un camí nou i prometedor per al tractament dels transtorns d'ansietat, sobretot perquè sembla que no tenen els efectes secundaris de les benzodiazepines, com la sedació, la relaxació muscular o l'ansietat de rebot resultant de la retirada d'un tractament crònic (Costall *et al.*, 1991; Singh *et al.*, 1991).

### Factor d'alliberament de la corticotropina

El factor d'alliberament de la corticotropina (CRF) és un peptid hipotalàmic que promou l'alliberament de l'hormona adre-



nocorticotròpica (ACTH) a la hipòfisi (Vale *et al.*, 1981), i engega el funcionament de la cascada hipotàlem-hipòfisi-adrenals (HPA) en les situacions d'alarma. A més d'aquesta funció endocrina, s'ha observat que el CRF té un paper directe (independent de l'eix HPA) en la regulació de la conducta davant les situacions amenaçants, fet que suggereix la seva implicació en l'ansietat (Heilig *et al.*, 1994).

Així, s'ha observat que l'administració intracerebroventricular de CRF en rosegadors té un efecte ansiogènic en diversos models animals d'ansietat: la prova de conflicte tipus Geller-Seifter, basada en la inhibició de la beguda per l'administració d'estímul aversius (Britton *et al.*, 1985), la prova d'interacció social i el laberint elevat en creu. El CRF, a més, incrementa la resposta d'ensurt i la por en tests de resposta emocional condicionada, així com la immobilitat provocada per estrès: totes tres, respostes ben típiques en situacions amenaçants (per a revisió, Dunn i Berridge, 1990). D'altra banda, l'administració intracerebroventricular d'antagonistes del CRF té una acció «ansiolítica», bloquejant aquelles respostes (Heilig *et al.*, 1994). És important remarcar que la reacció neuroendocrina i conductual davant d'una amenaça pot ser alterada mitjançant la manipulació farmacològica local del sistema GABAèrgic, en concret a l'hipotàlem (nuclis anterior, paraventricular, dorsomedial i posterior). De forma que si s'administren antagonistes dels receptors GABA<sub>A</sub> hi ha ansiogènesi conductual i fisiològica, mentre que quan es donen agonistes obtenim ansiòlisi (Inglefield i Kellogg, 1994).

Un fet a destacar és que pot atenuar-se la resposta conductual i fisiològica a l'estrès alarmanent mitjançant intervencions ambientals (una mena de psicoteràpia per a animals). Així, al nostre laboratori, vam aplicar un procediment d'estimulació postnatal en rates (manipulacions suaus i repe-

tides), del qual hi ha evidència que redueix, a llarg termini, la reactivitat ansiosa (per a referències, Fernández-Teruel *et al.*, 1992; Núñez *et al.*, 1996). Varem observar que quan els animals tractats ja eren adults presentaven una menor reactivitat endocrina en ser col·locats en un camp obert, tal com va indicar la reducció en alguns paràmetres hormonals i la major rapidesa en tornar al nivell basal quan va acabar la situació amenaçant (Núñez *et al.*, 1996) (Figura 4). També hi hagué una menor reactivitat motora espontània i inhibició de la ingesta quan les rates eren col·locades en ambients nous; una menor supressió conductual en una situació de conflicte aversiu, i una millor adquisició de l'evitació *shuttle*, resultats tots ells indicatius d'un nivell d'ansietat menor en les rates manipulades durant l'època postnatal (Núñez *et al.*, 1995, 1996; Ferré *et al.*, 1995a).

### Sistema glutamatèrgic

El receptor per al glutamat del subtipus NMDA és fonamental per a la neurotransmissió excitadora (Cotman i Iversen, 1987). El 1988, Stephens i Andrews van formular la hipòtesi que, de la mateixa manera que un increment de la funció GABAèrgica inhibidora produeix un efecte ansiolític, la reducció de l'activitat excitadora, que mitjancen els receptors tipus NMDA, podria tenir una acció ansiolítica, de forma que existiria un paral·lisme conductual entre les manipulacions dels dos sistemes (Trullàs *et al.*, 1990).

El receptor tipus NMDA conté diversos dominis o llocs d'unió interdependents: el lloc on es lliga el glutamat (que és el neurotransmissor endogen), un canal catiònic (que permet el pas d'ions calci) i un lloc modulador de la transmissió, al qual es lliga la glicina (Foster i Fagg, 1987). S'ha observat que tant els antagonistes competitius (que es lliguen al mateix lloc que el

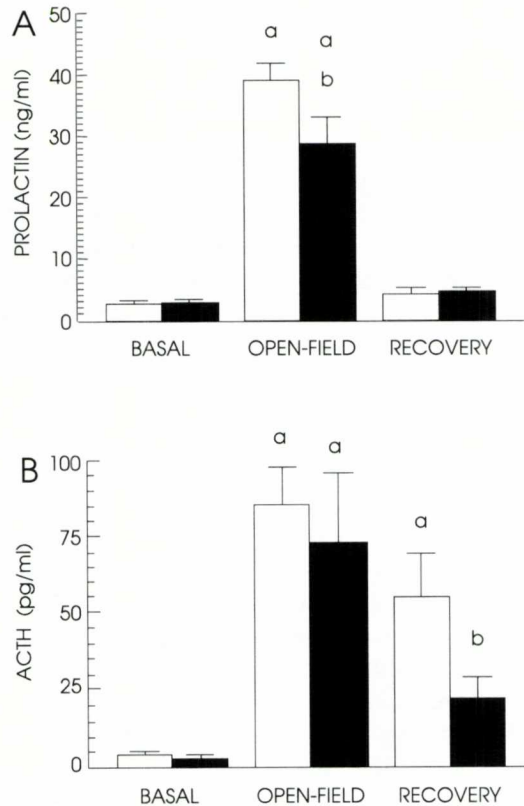


FIGURA 4. Obtinguda de Núñez *et al.* (1996). Nivells plasmàtics de prolactina (A) i ACTH (B) en animals basals (no sotmesos a cap estrès experimental, és a dir, agafats de la seva gàbia i sacrificats); en animals que van passar per un estrès en un camp obert (*Open Field*) durant 15 minuts i immediatament sacrificats; en animals que van passar pel camp obert, van ser retornats després a les seves gàbies i passats 30 minuts van ser sacrificats (*recovery*). Les barres blanques representen els animals control i les negres els animals que havien rebut un tractament d'estimulació postnatal. Després d'haver passat per un camp obert, els nivells de prolactina i els d'ACTH eren inferiors en els animals estimulats a la infantesa que en els animals control, mentre que no hi havia cap diferència en els animals que no havien patit la situació ansiògena. A més, 30 minuts després de ser col·locats al camp obert, en els animals estimulats a la infantesa els nivells d'ACTH havien retornat ja al seu nivell basal, mentre que en els animals control els valors continuaven elevats. a:  $p < 0,05$  vs. els grups basals; b:  $p < 0,05$  vs. el grup control respectiu (prova múltiple de Duncan).

glutamat) com els no competitiu (que actuen al receptor per a la glicina i que s'anomenen així perquè afecten el lligament de substàncies al punt d'unió del glutamat, sense lligar-s'hi directament), com les substàncies que bloquegen el canal de calci, tenen propietats «anticonflicte» (ansiolítiques) en models animals (Dunn *et al.*, 1989; Trullàs *et al.*, 1990), mentre que l'adminis-

tració de NMDA (que actua al lloc d'unió del glutamat) té una acció ansiogènica en diverses situacions experimentals (Dunn *et al.*, 1989; Insel *et al.*, 1986).

Els estudis preclínic en humans usant antagonistes competitiu i blocadors del canal de calci, han detectat, però, efectes secundaris indesitjables i poc marge de seguretat (Olney *et al.*, 1989). En canvi, sembla que els



fàrmacs que actuen al lloc modulador de la glicina poden representar, potser, una alternativa més segura i amb menys efectes secundaris (Trullàs *et al.*, 1990). En aquest sentit, són prometedors els resultats obtinguts amb l'ACPC (àcid carboxílic de l'1-aminociclopropà) pel grup de Ramon Trullàs del CSIC a Barcelona: l'ACPC té efectes ansiolítics en alguns models animals d'ansietat com ara el laberint elevat en creu (Trullàs *et al.*, 1989) o la reducció de la vocalització ultrasònica de les cries de rata quan són separades de les mares (Trullàs *et al.*, 1990).

### Neuropèptid Y

Hi ha concentracions elevades de neuropèptid Y (NPY) a l'hipotàlem, al sistema límbic i a l'escorça cerebral dels mamífers. L'NPY actua a través de tres tipus de receptors de membrana lligats a proteïnes G (Wahlestedt i Reis, 1993). Inicialment, s'observà que en pacients deprimits hi havia una relació inversa molt significativa entre nivells alts d'ansietat i de baixa immunoreactivitat NPY en líquid cefaloraquídi (Heilig i Miderlöv, 1990). Cal tenir present que l'ansietat severa és un element important en la patologia depressiva, fins al punt que els dos estats responen al tractament crònic amb antidepressius tricíclics. Amb l'administració de NPY a rates de laboratori s'han obtingut efectes sedatius i ansiolítics: d'una banda, l'NPY disminueix l'activitat locomotora en camp obert i a la gàbia de l'animal (Heilig i Murison, 1987a) i, de l'altra, impedeix la ulceració gàstrica induïda per immobilització en aigua (Heilig i Murison, 1987b). També s'han constatat accions ansiolítiques en models animals d'ansietat com ara el test de conflicte de Vogel, el laberint elevat en creu i el test de Geller-Seifter (per a revisió, Wahlestedt i Heilig, 1995).

L'NPY també disminueix la ingesta d'aliments. Això va fer que alguns autors es preguntessin si l'acció ansiolítica i la dismi-

nució de la ingesta eren dues accions relacionades. M. Heilig i els seus col·laboradors (1993) trobaren la resposta en l'amígdala cerebral tot demostrant que la microinjecció local de NPY al nucli central reproduïa l'ansiolisi sense que s'observessin alteracions en la ingesta alimentària. Les dues accions són, per tant, independents. Els mateixos autors també han demostrat que l'activitat ansiolítica de l'NPY endogen es fa a través del receptor Y1, ja que l'administració repetida d'un oligodeoxinucleòtid al ventricle lateral de rates genera una reducció dels receptors Y1 (i no dels Y2) i augmenta l'ansioïgenesi dels animals en el laberint elevat en creu (Wahlestedt *et al.*, 1993).

A partir de tots aquests resultats, sembla clar, d'una banda, que és necessari descartar definitivament la idea que el GABA és el neurotransmissor preferent i primordial en la modulació de l'ansietat, malgrat la seva innegable importància. De l'altra, és important remarcar que és necessari desenvolupar tests per a l'avaluació preclínica d'ansiolítics i ansioïgenics on es puguin detectar les accions dels nous compostos, ja que la majoria dels models animals emprats fins ara van sorgir per a l'avaluació de les benzodiazepines. De fet, el ventall que s'obre per fer manipulacions farmacològiques més selectives de l'ansietat anormal és amplíssim, tant pel que fa a les variacions en els sistemes centrals de regulació ansiosa, com a la modificació de símptomes perifèrics (com l'atenuació de l'excitació cardíaca amb fàrmacs  $\beta$ -blocadors adrenèrgics), que no hem esmentat aquí en absolut.

### IMPORTÀNCIA DE LA CONTRIBUCIÓ GENÈTICA A L'ANSIETAT

La reacció davant els estímuls amenaçants o les situacions de perill no és igual en tots els individus. Així, en els rosegadors

les estratègies d'enfrontament són molt diferents: davant del perill hi ha subjectes que tendeixen a reaccionar de forma activa (fugint o atacant), mentre que d'altres resten congelats i completament immòbils (Cools *et al.*, 1990). L'interès per l'estudi de la possible contribució genètica a les diferències individuals en la percepció i resposta als estímuls nocius va ser, al seu dia, el punt de partida per a la criança selectiva de soques de rosegadors en funció de les diferències en tests de reactivitat emotiva. De les soques de rates obtingudes d'aquesta manera cal destacar les Maudsley reactives i no reactives (*Maudsley Reactive and Nonreactive*; MR i MNR) i les romanes d'alta i baixa evitació (*Roman High- and Low-Avoidance*; RHA i RLA).

Les Maudsley foren seleccionades per alta (MR) i baixa (MNR) defecació al camp obert (Broadhurst, 1957). Entre altres paràmetres psicològics i fisiològics, les MR, per comparació amb les MNR, són poc evitadores a la *shuttlebox* (resolen pitjor el conflicte de l'evitació activa en dos sentits), són espontàniament poc actives i poc exploradores, presenten una major inhibició davant els avisos de perill i augmenten significativament el batec cardíac quan se'ls presenten estímuls sonors intensos (per a referències, Gray, 1993). Per tant, les MR són rates que presenten un perfil ansiós i les MNR semblen no ansioses.

Les soques romanes foren seleccionades per la ràpida (RHA) o lenta (RLA) adquisició de l'evitació *shuttle* (Bignami, 1965) i també hi ha diferències consistents entre elles en reactivitat emotiva. Així, les RLA defequen més i exploren menys que les RHA en situacions de novetat (Fernández-Teruel *et al.*, 1992); mostren una major supressió de la ingesta en situacions noves i també una major disminució de la conducta de beure en una situació de conflicte (Ferré *et al.*, 1995b). En general, davant d'una circum-

tància amenaçant, les RHA posen en marxa una estratègia conductual activa d'enfrontament, mentre que a les RLA és passiva (Driscoll i Bättig, 1982). A nivell fisiològic hi ha també divergències, de forma que a les RLA hi ha una major reactivitat neuroendocrina mesurada en diversos paràmetres de l'eix hipotàlem-hipòfisi-adrenals (Gentsch *et al.*, 1982; Walker *et al.*, 1992; Aubry *et al.*, 1995). Finalment, en col·laboració amb el grup italià del Dr. O. Giorgi, hem pogut constatar que, en el complex receptor GABA<sub>A</sub>/Bz/Cl<sup>-</sup>, l'efecte estimulador del GABA sobre la funcionalitat del canal del clor és menor en l'escorça cerebral de les rates RLA respecte de les RHA (Figura 5, Giorgi *et al.*, 1994), fet que suggereix una funció GABAèrgica disminuïda en la sublínia ansiosa (RLA).

Un altre front rellevant de la recerca sobre la contribució genètica a l'ansietat prové dels estudis fets amb soques consanguínies recombinants de ratolins. Per exemple, sembla que hi ha un component genètic en la hipertensió provocada per estrès social (Lockwood i Turney, 1981) o en la sensibilitat a les convulsions induïdes amb l'FG 7142, un agonista parcial invers del receptor BZR que pot provocar crisis ansioses severes quan s'administra a humans (Nutt i Lister, 1988). Més recentment, Shanks, Griffiths i Anisman (1994) han constatat diferències consistents en la reacció endocrina (corticosterona plasmàtica) i neuroquímica (paràmetres dels sistemes noradrenèrgic i dopaminèrgic) després de l'aplicació d'estímuls amenaçants en set d'aquelles soques consanguínies recombinants.

Però encara tindrà molta més transcendència el desenvolupament recent de metodologies que permeten detectar la influència de gens en tipologies conductuals específiques, i arribar a la localització cromosòmica (Neiderhiser *et al.*, 1992; Gora-Maslak *et al.*, 1991). Pel que fa a l'emotivitat



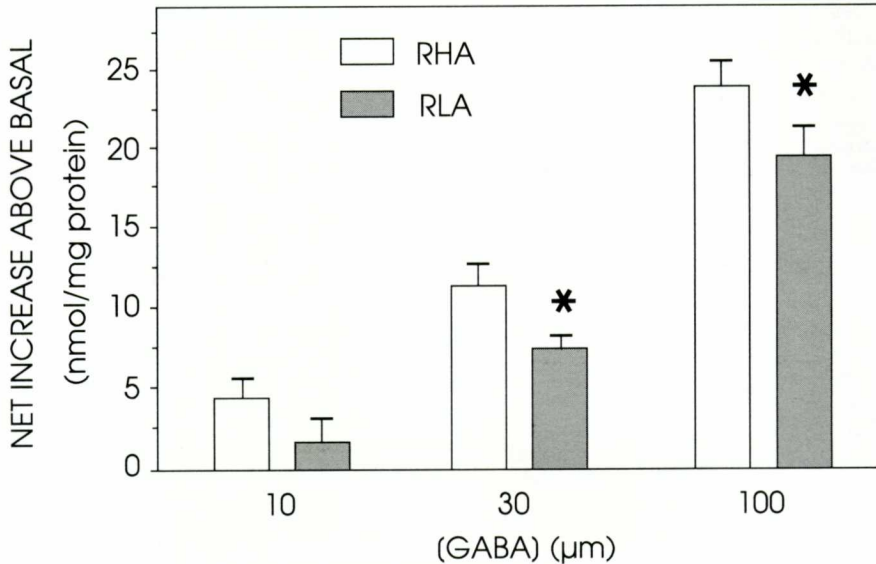


FIGURA 5. Obtinguda de Giorgi *et al.* (1994). Efecte estimulador del GABA en la recaptació de  $^{36}\text{Cl}^-$  de vesícules de membrana d'escorça cerebral de rates romanes. Es representa l'increment net de recaptació de  $^{36}\text{Cl}^-$  respecte al valor basal determinat en absència de GABA. Els valors basals (expressats en  $\text{nmol } ^{36}\text{Cl}^-/\text{mg prot}$ ) foren  $9,9 \pm 1,0$  en la soca RHA i  $10,8 \pm 1,0$  en la soca RLA. Es mostren les mitjanes  $\pm$  errades estàndards de cinc experiments independents, realitzats per quadruplicat, cadascun dels quals es va fer amb el teixit de dos animals de cada soca. \* $p < 0,05$  respecte al grup RHA de la mateixa concentració de GABA (prova t de Student).

en rosegadors ja s'ha indicat la posició temptativa de tres *locus* en els cromosomes 1, 12 i 15 del genoma del ratolí (Flint *et al.*, 1995). Aquest abordatge, que és el primer pas per a la caracterització i identificació dels gens responsables de la proclivitat emotiva general i de les tipologies ansioses més particulars, proporcionarà, probablement, aproximacions productives i útils per al diagnòstic i el tractament dels trastorns ansiosos en humans.

## AGRAÏMENTS

Aquest treball s'ha pogut dur a terme gràcies a un ajut concedit per la DGICYT (PM92/0071) i a un ajut de la CIRIT de suport a grups de recerca de qualitat (GRQ94-2005).

## BIBLIOGRAFIA

- AUBRY, J. M.; V. BARTANUSZ; P. DRISCOLL; P. SCHULZ; T. STEIMER; J. ZOLTAN (1995). «Corticotropin-releasing factor and vasopressin mRNA levels in Roman High- and Low-avoidance rats: response to open field exposure». *Neuroendocrinol.*, núm. 61, pàg. 89-97.
- BARRETT, J. E.; K. E. VANOVER (1993). «5-HT receptors as targets for the development of novel anxiolytic drugs: models, mechanisms and future directions». *Psychopharmacol.*, núm. 112, pàg. 1-12.
- BARRETT, J. E.; J. M. WITKIN (1991). «Buspirone in animal models of anxiety». A: Tunnicliff, G.; Eison, A.; Taylor, D. *Buspirone: mechanisms and clinical aspects*. Orlando: Academic Press. pàg. 37-79.
- BIGNAMI, G (1965). «Selection for high rates and low rates of avoidance conditioning in the rat». *Anim. Behav.*, núm. 13, pàg. 221-227.
- BODNOFF, S. R.; B. SURANYI-CADOTTE; R. QUIRION; M. MEANEY (1989). «Role of the central benzodiazepine receptor system in behavioral habituation to novelty». *Behav. Neurosci.*, núm. 103, pàg. 209-212.
- BRADWEJN, J.; D. KOSZYCKI; G. METERRISSIAN (1990).

- «Cholecystokinin-tetrapeptide induces panic attacks in patients with panic disorder». *Can. J. Psychiatry*, núm. 35, pàg. 83-85.
- BRITTON, K.; J. MORGAN; J. RIVIER; W. VALE; G. F. KOOB (1985). *Psychopharmacol.*, núm. 86, pàg. 170-174.
- BROADHURST, P. L. (1957). «Determinants of emotionality in the rat. Situational factors». *Br. J. Psychol.*, núm. 48, pàg. 1-12.
- COOLS, A. R.; R. BRACHTEN; D. HEEREN; A. WILLEMEN; B. ELLENBROEK (1990). «Search after neurobiological profile of individual-specific features of Wistar rats». *Brain Res. Bull.*, núm. 24, pàg. 49-69.
- COSTALL, B.; A. M. DOMENEY; J. HUGHES; M. E. KELLY; R. J. NAYLOR; G. N. WOODRUFF (1991). «Anxiolytic effects of CCK-B antagonists». *Neuropeptides*, núm. 19, pàg. 65-73.
- COTMAN, C. W.; L. L. IVERSEN (1987). «Excitatory amino acids in the brain-focus of NMDA receptors». *T.I.N.S.*, núm. 10, pàg. 263-265.
- CRAWLEY, J. N. (1988). «Neuronal cholecystokinin». *ISI Atlas Pharmacol.*, núm. 2, pàg. 84-90.
- CRAWLEY, J. N.; P. SKOLNICK; S. M. PAUL (1984). «Absence of intrinsic antagonistic actions of benzodiazepine antagonists on an exploratory model of anxiety in the mouse». *Neuropharmacol.*, núm. 23, pàg. 531-537.
- CHOPIN, P.; M. BRILEY (1987). «Animal models of anxiety: the effect of compounds that modify 5-HT neurotransmission». *T.I.P.S.*, núm. 8, pàg. 383-388.
- (1993). «The benzodiazepine antagonist flumazenil blocks the effects of CCK receptor agonists and antagonists in the elevated plus-maze». *Psychopharmacol.*, núm. 110, pàg. 409-414.
- DE MONTIGNY, C. (1989). «Cholecystokinin tetrapeptide induces panic-like attacks in healthy volunteers». *Arch. Gen. Psychiatry*, núm. 46, pàg. 511-517.
- DERRIEN, M.; I. McCORT-TRANCHEPAIN; B. DUCOS; B. P. ROQUES; C. DURIEUX (1994). «Heterogeneity of CCK-B receptors involved in animal models of anxiety». *Pharmacol. Biochem. Behav.*, núm. 49, pàg. 133-141.
- DOURISH, C. T.; D. R. HILL (1987). «Classification and function of CCK receptors». *Trends Pharmacol. Sci.*, núm. 8, pàg. 207-208.
- DREVETS, W. C.; M. E. RAICHEL (1995). «Positron Emission Tomographic imaging studies of human emotional disorders». A: Gazzaniga, S. *The Cognitive Neuroscience*. Cambridge, Massachusetts: The MIT Press. pàg. 1153-1164.
- DRISCOLL, P.; K. BÄTTIG (1982). «Behavioral, emotional and neurochemical profiles of rats selected for extreme differences in active, two-way avoidance performance». A: Lieblich, L. *Genetics of the brain*. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press. pàg. 95-123.
- DRUGAN, R. C.; P. V. HOLMES (1991). «Central and peripheral benzodiazepine receptors: involvement in an organism's response to physical and psychological stress». *Neurosci. Biobehav. Revs.*, núm. 15, pàg. 277-298.
- DUNN, A. J.; C. W. BERRIDGE (1990). «Physiological and behavioral responses to corticotropin-releasing factor administration: is CRF a mediator of anxiety or stress responses?» *Brain Res. Revs.*, núm. 15, pàg. 71-100.
- DUNN, R. W.; R. CORBETT; S. FIELDING (1989). «Effect of 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonists and NMDA receptor antagonists in the social interaction test and the elevated plus-maze». *European J. Pharmacol.*, núm. 169, pàg. 1-10.
- ESCORIHUELA, R. M.; A. FERNÁNDEZ-TERUEL; A. ZAPATA; J. F. NÚÑEZ; A. TOBEÑA (1993). «Flumazenil prevents the anxiolytic effects of diazepam, alprazolam and adinazolam on the early acquisition of two-way active avoidance». *Pharmacol. Res.*, núm. 28, pàg. 53-58.
- ESCORIHUELA, R. M.; A. TOBEÑA; A. FERNÁNDEZ-TERUEL (1994). *L'estimulació infantil*. Bellaterra: Servei de Publicacions de la Universitat Autònoma de Barcelona.
- FERNÁNDEZ-TERUEL, A.; R. M. ESCORIHUELA; J. F. NÚÑEZ; M. GOMA; P. DRISCOLL; A. TOBEÑA (1992). «Early stimulation effects on novelty-induced behavior in two psychogenetically selected rat lines with divergent emotionality profile». *Neurosci. Lett.*, núm. 137, pàg. 185-188.
- FERNÁNDEZ-TERUEL, A.; R. M. ESCORIHUELA; A. TOBEÑA; P. DRISCOLL (1991). «Stress and putative endogenous ligands for benzodiazepine receptor: the importance of characteristics of the aversive situation and of differential emotionality in experimental animals». *Experientia*, núm. 47, pàg. 1051-1056.
- FERRÉ, P.; A. FERNÁNDEZ-TERUEL; R. M. ESCORIHUELA; P. DRISCOLL; M. G. CORDA; O. GIORGI; A. TOBEÑA (1995b). «Behavior of the Roman/Verh high-and low-avoidance rat lines in anxiety tests: relationship with defecation and self-grooming». *Physiol. Behav.*, núm. 58, pàg. 1209-1213.
- FERRÉ, P.; J. F. NÚÑEZ; E. GARCÍA; A. TOBEÑA; R. M. ESCORIHUELA; A. FERNÁNDEZ-TERUEL (1995a). «Post-natal handling reduces anxiety as measured by hyponeophagia tests in female rats». *Pharmacol. Biochem. Behav.*, núm. 51, pàg. 199-203.
- FILE, S. E.; P. K. HITCHCOTT (1990). «A theory of benzodiazepine dependence that can explain whether will enhance or reverse the phenomena». *Psychopharmacol.*, núm. 101, pàg. 525-532.
- FILE, S. E.; J. R. G. HYDE (1978). «Can social interaction be used to measure anxiety?» *British J. Pharmacol.*, núm. 62, pàg. 19-24.
- FILE, S. E.; S. PELLOW (1986). «Intrinsic actions of the benzodiazepine receptor antagonists Ro 15-1788». *Psychopharmacol.*, núm. 88, pàg. 1-11.



- FLINT, J.; R. CORLEY; J. C. DEFRIES; D. FULKER; J. A. GRAY; S. MILLER; A. C. COLLINS (1995). «A simple genetic basis for a complex psychological trait in laboratory mice». *Science*, núm. 269, pàg. 1432-1435.
- FOSTER, A. C.; G. E. FAGG (1987). «Taking apart NMDA receptors». *Nature*, núm. 329, pàg. 395-396.
- GENTSCH, C.; M. LICHTSTEINER; P. DRISCOLL; H. FEER (1982). «Differential hormonal and physiological responses to stress in Roman high-and low-avoidance rats». *Physiol. Behav.*, núm. 28, pàg. 259-263.
- GIORGI, O.; M. ORLANDI; R. M. ESCORIHUELA; P. DRISCOLL; D. LECCA; M. G. CORDA (1994). «GABAergic and dopaminergic transmission in the brain of Roman high-avoidance and Roman low-avoidance rats». *Brain Res.*, núm. 638, pàg. 133-138.
- GLENNON, R. A. (1990). «Serotonin receptors: clinical implications». *Neurosci. Biobehav. Revs.*, núm. 14, pàg. 35-47.
- GLENNON, R. A.; M. DUKAT (1995). «Serotonin receptor subtypes». A: Bloom, F. E.; Kupfer, D. *J. Psychopharmacology: the fourth generation of progress*. New York: Raven Press, Ltd. pàg. 415-429.
- GORA-MASLAK, G.; G. E. MCLEARN; J. C. CRABBE; T. J. PHILLIPS; J. K. BELKNAP (1991). «Use of recombinant inbred strains to identify quantitative trait loci in psychopharmacology». *Psychopharmacol.*, núm. 104, pàg. 413-424.
- GRAY, J. A. (1993). *La Psicología del miedo y del estrés*. Barcelona: Labor.
- GREEN, S. (1991). «Benzodiazepines, putative anxiolytics and animal models of anxiety». *T.I.N.S.*, núm. 14, pàg. 101-104.
- GUIDOTTI, A.; C. M. FORCHETTI; M. G. CORDA; D. KONKEL; C. BENNETT (1983). «Isolation, characterization and purification to homogeneity of an endogenous polypeptide with agonistic actions on benzodiazepine receptors». *Proc. Nat. Acad. Sci.*, núm. 80, pàg. 3531-3535.
- HAEFELY, W. E. (1990). «The GABA<sub>A</sub> benzodiazepine receptor complex and anxiety». A: Sartorius, N.; Andreoli, V.; Cassano, G.; Eisenberg, L.; Kielholz, P.; Pancheri, P.; Racagni, G. *Anxiety: Psychobiological and clinical perspectives*. New York: Hemisphere Publishing Corporation. pàg. 23-36.
- HANDLEY, S. L.; J. W. M. BLANE (1993). «5-HT drugs in animal models of anxiety». *Psychopharmacol.*, núm. 112, pàg. 13-20.
- HARRO, J.; R. A. KIIVET; A. LANG; E. VASAR (1990). «Rats with anxious or non-anxious type of exploratory behaviour differ in their brain CCK-8 and benzodiazepine receptor characteristics». *Behav. Brain Res.*, núm. 39, pàg. 63-71.
- HARRO, J.; E. VASAR (1991). «Cholecystokinin-induced anxiety: how is it reflected in studies on exploratory behaviour?». *Neurosci. Biobehav. Revs.*, núm. 15, pàg. 473-477.
- HEILIG, M.; G. F. KOOB; R. EKMAN; K. T. BRITTON (1994). «Corticotropin-releasing factor and neuropeptide y: role in emotional integration». *T.I.N.S.*, núm. 17, pàg. 80-85.
- HEILIG, M.; S. MCLEOD; M. BROTT; S. C. HEINRICH; F. MENZAGHI; G. F. KOOB; K. T. BRITTON (1993). «Anxiolytic-like action of neuropeptide Y: mediation by Y1 receptors in amygdala, and dissociation from food intake effects». *Neuropsychopharmacology*, núm. 8, pàg. 357-363.
- HEILIG, M.; E. MIDERLÖV (1990). «Neuropeptide Y: an overview of central distribution, functional aspects, and possible involvement in neuropsychiatric illnesses». *Acta Psychiatr Scand.*, núm. 82, pàg. 95-114.
- HEILIG, M.; R. MURISON (1987a). «Intracerebroventricular neuropeptide Y suppresses open field and home cage activity in the rat». *Regul. pept.*, núm. 19, pàg. 221-231.
- (1987b). «Intracerebroventricular neuropeptide Y protects against stress-induced gastric erosion in the rat». *Eur. J. Pharmacol.*, núm. 137, pàg. 127-129.
- INGLEFIELD, J. R.; C. K. KELLOG (1994). «Hypothalamic GABA<sub>A</sub> receptor blockade modulates cerebral cortical systems sensitive to acute stressors». *Psychopharmacol.*, núm. 116, pàg. 339-345.
- INSEL, T. R.; HILL, J. L.; R. B. MAYOR (1986). «Rat pup ultrasonic isolation calls: possible mediation by the benzodiazepine receptor complex». *Pharmacol. Biochem. Behav.*, núm. 24, pàg. 1263.
- KAHN, R. S.; H. M. VAN PRAAG; S. WELTZAR; G. M. ASNIS; G. BARR (1988). «Serotonin and anxiety revisited». *Biol. Psychiatry*, núm. 23, pàg. 189-208.
- LAMBERT, J. J.; D. BELELLI; C. HILL-VENNING; J. A. PETERS (1995). «Neurosteroids and GABA<sub>A</sub> receptor function». *T.I.P.S.*, núm. 16, pàg. 295-303.
- LEDoux, J. E. (1992). «Brain mechanisms of emotion and emotional learning». *Current opinion in Neurobiol.*, núm. 2, pàg. 191-197.
- LOCKWOOD, J. A.; T. H. TURNEY (1981). «Social dominance and stress-induced hypertension: strain differences in inbred mice». *Physiol. Behav.*, núm. 26, pàg. 547-549.
- MAJEWSKA, M. D.; N. L. HARRISON; R. D. SCHWARTZ; J. L. BARKER; S. M. PAUL (1986). «Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor». *Science*, núm. 232, pàg. 1004-1007.
- MARCS, I. M.; A. TOBEÑA (1990). «Learning and unlearning fear: a clinical and evolutionary perspective». *Neurosci. Biobehav. Revs.*, núm. 14, pàg. 21-37.
- MARCS, Y. (1987). *Fears, phobias, and rituals*. London: Oxford University Press.
- MCKERNAN, R. M.; P. J. WHITING (1996). «Which GABA<sub>A</sub>-receptor subtypes really occur in the brain?». *T.I.N.S.*, núm. 19, pàg. 139-143.

- MEDINA, J. H.; M. L. NOVAS; E. DE ROBERTIS (1983). «Changes in BZD receptor by acute stress: different effect of chronic diazepam or Ro 15-1788 treatment». *Eur. J. Pharmacol.*, núm. 96, pàg. 181-185.
- MEDINA, J. H.; C. PEÑA; M. L. NOVAS; A. C. PALADINI; E. DE ROBERTIS (1987). «Acute stress induces an increase in rat cerebral cortex levels of n-butyl- $\beta$ -carboline-3-carboxylate, and endogenous benzodiazepine binding inhibitor». *Neurochem. Int.*, núm. 11, pàg. 255-259.
- NEIDERHISER, J. M.; R. PLOMIN; G. E. MCCLEARN (1992). «The use of CXB recombinant inbred mice to detect quantitative trait loci in behavior». *Physiol. Behav.*, núm. 52, pàg. 429-439.
- NÚÑEZ, J. F.; P. FERRÉ; R. M. ESCORIHUELA; A. TOBEÑA; A. FERNÁNDEZ-TERUEL (1996). «Effects of postnatal handling of rats on emotional, HPA-axis and prolactin reactivity to novelty and conflict». *Physiol. Behav.* [En premsa]
- NÚÑEZ, J. F.; P. FERRÉ; E. GARCÍA; R. M. ESCORIHUELA; A. FERNÁNDEZ-TERUEL; A. TOBEÑA (1995). «Postnatal handling reduces emotionality ratings and accelerates two-way active avoidance in female rats». *Physiol. Behav.*, núm. 57, pàg. 831-835.
- NUTT, D. J.; R. G. LISTER (1988). «Strain differences in response to a benzodiazepine receptor inverse agonist (FG 7142) in mice». *Psychopharmacol.*, núm. 24, pàg. 435-436.
- OLNEY, J. W.; J. LABRUYERE; M. T. PRICE (1989). «Pathological changes induced in cerebrocortical neurons by phencyclidine and related drugs». *Science*, núm. 244, pàg. 1360-1362.
- OLSEN, R. (1981). «GABA-benzodiazepine barbiturate receptor interactions». *J. Neurochem.*, núm. 37, pàg. 1-13.
- OLSEN, R. W.; A. J. TOBIN (1998). «Molecular biology of GABA<sub>A</sub> receptors». *F.A.S.E.B.*, núm. 4, pàg. 1469-1480.
- PELLOW, S.; P. CHOPIN; S. E. FILE; M. BRILEY (1985). «Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat». *J. Neurosci. Meths.*, núm. 14, pàg. 149-167.
- PRITCHETT, D. B.; H. LUDDENS; P. H. SEEBURG (1989). «Type I and type II GABA<sub>A</sub>-benzodiazepine receptors produced in transfected cells». *Science*, núm. 245, pàg. 1389-1392.
- RABOW, L. E.; S. J. RUSSEK; D. H. FARB (1995). «From ion currents to genomic analysis: Recent advances in GABAA receptor research». *Synapse*, núm. 21, pàg. 189-274.
- REHFELD, J. F.; H. F. JANSEN; P. D. MARLEY; K. STENGAARD-PEDERSEN (1985). «Molecular forms of cholecystokinin in the brain and the relationship to neuronal gastrins». *Ann. NY Acad. Sci.*, núm. 448, pàg. 11-23.
- RICHARDS, G.; P. SCHOCH; W. HAEFELY (1991). «Benzodiazepine receptors: new vistas». *Seminars in the Neurosciences*, núm. 3, pàg. 191-203.
- SÁNCHEZ, R.; F. X. CASERAS; A. TOBEÑA; R. TORRUBIA (1996). «Escala per a l'avaluació de les pors mèdiques: dades preliminars de fiabilitat i validesa». *XI Jornada de Teràpia del Comportament i Medicina Conductual en la Pràctica Clínica. Acadèmia de Ciències Mèdiques de Catalunya i Balears i Societat Catalana de Psiquiatria*. Barcelona, 28 de març de 1996.
- SANGER, D. J.; J. BENAVIDES; G. PERRAULT; E. MOREL; C. COHEN; D. JOLY; B. ZIVKOVIC (1994). «Recent developments in the behavioral pharmacology of benzodiazepine receptors: evidence for the functional significance of receptor subtypes». *Neurosci. Biobehav. Revs.*, núm. 18, pàg. 355-372.
- SANGAMESWARAN, L.; A. DE BLAS (1985). «Demonstration of benzodiazepine-like activity molecules in the mammalian brain and detection of benzodiazepine-like immunoreactivity in human brain». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 83, pàg. 9236-9240.
- SAPOLSKY, R. M. (1995). *¿Por qué las cebras no tienen úlceras? La guía del estrés*. Madrid: Alianza Editorial.
- SHANKS, N.; J. GRIFFITHS; H. ANISMAN (1994). «Central catecholamine alterations induced by stressor exposure: analyses in recombinant inbred strains of mice». *Behav. Brain Res.*, núm. 63, pàg. 25-33.
- SIEGHART, W. (1989). «Multiplicity of GABA<sub>A</sub>-benzodiazepine receptors». *T.I.P.S.*, núm. 10, pàg. 407-411.
- SINGH, L.; A. S. LEWIS; M. J. FIELD; J. HUGHES; G. N. WOODRUFF (1991). «Evidence for an involvement of the brain cholecystokinin B receptor in anxiety». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 8, pàg. 1130-1133.
- STEPHENS, D. N.; J. S. ANDREWS (1988). «N-methyl-D-aspartate antagonists in animal models of anxiety». A: Cavalheiro, E.; Lehmann, J.; Turski, L. *Frontiers in excitatory amino acid research*. New York: Alan R. Liss. pàg. 309-316.
- TALLMAN, J. F.; S. M. PAUL; P. SKOLNICK, D. W. GALLAGER (1980). «Receptors for the age of anxiety: Pharmacology of the benzodiazepines». *Science*, núm. 207, pàg. 274-281.
- TRULLÁS, R.; B. JACKSON; P. SKOLNICK (1989). «Anxiolytic properties of 1-aminocyclopropanecarboxylic acid, a ligand at strychnine-insensitive glycine receptors». *Pharmacol. Biochem. Behav.*, núm. 34, pàg. 314-316.
- TRULLÁS, R.; J. T. WINSLOW; T. R. INSEL; P. SKOLNICK (1990). «Are glutamatergic pathways involved in the pathophysiology of anxiety?» A: Briley, M.; File, S. E. *New concepts in anxiety*. Londres: McMillan Press. pàg. 382-394.
- VALE, W.; J. SPIESS; C. RIVIER; J. RIVIER (1981). «Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin». *Science*, núm. 213, pàg. 1394-1397.
- VICINI, S. (1991). «Pharmacologic significance of the



- structural heterogeneity of the GABA<sub>A</sub> receptor-chloride ion channel complex». *Neuropsychopharmacol.*, núm. 4, pàg. 9-15.
- WAHLESTEDT, C.; M. HEILIG (1995). «Neuropeptide Y and related peptides». A: Bloom, F. E.; Kupfer, D. J. *Psychopharmacology: The fourth generation of progress*. New York: Raven Press. pàg. 543-551.
- WAHLESTEDT, C.; E. M. PICH; G. F. KOOB; F. YEE; M. HEILIG (1993). «Modulation of anxiety and neuropeptide Y-Y1 receptors by antisense oligodeoxynucleotides». *Science*, núm. 259, pàg. 528-531.
- WAHLESTEDT, C.; D. J. REIS (1993). «Neuropeptide Y-related peptides and their receptors: are the receptors potential therapeutic drug targets?». *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, núm. 32, pàg. 309-352.
- WALKER, C. D.; M. L. AUBERT; M. J. MEANEY; P. DRISCOLL (1992). «Individual differences in the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenocortical system after stressors: use of psychogenetically selected rat lines as a model». A: Driscoll, P. *Genetically defined animal models of neurobehavioral dysfunctions*. Boston: Birkhäuser. pàg. 276-296.