



THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Étude du modèle de sursaut chez le rat: comparaison d'anxiolytiques classiques et de nouvelle génération

Dussenne, Sonia

Award date:
1992

Awarding institution:
Universite de Namur

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

**Etude du modèle de sursaut acoustique chez le rat:
comparaison d'anxiolytiques classiques et de nouvelle
génération.**

DUSSENNE Sonia

Résumé

La recherche de nouvelles substances anxiolytiques nécessite l'utilisation de modèles animaux adaptés. La plupart des modèles existant font appel à un conditionnement ou à un conflit pour engendrer l'anxiété. Nous avons tenté de nous rapprocher de l'anxiété naturelle en utilisant le modèle de sursaut acoustique chez le rat Wistar.

L'anxiété dans ce modèle est produite par la répétition régulière d'un stimulus acoustique. L'animal reçoit 240 stimuli (93 dB, 8Khz) sonores espacés de 16 sec. Cette session test lui est présentée à 4 reprises (0h, 2h30, +24h, +26h30). Cette répétition permet d'étudier l'évolution de l'effet médicamenteux et d'estimer l'habituation de l'animal à court et à long terme.

Les benzodiazépines ont manifesté un effet inhibiteur de la réponse de sursaut, alors que les azaspinones (5-HT_{1A} agonistes), anxiolytiques atypiques, ne modifient pas significativement cette réponse. Les *B*-carbolines, agonistes inverses des benzodiazépines (anxiogènes), ont mis en évidence la possibilité de potentialiser le sursaut. Enfin, le test de l'halopéridol a démontré la sélectivité du test, et sa capacité à pouvoir discerner un tranquillisant majeur d'un tranquillisant mineur.

Mémoire de licence en Sciences Biologiques (Zoologiques)

Décembre 1992

Promoteur : M. Mercier

Au terme de ce travail, je tiens à adresser mes plus vifs remerciements

à Monsieur le Professeur Mercier, pour l'accueil qu'il m'a réservé au sein du Département de Psychologie.

à Monsieur Jacques Bruhwylér pour son appui scientifique, ses encouragements ainsi que ses corrections qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

à Monsieur Eric Chleide pour ses conseils scientifiques judicieux.

à Messieurs Jean-Pierre Peters et Vincent Mineur pour leur disponibilité et l'aide qu'ils m'ont fournie pour le recueil informatique des données.

à Monsieur Guy Houbeau pour ses conseils pratiques qui ont permis le bon déroulement des expériences.

à Madame Annick Van Vyve - Genette qui m'a aimablement conseillée pour le traitement statistique des données.

à Heike et Sophie pour les bons moments que nous avons partagés au cours de cette année.

Enfin, j'exprime ma reconnaissance à tous les membres du Département de Psychologie pour l'ambiance de travail qu'ils y créent et pour l'aide amicale qu'ils m'ont accordée.

TABLE DES MATIERES.

INTRODUCTION GENERALE.

PREMIERE PARTIE: APPROCHES THEORIQUES.

Chapitre I: Modèles animaux pour l'étude de l'anxiété.

| | |
|---|----|
| 1. Le siècle de l'anxiété. | 1 |
| 2. Modèles animaux de l'anxiété. | 3 |
| 2.1. Les modèles basés sur les réactions simples. | 5 |
| 2.2. Les modèles basés sur les paradigmes d'apprentissage traditionnel. | 7 |
| 2.3. Les modèles basés sur les potentialités phylogénétiques d'apprentissage aversif. | 9 |
| 3. Réponse de sursaut et phénomène d'habituation. | 12 |
| 3.1. Réponse de sursaut et sursaut potentialisé. | 12 |
| 3.2. Mécanismes neuronaux du sursaut. | 16 |
| 3.3. Phénomène d'habituation. | 17 |

Chapitre II: Modulations pharmacologiques de la réponse de sursaut.

| | |
|---|----|
| 1. Benzodiazépines et récepteurs GABA/Cl ⁻ /BZD. | 21 |
| 1.1. Les benzodiazépines. | 21 |
| 1.1.1. Classification des benzodiazépines parmi les psychotropes. | 21 |
| 1.1.2. Propriétés pharmacologiques. | 21 |
| 1.1.3. Indications thérapeutiques. | 22 |
| 1.2. Le récepteur GABA/Cl ⁻ /BZD. | 24 |
| 1.2.1. Description du récepteur GABA/Cl ⁻ /BZD. | 24 |
| 1.2.2. Mode d'action et propriétés. | 25 |
| 1.2.3. Localisation cérébrale. | 27 |
| 1.3. Agoniste inverse des récepteurs benzodiazépiniques: FG7142. | 29 |
| 2. Azaspiroones et anxiolytiques de nouvelle génération. | |
| 2.1. Les azaspiroones. | 30 |
| 2.1.1. Classification des azaspiroones. | 30 |

| | |
|---|----|
| 2.1.2. Propriétés pharmacologiques. | 30 |
| 2.2. Le récepteur sérotonergique. | 31 |
| 2.2.1. Description du récepteur sérotonergique. | 32 |
| 2.2.2. Mode d'action et propriétés. | 33 |
| 2.2.3. Localisation cérébrale. | 34 |

Chapitre III: Mécanismes neuronaux impliqués dans la réponse de sursaut.

| | |
|--|----|
| 1. Etude par les lésions cérébrales. | 36 |
| 2. Etude par stimulation électrique cérébrale. | 39 |
| 3. Etude neurochimique et pharmacologie. | 40 |

HYPOTHESES DE TRAVAIL. 47

DEUXIEME PARTIE: SUJETS, MATERIEL ET METHODE.

| | |
|---------------------------------------|----|
| 1. Sujets expérimentaux. | 48 |
| 2. Matériel. | 49 |
| 3. Méthode. | 50 |
| 3.1. Déroulement du test de sursaut. | 50 |
| 3.2. Description du stimulus. | 50 |
| 3.3. Protocole expérimental. | 51 |
| 3.4. Administrations médicamenteuses. | 51 |
| 3.5. Analyses statistiques. | 52 |

TROISIEME PARTIE: RESULTATS ET DISCUSSION.

| | |
|--------------------------|----|
| Introduction. | 54 |
| 1. Placebo. | 54 |
| 2. Les benzodiazépines. | 56 |
| 2.1. Résultats. | 56 |
| 2.1.1. Diazépam. | 56 |
| 2.1.2. Chlordiazépoxyde. | 57 |
| 2.2. Discussion. | 58 |
| 3. Les azaspirones. | 61 |
| 3.1. Résultats. | 61 |
| 3.1.1. Buspirone. | 61 |
| 3.1.2. Gepirone. | 62 |
| 3.2. Discussion. | 64 |

| | |
|-----------------------------|----|
| 4. Les β -carbolines. | 67 |
| 4.1. Résultats. | 67 |
| 4.1.1. FG7142. | 67 |
| 4.1.2. β -CCM. | 68 |
| 4.2. Discussion. | 69 |
| 5. L'halopéridol. | 71 |
| 5.1. Résultats. | 71 |
| 5.2. Discussion. | 72 |
| Conclusions générales. | 74 |
| Bibliographie. | |

INTRODUCTION GENERALE.

Les problèmes posés par le stress et l'anxiété sont incontestables dans notre société. Cette émotion normale éprouvée par l'homme par crainte d'un événement aversif à venir, peut devenir pathologique suite à son ampleur et à sa chronicité. Un grand nombre de médicaments existent actuellement sur le marché, pour soigner ces différents troubles anxieux, qu'ils soient chroniques ou passagers.

Pour estimer l'efficacité de ces médicaments, il faut d'abord les étudier dans des modèles animaux de l'anxiété. Les animaux sont placés dans des situations qui engendrent l'anxiété. Cependant, il est sans conteste très difficile de recréer la situation naturelle vécue par l'être humain. Certains modèles nécessitent un apprentissage conditionné, d'autres utilisent un test de conflit. Et quel que soit le modèle utilisé, l'administration médicamenteuse peut agir sur d'autres facteurs que l'anxiété, comme une diminution de sensibilité au choc électrique, une inhibition motrice, une réduction des comportements appétitifs, par exemple.

Parmi tous les modèles de l'anxiété, nous avons adapté celui du sursaut acoustique potentialisé. Davis (1992a) a utilisé à maintes reprises ce modèle. Celui-ci comprend un entraînement durant lequel l'animal apprend à associer un stimulus conditionné (un flash lumineux, par exemple) à un choc électrique. Ensuite, le stimulus conditionné est pendant le test, couplé à un stimulus acoustique et la réponse de sursaut produite est dite potentialisée. Afin de nous rapprocher de l'anxiété naturelle, nous avons décidé de supprimer l'apprentissage conditionné. La production de l'anxiété dans notre modèle, découlera uniquement de la répétition régulière d'un stimulus acoustique stressant. En effet, il ne faut pas oublier que l'anxiété se définit chez l'homme comme l'attente d'un échec à venir. Outre la procédure simple qui permet sa réalisation, un tel réflexe de sursaut existe chez l'homme, ce qui permet de renforcer l'analogie entre l'homme et l'animal.

Un modèle animal de l'anxiété doit répondre à deux critères importants: il doit détecter les effets anxiolytiques des médicaments connus comme tels et donc être prédictif de l'effet clinique qu'auront ces substances chez l'homme. En raisonnant de façon inverse, la procédure doit également être sensible aux sondes pharmacologiques anxiogènes. Ensuite le modèle doit être sélectif et ne pas réagir aux autres classes pharmacologiques.

Nous nous sommes d'abord intéressés au premier critère. Actuellement, les substances anxiolytiques les plus connues étant les benzodiazépines, nous avons donc étudié ces substances dans le modèle. Les benzodiazépines ont la particularité d'agir sur un récepteur endogène auquel peuvent se fixer des β -carbolines qui produisent des effets anxiogènes. Suite aux divers effets secondaires des composés benzodiazépiniques, les firmes pharmaceutiques ont recherché des substances possédant un index thérapeutique plus élevé au niveau de l'anxiété. Ainsi est née la famille des Azaspirones (5-HT_{1A} agonistes) dont nous avons voulu tester les effets dans ce modèle afin de savoir s'il est capable de réaliser la distinction entre les deux classes d'anxiolytiques.

Le temps imparti à ce travail ne nous autorisant pas à explorer l'ensemble des classes pharmacologiques, nous aborderons le test du deuxième critère en mesurant les effets d'un tranquillisant majeur (Halopéridol). Sur base des résultats obtenus, nous proposerons une discussion à la lumière des effets mesurés dans d'autres modèles et nous resituerons ensuite, le problème dans son contexte clinique.

PREMIERE PARTIE
APPROCHES THEORIQUES.

Chapitre I:

**Modèles animaux pour l'étude de
l'anxiété.**

Prévalence de la consommation de sédatifs (à au moins une reprise au cours de l'année précédente) dans la population adulte (%) (d'après Balter et al., 1984)

| | |
|------------|------|
| BELGIQUE | 17.6 |
| FRANCE | 15.9 |
| SUISSE | 14.6 |
| ESPAGNE | 14.2 |
| ETATS-UNIS | 12.9 |
| ALLEMAGNE | 12.0 |
| DANEMARK | 11.9 |
| ITALIE | 11.5 |
| ANGLETERRE | 11.2 |
| SUEDE | 8.6 |
| PAYS-BAS | 7.4 |

Table 1.

1. LE SIECLE DE L'ANXIETE.

A l'ère de l'informatisation, notre société basée sur les notions de rendement, de compétition et d'efficacité, bouleverse les traditions et compromet les équilibres. L'homme supporte mal cette situation. Ses capacités de compensation naturelles s'épuisant, il tend à développer des pathologies psychologiques et psychiatriques nécessitant fréquemment des traitements pharmacologiques à base d'excitants ou de dépresseurs.

En fait, l'anxiété est une émotion normale au même titre que la joie, la tristesse, la colère, ... Elle joue un rôle adaptatif essentiel en obligeant l'individu à modifier son comportement ou son environnement. L'anxiété ne devient pathologique que lorsque par son intensité ou sa fréquence, elle devient inhibitrice, empêchant alors l'adaptation (Ansseau, 1986).

Dans la première moitié du XX^{ème} siècle, les patients anxieux étaient soignés par les barbituriques. Par la suite, les benzodiazépines furent utilisées. L'importance clinique de ces agents anxiolytiques est telle aujourd'hui, que certains n'hésitent pas à parler de "l'âge de l'anxiété". En effet, le taux de prescription de ces substances est estimé à plus de 100 millions par an (Feldman et Quenzer, 1984). Une étude réalisée par le National Institute of Mental Health (N.I.M.H.) sur 10000 personnes montre que 8.3 % de la population américaine a souffert de désordres anxieux durant les 6 derniers mois (Rickels et Schweizer, 1987).

Le citoyen belge possède le privilège peu envié de se situer en tête des consommateurs de substances à visée tranquillisante ou sédatrice. Ainsi, en 1984, 17.6 % des Belges déclaraient avoir utilisé une substance sédatrice au moins une fois, au cours de l'année (Ansseau, 1986) (Table 1). Une étude réalisée dans notre région a montré que 31 % des femmes interrogées consomment des tranquillisants. Plusieurs facteurs peuvent influencer cette consommation: l'âge, l'activité professionnelle et le temps de travail. Le sexe semble lui aussi jouer un rôle

% de consommateurs

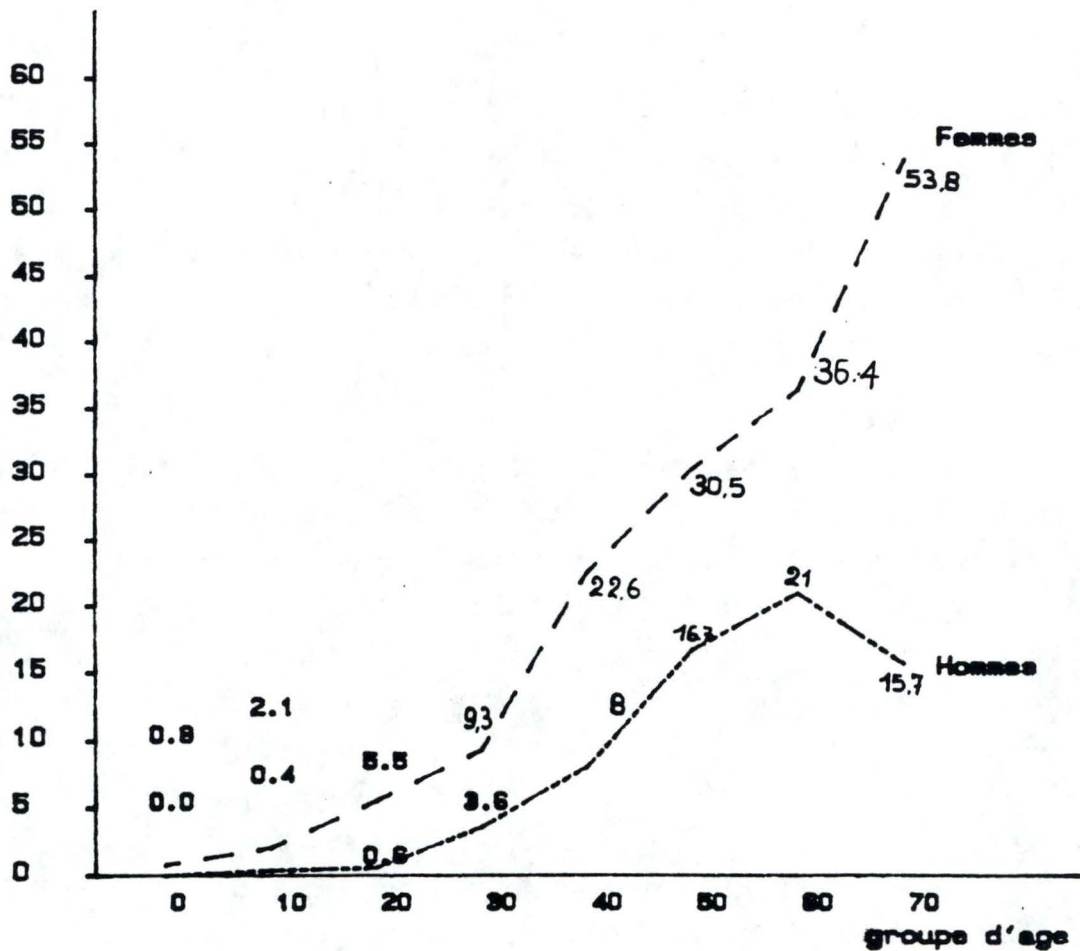


Figure 1: Pourcentage de consommateurs de tranquillisants par âge et par sexe (par rapport à la population totale de l'échantillon). (Pestiaux et al., 1985).

important, puisque les hommes consomment moins de substances anxiolytiques (Pestiaux et al., 1985). (Figure 1).

Face à cette situation alarmante, il importe de mettre sur le marché, des substances possédant le moins d'effets secondaires possibles. En fait, les benzodiazépines sont responsables de somnolence matinale, d'ataxie ou de troubles de la mémoire. Mais le problème majeur rencontré lors de l'administration chronique prolongée, est la dépendance psychique et physique. Au fil du temps, le patient acquiert la conviction que les tranquillisants sont nécessaires à son bien-être et accepte difficilement l'arrêt du traitement. Lors de cet arrêt, un syndrome de sevrage apparaît (réapparition de l'anxiété, convulsions, tremblements, etc) (Ansseau, 1986).

De nombreuses firmes pharmaceutiques ont relevé le défi de trouver des substances anxiolytiques présentant moins de toxicité comportementale. Suite aux recherches menées de par le monde, de nouveaux anxiolytiques ont fait leur apparition. Les chercheurs se sont intéressés aux substances se liant aux récepteurs 5-HT, ils ont alors découvert que les agonistes 5-HT_{1A} (buspirone, gepirone, ipsapirone) et les antagonistes 5-HT₂ (ritansérine) avaient des propriétés anxiolytiques (Fuller, 1988; Gelders et Meert, 1989).

Face à l'abondance des molécules synthétisées, il est tout aussi important de développer des modèles animaux capables de déceler les propriétés anxiolytiques mais aussi, les effets secondaires de ces nouvelles substances. Vu les prescriptions importantes de substances anxiolytiques, nous ne pouvons nier l'ampleur de ce que certains appellent "l'âge de l'anxiété". Depuis 1960, la consommation de benzodiazépines n'a cessé d'augmenter de manière fulgurante. Or, les problèmes majeurs rencontrés lors de l'administration chronique de ces substances, sont la somnolence, l'ataxie et la dépendance physique et psychique. Plusieurs firmes pharmaceutiques tentent de mettre sur le marché, des médicaments présentant moins d'effets secondaires.

2. MODELES ANIMAUX DE L'ANXIETE.

La recherche continue de nouveaux composés médicamenteux plus efficaces et présentant moins d'effets secondaires, a conduit à la prolifération d'agents potentiellement anxiolytiques. Après leur synthèse chimique, ces substances doivent être testées dans des modèles animaux. Ceux-ci sont utilisés comme des analogues biocomportementaux permettant d'étudier les mécanismes par lesquels le médicament produit un effet anxiolytique (Treit, 1985).

Le modèle animal répond à trois critères de base:

- il est sensible de façon dose dépendante aux composés standards, connus comme possédant la propriété thérapeutique étudiée.
- la puissance relative des agents anxiolytiques connus, dans le modèle animal, doit être comparable à leur puissance relative dans le cadre clinique.
- le modèle animal doit être sélectif (c-à-d spécifique des composés anxiolytiques) et ne répondre qu'à une seule classe thérapeutique (Glick, 1976).

L'effet des anxiolytiques est généralement étudié dans 3 catégories de modèles:

- les modèles basées sur les réactions simples.
- les modèles utilisant l'apprentissage par conditionnement classique ou opérant.
- les modèles basés sur les potentialités phylogénétiques d'apprentissage aversif. (Treit, 1985).

2.1. Les modèles basés sur les réactions simples.

Effet sur le comportement d'exploration.

Bon nombre d'études ont montré que les anxiolytiques augmentent le comportement ambulateur des rongeurs dans un environnement non familier (Blumstein et Crawley, 1983; Salt et Taberner, 1984; Haefely, 1989). L'effet d'anxiolytiques classiques comme les benzodiazépines, sur ce comportement est biphasique: un effet facilitateur se manifeste à faibles doses et un effet inhibiteur à fortes doses (Cooper, 1985; Bruhwylter

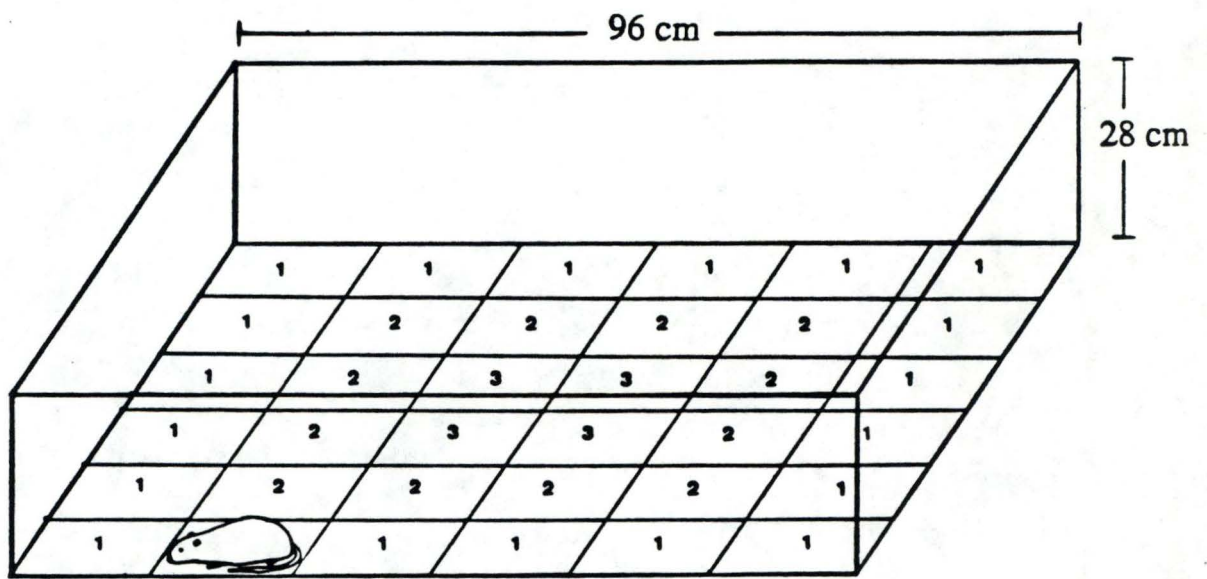


Figure 2: Représentation schématique de l'open-field.

et al.,1990). Alors que les effets anxiolytiques et désinhibiteurs se maintiennent, les animaux peuvent devenir tolérants aux effets inhibiteurs (Matsubara et Matsushita,1982; Sansone, 1979).

Parmi les méthodes permettant d'investiguer les effets des anxiolytiques sur le comportement d'exploration, le test open-field est largement reconnu. L'open-field consiste en une surface plane et carrée de 1 mètre de côté entourée de parois. La surface est divisée en cases (Figure 2). L'antagonisme entre la tendance instinctive à explorer ou à fuir ce nouvel environnement est évalué sur base du score ambulateur périphérique et du score ambulateur central (Archer,1973; Walsh et Cummins,1976; Crawley,1981; Bruhwyler et al.,1990,1991b). Les effets des benzodiazépines sont biphasiques avec une augmentation des scores ambulateurs pour une faible dose et une diminution de ces scores pour les fortes doses avec relaxation musculaire, ataxie et sédation (Davies et Steinberg,1984; Treit,1985; Bruhwyler et al.,1990).

Un autre test fréquemment employé est le test des quatre plaques. Dans ce test, le rat est placé sur une des plaques en métal à travers laquelle passe un courant électrique. Quand les rats reçoivent un choc, leur comportement d'exploration diminue. Cette réduction peut être antagonisée par les anxiolytiques (Boissier et al.,1968; Haefely,1989).

Un autre test se base sur la tendance naturelle des rongeurs à fuir les aires illuminées (Crawley et Davis,1982). La souris est placée dans la partie illuminée d'une chambre à deux compartiments. L'exploration est mesurée par le nombre de transitions effectuées entre les deux compartiments. Les benzodiazépines et le méprobamate produisent une augmentation dose-dépendante des transitions et de la locomotion générale.

Un des paradigmes les plus utilisés actuellement est le labyrinthe en forme de + surélevé (elevated plus-maze). La situation expérimentale génère un conflit en activant simultanément 2 tendances naturelles: l'exploration d'un environnement nouveau et la peur des espaces ouverts. L'elevated plus-

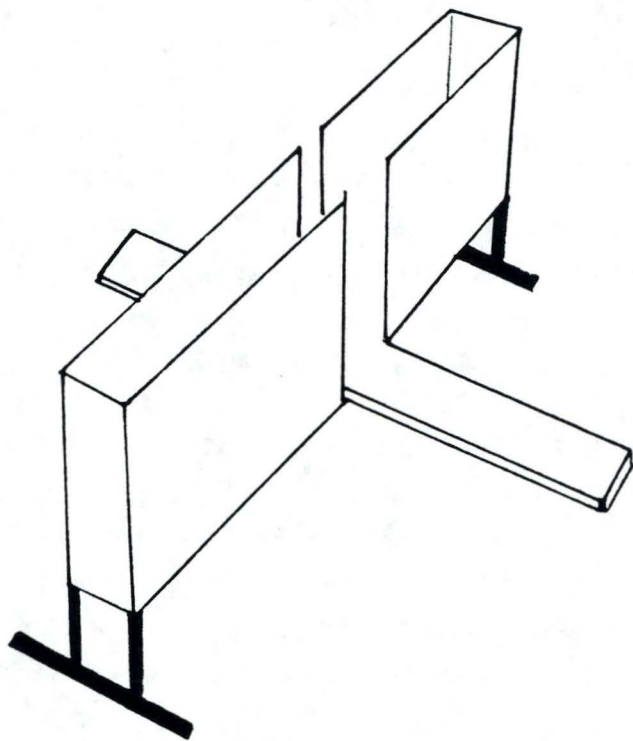


Figure 3: Représentation schématique de l'elevated plus-maze.

maze est formé de 2 bras ouverts et 2 bras fermés (Figure 3). Dans les conditions normales, les rats évitent les bras ouverts. Les substances anxiolytiques augmentent la fréquence de visites des bras ouverts et/ou le temps qu'ils y passent (Falter et al., 1992).

Effet sur le comportement social des rongeurs.

Deux rats placés dans une arène expérimentale, interagissent activement par grooming, sniffing, etc (File et Lister, 1984; File, 1987). Quand les rats sont non familiers avec l'environnement ou quand celui-ci est illuminé, le temps qu'ils passent en interaction sociale, diminue.

Malgré les analogies existant entre la phobie sociale de l'homme et le comportement des rats dans ce test, des complications surgissent. Certains anxiolytiques produisent une augmentation de l'interaction sociale par un effet stimulant non spécifique (File et Hyde, 1979). Néanmoins, ce test est apprécié pour sa reproductibilité et sa sensibilité vis-à-vis des substances anxiolytiques dans des gammes de doses correspondant assez bien aux doses cliniques (File, 1992).

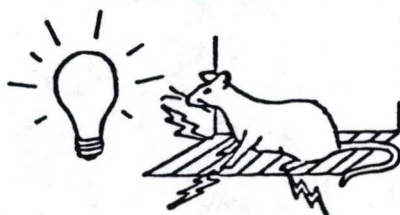
2.2. Les modèles basés sur les paradigmes d'apprentissage traditionnel.

Afin de réduire la variabilité entre les animaux et d'augmenter le contrôle exercé sur la variable étudiée, les chercheurs ont décidé d'utiliser des animaux ayant appris une réponse déterminée, par conditionnement. Le conditionnement de la réponse se fait par chocs électriques ou par renforcements alimentaires.

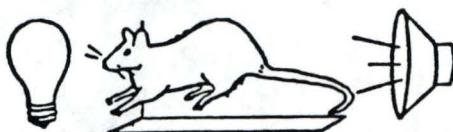
Effet sur la réponse émotionnelle conditionnée.

La réponse émotionnelle conditionnée est produite par la présentation d'un choc électrique inévitable qui est précédé d'un signal lumineux ou sonore, appelé le stimulus conditionné (CS). L'animal qui a appris à fournir une réponse déterminée (appui sur un levier) au CS, cesse de répondre après la présentation simultanée du CS et du choc électrique. La suppression de la réponse est appelée la réponse émotionnelle condi-

Entraînement: couplage flash lumineux et choc électrique.

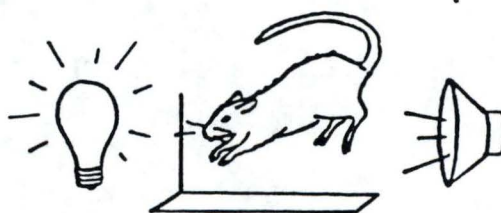


Test: essai son seul.



sursaut normal

Test: essai flash lumineux-son.



sursaut potentialisé

Figure 4: Le modèle du sursaut potentialisé par la peur. Durant l'Entraînement, un stimulus neutre (le stimulus conditionné: CS) un flash lumineux par exemple, est pairé à un choc électrique aux pattes. Durant le test, le sursaut est produit par un stimulus auditif en présence ou en absence du stimulus conditionné (Davis, 1992).

tionnée (Davis,1990). Les effets des anxiolytiques dans ce modèle sont variables: ils atténuent, facilitent ou n'ont pas d'effet selon le cas (Lane et al.,1982; Davis,1990).

Dans le paradigme de la réponse du sursaut potentialisé par la peur, les rats sont entraînés à associer un stimulus (ex: lumière) à un choc aux pattes. Lorsque l'apprentissage est terminé, le stimulus lumineux est présenté en même temps qu'un signal sonore de sursaut et la réponse produite est dite potentialisée (Figure 4). Les anxiolytiques bloquent sélectivement ce réflexe potentialisé (Davis,1979,1990,1992b).

Effet sur le comportement puni: le test de conflit de Geller-Seifter (1960).

Les animaux sont entraînés à presser sur le levier pour obtenir un renforcement alimentaire. Ces récompenses sont fournies après un intervalle de temps variable. Dans la seconde partie du test, les réponses sont renforcées par la nourriture mais sont simultanément punies par un choc électrique. Les animaux soumis à ce conflit apprennent à répondre dans la période non conflictuelle. Les agents anxiolytiques administrés à ces animaux, produisent une augmentation de la réponse dans la période de conflit (File,1987).

Ce test est sensible à la variabilité individuelle et nécessite une adaptation de l'intensité des chocs électriques pour maintenir la suppression. L'effet initial peut s'inverser par la suite. Dès lors, toute conclusion hâtive peut se révéler erronée (Haefely,1978). Le test n'est pas totalement sélectif (Lehmann et Ban,1971; Hill et Tedeshi,1971; Bignami, 1988), et de plus, il fait intervenir une motivation croisée: l'évitement d'un choc et la motivation alimentaire (Brocco et al.,1990).

L'augmentation des réponses après administration d'anxiolytiques peut être due à un effet inhibiteur de la peur ou à l'effet facilitateur sur le comportement alimentaire.

2.3. Modèles basés sur les potentialités phylogénétiques d'apprentissage aversif.

Certains animaux ne parviennent pas à apprendre l'association entre deux stimuli ou à réaliser une tâche, même simple. Par contre, un sujet apprend en une seule fois qu'il peut sauter hors de la cage pour échapper à un choc (Maatch, 1959). Les animaux peuvent donc être phylogénétiquement préparés à apprendre des associations entre certains stimuli et pas d'autres.

Effet sur l'ensevelissement défensif conditionné.

Treit et al. (1981) ont montré que des rats qui ont reçu un choc électrique à partir d'une aiguille fixée sur la paroi, reviennent vers cette aiguille pour l'ensevelir avec leur litière (Haefely, 1989). Des modifications spatiales ou d'illumination de l'aiguille, pendant l'intervalle choc-test, inhibent le comportement (Treit, 1985). Dès le premier essai, le rat ensevelit l'aiguille; ce qui montre qu'il a associé le stimulus aversif et l'aiguille (Arnaut et Settleworth, 1981). Les anxiolytiques produisent une diminution dose-dépendante de ce comportement (Dantzer, 1987; Piret et al., 1991).

Dans bon nombre de test comme l'open field, le CER, le test d'interaction sociale ou encore le test de conflit, l'anxiété est estimée par l'inhibition ou l'arrêt d'un comportement (Davis, 1990). Cette estimation peut parfois être erronée car l'arrêt du comportement peut être dû à une cause étrangère à l'anxiété. Ainsi, dans les tests d'exploration, par exemple, l'inhibition de la locomotion peut être due à un problème moteur (relaxation musculaire, ataxie, ...) induit par la substance. L'évaluation de l'interaction sociale entre deux rats est aussi très variable en fonction de facteurs étrangers à l'anxiété (le poids de l'animal, par exemple) (Treit, 1985). L'interprétation des résultats du CER pose aussi problème car la suppression de l'appui sur un levier ne permet pas de déduire l'état d'anxiété de l'animal (Davis, 1990). La suppression de la réponse suite à un stimulus conditionné peut simplement refléter la compétition de réponse causée par une im-

mobilisation (le freezing) conditionnée. Si le freezing est considéré comme une réponse non conditionnée aux chocs électriques, ce qui n'a rien à voir avec la peur, alors il ne serait pas nécessaire de parler de peur pour expliquer la suppression conditionnée (Davis,1990). Le test de conflit met en jeu deux motivations et il est difficile de savoir si la substance administrée agit sur la motivation alimentaire ou sur l'évitement du choc. De plus, ce test nécessite un apprentissage par la voie de conditionnement opérant (Treit,1985).

Connaissant tous ces problèmes, nous nous sommes tournés vers un modèle qui n'implique pas la suppression d'une action mais plutôt la production d'un acte moteur élémentaire et naturel: le modèle du sursaut (startle réaction) en réponse à un stimulus sonore. Il présente plusieurs avantages: l'animal ne doit pas fournir de réponse opérante et ne reçoit aucun choc durant le test; donc l'effet de la substance ne peut être expliqué par un changement de la sensibilité à la douleur (Davis,1990). De plus, ce test ne fait intervenir aucun conflit de motivations. Enfin, les effets anxiolytiques peuvent, la plupart du temps, être mis en évidence dans des gammes de doses inférieures à celles où apparaissent les effets secondaires notamment moteurs (Davis,1992a).

Le paragraphe suivant s'attachera exclusivement à décrire et caractériser ce modèle de la startle réaction.

La synthèse de nouveaux composés aux propriétés anxiolytiques nécessite l'existence de modèles animaux permettant de révéler ces propriétés mais aussi de déceler les effets secondaires éventuels. Il existe 3 catégories de modèles animaux de l'anxiété:

- les modèles basés sur les réactions simples dans lesquels les comportements comme l'exploration et l'interaction sociale, sont observés.

- les modèles basés sur les paradigmes d'apprentissage traditionnel où l'animal est conditionné par choc électrique ou par renforcement alimentaire.

- les modèles basés sur les potentialités phylogénétiques d'apprentissage aversif.

Plusieurs de ces modèles mesurent l'anxiété ressentie par l'animal, par la suppression d'une action. Cependant, la cause de l'arrêt du comportement peut être autre que l'anxiété. Afin d'éviter ce problème, nous nous sommes tournés vers le modèle du sursaut en réponse à un stimulus sonore. En effet, il ne nécessite ni choc électrique, ni réponse opérante, ni conflit motivationnel.

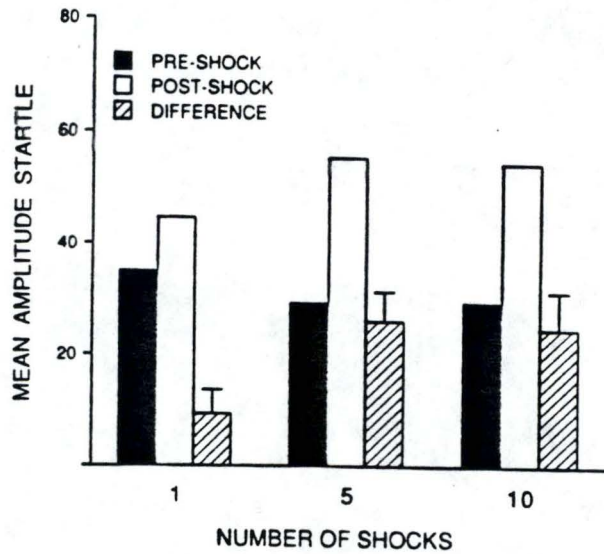


Figure 5: Amplitude moyenne de sursaut durant une période de 10 minutes avant le choc et durant 20 minutes après le choc, pour différents groupes de rats qui ont reçu soit 1, 5 ou 10 chocs électriques. (Davis, 1989).

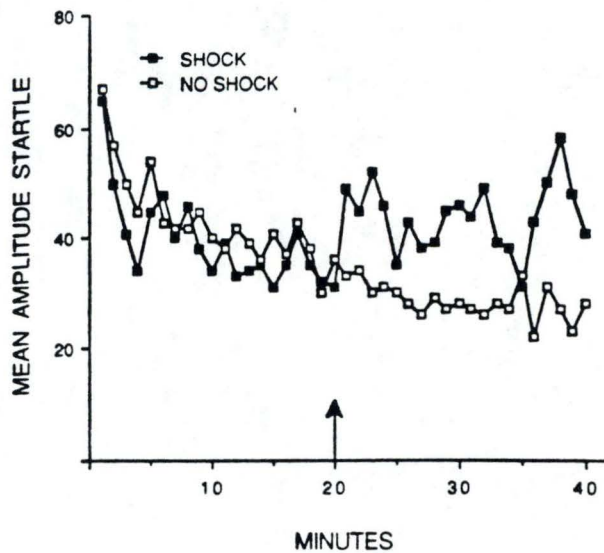


Figure 6: Amplitude moyenne de la réponse de sursaut sur des périodes de 1 minute avant et après la présentation (flèche) d'un simple choc de 0.6 mA ou sans choc. (Davis, 1989).

3. REPONSE DE SURSAUT ET PHENOMENE D'HABITUATION.

La réponse de sursaut suite à un stimulus acoustique soudain est un réflexe remarquable chez les mammifères (Chabot et Taylor, 1992). Il est dû à une contraction rapide des muscles squelettiques de tout le corps (Davis, 1984; Pilz et al., 1987).

3.1. Réponse de sursaut et sursaut potentialisé.

En 1951, Brown et al. constatent que l'amplitude du réflexe de sursaut acoustique chez le rat, peut être augmentée en présentant un stimulus acoustique simultanément à un stimulus (flash lumineux) qui a précédemment été pairé à un choc électrique. La réaction obtenue est appelée le sursaut potentialisé par la peur. Cette peur conditionnée est définie comme étant la différence d'amplitude en présence et en absence du stimulus conditionné (Davis, 1992a). La ligne de base du sursaut est donc non nulle, ce qui permet de mettre en évidence des effets excitateurs mais aussi des effets inhibiteurs (Geyer et Braff, 1987).

La potentialisation de la réponse de sursaut apparaît déjà, après la présentation d'un seul choc électrique. Mais la potentialisation et sa constance sont plus grandes après la présentation rapide de 5 à 10 chocs. (Figure 5). Davis (1989) montre qu'un choc de 0.6 mA produit un effet positif rapide (2-4 min.) sur le sursaut, que cet effet est maximum après 10 minutes et qu'il disparaît dans les 40 minutes qui suivent (Figure 6). L'intensité du choc a aussi son importance. En effet, les chocs de 0.2 mA ne produisent aucun changement sur le sursaut. Par contre, les chocs de 1.0 et 1.4 mA permettent la potentialisation du réflexe mais elle est retardée par rapport à celle produite avec une intensité de 0.6 mA. L'amplitude du sursaut apparaît lié de façon non monotone à l'intensité des chocs durant l'entraînement (Leaton et Borszcz, 1985).

Davis et al. (1989) ont étudié la spécificité temporelle du conditionnement de la peur. Ils ont fait varier l'intervalle entre le stimulus conditionné (CS) visuel et le stimulus non

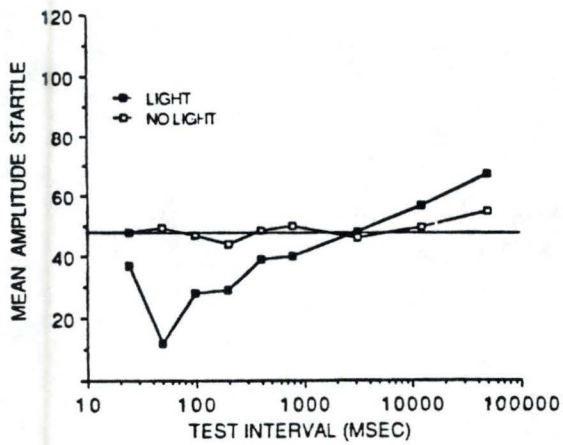


Figure 7: Effet non conditionné de la lumière sur le sursaut . La figure montre l'amplitude moyenne de la réponse de sursaut pour des intervalles flashes lumineux-sons différents (25, 50, 100, 200, 400, 800, 3200, 12800 et 51200 msec.) pour les animaux testés avec une source lumineuse connectée (light) ou déconnectée (no light). La ligne horizontale représente les valeurs moyennes des essais sons seuls. (Davis et al., 1989).

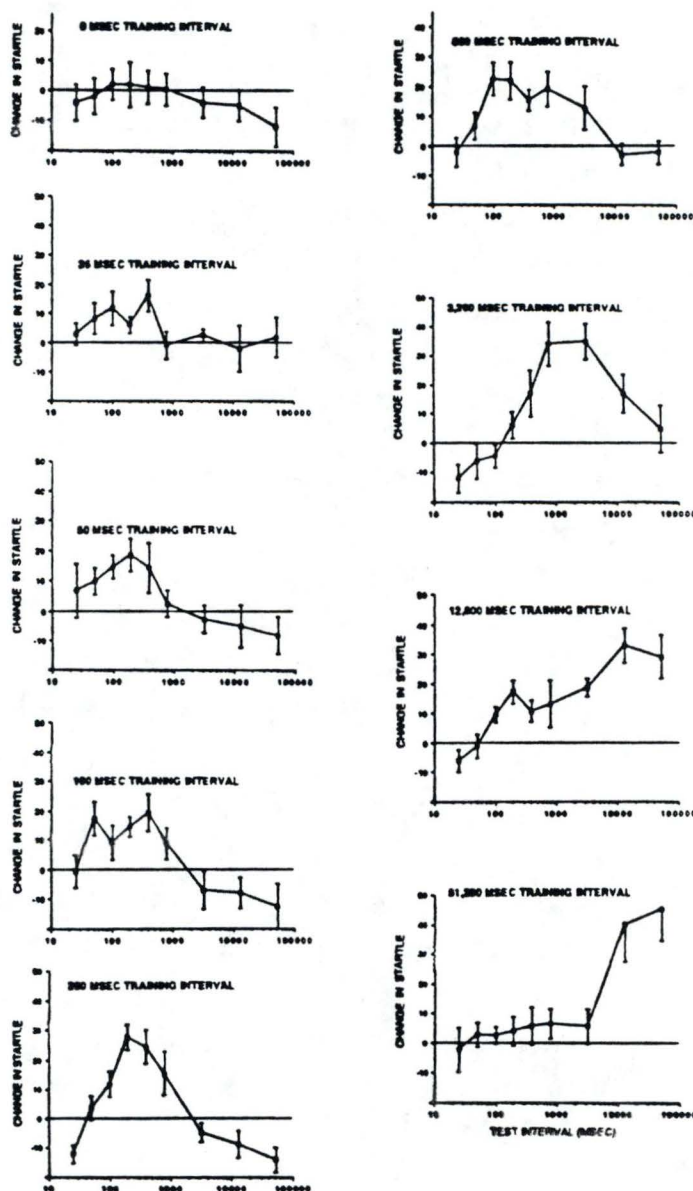


Figure 8: Variations de l'amplitude de sursaut pour chaque intervalle flash lumineux-son, après les 9 intervalles flash-son de l'entraînement. (Davis et al., 1989).

conditionné (US=choc) de 0 à 51200 millisecondes. Les animaux sont entraînés durant 3 jours consécutifs, à associer 10 flashs lumineux à un choc (0.6 mA) séparés de 0, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 3200, 12800 ou 51200 msec.. Lors du test, les 9 groupes de rats reçoivent tous 20 stimuli acoustiques seuls (105 dB) puis 90 stimuli acoustiques présentés selon le groupe, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 3200, 12800 ou 51200 msec. après la fin du flash. Pour estimer si les différences d'intervalle entre les sons successifs altèrent les amplitudes de sursaut non conditionné, 10 rats naïfs sont soumis au test alors que la source lumineuse est déconnectée.

L'analyse des résultats montre que le sursaut est significativement déprimé à 50, 100 et 200 msec. après le flash mais il est élevé à 51200 msec.(Figure 7). Donc, la présentation d'un stimulus visuel à des animaux non entraînés conduit à une inhibition pour les intervalles courts et à une facilitation pour les longs intervalles. La potentialisation du sursaut est obtenue pour une très large gamme d'intervalles d'entraînement de 25 à 51200 msec. Et l'amplitude augmente de plus en plus avec l'accroissement des intervalles d'entraînement (Figure 8). De plus, cette expérience a permis de montrer que le sursaut potentialisé est maximum quand l'intervalle CS-US du test est équivalent à celui de l'entraînement. Le niveau de conditionnement de la peur est apparemment lié à la longueur de l'intervalle CS-US utilisé lors de l'entraînement. En effet, le taux d'extinction du jour au suivant, est plus faible après l'entraînement, avec un intervalle de 51200 msec. De même, ce très long intervalle permet le conditionnement après une simple paire lumière-choc. Un des buts de cette étude est de déterminer le temps minimum pour que le CS soit potentialisant. En supposant que l'inhibition prépulse et le sursaut potentialisé se somment algébriquement et en utilisant des intervalles d'entraînement très courts entre CS et US, Davis a montré qu'il faut 50 msec. minimum de lumière pour que le sursaut soit potentialisé.

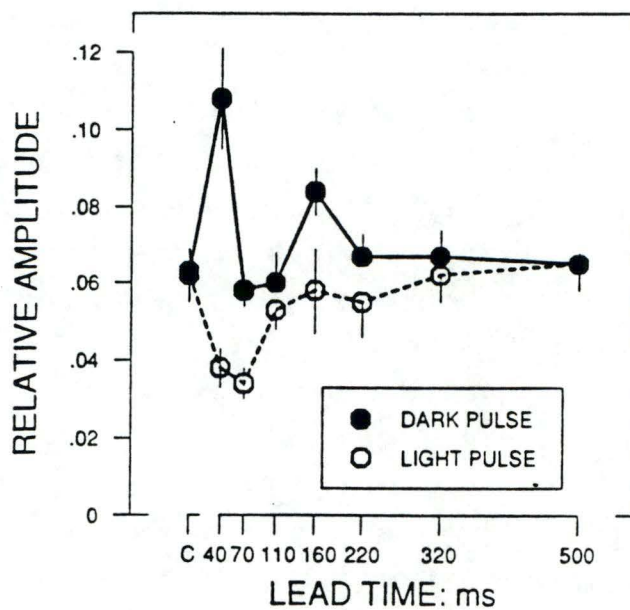


Figure 9: Les amplitudes relatives de la réponse de sursaut en présence de lumière ou d'obscurité continue (au point C) et aux différents intervalles après la présentation d'un flash de 20 msec. (light pulse) ou après l'extinction de la lumière durant 20 msec. (dark pulse). (Ison et al., 1991).

L'amplitude du réflexe de sursaut acoustique chez le rat, est déprimé par la présentation d'un stimulus inoffensif faible et bref (Hoffman et Ison, 1980). Ce stimulus peut être auditif, visuel ou tactile. Ison et al. (1991) ont étudié l'influence d'un flash lumineux, sur le réflexe. Le début du flash a un effet inhibiteur sur l'expression du réflexe alors que la fin de ce flash facilite momentanément le sursaut. Cette conséquence inattendue d'un retrait brutal de la donnée visuelle peut être due à une brève activation du système neural qui est impliqué dans l'expression émotionnelle et qui influence le comportement de sursaut acoustique (Davis, 1989). Afin de démontrer l'effet inhibiteur du flash lumineux, Ison et al. ont placé 2 jours consécutifs, des rats dans la chambre test qui est illuminée un jour et plongée dans l'obscurité le lendemain. Ils y reçoivent 4 stimuli de sursaut (sons de 115 dB, 16 kHz, 25 msec.) espacés de 30 sec. Le test consiste en la présentation de 80 stimuli: 10 stimuli présentés seuls, puis 10 stimuli de chacune des 7 conditions suivantes. Le stimulus de sursaut est précédé d'un stimulus visuel à 40, 70, 110, 160, 220, 320, ou 500 msec. Un jour, le stimulus visuel est un flash lumineux (light pulse) de 20 msec imposé en milieu obscur et le jour suivant, ce stimulus consiste en l'extinction de la lumière durant 20 msec (dark pulse). Comme le confirment de nombreuses études réalisées précédemment (Ison et Hammond, 1971; Schwartz et al., 1976), le flash lumineux inhibe le réflexe de sursaut aux temps de présentation relativement courts (Figure 9). Le dark pulse facilite considérablement la réponse, notamment à 40 msec. Cet effet présente un double pic, puisqu'à 110 msec, l'amplitude est à nouveau élevée. La complexité de cet effet suggère l'action de deux processus antagonistes impliqués de façon asynchrone par le dark pulse.

Une deuxième expérience permet de tester l'hypothèse que l'extinction de la lumière qui commence le dark pulse, produit une période facilitatrice prolongée alors que la fin du dark pulse induit une brève période inhibitrice. Pour un groupe de rats, le test commence après 50 sec d'obscurité puis un flash de 500 msec. Le stimulus de sursaut suit ensuite le flash lu-

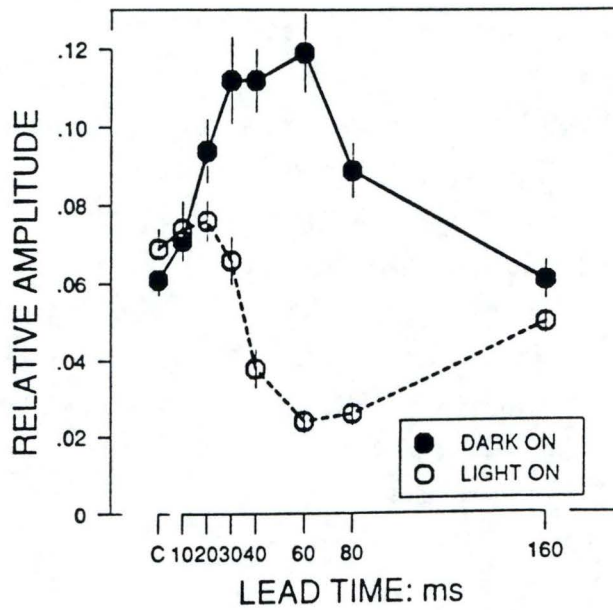


Figure 10: Les amplitudes relatives de la réponse de sursaut après 50 secondes de lumière ou d'obscurité continue (au point C) ou aux différents intervalles après le début de l'obscurité (dark on) ou de la lumière (light on). (Ison et al., 1991).

mineux de 10, 20, 30, 40, 80 ou 160 msec. Pour le second groupe, le stimulus de sursaut acoustique n'est présenté qu'après 50.1 sec d'illumination, et il suit l'arrêt de la lumière de 10, 20, 30, 40, 80 ou 160 msec. Il y a 10 essais dans chaque condition. La figure ci-jointe (Figure 10) montre que le réflexe de sursaut est inhibé quand il est rapidement suivi par le flash lumineux alors qu'il est facilité dans le cas contraire. Ces résultats comparés à ceux de l'expérience précédente, montrent que l'effet inhibiteur de l'éclairage est plus grand que celui du flash lumineux. Cette différence peut être attribuée à la durée plus longue de l'illumination par rapport au flash, mais aussi au fait que le flash est composé de l'éclairage suivi de l'extinction, or l'obscurité a un effet facilitateur sur le réflexe (Ison et al., 1991).

En résumé, les différentes expériences décrites ici montrent que la potentialisation du sursaut peut se faire sous formes diverses.

La première forme de facilitation consiste en une accentuation de l'amplitude du réflexe après le début d'un stimulus homogène et prolongé que ce soit dans les domaines auditifs ou visuels (Ison et Hammond, 1971). La potentialisation apparaît 100 msec après le début du stimulus et peut nécessiter 1000 msec pour se développer complètement.

La deuxième forme est considérée non comme une augmentation d'amplitude mais comme une réduction de latence qui a lieu au maximum dans les 10 msec après changement du stimuli.

La troisième forme dépend de la présence de conditionnement de la peur avant l'étude du sursaut acoustique. Dans cette étape initiale, le stimulus préliminaire qui sert de stimulus conditionné (CS) est couplé à un choc électrique qui est non conditionné (US).

Les deux premières formes de facilitation présentent plusieurs avantages sur les techniques de conditionnement. Elles ne nécessitent pas l'envoi de chocs aversifs et les résultats ne sont pas compliqués par la sensibilité à la douleur, la précision de l'envoi du choc, la sensibilisation suite à l'administration du choc (Davis, 1989) et la déshabituat

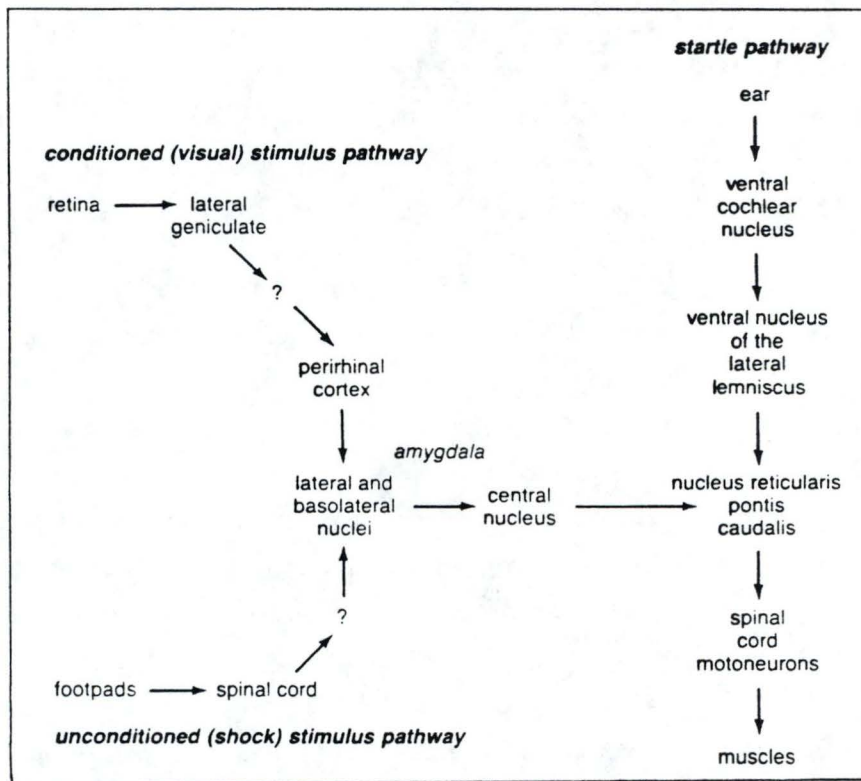


Figure 11: Les pathways neuronaux supposés impliqués dans le sursaut potentialisé par la peur utilisant un stimulus visuel conditionné. (Davis, 1992).

(Grillon et al.,1991).

Le réflexe de sursaut est une réponse apparaissant dans de nombreuses espèces, suite à un stimulus extéroceptif. Ainsi chez l'homme, le sursaut partage bon nombre de caractéristiques avec celui des animaux (Ornitz et al.,1986) et montre différents types de plasticité comme l'habituation, la sensibilisation et l'inhibition prépulse (Davis,1984). Les études réalisées sur l'homme se font à partir des données collectées sur le clignement de l'oeil. Par des procédures semblables à celles utilisées en recherche animale, le sursaut peut être potentialisé. Cependant, chez l'homme, la potentialisation ne résulte pas en une augmentation d'amplitude mais bien en une inhibition de l'habituation (Ross,1961; Grillon et al.,1991).

Plus récemment, une approche permettant la modulation du sursaut durant la peur ou les autres états émotionnels a été développée (Vrana et al.,1988). La vision de diapositives plaisantes (sourires d'enfants) réduit le sursaut alors que la vision de diapositives peu plaisantes (corps mutilés) augmente le sursaut. Vrana et al.(1988) suggèrent que cette technique fournit une nouvelle mesure des états émotionnels dont l'anxiété.

3.2.Mécanismes neuronaux du sursaut.

La latence des contractions musculaires produites par le stimulus acoustique chez le rat, est très courte puisqu'elle varie entre 6 et 8 msec. Ceci suggère que seules quelques synapses sont nécessaires à la production de la réponse de sursaut acoustique (Davis,1992a). En fait, le pathway neuronal qui intervient dans ce réflexe, a été décrit (Davis et al., 1982; Cassella et Davis,1986). Le stimulus visuel conditionné et le stimulus électrique non conditionné convergent tous deux, vers le noyau latéral et basolatéral de l'amygdala. Les informations sont ensuite projetées sur le noyau central de l'amygdala qui les envoie vers le noyau réticulaire pontis caudalis (RPC) de la voie de sursaut acoustique (Davis,

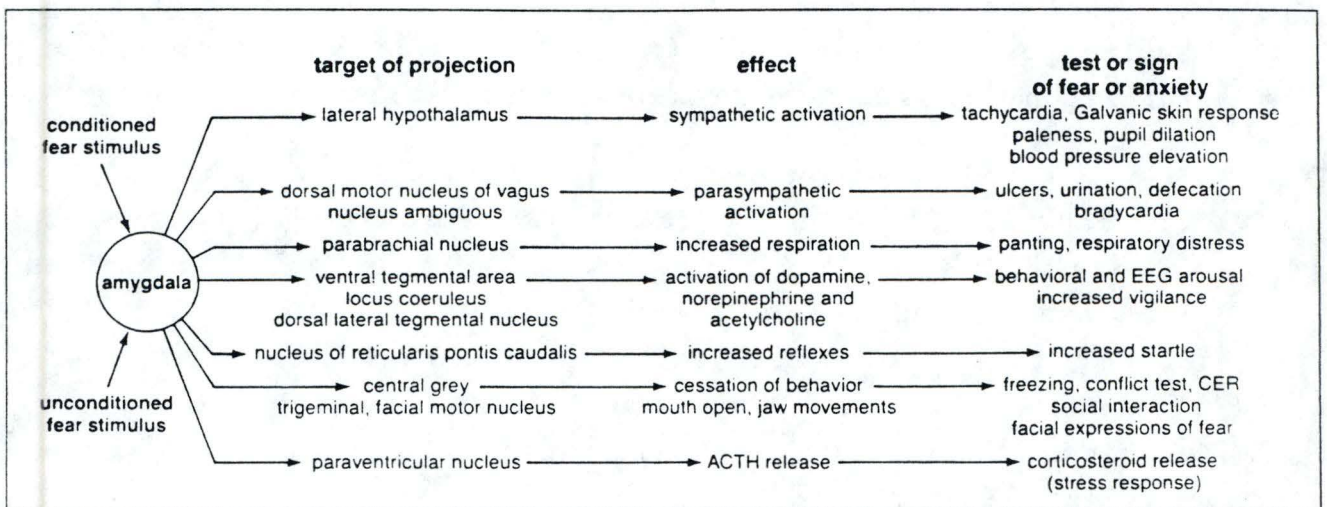


Figure 12: Diagramme présentant les différentes connexions existant entre le noyau central de l'amygdala et diverses aires hypothalamiques et cérébrales qui peuvent être impliquées dans les différents tests animaux de l'anxiété. (Davis, 1992).

1992a) (Figure 11). Cette simple voie neuronale est formée du noyau cochléaire ventral, du noyau du lemniscus latéral (VLL), du noyau RPC et des motoneurones de la moëlle épinière (Hitchcock et Davis, 1991).

De nombreuses études montrent que le noyau central de l'amygdala et ses projections afférentes vers le cerveau, jouent un rôle capital. Les projections directes du noyau central de l'amygdala sur l'hypothalamus latéral modulent l'activation du système nerveux central (LeDoux et al, 1988). D'autres projections modulent les augmentations de la transmission synaptique dans les neurones sensoriels thalamiques durant les états de peur, ce qui produirait une vigilance élevée et une détection supérieure du signal; d'autres encore, sont responsables des expressions faciales de la peur (Davis, 1992a). (Figure 12).

3.3 Phénomène d'habituation.

La réponse de sursaut peut être soumise au phénomène d'habituation. L'habituation consiste en la diminution d'une réponse suite à l'application répétée d'un stimulus. Cette forme de plasticité comportementale est limitée aux organismes évolués et aux réponses complexes. L'habituation peut avoir une composante à long terme robuste et être associée à des changements comportementaux permanents. Le sursaut acoustique est un des modèles les plus utilisés dans l'étude de l'habituation. La composante de l'habituation à long terme (LTH) dure assez longtemps pour suggérer une décroissance permanente de la réponse (Jordan et Leaton, 1982, 1983) alors que la composante à court terme ne dure que quelques minutes ou quelques heures. Ces deux types d'habituation peuvent être distingués sur base des effets du taux de présentation du stimulus. De courts intervalles interstimuli favorisent le développement de l'habituation à court terme, et les longs intervalles, l'habituation à long terme (Groves et al., 1976).

L'habituation à long terme semble être un processus inhibiteur extrinsèque au pathway de la réponse de sursaut plutôt qu'un processus de dépression synaptique dans ce même pathway alors que l'habituation à court terme implique des éléments labiles intrinsèques au pathway de la réponse de sursaut (Jordan et Leaton, 1983). La formation réticulaire mésencéphalique est le locus et une des étapes du mécanisme inhibiteur extrinsèque impliqué dans l'habituation à long terme. Le noyau réticulaire pontis caudalis intervient dans l'apparition de l'habituation à court terme. Leaton et Supple (1991) montrent qu'une partie du cervelet est essentielle pour l'habituation à long terme de la réponse de sursaut acoustique alors que la formation réticulaire mésencéphalique est nécessaire à la rétention de l'habituation à long terme (Jordan, 1989).

Le modèle du sursaut potentialisé est un modèle qui comprend tout d'abord un entraînement suivi d'un test proprement dit. Dès lors, les rats au début du test, ont perdu leur naïveté et l'anxiété qu'ils manifestent, possède une composante conditionnée.

Dans un but de simplification mais surtout dans un souci de respecter les données cliniques de l'anxiété telle qu'elle apparaît naturellement, nous avons choisi d'étudier le sursaut non potentialisé. En effet, l'anxiété peut être définie comme l'attente d'un échec (M. Mercier). Dans nos expériences, un stimulus acoustique seul provoque le sursaut de l'animal. C'est la répétition régulière dans le temps, du stimulus acoustique qui engendre l'émergence d'une anticipation cognitive, ce qui correspond bien à l'anxiété telle que définie précédemment. L'anxiété mesurée dans ce cas, est donc tout à fait naturelle car le rat est naïf lors de l'émission des premiers stimuli de sursaut.

Comme la procédure ne nécessite aucun entraînement, elle est rendue plus directe et plus rentable.

De plus, ce modèle permet d'étudier à la fois, les phénomènes d'habituation à court et à long terme. L'habituation à court terme apparaît dans une session test comme une réduction

du sursaut d'un stimulus à l'autre. L'habituation à long terme se manifeste lors de la reprise d'une session test quelques heures après la première exposition. Elle implique de façon plus directe, la mémoire de l'animal.

Le sursaut potentialisé a été largement proposé comme modèle animal destiné à tester l'effet d'anxiolytiques potentiels. En effet, la pharmacopée contemporaine s'est enrichie d'un grand nombre de substances (benzodiazépines, agonistes sérotoninergiques,...) destinées à lutter contre la pathologie de l'anxiété. Le chapitre suivant s'intéressera tout particulièrement à la classification et aux effets de ces substances.

Un stimulus acoustique soudain, produit chez les mammifères, une contraction rapide des muscles de tout le corps. Cette réaction est appelée le sursaut. L'amplitude de la réponse de sursaut peut être potentialisée de diverses manières: par le début d'un stimulus auditif ou visuel, homogène et prolongé ou par le couplage d'un stimulus conditionné à un choc électrique.

Chez l'homme, la réponse de sursaut est enregistrée par le clignement de l'oeil. Cette réponse peut notamment être modulée par la vision de diapositives plaisantes ou peu plaisantes.

Les mécanismes neuronaux responsables de cette réaction corporelle sont connus. Les stimuli produisant le sursaut, convergent vers le noyau latéral et basolatéral de l'amygdala. Les informations gagnent ensuite le noyau central de l'amygdala, puis le noyau réticulaire pontis caudalis (RPC). L'activation de ce noyau produit, après passage par les motoneurones de la moëlle épinière, la contraction des muscles.

La répétition du stimulus de sursaut produit l'habituation c-à-d une diminution de la réponse. Ce phénomène possède une composante à long terme et une composante à court terme. L'habituation à long terme implique une région extrinsèque au pathway de la réponse de sursaut, à savoir la formation réticulaire mésencéphalique alors que le RPC permet l'apparition de l'habituation à court terme.

Afin de nous rapprocher de l'anxiété naturelle, nous avons choisi d'étudier le sursaut non potentialisé. Un stimulus acoustique seul provoque le sursaut. La répétition de ce stimulus dans une même session permet l'étude de l'habituation à court terme. La reprise de cette même session quelques heures plus tard, fait apparaître l'habituation à long terme.

Chapitre II:

**Modulations pharmacologiques de la
réponse de sursaut.**

Benzodiazépines commercialisées en Belgique

| Année | Nom chimique | Nom commercial | Laboratoire producteur | Dosage des formes orales (mg) |
|-------|-------------------|----------------|------------------------|-------------------------------|
| 1960 | chlordiazépoxyde | Librium® | Roche | 5, 10, 25 |
| 1964 | diazépam | Valium® | Roche | 2, 5, 10 |
| 1966 | oxazépam | Seresta® | Wyeth | 15, 50 |
| 1984 | | Chrisopam® | Christiaens | 15 |
| 1966 | nitrazépam | Mogadon® | Roche | 5 |
| 1970 | médazépam | Nobrium® | Roche | 5, 10 |
| 1971 | clorazépate | Tranxène® | Labaz-Sanofi | 5, 10, 50 |
| 1975 | | Unitranxène® | Labaz-Sanofi | 15 |
| 1974 | | Beiseren® | Mead Johnson | 7.5, 15 |
| 1971 | lorazépam | Temesta® | Wyeth | 1, 2.5 |
| 1984 | | Serenase® | Pharbil | 1, 2.5 |
| 1974 | bromazépam | Lexotan® | Roche | 3, 6, 12 |
| 1975 | clonazépam | Rivotril® | Roche | 0.5, 2 |
| 1976 | flunitrazépam | Rohypnol® | Roche | 2, 4 |
| 1976 | témazépam | Levanxol® | Carlo Erba | 5, 10 |
| 1981 | | Euhypnos® | Carlo Erba | 10, 20 |
| 1976 | camazépam | Albego® | Simes | 10, 20 |
| 1978 | | Paxor® | Bristol | 10, 20 |
| 1977 | triazolam | Halcion® | Upjohn | 0.25, 0.5 |
| 1978 | clobazam | Frisium® | Hoechst | 10, 20 |
| 1980 | prazépam | Lysanxia® | Parke Davis | 10, 20 |
| 1980 | déméthylidiazépam | Stilny® | Will-Pharma | 10 |
| 1983 | | Calmday® | Will-Pharma | 5 |
| 1981 | kétazolam | Unakalm® | Upjohn | 15, 30, 45 |
| 1981 | | Solatran® | Beecham | 15, 30, 45 |
| 1981 | lormétazépam | Loramet® | Wyeth | 1, 2 |
| 1981 | | Noctamid® | Schering | 1, 2 |
| 1982 | alprazolam | Xanax® | Upjohn | 0.25, 0.50 |
| 1985 | clotiazépam | Clozan® | Pfizer | 5, 10 |
| 1985 | quazépam | Selepam® | Schering USA | 15 |
| 1985 | halazépam | Pacinone® | Delagrange | 20, 40 |
| 1985 | loprazolam | Dormonoc® | Roussel | 1, 2 |

Table 2.

1. BENZODIAZEPINES ET RECEPTEURS GABA/CL/BZD.

1.1. Les benzodiazépines.

1.1.1. CLASSIFICATION DES BENZODIAZEPINES PARMI LES PSYCHOTROPES.

Les psychotropes regroupent tous les médicaments qui agissent sur l'activité cérébrale. Selon la classification de Delay et Deniker, mise au point dans les années 50, ces médicaments suite à leur mode d'action clinique peuvent être répartis en 3 groupes:

- les psychoanaleptiques: stimulants de l'activité cérébrale.
- les psychodysléptiques: déviateurs de l'activité cérébrale (hallucinogènes).
- les psycholéptiques: dépresseurs de l'activité cérébrale.

Au sein des psycholéptiques, selon leur action plus spécifique, on distinguera:

- * les hypnotiques: dépresseurs de la vigilance et de l'activité noétique.
- * les neuroléptiques: sédatifs psychiques (tranquillisants majeurs).
- * les ataractiques: tranquillisants mineurs.

Les ataractiques peuvent être relâchants musculaires ou non relâchants musculaires. Les relâchants musculaires regroupent deux familles chimiques: les dérivés du propanédiol (dont le méprobamate) et les benzodiazépines (Giurgea, 1985; Goodman et Gilman, 1985). Il existe actuellement sur le marché plus de 30 benzodiazépines dont la plus connue est certainement le Valium (Diazépam). (Table 2).

1.1.2. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES.

1. Tous les tranquillisants de la classe des benzodiazépines sont relâchants musculaires. Cette relaxation est due à une

diminution de l'excitabilité des interneurons et n'affecte donc que les réflexes polysynaptiques (Dodd,1988).

2. Ils sont anticonvulsivants (ou anti-épileptiques) grâce à la relaxation musculaire qu'ils produisent (Boulenger et al., 1989).

3. Ce sont des composés principalement anxiolytiques (Martin, 1987).

4. Ils ont un effet anti-agressivité (Giurgea,1985).

5. Ils agissent positivement sur la composante neurovégétative du stress (Giurgea,1985)

6. Ils ont un effet sédatif (Ansseau,1986).

1.1.3. INDICATIONS THERAPEUTIQUES.

Les benzodiazépines et le méprobamate sont administrés en cas de:

- situations d'angoisse et de tension émotionnelle.
 - troubles psychosomatiques (palpitations, boule oesophagienne,...)
 - psychonévroses à composante anxieuse et névroses anxieuses.
 - insomnies.
 - épilepsies de toute origine.
 - maladies à spasmes musculaires.
 - sevrage des toxicomanes.
- (Giurgea,1985).

L'administration de ces médicaments peut cependant présenter certains dangers. En effet:

- ces substances sont fortement potentialisées par l'alcool qui est lui-même tranquilisant et sédatif.
- des troubles de l'activité noétique (diminution de la rétention et de l'évocation mnésique) peuvent apparaître suite à l'absorption chronique.
- l'emploi répété peut conduire à l'accoutumance et à la dépendance.
- si la relaxation musculaire produite est trop importante, il y aura des risques d'ataxie, de vertiges et de chutes (Ansseau, 1986).

Les benzodiazépines sont classées parmi les ataractiques (tranquillisants mineurs). Elles sont principalement anxiolytiques. Cependant, ce n'est pas leur seule propriété, elles sont aussi relâchantes musculaires, anticonvulsivantes, ... Elles sont administrées dans les cas de désordres anxieux mais aussi en cas d'épilepsie, d'insomnie ou de sevrage des toxicomanes. Néanmoins, elles ne sont pas sans danger puisqu'elles sont potentialisées par l'alcool, elles produisent des troubles mnésiques et conduisent même à la dépendance physique et psychique.

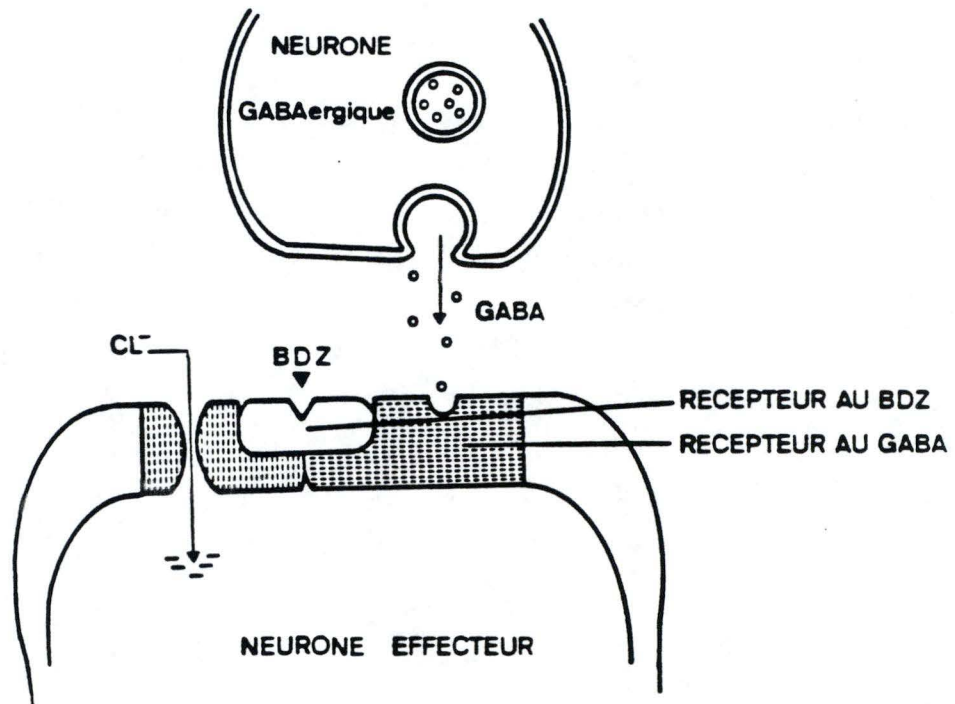


Figure 13: Schéma du mécanisme d'action des benzodiazépines: la fixation du GABA à ses récepteurs provoque l'ouverture d'un ionophore chlore qui dépolarise la cellule: les benzodiazépines en se fixant à leurs récepteurs potentialisent cette action inhibitrice du GABA. (Anseau, 1986).

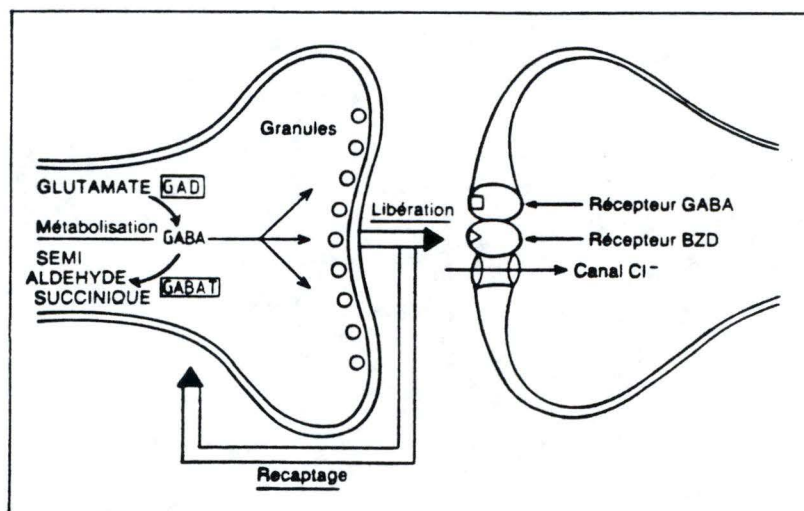


Figure 14: Schématisation de la transmission GABAergique et du complexe récepteur aux benzodiazépines - récepteur au GABA - ionophore au Cl^- . (Jacqmin et Lesne, 1986).

1.2. Le récepteur GABA/Cl⁻/BZD.

Bien que la commercialisation de la première benzodiazépine ait débuté en 1960, le mécanisme d'action de ces substances ne fut élucidé que bien plus tard. Près de 15 ans après leur introduction en thérapeutique, deux équipes de recherche, celle de Haefely et celle de Costa purent proposer un mécanisme de base à leur action. Ils ont montré que les benzodiazépines facilitent l'action d'un neurotransmetteur: l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) (Haefely, 1990). En 1977, Squires et Braestrup d'une part, Möhler et Okada d'autre part, ont mis en évidence des sites de fixation spécifiques pour les benzodiazépines. Ils ont utilisé une fraction membranaire de cerveau de rat, incubée en présence d'une benzodiazépine marquée au tritium et ont analysé sa fixation spécifique. Le récepteur benzodiazépinique (BZD) était découvert (Jacqmin et Lesne, 1986).

1.2.1. DESCRIPTION DU RECEPTEUR GABA/Cl⁻/BZD.

Ce récepteur est un complexe macromoléculaire enchâssé dans la membrane du neurone, au niveau de la synapse. Il contient un site de liaison pour le GABA et un site de reconnaissance des benzodiazépines. Cet ensemble est couplé à un canal qui traverse la membrane et qui laisse passer sélectivement des ions Cl⁻ (Bormann, 1988; Ticku, 1983). (Figures 13 et 14). La fixation d'une benzodiazépine sur son récepteur provoque un changement de conformation du complexe, ce qui rend le récepteur GABA plus sensible à son médiateur (Dodd et Rossier, 1988).

L'analyse biochimique a révélé que le complexe est formé de plusieurs sous unités: 2 sous unités α , 2 sous unités β et une sous unité gamma ou delta (Shivers et al., 1989). Le site de reconnaissance du GABA est situé sur la sous unité β et le site de liaison des benzodiazépines est localisé sur α . La cinquième sous unité semble indispensable à la liaison spéci-

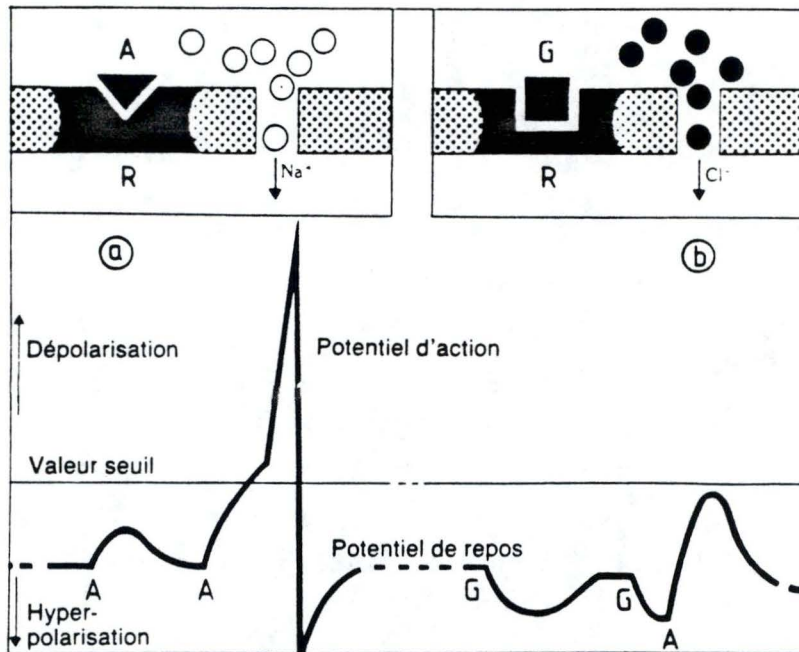


Figure 15: Schématisation du mécanisme d'action du GABA.
 a. Dépolarisation induite par une substance excitatrice et apparition d'un potentiel d'action.
 b. Hyperpolarisation induite par le GABA et inhibition du potentiel d'action.
 (Jacqmin et Lesne, 1986).

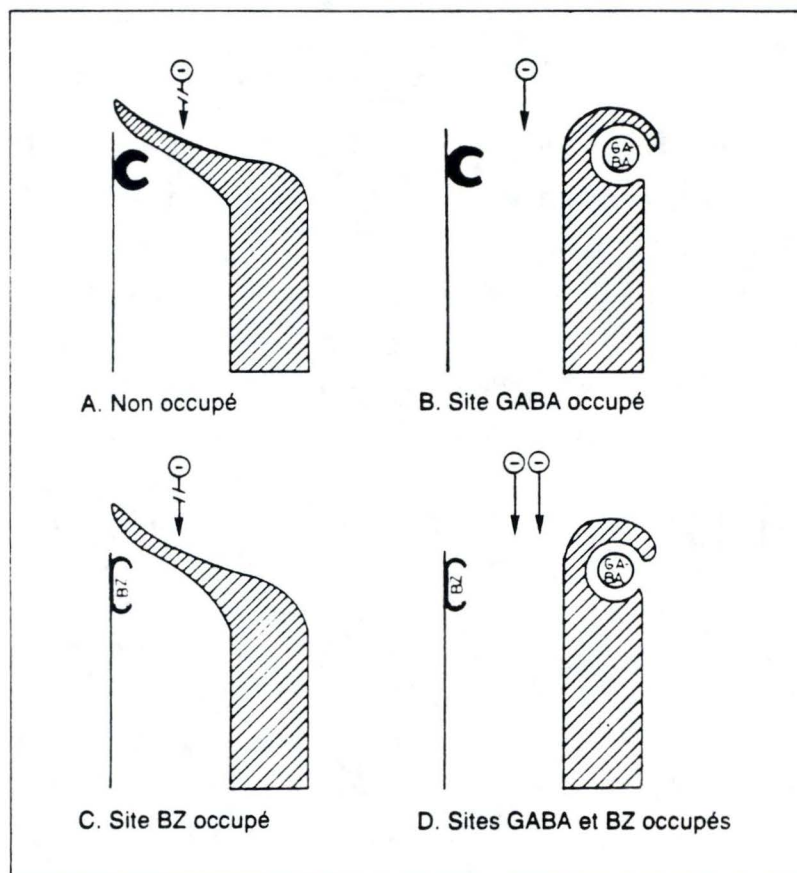


Figure 16: Schématisation du mécanisme d'action du GABA: le modèle de Gallager 1982. (Jacqmin et Lesne, 1986).

fique des benzodiazépines. De plus, il existe de nombreuses variantes pour chaque sous unité (6 sous unités α , 4 pour β , 3 pour gamma) (Lüddens et Wisden,1991).

1.2.2.MODE D'ACTION ET PROPRIETES.

Au repos, en l'absence de GABA, le canal chlore est fermé. La fixation du GABA au récepteur produit alors l'ouverture du canal, par changement de conformation. Les ions Cl^- entrent alors dans le neurone (Figure 15). L'hyperpolarisation produite rend la cellule moins excitable et moins sensible aux autres neuromédiateurs. Le rôle des benzodiazépines consiste à sensibiliser le neurone au GABA (Ansseau,1986; Jacqmin et Lesne, 1986) (Figure 16). De même, la présence du GABA augmente l'affinité du diazépam pour le récepteur benzodiazépinique (Dodd et Rossier,1988).

Vu la grande diversité des structures chimiques capables de se lier aux récepteurs benzodiazépiniques, il devrait y avoir un autre moyen de reconnaissance (Figure 17). C'est en fait, la distribution spatiale de certains groupements chimiques qui fournit l'empreinte de reconnaissance du ligand.

Suivant son action, le ligand sera classifié comme agoniste, antagoniste ou agoniste inverse (Martin,1987). Les agonistes regroupent les substances qui comme les benzodiazépines classiques exercent une potentialisation GABAergique. D'autres substances appelées antagonistes, se fixent sur le récepteur mais n'affectent pas la fonction GABA. Le flumazénil (RO 15-1788) par exemple, fait partie de cette classe de ligands. Les agonistes inverses telles que les β -carbolines, produisent des effets inverses aux benzodiazépines, elles sont anxiogènes, convulsivantes, épileptogènes, excitatrices et promnésiantes (Jacqmin et Lesne,1986;Dodd et Rossier,1988;Haefely,1988).

Donc les récepteurs BZD couplés au GABA et au Cl^- apparaissent comme une cible fonctionnelle des drogues anxiolytiques et anxiogènes, qui respectivement, potentialisent ou réduisent la neurotransmission GABA (Suranyi-Cadotte et

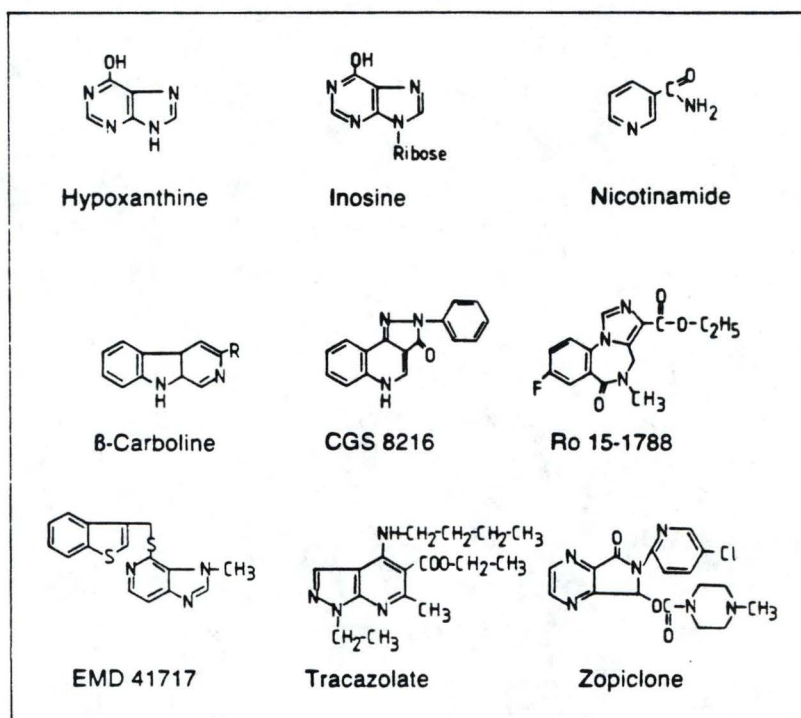


Figure 17: Structures chimiques de différentes substances interagissant avec les récepteurs aux benzodiazépines. (Jacqmin et Lesne, 1986).

al.,1990). Cependant, certains composés anxiolytiques n'interagissent pas directement avec le récepteur benzodiazépinique mais plutôt avec les autres composants du complexe (Suranyi-Cadotte et al.,1990). Ainsi les antidépresseurs typiques et atypiques (désipramine, amitriptyline, fluoxétine, miansérine) ne semblent pas agir directement sur le complexe, puisque leur action n'est pas inhibée par l'antagoniste spécifique, le flumazénil (Bodnoff et al.,1988). De plus, leur effet n'apparaît qu'après traitement à long terme. Ces propriétés suggèrent que ces substances agissent sur un autre système que le complexe GABA-benzodiazépine-Cl⁻ (Suranyi-Cadotte et al., 1990).

Le complexe récepteur GABA/Cl⁻/BZD possède encore d'autres sites de fixation, pour les barbituriques et la picrotoxine. Les barbituriques, autre famille de tranquillisants, se fixent sur le complexe et agissent par modulation de l'ionophore au Cl⁻, notamment en augmentant sa durée d'ouverture (Ticku et Olsen,1978;Study et Barker,1981). La picrotoxine qui a des propriétés convulsivantes, peut bloquer la conduction du Cl⁻ sans inhiber la fixation du GABA sur son récepteur (Leeb-lundberg et Olsen,1980).

Vu la présence de récepteurs naturels capables de lier des substances synthétiques, existe-t-il dans le cerveau, une substance endogène naturelle capable de s'y fixer ? Cette hypothèse semble se confirmer (Basile et al.,1991). Des chercheurs ont analysé des biopsies de cortex cérébral frontal d'individus morts d'une défaillance hépatique induite par le paracétamol. En fait, l'encéphalopathie hépatique est caractérisée par une activité excessive du système GABAergique. L'analyse des substances obtenues à partir des extraits cérébraux, a révélé la présence de deux benzodiazépines: le diazépam et le N-desméthyl-diazépam. Bien sûr, la possibilité d'une consommation directe de BZD est difficilement exclue; cependant, il semble qu'elles puissent provenir de l'alimentation ou de la flore bactérienne intestinale. Ces observations concordent avec le fait que dans certains cas, les signes de coma hépatique peuvent être atténués par des antagonistes des

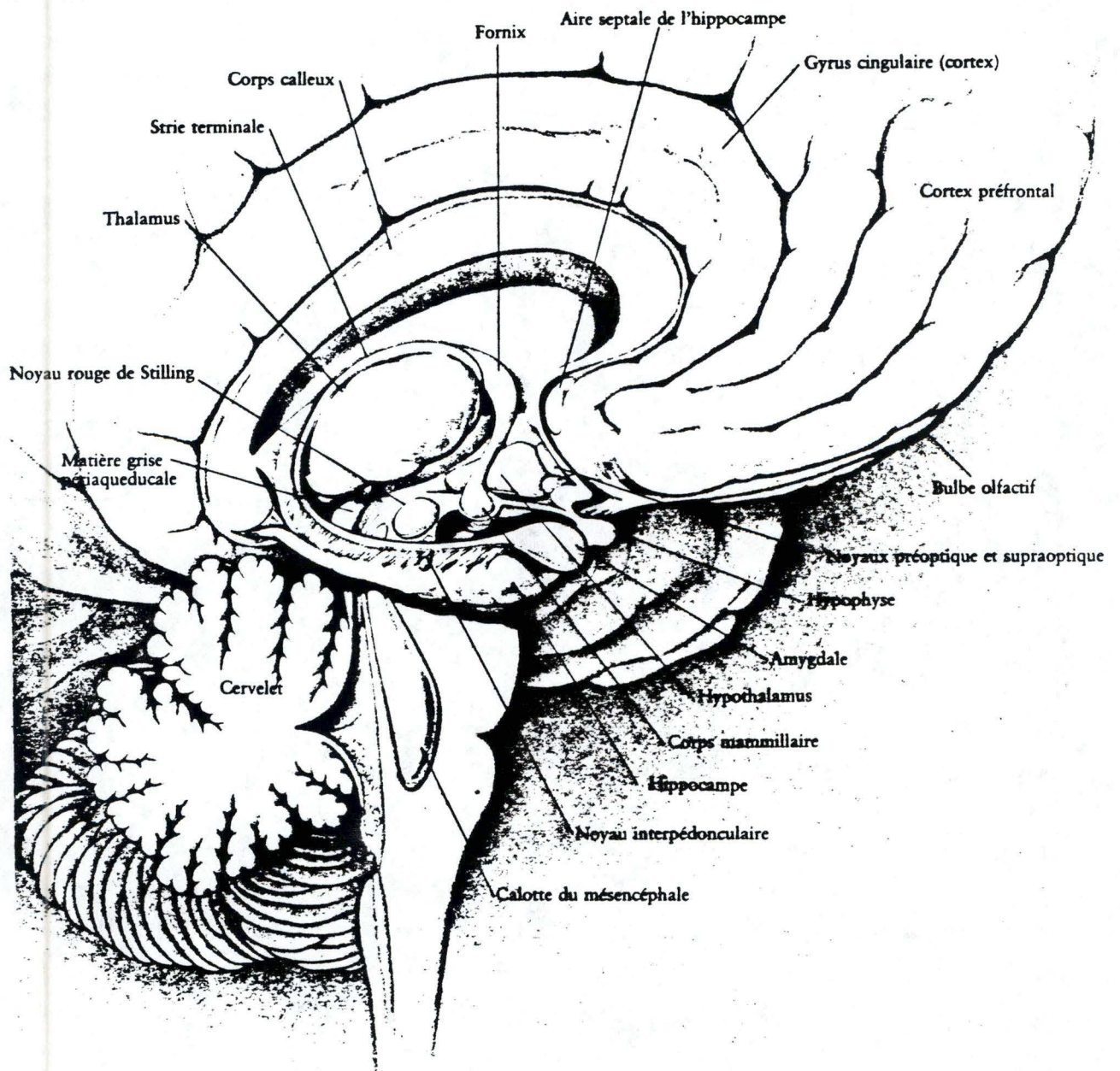


Figure 18: Répartition des récepteurs des benzodiazépines dans le cerveau humain. (Snyder, 1987).

benzodiazépines (Lund,1981; Basile et al.1991; Bruhwylér et Hassoun, 1992).

1.2.3.LOCALISATION CEREBRALE.

L'étude de la distribution des récepteurs a montré l'existence de récepteurs centraux et de récepteurs périphériques. Ces derniers se répartissent dans les tissus non nerveux comme les reins, le foie, les poumons et les thrombocytes. Leur présence dans le système nerveux central se limite aux cellules gliales (Biggio et Costa,1990). Leur rôle n'est pas encore connu (Dodd et Rossier,1988).

Les récepteurs centraux présents dans les neurones, s'associent avec le récepteur GABA et jouent un rôle dans l'activité anxiolytique. Parmi ces récepteurs, des affinités différentes laissent supposer la présence de deux sous types (Dodd et Rossier,1988). Leur distribution varie dans les différentes régions du cerveau (Figure 18). Le cervelet contient une forte concentration en récepteur I (90 %) alors que dans l'hippocampe, la concentration n'est que de 45 %. Ces deux sous types laissent ainsi, entrevoir la possibilité d'agir de façon sélective soit sur la sédation, l'hypnose ou la relaxation musculaire, etc. La synthèse de nouvelles benzodiazépines, spécifiques d'un seul type de récepteur, devrait permettre une action ciblée du médicament.

La nomenclature des récepteurs benzodiazépiniques est basée sur l'association avec la BZD et sur la localisation du récepteur. Cependant, de nouveaux composés chimiques, qui ne font pas partie des benzodiazépines, possèdent une haute affinité pour les différents sous types de récepteurs. Afin de simplifier la dénomination, la lettre grecque oméga fut choisie. Le récepteur BZD₁ central, maintenant appelé oméga 1, peut être mis en évidence par des substances chimiques non BZD comme les β -carboline, les imidazopyridines... On ne dispose pas de ligands sélectifs pour mettre en évidence le récepteur BZD₂ central désigné par oméga 2. La localisation des récepteurs BZD périphériques ou oméga 3, peut être réalisée grâce aux imidazopyridines qui possèdent la plus grande affinité

pour ce sous type (Langer et Arbilla, 1988).

De hautes densités de récepteurs benzodiazépiniques ont été observées dans les aires limbiques ainsi que le noyau du raphé dorsal et le locus coeruleus (Suranyi-Cadotte, 1990). Ces aires constituent des composantes des systèmes sérotonergiques (Steinbusch et Niewenhuys, 1983) et noradrénergique (Clark, 1979). Le système limbique est quant à lui, abondamment cité comme une zone importante dans la modulation de la mémoire et des émotions.

Le récepteur GABA/Cl⁻/BZD permet la liaison du GABA et des benzodiazépines et est couplé à un canal Cl⁻. En absence de GABA, le canal ionique est fermé. Le GABA lorsqu'il s'y fixe, produit l'ouverture du canal. Les ions Cl⁻ en entrant dans la cellule produisent une hyperpolarisation qui rend le neurone moins sensible. Les benzodiazépines sont, elles, capables de sensibiliser le neurone, au GABA.

Nombreuses sont les molécules capables de se fixer sur ce récepteur. Selon leur action, ces substances seront appelées agonistes, antagonistes ou agonistes inverses. Comme ce récepteur est présent naturellement dans l'organisme, il doit exister un ligand endogène. Cependant, jusqu'à présent son existence n'a pu être confirmée.

Les récepteurs peuvent être périphériques (reins, foie, poumons, ...) ou centraux (tissus nerveux). Il existe deux types de récepteurs centraux: les récepteurs I présents à 90% dans le cervelet, et les récepteurs II. Ces deux sous types nous permettent de penser qu'il pourrait être possible d'agir de façon sélective, soit sur la sédation, l'anxiété ou la relaxation musculaire.

1.3. Agoniste inverse des récepteurs benzodiazépiniques:
FG7142.

En recherchant des ligands endogènes pour les récepteurs benzodiazépiniques, Braestrup et al. (1980) ont isolé une β -carboline (β -CCE). Cette substance ne possède aucune des propriétés pharmacologiques des benzodiazépines, mais au contraire, elle antagonise les effets du diazépam (Cowen et al., 1981). A la recherche de composés plus stables et agissant plus longtemps, les chercheurs ont synthétisé le N-méthyl β -carboline carboxamide (FG7142).

Le FG7142 inhibe la liaison des benzodiazépines sur leur récepteur. Son affinité est moindre que celle de certaines β -carboline mais par contre, il est moins susceptible à la dégradation métabolique in vivo. Le FG7142 stimule l'activité motrice des rats (Bruhwyler et al., 1991b) et inverse l'effet anticonflit induit par les benzodiazépines. Chez l'homme, il induit des crises d'anxiété (Dorow et al., 1983). Son action et ses effets pouvant être inversés par une benzodiazépine, le FG 7142 est appelé agoniste inverse (Dorow et al., 1989).

Un agoniste inverse benzodiazépinique induit:

- de l'anxiété (Dorow et al., 1989).
- des convulsions et l'épilepsie (Jacqmin et Lesne, 1986).
- l'éveil (Ongini et al., 1983) et l'accroissement de l'activité locomotrice (Bruhwyler et al., 1991b).
- un effet promnésique.

Les β -carboline et le FG7142 sont capables de se lier aux récepteurs benzodiazépiniques. Ces substances n'ont pas les effets anxiolytiques attendus. Au contraire, elles ont des propriétés inverses aux benzodiazépines et induisent l'anxiété.

2. AZASPIRONES ET ANXIOLYTIQUES DE NOUVELLE GENERATION.

2.1. Les Azaspirones.

2.1.1. CLASSIFICATION DES AZASPIRONES.

Les anxiolytiques "atypiques" ressemblent aux anxiolytiques benzodiazépiniques traditionnels par leur pharmacologie (Riblet et al, 1984) mais ils ne produisent ni sédation ni relaxation musculaire typique des benzodiazépines et des barbituriques (Riblet et al., 1982; Mansbach and Geyer, 1988). Une de ces substances, la buspirone a été introduite sur le marché au début des années 80. Elle ne se lie pas au récepteur benzodiazépinique et n'influence pas directement le système GABA mais elle se révèle efficace dans les modèles de l'anxiété. La pharmacologie du récepteur du système 5-HT à cette époque était peu connue. C'est Glaser et Traber (1983) qui ont montré que la buspirone se lie spécifiquement à un sous type du récepteur 5-HT, le récepteur 5-HT_{1A}. Ce récepteur semble dès lors, impliquer dans l'action anxiolytique des substances de la famille des azaspirones. Cette famille regroupe la buspirone, la gepirone et l'ipsapirone (Spencer et al., 1989). Il est difficile de préciser la place de ces substances dans le traitement de l'anxiété en raison de l'expérience clinique restreinte.

2.1.2. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES.

1. Les azaspirones ont une activité anxiolytique et antidépresseur (Robinson, 1991). Les agonistes 5-HT_{1A} sélectifs sont efficaces dans le traitement des troubles anxieux généralisés (Spencer et al., 1989; Westenberg, 1992).

2. Elles ne produisent pas de relaxation musculaire (Riblet et al., 1982).

3. Elles n'ont pas d'activité anticonvulsivante (Boulenger et al., 1989).

4. Elles n'ont pas d'effet sédatif (Spencer et al., 1989).

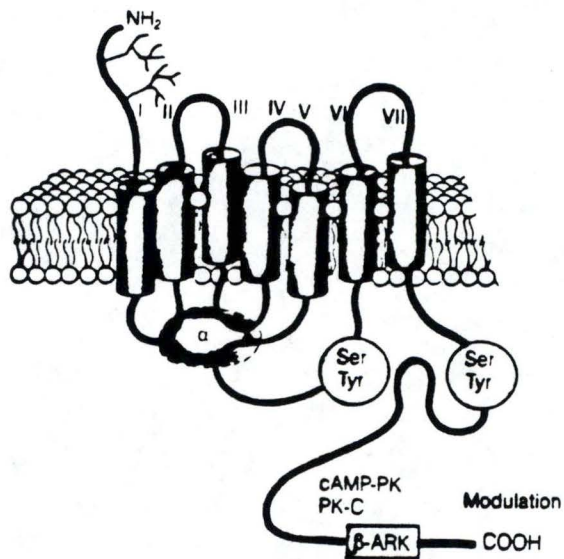
Les Azaspirones regroupent différentes molécules aux propriétés anxiolytiques. Ces substances sont particulières puisqu'elles ne se lient pas au récepteur benzodiazépinique. Elles agissent par le biais du récepteur 5-HT_{1A}. Suite à leur activité anxiolytique principale, elles sont utilisées dans le traitement de désordres anxieux généralisés et pourraient remplacer efficacement les benzodiazépines dont l'administration chronique présente certains dangers.

2.2. Le récepteur sérotonergique.

En 1973, Stein et al. émettent l'hypothèse que l'action des benzodiazépines pourrait être due à l'inhibition de la transmission sérotonergique. Cette hypothèse repose sur le fait que les benzodiazépines agissent sur le turn over de la sérotonine (5-HT) (Dourish, 1987). De plus, la découverte de nouvelles approches du traitement des désordres de l'anxiété à l'aide de composés sérotonergiques a mis en exergue le rôle de la 5-HT dans l'action des drogues anxiolytiques (Broekkamp et al., 1989).

La particularité des neurones à 5-HT est que, bien qu'ils représentent qu'un faible pourcentage des circuits neuronaux cérébraux, ils innervent de nombreuses régions du cerveau et sont impliqués dans de nombreuses fonctions. Les médicaments capables d'altérer les fonctions sérotonergiques peuvent donc avoir des effets thérapeutiques dans plusieurs conditions pathologiques telles que la dépression, l'anxiété, la schizophrénie, etc (Azmitia et Gannon, 1986; Fuller, 1988; Westenberg, 1992).

Sevenfold membrane-spanning receptor



| | |
|-----------------------------------|--|
| Ligands | Class 2 neurotransmitters |
| | Neuropeptide |
| | Ligand X |
| Original family | Class 2 neurotransmission receptors |
| Original transduction | G proteins |
| Original effector proteins | AC, PLC, ion channels |
| Original action | Information branching |
| Original function | Information network |

Figure 19: Représentation d'un récepteur formé de 7 domaines transmembranaires.

2.2.1. DESCRIPTION DU RECEPTEUR SEROTONERGIQUE.

Gaddum et Picarelli (1957) ont montré l'existence de deux types de récepteurs sérotonergiques qui se distinguent par leurs propriétés pharmacologiques. Les récepteurs 5-HT₁ et 5-HT₂ ont été mis en évidence grâce à leur affinité pour le [³H]5-HT et [³H]spiperone (Bradley et al., 1986). L'évolution des techniques de binding a permis la découverte de plusieurs sous types de récepteurs.

Les récepteurs 5-HT peuvent être classés en trois grandes familles: la famille du récepteur 5-HT₁, 5-HT₂ et 5-HT₃. Les deux premières familles de récepteurs sont couplées à la protéine G alors que la troisième famille joue le rôle de canal ionique. La famille du récepteur 5-HT₁ inclut les récepteurs 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} et 5-HT_{1D}. Le récepteur 5-HT_{1C} fait partie de la famille 5-HT₂.

Ces deux familles regroupent des récepteurs formés de 7 domaines transmembranaires (Figure 19). Leurs séquences en acides aminés montrent une grande variabilité au niveau de la troisième boucle cytoplasmique qui est supposée interagir avec la protéine G (Peroutka et al., 1986; Boschert et al., 1992).

Le récepteur 5-HT_{1C} est codé par 460 acides aminés et la séquence primaire du récepteur 5-HT₂ compte 449 acides aminés dont 50 % sont identiques au récepteur 5-HT_{1C}. Ceci explique donc le classement du récepteur 5-HT_{1C} dans la famille du récepteur 5-HT₂.

Le récepteur 5-HT₃ agit comme canal ionique et est formé aussi de plusieurs sous unités (Hoyer, 1992). Cette famille reste encore peu connue (Peroutka et Schmidt, 1991).

De récentes études ont mis en évidence l'existence d'autres récepteurs, comme les récepteurs 5-HT₄, 5-HT₅ ou 5-HT₆ (Boschert et al., 1992; Hoyer, 1992). Ces nouvelles familles étant peu connues, il ne nous est pas possible de nous y attarder dans le cadre de ce travail.

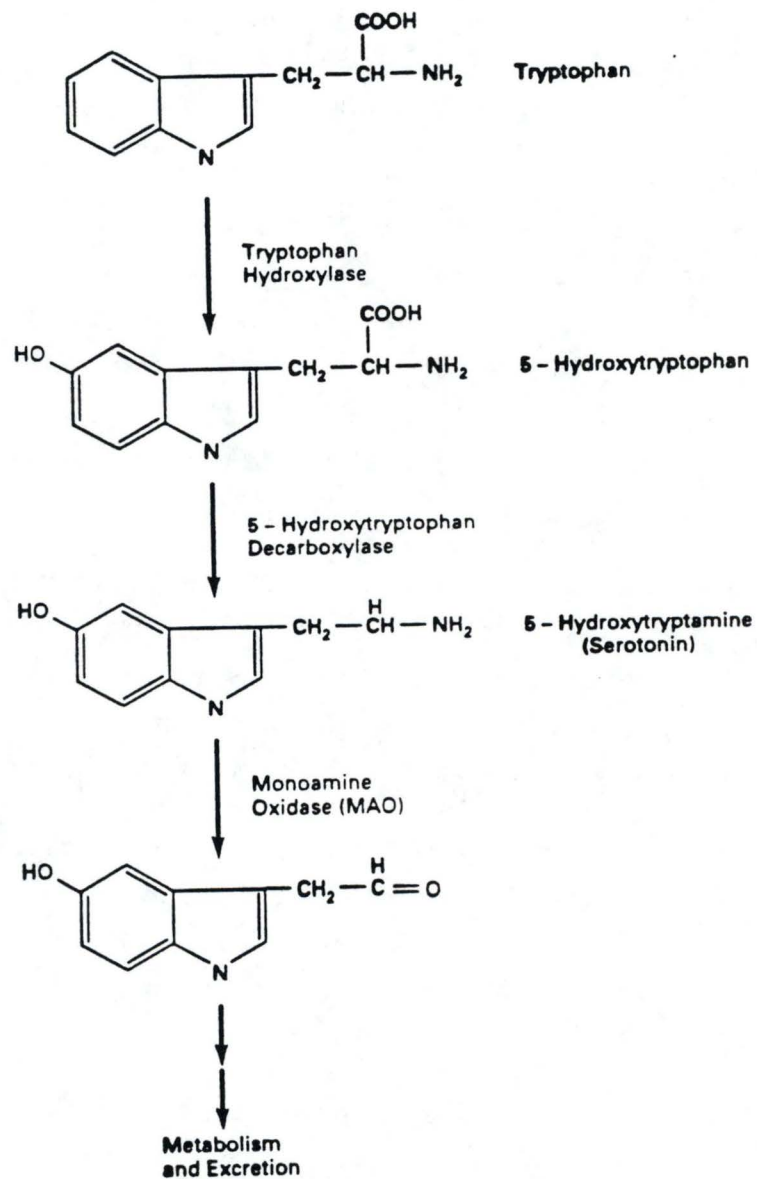


Figure 20: Synthèse et métabolisme de la sérotonine (5-hydroxytryptamine ou 5-HT). (Levitan and Kaczmareck, 1991).

2.2.2.MODE D'ACTION ET PROPRIETES.

La sérotonine (5-HT), formée dans la terminaison nerveuse, est stockée dans des granules qui larguent leur contenu dans l'espace synaptique, suite à l'impulsion nerveuse. Le neurotransmetteur ainsi libéré, exerce alors son action sur les récepteurs sérotonergiques. Son rôle terminé, la 5-HT est inactivée suite au repompage par la terminaison présynaptique grâce aux transporteurs spécifiques. A l'intérieur du neurone, elle peut être réutilisée ou dégradée par la monoamine oxydase. La terminaison nerveuse porte en plus des récepteurs présynaptiques, des autorécepteurs présynaptiques qui sont responsables de la régulation de la synthèse et de la libération de 5-HT (Fuller,1988).(Figure 20).

En mimant l'action de la sérotonine sur ses récepteurs, les médicaments augmentent la transmission sérotonergique. Les agonistes directs augmentent la fonction sérotonergique quel que soit l'état fonctionnel du neurone présynaptique, alors que les inhibiteurs du captage de la sérotonine bloquent la reprise du neurotransmetteur et prolongent ainsi son action (Fuller,1988).

La multiplicité des récepteurs 5-HT permet une gamme importante d'actions. Les récepteurs 5-HT_{1A} sont par exemple, responsables de l'inhibition de la mise à feu des cellules du nuclei raphé (Peroutka et Schmidt, 1991). Le récepteur 5-HT₂ intervient dans la modulation du turn over des phosphoinositides (PI). Le 5-HT stimule le turn over du PI dans le plexus choroïde, région riche en récepteurs 5-HT_{1C} (Sanders-Bush et Conn,1987). L'activation du récepteur 5-HT_{1C} entraîne la libération des inositols phosphates qui augmentent les concentrations Ca⁺⁺ intracellulaires, ce qui produit l'ouverture des canaux chlorures calcium-dépendants (Lubbert et al,1987). Les récepteurs 5-HT₃ interviennent dans l'inhibition de la libération d'acétylcholine et de noradrénaline. Les agonistes de ce récepteur augmentent la libération du GABA, de la dopamine et de la cholecystokinine (Hamon,1991).

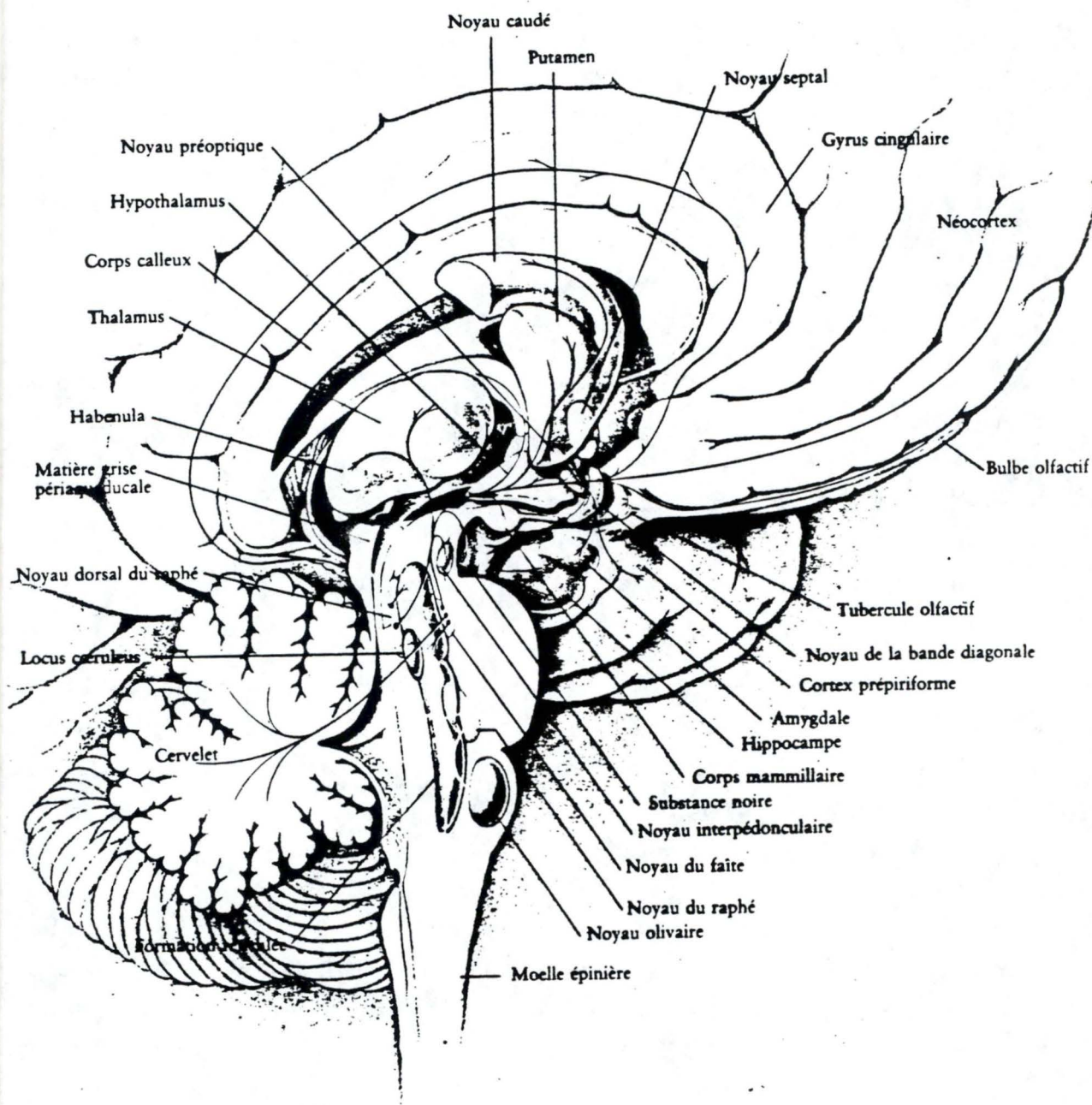


Figure 21: Représentation des voies sérotonergiques dans le cerveau humain. (Snyder, 1987).

Des études ont montré que les benzodiazépines diminuent la transmission sérotonergique centrale (Nishikawa et Scatton, 1986). Les médicaments anxiolytiques exercent en fait, une influence inhibitrice sur les neurones 5-HT hippocampaux, inhibition qui se fait via les récepteurs benzodiazépiniques non couplés au complexe macromoléculaire GABA. En fait, l'influence inhibitrice des BZD sur les neurones 5-HT, peut être médiée via des récepteurs BZD indépendants du GABA, localisés sur ou autour des terminaisons nerveuses 5-HT et via des récepteurs BZD couplés aux récepteurs GABA. La décroissance de la transmission sérotonergique dans l'hippocampe, produite par les agents anxiolytiques, joue un rôle dans leurs effets cliniques et comportementaux (Nishikawa et Scatton, 1986).

2.2.3. LOCALISATION CEREBRALE.

Les récepteurs 5-HT_{1A} sont localisés partiellement sur les corps cellulaires et les dendrites des neurones du raphé (Briley et Chopin, 1991) ainsi que dans la région CA1 et le dentate gyrus de l'hippocampe (Hoyer et al., 1986) (Figure 21). Le récepteur 5-HT_{1B} est présent dans le cerveau du rat, de la souris et du hamster mais pas dans le cerveau humain (Hoyer et al., 1986; Heuring et al., 1987). L'analyse autoradiographique montre que le récepteur 5-HT_{1C} se localise dans le plexus choroïde et le cortex (Pazos et al., 1984; Yagaloff et Hartig, 1985). Le récepteur 5-HT_{1D} est le sous type le plus commun dans le cerveau bovin. Il se concentre plus particulièrement au niveau du ganglia basal (Heuring et Peroutka, 1987). C'est dans le cortex cérébral et caudate que le récepteur 5-HT₂ est concentré (Pazos et Palacios, 1985). Le récepteur 5-HT₃ est présent dans les aires corticales, surtout le cortex entorhinal, et dans l'aire prostroma (Peroutka et Schmidt, 1991).

Les récepteurs 5-HT, présents dans de nombreuses régions du cerveau, sont classés en 3 familles: la famille du récepteur 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃. Dans les 2 premières familles, le récepteur est couplé à la protéine G et formé de 7 domaines transmembranaires. La famille 5-HT₃ joue le rôle de canal ionique. Depuis peu, d'autres récepteurs ont été découverts (5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆). Cette diversité parmi les récepteurs, permet d'assurer une gamme importante d'actions. En agissant sur les récepteurs 5-HT, les médicaments peuvent moduler la transmission 5-HT. Les benzodiazépines par exemple, diminuent la transmission 5-HT par influence inhibitrice sur les neurones 5-HT hippocampaux. Chaque sous type de récepteurs se localise principalement dans une région précise. Par exemple, le récepteur 5-HT₂ est présent dans le cortex cérébral et caudate.

Chapitre III:

**Mécanismes neuronaux impliqués dans
la réponse de sursaut.**

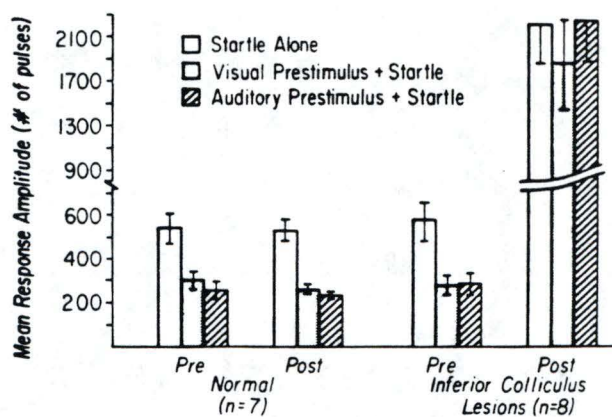


Figure 22: Amplitude de sursaut avant et après le test pour chacune des conditions, pour le groupe lésé et le groupe contrôle. (Leitner and Cohen, 1985).

1. ETUDE PAR LES LESIONS CEREBRALES.

Les lésions des différentes structures du cerveau ont permis d'étudier le pathway neuronal de la réponse de sursaut acoustique. Dès 1973, Hammond suggère que le noyau qui a la plus grande importance dans le relais des impulsions auditives à travers la moëlle épinière est le noyau réticulaire pontis caudalis. En effet, le dommage bilatéral de ce noyau réduit ou abolit la réponse de sursaut acoustique chez les rats. Si la formation réticulaire postérieure est endommagée, il y a réduction de la réponse de sursaut acoustique. C'est en fait, cette région qui compte la plus grande proportion de neurones répondant à la stimulation auditive (Groves et al., 1976).

Leitner et Cohen (1985) ont émis l'hypothèse que le colliculus inférieur est impliqué dans la médiation de l'inhibition de la réponse de sursaut produite par des stimuli acoustiques précédant le stimulus de sursaut (préstimulus). Des études précédentes ont montré que les lésions des structures auditives en dessous de l'IC abolissent le sursaut (Davis et al., 1982) alors que les structures se situant au-dessus, ne sont pas impliquées. Pour vérifier leur hypothèse, Leitner et Cohen (1985) ont produit des lésions de l'IC chez les rats. Avant l'opération, le sursaut est potentialisé par un entraînement (35 sons dont certains sont précédés d'un flash ou d'un préstimulus auditif). Deux semaines après la lésion, les rats sont soumis à la même procédure que lors de l'entraînement. Après les 35 stimuli, il y a présentation de 10 stimuli précédés d'un son (5 kHz, 70 dB) et 10 stimuli seuls. Le groupe des animaux lésés montre une augmentation considérable de l'amplitude de sursaut (Figure 22). Cette expérience démontre que la lésion de l'IC n'abolit pas le sursaut; au contraire, elle provoque une amplification de celui-ci. Cependant, des études utilisant de courts intervalles entre l'opération et le test obtiennent des réductions de l'amplitude de sursaut (Groves et al., 1976; Jordan et Leaton, 1982). Les modifications temporelles de l'amplitude de sursaut suggèrent que l'IC ne fait pas partie du circuit primaire du sursaut acoustique, mais exerce plutôt une influence modu-

latrice sur l'amplitude de sursaut (Leitner et Cohen, 1985).

Le noyau central de l'amygdala est activé par des stimuli produisant la peur (Henke, 1983; Pascoe et Kapp, 1985) et possède des projections anatomiques dispersées. En fait, le noyau central de l'amygdala module le réflexe de sursaut, ce qui indique qu'il existe une projection directe du noyau central vers le circuit réflexe de sursaut ou bien un pathway indirect provenant du noyau central vers une structure qui se projette à son tour sur le circuit de sursaut.

La destruction sélective des corps cellulaires du noyau amygdala latéral et basal (Sananes et Davis, 1992) ou les lésions électrolytiques du noyau central de l'amygdala (Hitchcock et Davis, 1986) bloquent aussi le sursaut potentialisé par la peur. Rosen et al. (1991) ont démontré l'existence d'une connexion directe existant entre le noyau central de l'amygdala et le noyau réticulaire pontis caudalis. Ceci montre l'importance de ces deux noyaux dans le pathway du sursaut acoustique.

Leaton et Supple (1991) ont étudié le pathway neuronal du phénomène d'habituation de la réponse de sursaut, au moyen de lésions. En 1986, ils ont montré que les lésions du vermis du cervelet éliminent le développement de l'habituation à long terme, ce qui suggère que le vermis est une aire de convergence essentielle pour l'habituation à long terme. Bien que les lésions des hémisphères cérébelleux produisent quelques changements dans la réponse de sursaut, les rats lésés à ce niveau sont capables de développer la LTH. Le dommage du cervelet médian empêche le développement de la LTH mais n'affecte pas la réponse initiale au stimulus de sursaut et n'empêche pas l'habituation à court terme (Leaton et Supple, 1991).

Afin d'étudier le pathway neuronal de la réponse de sursaut, certains chercheurs ont provoqué des lésions dans différentes aires du cerveau. Les lésions du noyau réticulaire pontis caudalis et du noyau central de l'amygdala produisent une réduction du sursaut. Par contre, la lésion du colliculus inférieur provoque l'amplification du sursaut. Cette structure intervient donc dans la modulation de la réponse. Le cervelet est impliqué dans le phénomène d'habituation à long terme car la lésion du vermis du cervelet empêche son développement.

2. ETUDE PAR STIMULATION ELECTRIQUE CEREBRALE.

Dans de nombreuses expériences, le sursaut est produit par stimulation électrique à partir des noyaux du pathway réflexe. Dans le cadre du paradigme du sursaut potentialisé par la peur, les résultats obtenus montrent que la présence du stimulus conditionné module le circuit du réflexe de sursaut au niveau du noyau ventral du lemniscus latéral (VLL) et du noyau réticulaire pontis caudalis (RPC) (Berg et Davis, 1985). L'expression du sursaut potentialisé par la peur doit impliquer un système neuronal qui est activé par un stimulus de la peur et qui se projette et module le circuit au niveau de VLL ou RPC.

Le noyau central de l'amygdala pourrait jouer ce rôle. La stimulation de ce noyau chez les animaux naïfs juste avant la présentation d'un stimulus de sursaut produit une augmentation marquée de la réponse de sursaut (Rosen et Davis, 1988). De plus, cette stimulation produit l'apparition de réactions comportementales de peur comme l'immobilisation (freezing), les changements de rythme cardiaque et de pression sanguine (Applegate et al., 1983; Iwata et al., 1987).

La réponse de sursaut peut être produite par stimulation électrique des noyaux du pathway. Diverses expériences ont montré que le noyau ventral du lemniscus latéral, le noyau réticulaire pontis caudalis et le noyau central de l'amygdala font partie du circuit réflexe de sursaut.

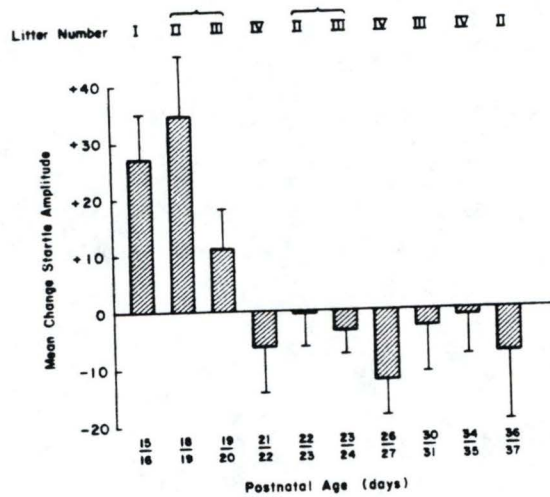


Figure 23: Effets de l'administration IP de 1.25 mg/kg de picrotoxine chez des rats d'âges différents. La variation moyenne de l'amplitude de sursaut a été calculée sur 20 minutes après l'injection. Quatre groupes différents ont été utilisés (I, II, III, IV) et testés une ou plusieurs fois à différents âges. (Gallager et al.1983).

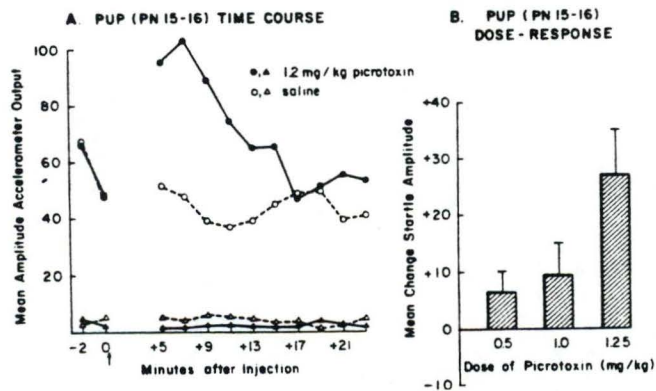


Figure 24: A. La moyenne des données mesurés par l'accéléromètre en présence (cercles) ou en absence (triangle) du son produisant le sursaut, après l'injection IP de 1.25 mg/kg de picrotoxine ou de solution saline, à des rats âgés de 15-16 jours. B. Variation moyenne de l'amplitude de sursaut sur 20 minutes après injection IP de différentes doses subconvulsivantes de picrotoxine (0.5, 1.0 et 1.25 mg/kg) chez des rats âgés de 15-16 jours. (Gallager et al., 1983).

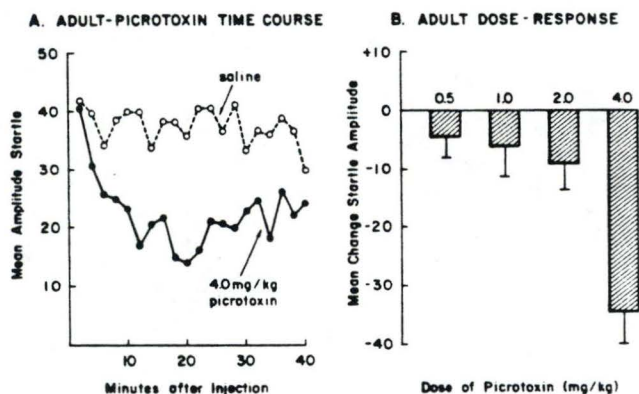


Figure 25: A. Effets d'injection IP de 4.0 mg/kg de picrotoxine ou de solution saline sur la réponse de sursaut (blocs de 6 essais) chez des rats adultes. B. Variation moyenne de l'amplitude de sursaut sur 20 minutes après l'administration IP de différentes doses subconvulsivantes (0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg/kg) de picrotoxine chez des rats adultes. (Gallager et al., 1983).

3. ETUDE NEUROCHIMIQUE ET PHARMACOLOGIE.

Les techniques d'infusion de drogues permettent la mise en évidence de la modulation du réflexe de sursaut. Plusieurs études ont examiné la maturation biochimique et anatomique du système GABAergique (acide gamma-aminobutyrique) dans le système nerveux central (Chronwall et Wolff, 1980; Wong et McGeer, 1981). Gallagher et al. (1983) ont étudié la maturation fonctionnelle du système GABAergique par l'intermédiaire des effets d'un antagoniste du GABA, la picrotoxine, sur la réponse de sursaut. La picrotoxine antagonise les changements à médiation GABAergique en agissant sur la conductance de la membrane vis-à-vis du Cl^- (Olsen, 1981). L'administration systémique de cette substance produit des effets opposés sur le réflexe de sursaut selon que les rats sont jeunes ou vieux (Figure 23). Chez les rats de moins de 21 jours, le sursaut est augmenté (Figure 24). Pour les rats plus âgés, une décroissance liée à la dose, est observée (Figure 25). Lorsque la picrotoxine est infusée dans le SNC, elle produit aussi des effets opposés selon la zone. Une inhibition dose-dépendante du sursaut apparaît suite à l'infusion dans les ventricules latéraux et l'infusion directe dans la moëlle épinière produit une augmentation du sursaut. Vu ces résultats, il est possible que la picrotoxine agisse sur des sites qui interagissent différemment avec le sursaut et que ces sites aient des ontogénèses différentes (Gallagher et al., 1983).

L'AMPC est un second messager intracellulaire dans le système nerveux central et périphérique. Kehne et al. (1986) ont tenté de définir les sites d'actions possibles de l'AMPC dans la modulation spinale de la réponse de sursaut acoustique. Les études utilisant l'infusion directe de drogues dans l'espace subarachnoïde de la moëlle épinière lombaire (infusion intrathécale) ont montré que plusieurs systèmes neurochimiques modulent le sursaut (Gallagher et al., 1983; Kehne et Davis, 1985). A cet endroit, les acides aminés, glycine et GABA, paraissent inhiber le sursaut alors que la sérotonine et la noradrénaline l'amplifient. Dans une autre étude, les rats sont d'abord soumis à 72 sons (105 dB) selon un intervalle de

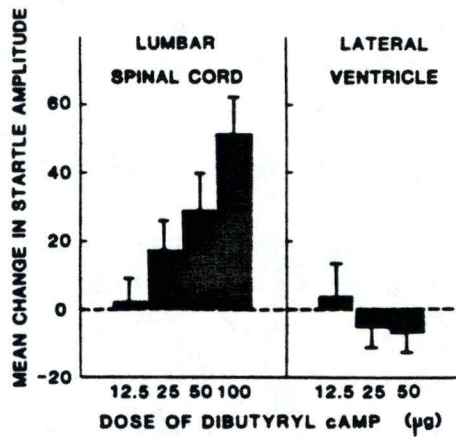


Figure 26 Dose-related effects of spinal (lumbar intrathecal) versus supraspinal (lateral ventricle) infusion of dibutyryl cAMP on startle. Each bar represents a "net change score" (i.e., a rat's drug change score minus its vehicle change score, where each change score is calculated by subtracting the 60 min postinfusion score from the 24 min preinfusion score). A positive score denotes a net excitatory drug effect. Independent groups of rats were used for each dose. Intrathecal doses: 12.5 ($n = 10$), 25.0 ($n = 10$), 50.0 ($n = 9$), and 100.0 μg ($n = 10$). Intraventricular doses: 12.5 ($n = 5$); 25.0 ($n = 5$); and 50.0 μg ($n = 7$). For the intrathecal data, a 2-way ANOVA on the change scores revealed an overall significant dibutyryl cAMP effect ($F(1,35) = 4.45, p < 0.001$), a significant dose effect ($F(3,35) = 6.52, p < 0.001$), and a significant dose \times treatment interaction ($F(3,35) = 6.52, p < 0.001$). Individual t tests at each dose revealed a significant drug excitation at 25.0 ($t(9) = 2.89, p < 0.05$), 50.0 ($t(8) = 3.08, p < 0.05$), and 100.0 μg ($t(9) = 4.68, p < 0.001$). The effect of 100 μg was significantly greater than that of 12.5 μg ($t(18) = 3.63, p < 0.01$) or 25 μg ($t(18) = 2.15, p < 0.05$), but did not significantly differ from the effect of 50 μg ($t < 1$). An ANOVA of the lateral ventricle scores revealed no significant main effects ($F < 1$).

Figure 26: Effets de l'infusion spinale (lombaire intrathécale) ou supraspinale (ventricule latéral) de dibutyryl AMPc sur le sursaut. (Kehne et al., 1986).

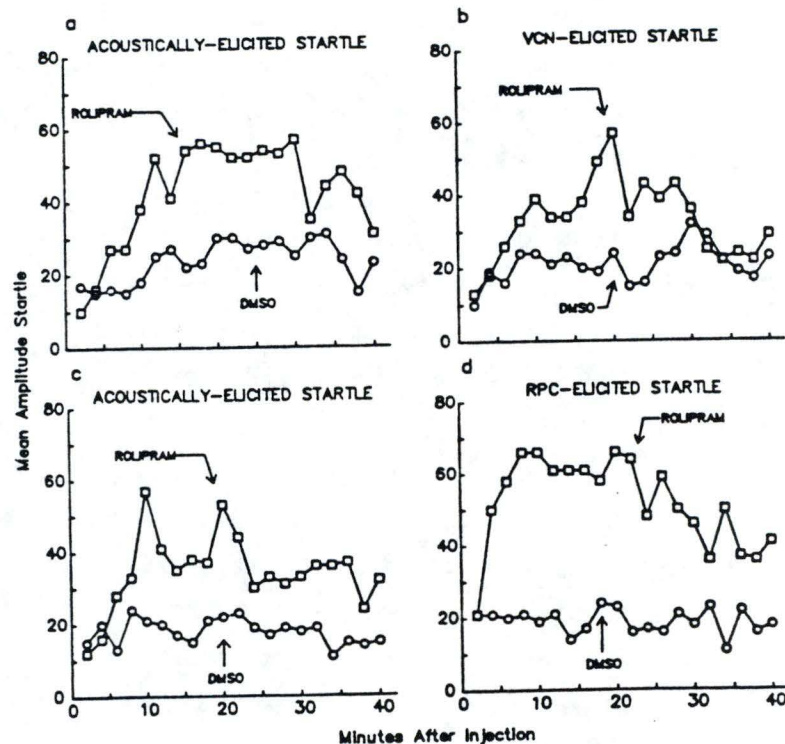


Figure 27: Amplitude moyenne du sursaut produit acoustiquement ou électriquement à partir du VCN ou du RPC, après l'injection de 1.0 mg/kg de rolipram ou de DMSO. (Kehne et al., 1986).

20 sec. Puis après infusion, ils sont testés pendant une période de 100 minutes. L'infusion du dibutyryl AMPc dans l'espace subarachnoïde de la moëlle épinière produit une augmentation dose dépendante marquée de la réponse de sursaut (Figure 26). Le rolipram, inhibiteur de la phosphodiesterase, produit aussi un effet excitateur. Les effets excitateurs obtenus suite à l'infusion intrathécale des analogues de l'AMPc et du rolipram supportent l'hypothèse selon laquelle les niveaux croissants d'AMPc augmentent l'amplitude du réflexe de sursaut. Les niveaux élevés d'AMPc intracellulaire dans les terminaisons nerveuses présynaptiques pourraient augmenter le sursaut en amplifiant la quantité d'acides aminés excitateurs libérés suite à la présentation du stimulus produisant le sursaut (Kehne et al., 1986).

En 1991, Kehne et al. ont réalisé des expériences qui allient l'infusion du rolipram et la stimulation des noyaux du pathway du sursaut. Les cathéters implantés aboutissent dans la moëlle épinière lombaire ou dans le ventricule latéral, alors que les électrodes sont placées dans le noyau cochléaire ventral (VCN) ou le noyau réticulaire pontis caudalis. Dans une session, les sursauts sont produits par stimulation acoustique et électrique alternée. La moitié des rats sont injectés au rolipram (1.0 mg/kg) et l'autre moitié au DMSO. Quand les électrodes sont implantées dans le VCN, le rolipram a un effet excitateur sur la réponse de sursaut produite acoustiquement et électriquement. Néanmoins, l'excitation du rolipram est plus élevée chez les rats stimulés dans le RPC (Figure 27). Donc, le rolipram amplifie le sursaut en augmentant la transmission dans la moëlle épinière (Kehne et al., 1991).

Puisque la réduction de la réponse fait partie intégrante de l'apprentissage, une compréhension complète de la base neurologique de l'habituation nécessite l'étude des mécanismes de la réduction de la réponse. Parce que l'amygdala est impliqué dans le conditionnement de la peur et que les récepteurs NMDA de l'amygdala sont impliqués dans l'acquisition de la peur conditionnée, Falls et al. (1992) ont recherché le rôle des récepteurs NMDA de l'amygdala dans l'extinction de la peur

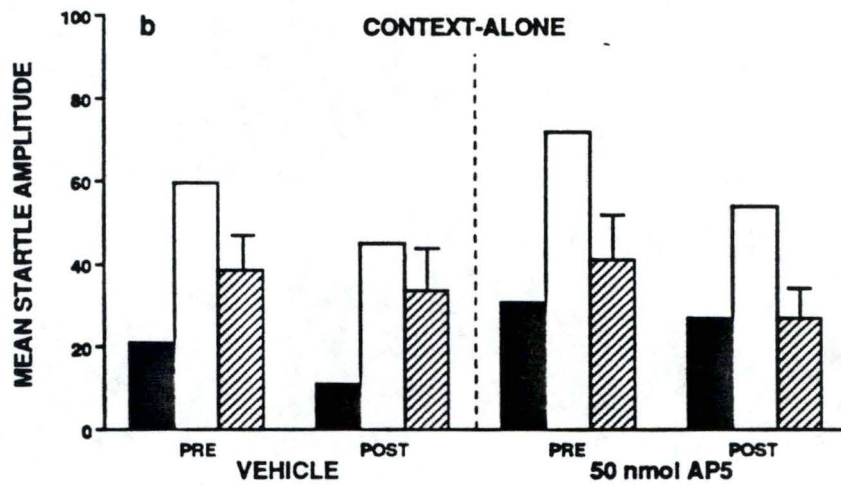
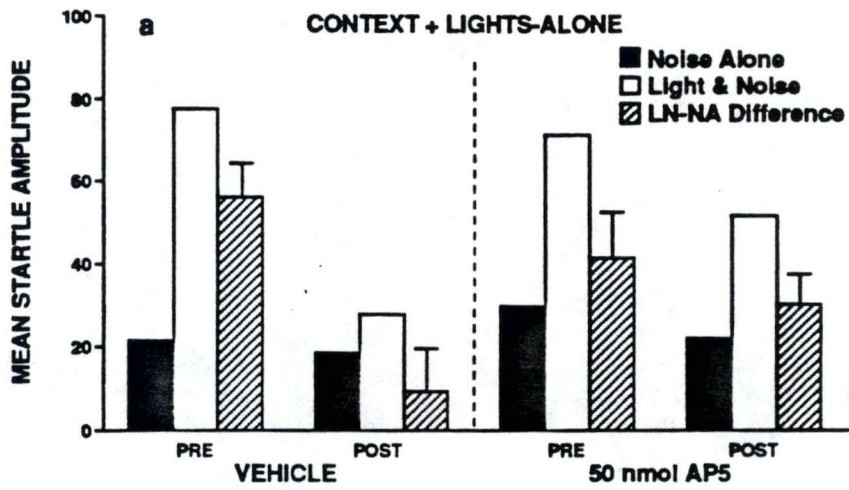


Figure 28: Effets de 50 nmol. d'AP5 sur l'extinction du sursaut potentialisé par la peur.

a. Infusion intra-amygdala de 50 nmol d'AP5 ou d'ACSF contrôle avant les présentations au contexte et aux flashes lumineux seuls.

b. Infusion intra-amygdala de 50 nmol. d'AP5 ou d'ACSF contrôle avant l'exposition au contexte seul. (Falls et al., 1992).

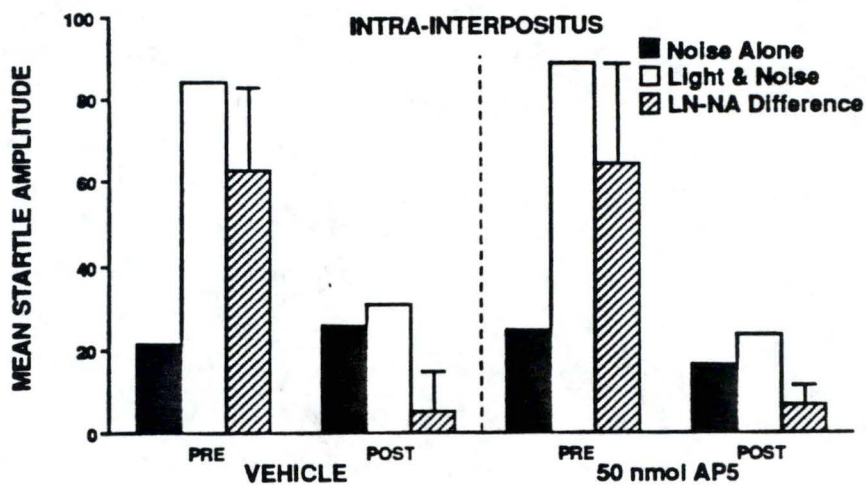


Figure 29: Effet d'infusion intra-interpositus de 50 nmol. d'AP5 sur l'extinction du sursaut potentialisé par la peur. (Falls et al., 1992).

conditionnée. Les rats sont conditionnés 2 jours consécutifs par 10 présentations d'un flash lumineux couplé à un choc de 0.4 mA. Après cet entraînement, les rats sont soumis à 20 sons de 95 dB (intervalle interstimulus= 30 sec), puis 3 sons seuls et 3 sons présentés 3.2 sec après le flash. Des canules sont alors implantées dans le noyau basolatéral de l'amygdala. Lors des deux jours suivants, les sujets reçoivent des infusions de 50 ml. de D,L-2-amino-5-phosphovaleric acid (AP5), un antagoniste NMDA ou d'une solution contrôle ACSF (artificial cerebrospinal fluid) avant l'exposition à 30 flashes seuls. Vingt quatre heures plus tard, le test est répété sans infusion. Les rats recevant la solution contrôle montrent une diminution significative du sursaut potentialisé. L'infusion d'AP5 bloque l'extinction du sursaut (Figure 28). Si la même procédure est répétée entièrement à l'aide de canules placées dans le noyau interpositus du cervelet, aucune des substances ne bloque l'extinction du sursaut (Figure 29). Ces résultats montrent que l'extinction de la peur peut être bloquée de façon dose-dépendante par infusion intra-amygdalienne d'AP5 et que ce phénomène montre une spécificité anatomique (Falls et al., 1992).

Si le sursaut potentialisé reflète la peur, alors il doit être atténué ou bloqué par des drogues qui réduisent la peur ou l'anxiété. Davis (1979) a observé les effets de différentes doses de diazépam sur le sursaut. La potentialisation du sursaut se fait par la présentation de 45 paires flashes lumineux-chocs, durant 2 jours consécutifs. Vingt quatre heures plus tard, les rats reçoivent une injection IP de 0.31, 0.62, 1.25 ou 2.5 mg/kg de Diazépam. Dix minutes plus tard, les sujets sont soumis à la présentation de 80 sons (40 sons de 110 dB et 40, de 105 dB). La moitié des sons est précédée d'un flash lumineux (essai flash-son) alors que l'autre moitié est présentée à l'obscurité (essai son seul). Les résultats obtenus suggèrent que le diazépam diminue le sursaut des essais flashes-sons de façon dose-dépendante alors que pour les mêmes doses, il n'altère que très peu l'amplitude des essais sons seuls (Figure 30).

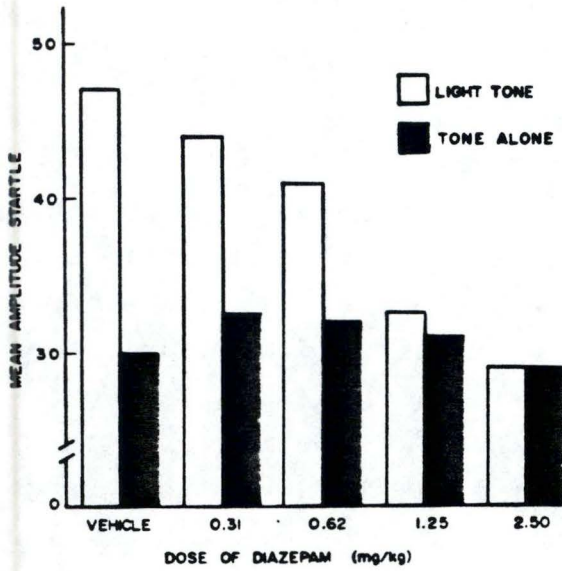


Figure 30: Amplitude moyenne de la réponse de sursaut sur les essais sons seuls et les essais flashes lumineux-sons après l'injection de solution contrôle ou de différentes doses de Diazépam. (Davis, 1979).

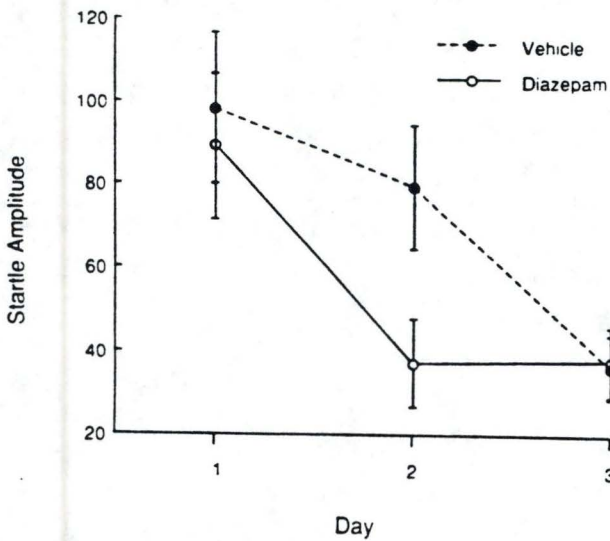


Figure 31: Amplitude moyenne de sursaut des groupes Diazépam et contrôle lors des premiers essais des 3 sessions tests. (Young et al., 1991).

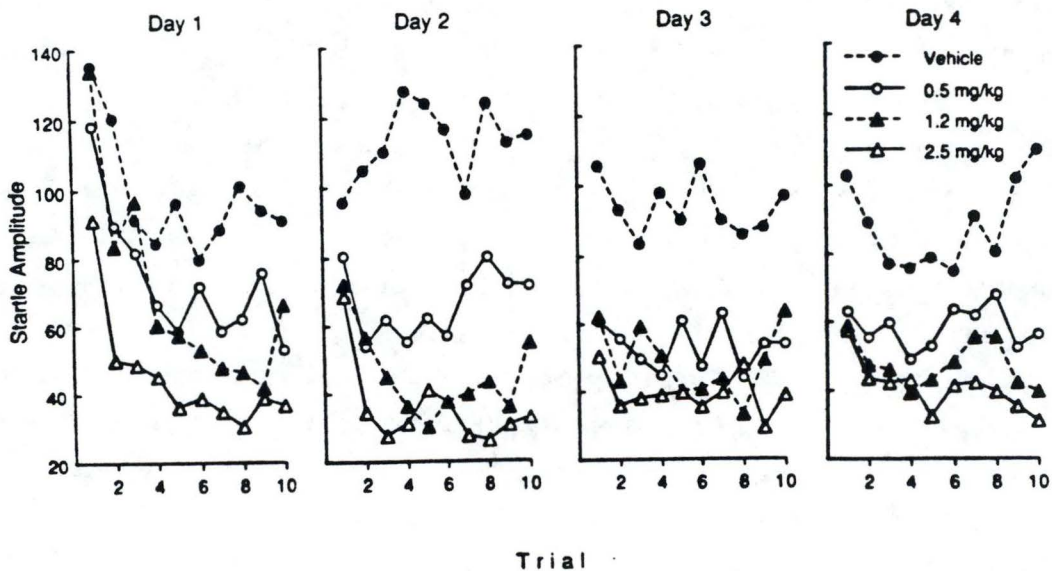


Figure 32: Amplitude moyenne du sursaut pour 3 groupes Diazépam et le groupe contrôle sur les 10 essais des 4 jours de tests. (Young et al., 1991).

L'infusion directe de médicaments anxiolytiques a permis de localiser les sites d'action possibles de ces substances. Comme l'amygdala contient de grandes concentrations en récepteurs benzodiazépiniques, Young et al. (1991) ont étudié l'effet d'infusion intra-amygdalienne de diazépam sur le sursaut. Dix sept ou vingt quatre jours après l'implantation de canules, les rats reçoivent des infusions de 35 μ g de diazépam. Ils sont soumis à la présentation de 10 stimuli de sursaut (130 dB) espacés de 60 sec. durant 3 jours. L'amplitude de sursaut pour le premier essai de chacun des trois jours de test, diminue plus rapidement pour le groupe diazépam que pour le groupe placebo (Figure 31). La réponse atténuée est due à un effet du diazépam sur l'amygdala. L'administration systémique de diazépam produit aussi une réduction de la réponse. Les rats répartis en 4 groupes reçoivent respectivement 0.5, 1.2 et 2.5 mg/kg de diazépam, le 4^{ième} groupe sert de groupe contrôle. Durant quatre jours consécutifs, il y a présentation de 10 stimuli. Le diazépam ne produit pas de différence de réponse lors des premiers essais du premier jour. En fait, les différences entre les groupes apparaissent après stimulation répétée (Figure 32). L'explication du conditionnement de la peur prédit que les niveaux de réponse des animaux ne commencent à différer qu'après la présentation des premiers stimuli de sursaut. Ceci suggère qu'en atténuant la peur, le diazépam bloque un processus de sensibilisation qui augmente l'amplitude de sursaut et retarde les décroissances de la réponse (Borszcz et al., 1989; Leaton et Supple, 1987).

Davis et Gallagher (1988) ont étudié le développement de la tolérance au diazépam. Ils injectent des doses de 5 ou 20 mg/kg durant plusieurs jours consécutifs (4,5 ou 21 jours), ou ils implantent des capsules de silicone remplies de diazépam. Soixante rats sont répartis en 4 groupes de 15, ils reçoivent d'abord 10 couples de flashes lumineux-chocs. Le jour suivant, deux des groupes reçoivent des capsules de silicone remplies de diazépam et les 2 autres, des capsules vides. Dix jours plus tard, un des groupes contrôles qui a reçu les capsules vides, est injecté au diazépam et l'autre groupe reçoit de la solution contrôle. La procédure est la même pour tous les

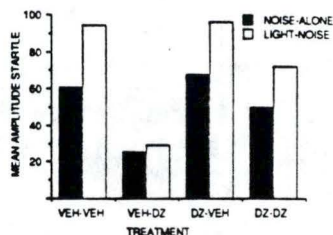
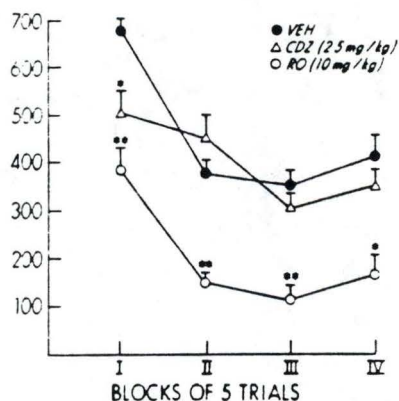


Figure 33: Amplitude moyenne de la réponse de sursaut produite par un son seul ou en présence d'un flash lumineux, précédemment couplé à un choc électrique. Certains rats reçoivent des capsules vides et ensuite, une injection de solution saline (VEH-VEH) ou de 5 mg/kg de Diazépam (VEH-DZ). D'autres reçoivent des capsules remplies de Diazépam puis une injection de solution saline (DZ-VEH) ou de 5 mg/kg de Diazépam (DZ-DZ). (Davis and Gallager, 1988).



Effects of 10 mg/kg RO15,1788 or 2.5 mg/kg chlordiazepoxide on the mean (\pm SEM) magnitude of the acoustic startle response over 20 trials. Data are presented as the mean magnitude (g) of the response summarized over blocks of five stimulus presentations. * $P < 0.01$. ** $P < 0.001$ vs controls. Fisher's LSD Test

Figure 34: Effets du RO 15,1788 (10 mg/kg) et du chlordiazépoxyde (2.5 mg/kg) sur l'amplitude de la réponse de sursaut acoustique sur 20 essais. (Walsh et al., 1986).

groupes qui ont des implants contenant du diazépam. Les rats sont ensuite placés dans la cage de test où ils reçoivent 60 sons (20 sons de 90,95 et 105 dB) dont la moitié est présentée à l'obscurité et l'autre moitié en présence du flash. Dans les groupes avec des capsules vides, l'injection de diazépam cause une dépression du sursaut sur les essais sons seuls et élimine le sursaut potentialisé. Par contre pour les rats qui ont des implants contenant le diazépam, l'administration du diazépam produit une faible diminution du sursaut (Figure 33). Dès lors, le sursaut n'est fortement déprimé par le diazépam que chez les rats qui n'ont jamais reçu précédemment de drogue. Le développement de la tolérance aux benzodiazépines est à la fois dose et temps-dépendant (File, 1985a; Rosenberg et Chiu, 1985). Une tolérance marquée aux effets anxiolytiques se développe sur 5 jours après l'implantation de capsules de silicone remplies de diazépam alors que ce phénomène n'apparaît pas quand le diazépam (5 mg/kg) est injecté i.p. pendant 21 jours. L'occupation périodique du récepteur plutôt qu'une occupation constante peut être une variable critique dans le développement de la tolérance (Davis et Gallager, 1988).

Les benzodiazépines et leur antagoniste ont des effets temps et dose-dépendants sur différents indices de la fonction sensori-motrice. Walsh et al. (1986) ont étudié l'action du RO 15-1788 (antagoniste benzodiazépinique sélectif) et du chlordiazépoxyde (benzodiazépine) sur la réponse de sursaut acoustique. Les rats reçoivent 30 minutes avant le test, 2.5 mg/kg de chlordiazépoxyde ou 15 minutes avant le test, 10 mg/kg de RO 15-1788. Lors du test, les animaux reçoivent 20 stimuli de 110 dB. Le RO 15-1788 réduit l'amplitude de la réponse de sursaut tout au long des 20 essais alors que la chlordiazépoxyde diminue le sursaut sur les 5 premiers essais seulement (Figure 34). Le RO 15-1788 déprime la réponse par effet direct sur la machinerie synaptique composant le circuit de réflexe du sursaut. L'action du chlordiazépoxyde ne se manifeste qu'au début du test, par atténuation de la réponse émotionnelle à la situation nouvelle du test.

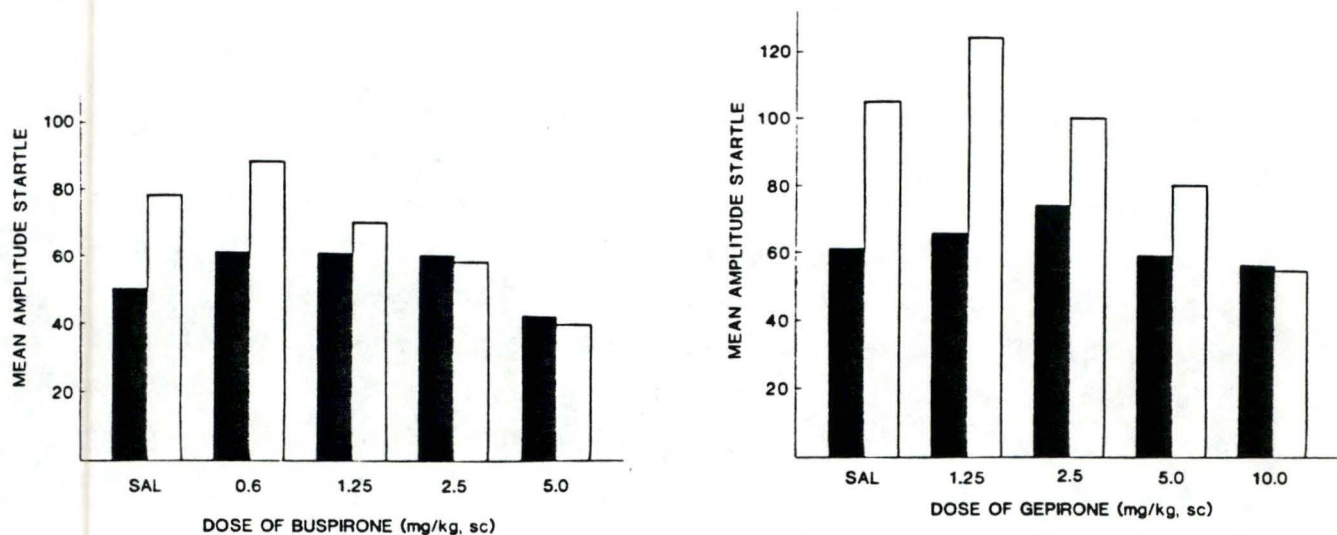


Figure 35: A. Amplitude moyenne du sursaut sur les essais sons seuls (histogrammes noirs) ou les essais sons-flashes (histogrammes blancs) suite à l'injection S.C. de solution saline ou de buspirone (0.6, 1.25, 2.5 et 5.0 mg/kg).

B. Amplitude moyenne du sursaut sur les essais sons seuls (histogrammes noirs) ou les essais sons-flashes (histogrammes blancs) suite à l'injection S.C. de solution saline ou de gepirone (1.25, 2.5, 5.0 ou 10.0 mg/kg). (Kehne et al., 1988).

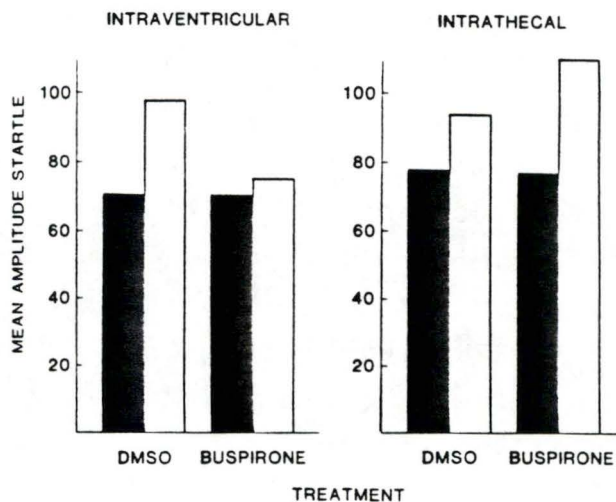


Figure 36: Amplitude moyenne du sursaut sur les essais sons seuls (histogrammes blancs) suite à l'infusion intraventriculaire ou lombaire (intrathécale) de buspirone (200 µg dissous dans DMSO) ou de DMSO. (Kehne et al., 1988).

Les anxiolytiques "atypiques" ont des propriétés associées aux benzodiazépines mais ils produisent des réponses différentes selon le modèle animal considéré. La buspirone qui est un composé non benzodiazépinique, a une activité anxiolytique dans le modèle de conflit (Pich et Samanin, 1986; Witkin et Barrett, 1986) et d'évitement conditionné (Eison, 1984). Par contre, elle est inefficace dans le modèle d'interaction sociale (File, 1985b) et dans l'elevated plus-maze (Pellow et File 1986)

Kehne et al. (1988) ont de ce fait, étudié son effet sur le modèle du sursaut potentialisé par la peur. Les rats sont entraînés à associer 10 couples de flashes lumineux-chocs, durant 2 jours consécutifs. Les rats sont ensuite testés après une injection sous cutanée de 0.0, 0.6, 1.25, 2.5 et 5 mg/kg de buspirone ou 0.0, 1.25, 2.5, 5.0 et 10.0 mg/kg de gepirone, par présentation de 10 stimuli de 95 dB puis 20 stimuli de 3 intensités (90, 95 et 105 dB) dont la moitié est présentée à l'obscurité et l'autre moitié en présence du flash lumineux. La buspirone bloque le sursaut potentialisé par la peur, à certaines doses. La gepirone a un effet similaire qui est moins puissant (Figure 35). Pour estimer le site d'action de la buspirone sur le pathway neuronal du sursaut, ils ont décidé d'infuser la buspirone directement. Les rats sont entraînés puis 3,4 jours plus tard, ils reçoivent une infusion de 200 µg de buspirone dans le ventricule latéral et dans l'espace subarachnoïdien. Puis ils sont soumis à la même procédure de test que dans l'expérience précédente. L'infusion de buspirone dans le ventricule latéral bloque complètement le sursaut potentialisé alors que l'infusion dans l'espace subarachnoïdien ne le bloque pas (Figure 36) (Kehne et al, 1988). Dourish et al. (1986) ont suggéré que l'action anxiolytique de la buspirone peut être médiée par une action sérotonergique du cerveau. Mansbach et Geyer (1988) ont examiné l'effet des agonistes 5-HT_{1A} sur le sursaut potentialisé. Ces substances à savoir la 8-OH-DPAT et l'ipsapirone bloquent le sursaut.

Le pathway neuronal de la réponse de sursaut a été étudié d'un point de vue neurochimique et pharmacologique. Ainsi l'infusion directe d'un antagoniste GABA, la picrotoxine, a montré que, selon le site d'infusion, la substance a un effet différent sur le réflexe. L'infusion des analogues de l'AMPC suggère que des niveaux élevés d'AMPC intracellulaire augmentent le sursaut en amplifiant la quantité d'acides aminés excitateurs libérés, après le stimulus de sursaut

Certains chercheurs ont infusé directement des substances anxiolytiques dans le système nerveux central. Le diazépam par infusion intra-amygdalienne, atténue la réponse de sursaut. Le développement de la tolérance à cette substance ne se fait qu'après une occupation constante des récepteurs. La buspirone ne bloque le sursaut que lorsqu'elle est infusée dans le ventricule latéral.

HYPOTHESES DE TRAVAIL.

1. *Le modèle de sursaut acoustique permet la mise en évidence des effets anxiolytiques de substances classiques et des anxiolytiques de nouvelle génération.*

2. *Le modèle de sursaut acoustique est sélectif des tranquillisants mineurs.*

DEUXIEME PARTIE
SUJETS, MATERIEL ET METHODE

1. SUJETS EXPERIMENTAUX.

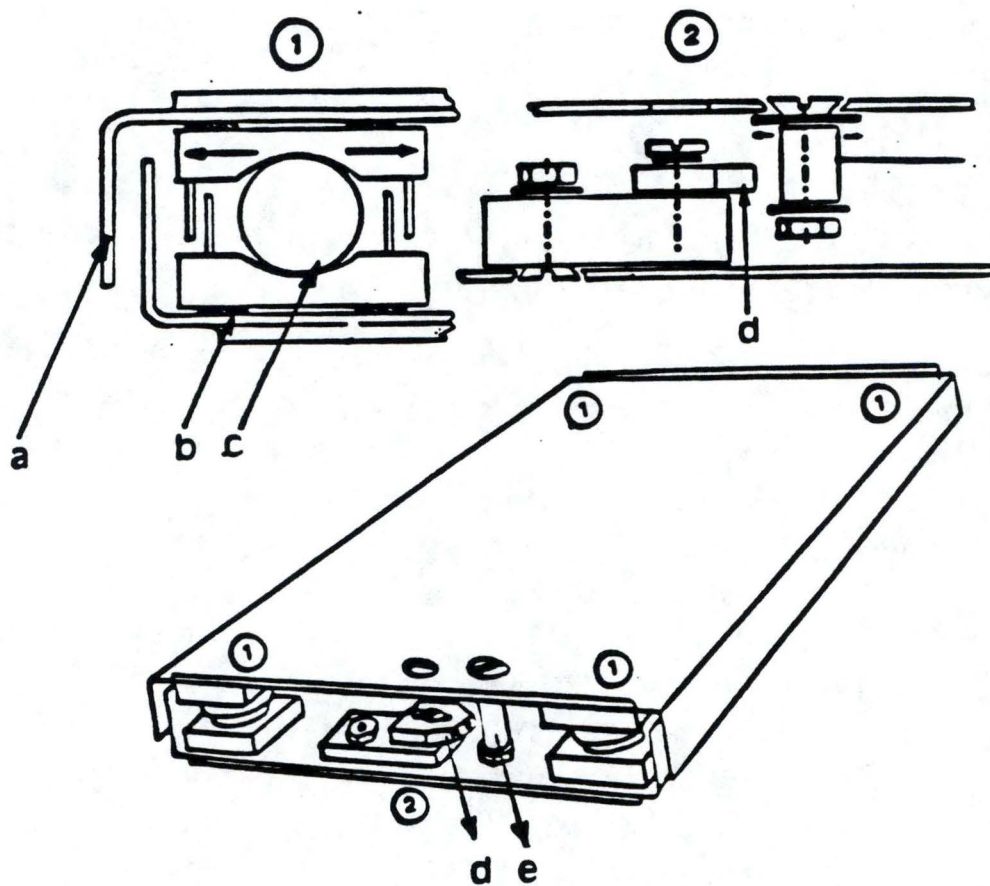
Pour chaque expérience, 20 rats mâles albinos de souche Wistar ont été utilisés. Ces rats sont nés au laboratoire et ont été sevrés à l'âge de 23 jours.

Le rat a été choisi pour réaliser ces expériences parce qu'il présente des avantages. Sa prolificité permet d'examiner un grand nombre d'individus en un laps de temps réduit. Il représente un sujet d'études fréquent dans les tests d'anxiété. Dès lors, une littérature abondante est disponible à son sujet.

Les femelles ont été écartées au profit des mâles, pour éviter que le cycle d'ovulation n'interfère avec l'activité et la réactivité des animaux.

Les rats utilisés dans ces tests, sont âgés d'environ 180 jours. Dès l'âge de 70 jours, l'animal est considéré comme adulte c-à-d mature du point de vue des fonctions sexuelles et cérébrales. Son répertoire comportemental est complet et ses rythmes internes sont stabilisés (Bolles et Woods, 1964; Richter, 1971). De plus, à partir de 70 jours, le rat présente un rythme circadien dans sa réponse de sursaut (Horlington, 1970). En fait l'amplitude de la réponse de sursaut acoustique est soumise à une modulation continue au cours de la journée. L'amplitude de sursaut maximale est mesurée au milieu de la période d'obscurité et l'amplitude minimale, au milieu de la période de luminosité (Chabot et Taylor, 1992).

Après leur sevrage, les rats sont placés en cages collectives. Chaque cage regroupe tous les individus d'une même portée. Les rats sont alimentés ad libitum et éclairés par la lumière naturelle. Ensuite, ils sont placés par 10 dans des cages collectives dans un local isolé des perturbations extérieures. La lumière est contrôlée: 12 heures d'obscurité et 12 heures de lumière. Ce modèle 12/12 correspond bien au mode de vie du rat et les heures ont été adaptées afin de faire correspondre la phase d'activité avec les heures de test. Le changement de local s'effectue 30 jours avant le test, ce qui



Plateau capteur de vibrations.

- 1- Roulement à billes.
 a - plateau supérieur
 b - plateau inférieur
 c et d - support en PVC
 e - bille
 f - lamelles de plastic

- 2-Processus de détection des vibrations.
 b - miroir amplificateur
 c - composant combinant une diode

Figure 37: Représentation du plateau capteur de vibrations (actomètre).

permet aux rats de se synchroniser sur le nouveau cycle imposé. Les rats ont besoin en moyenne de 9 jours pour adopter un nouveau rythme circadien (Lievens et Knaepen, 1981). De plus, les rats mis en cages collectives s'adaptent plus vite que les rats isolés: ils se resynchronisent mutuellement (Crowley et Bovet, 1980). Enfin, quelques jours avant le test, les rats sont mis sur les plateaux capteurs de vibrations et se familiarisent avec ce nouvel environnement.

2. MATERIEL.

PLATEAUX CAPTEURS DE VIBRATIONS (ACTOMETRES).

Le plateau capteur de vibrations (actomètre) est un appareil de détection des mouvements du rat, qui est basé sur le principe d'inertie: une force appliquée sur un objet mobile entraîne la mise en mouvement de cet objet. Le plateau est monté sur des points d'appui qui offrent une résistance minimale. Il peut donc réagir à des mouvements de faible intensité et commencer une oscillation détectable. L'utilisation d'un roulement à billes permet d'obtenir une grande sensibilité et une grande indépendance vis-à-vis du poids et de la place occupée par l'animal car la résistance mécanique d'une bille minimise les variations inhérentes aux déplacements spatiaux de l'animal. L'appareil est formé de 2 plateaux d'aluminium renforcé (350 x 195 x 1.5 mm), connectés par 4 billes en acier de ± 20 mm (Figure 37). L'assemblage et le centrage des différents éléments sont réalisés après insertion de fines lamelles de mastic entre les plaques d'aluminium et le dos des supports en PVC. La cage est posée sur le plateau supérieur et l'activité musculaire du rat est transmise au plateau sous forme oscillatoire. L'oscillation est détectée par un composant combinant une diode émettrice d'un faisceau lumineux et un phototransistor captant le rayon, réfléchi sur une section cylindrique en chrome. Cette dernière visée perpendiculairement sur le plateau supérieur fonctionne comme un miroir amplificateur et produit des variations de voltages quand l'animal se met en

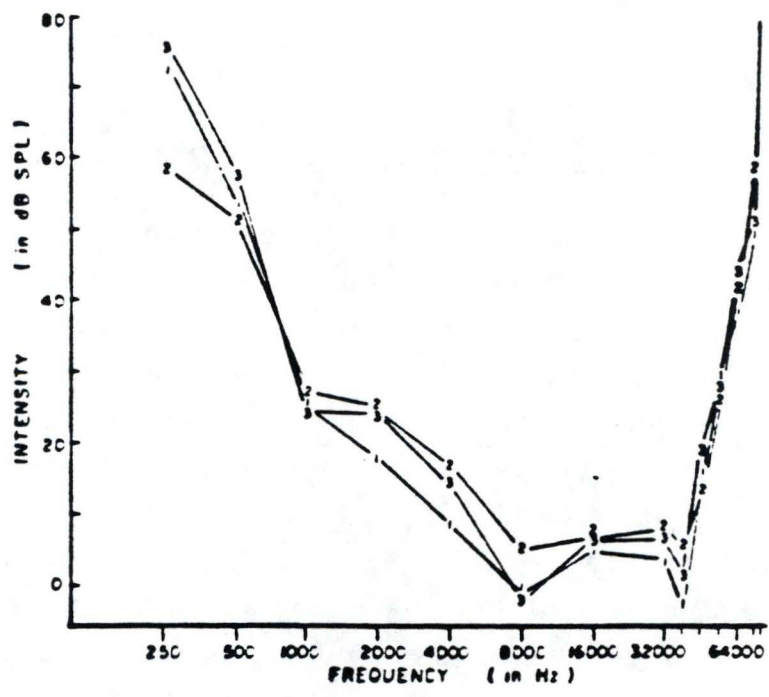


Figure 38: Audiogramme de trois rats albinos de souche "Sprague-Dawley". (Kelly and Masterton, 1977)

mouvement. L'ensemble des plateaux (nombre total = 40) est connecté à un ordinateur (PDP 11/23) qui cumule les impulsions pendant chaque intervalle de 2 secondes et les transmet au terminal.

Cette technique particulièrement sensible met en évidence les mouvements du rat et nous permet de détecter la réponse de sursaut produite par une stimulation acoustique.

3.METHODE.

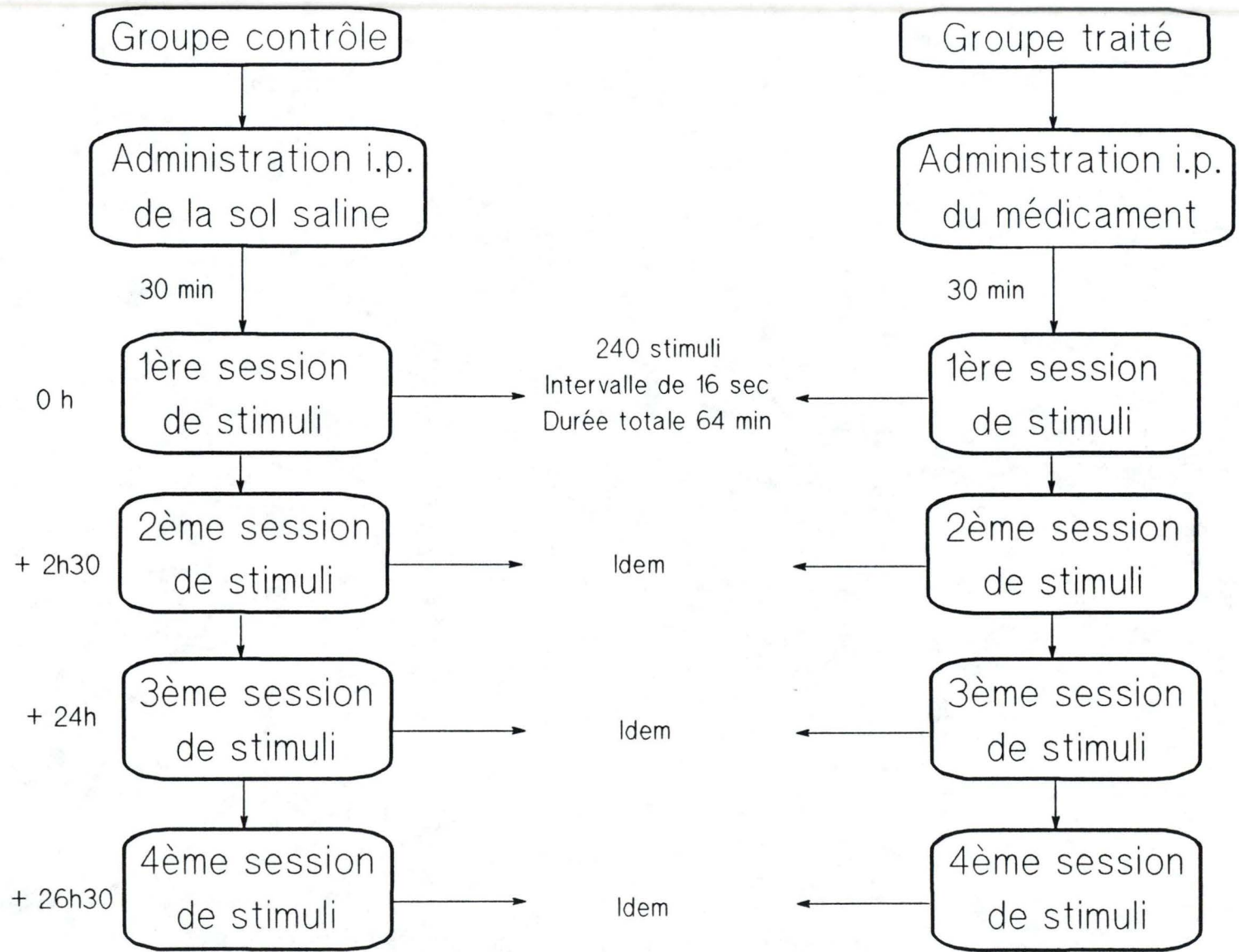
3.1.Déroulement du test de sursaut.

Ce test a pour but d'étudier l'effet de la substance médicamenteuse sur la réponse de sursaut produite par un son stressant. L'évolution de cet effet varie au cours du temps, notamment suite à l'élimination de la substance, il est donc intéressant de reproduire la session de stimuli stressants à plusieurs reprises. La répétition de ces sons peut engendrer chez l'animal, l'apparition du phénomène d'habituation à court et/ou à long terme.

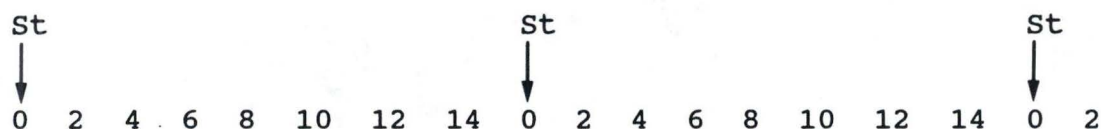
La première session de stimuli est programmée 30 minutes après l'administration du médicament. Elle dure 64 minutes (240 stimuli) et est suivie d'une seconde session 2 heures 30 plus tard. Ces 2 sessions sont reproduites intégralement, 24 heures plus tard.

3.2.Description du stimulus.

Le stimulus sonore est issu d'un générateur commandé par ordinateur. Etant donné que le rat est pourvu d'une sensibilité auditive comprise entre les fréquences de 250 Hz et 80 kHz avec 2 optima à 8 kHz et 38 kHz (Kelly et Masterton, 1977), le son utilisé aura une fréquence de 8 kHz (Figure 38). Ce son provient de hauts parleurs fixés à quelques centimètres au-dessus de chaque cage. Les sons durent 0.3 sec et ont une in-



tensité de 93 dB. La session dure 64 minutes. Elle consiste en la présentation de 240 stimuli, séparés de 16 secondes. L'enregistrement des mouvements des rats se fait en continu et le nombre d'impulsions est envoyé toutes les 2 sec vers le terminal.



Comme le stimulus est envoyé au temps 0, nous considérons que les mouvements enregistrés entre 0 et 2 représentent le sursaut. L'intervalle entre 2-6 sec est négligé car il ne représente plus que l'inertie faisant suite au sursaut et pas encore l'activité générale. L'activité générale est extraite de l'intervalle de 6 à 12 sec.

Afin de supprimer la variabilité liée à la sensibilité des différents actomètres, on calcule le rapport entre l'activité mesurée de 0 à 2 sec et l'activité mesurée de 6 à 12 sec. On considère qu'il y a bien eu sursaut lorsque ce ratio est supérieur ou égal à 1.2 (Jadoul, 1986).

3.3. Protocole expérimental.

20 rats naïfs sont répartis en 2 groupes de 10: un groupe placebo et un groupe traité. L'administration du médicament et de la solution saline est réalisée 30 minutes avant la séance. La séance correspondant à l'envoi de 240 stimuli séparés de 16 sec dure 64 minutes. Ensuite, 2 heures 30 plus tard (21h00), une seconde session identique à la première est programmée. Le lendemain aux mêmes heures, les rats sont à nouveau soumis à ces 2 sessions de stimuli. Ces sessions permettent d'étudier l'influence du médicament sur l'habituation à long terme.

3.4. Administrations médicamenteuses.

Parmi les anxiolytiques classiques, nous avons testé deux molécules de la famille des benzodiazépines, le diazépam et le

chlordiazépoxyde. Le diazépam (Valium[®]; 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5 mg/kg, IP) est disponible sous forme injectable dans des ampoules contenant 5 mg dans 1 ml. Le chlordiazepoxyde (Librium[®]; 1.25, 1.875, 3.75, 5.0 mg/kg, IP) est dissous dans une solution physiologique (Na Cl 0.9%). Les azaspiroones, anxiolytiques atypiques, sont représentées par la buspirone (Bristol-Myers-Squibb; 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5, 5.0 mg/kg, IP) et la gepirone (Bristol-Myers-Squibb; 0.625, 1.25, 2.5 mg/kg, IP) qui sont administrées après dissolution dans une solution physiologique (Na Cl 0.9%). Le FG7142, aux propriétés anxiogènes, (Research biochemicals Inc., 10.0, 20.0 mg/kg, IP) et la β -CCM (10 mg/kg) sont dissous dans du HCl puis tamponnés avec du NaOH. Les neuroleptiques comportent la classe des butyrophénones qui sont caractérisés par des propriétés anti-psychotiques importantes mais qui provoquent des effets extra-pyramidaux indésirables. L'halopéridol (Haldol[®]) qui fait partie de cette classe médicamenteuse, a été testée pour les doses de 0.025, 0.1 et 0.4 mg/kg après dissolution dans la solution physiologique.

3.5. Analyses statistiques.

Nous avons dans le cadre de ce travail, utilisé deux types de tests statistiques, qui nous permettent d'estimer l'effet des médicaments sur l'amplitude de sursaut et son évolution au cours du temps:

1. L'ANALYSE DE LA VARIANCE A 3 CRITERES.

Nous avons étudié l'amplitude de la réponse de sursaut en tenant compte de trois facteurs:

- la variabilité individuelle des rats.
- le traitement médicamenteux administré (différentes doses).
- les blocs de stimuli (10 stimuli/bloc soit 160 sec. /bloc).

| Facteurs | type de facteurs | Niveaux |
|-----------------|------------------|-----------|
| Rat | aléatoire | 10 |
| Traitement | fixe | variable* |
| bloc de stimuli | fixe | 6 |

* Le nombre de niveaux varie selon le médicament testé, de 2 à 7. Le facteur rat est hiérarchisé au facteur traitement.

Si le facteur traitement est significatif, nous en déduisons que le produit atténue ou amplifie le sursaut et présente donc une potentialité anxiolytique ou anxiogène (selon le sens de l'effet). Si le facteur bloc de stimuli (temps) est significatif, nous en concluons qu'il y a installation progressive du phénomène d'habituation à court terme.

2. LE T DE STUDENT PAIRE.

Ce test permet de mettre en évidence des différences entre les moyennes de deux populations. Nous réalisons ce test sur le premier point de la courbe entre les sessions 1-2, 2-3 et 3-4. Notre hypothèse est que la moyenne des différences est nulle. Si cette hypothèse est rejetée, nous pouvons affirmer que les rats au début de la session, n'ont plus la même amplitude de sursaut que dans la session précédente. Nous en déduisons qu'il y a habituation entre les deux sessions (habituation à long terme).

TROISIEME PARTIE
RESULTATS ET DISCUSSION.

Placebos

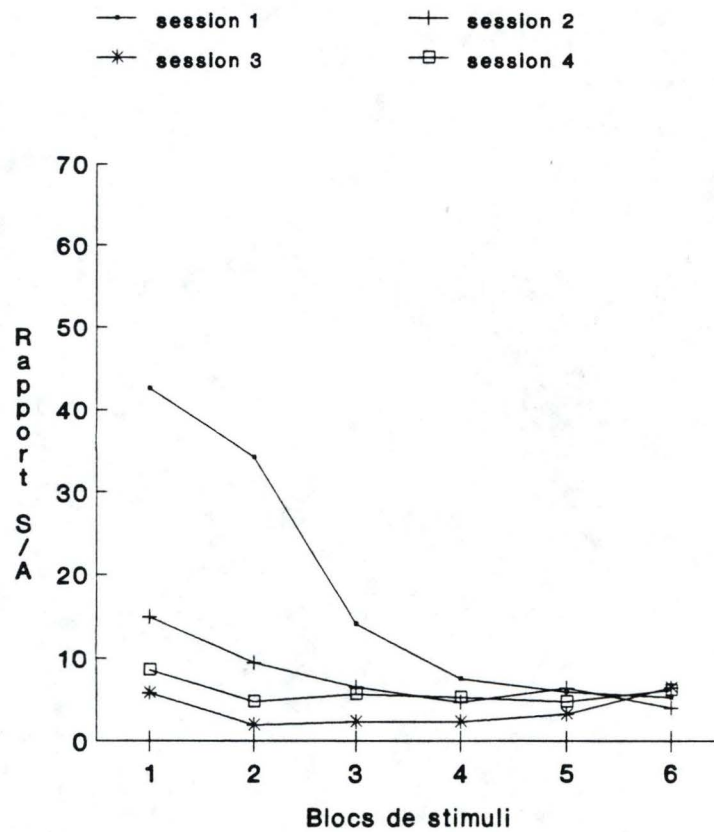


Figure 1: Evolution du rapport S/A pour le groupe placebo au cours des 4 sessions tests.

INTRODUCTION.

Dans ce chapitre, nous examinerons d'abord pour chaque médicament, l'allure générale des courbes ainsi que les résultats statistiques. Nous nous attacherons ensuite, à la discussion de ces résultats pour chaque famille de médicaments.

Les graphes repris ici, ne présentent l'évolution de la réponse de sursaut que sur les 6 premiers blocs de stimuli. Or, la session complète comprend 24 blocs de 10 stimuli. Nous avons décidé de ne considérer que ces 6 premiers blocs parce qu'après ces quelques 60 premiers stimuli, et ce, quel que soit le produit, les courbes se confondent et il n'est donc pas possible de mettre en évidence de différences significatives. Cet effet de rassemblement des courbes au-delà du septantième stimulus atteste que pour l'ensemble des produits, qu'ils soient reconnus anxiolytiques ou anxiogènes, l'habituation à court terme est réalisée, et ce, dès la première session (session 1s).

1. Placebo.

Dans le cadre de notre travail, nous avons étudié l'évolution de la réponse de sursaut pour 5 groupes placebo. Nous avons réparti ces différents groupes dans le temps, afin de vérifier qu'aucun rythme de type saisonnier par exemple, n'intervenait. Les courbes obtenues sont en fait, très semblables; en effet, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence. Face à cette reproductibilité, nous avons choisi d'utiliser une seule courbe représentative de l'ensemble des sujets placebo.

Lors de la première session, l'amplitude de sursaut de ce groupe est importante et équivaut à 40 fois l'amplitude de l'activité générale (Figure 1). Progressivement, l'habituation à court terme joue son rôle et stabilise l'amplitude de la réponse à une valeur équivalente à 5 fois l'activité générale. Deux heures plus tard, lors du premier bloc de stimuli, l'amplitude de la réponse de sursaut est significativement ($t_9 = 3.861$; $p < 0.01$) atténuée par rapport à la première session

(rapport Sursaut/Activité générale = 15) (Figure 1). Cela signifie que quand les animaux sont remis en situation 2 heures 30 plus tard, ils conservent un acquis rapportable à l'habituation à long terme (Young et al., 1991), et l'amplitude de leur réponse en est atténuée. Vingt-quatre heures plus tard, l'amplitude de la réponse de sursaut est à nouveau diminuée ($t_9=2.652$; $p<0.05$), par rapport à la session 2 (Figure 1). L'amplitude à long terme semble donc bien installée. Ce phénomène est bien entendu toujours présent au cours de la quatrième session ($t_9=-1.887$; $p<0.05$) (Figure 1). Nous pouvons donc conclure de cette analyse qu'il y a, de session en session, une diminution d'amplitude qui suggère l'apparition du phénomène d'habituation à long terme.

2. Les benzodiazépines.

2.1. Résultats.

2.1.1. DIAZEPAM.

Trente minutes après l'injection intrapéritonéale, le diazépam se révèle déjà efficace. En effet, l'amplitude de sursaut de trois des groupes drogués est moindre que celle du groupe placebo (pour la dose de 2.5 mg/kg: rapport S/A=11; pour la dose de 1.25 mg/kg: rapport S/A=23; pour la dose de 0.625 mg/kg: rapport S/A=21; pour le placebo: rapport S/A=42) (Figure 2.1.A). La dose de 0.3125 mg/kg produit, lors du premier bloc de stimuli, une réponse supérieure (rapport S/A=53) à celle du placebo. Cependant, nous ne pouvons en déduire qu'il s'agit d'un effet potentialisant. Si nous observons l'évolution de cette dose au cours du temps, nous remarquons qu'elle évolue parallèlement à la courbe placebo. Cette dose est peut-être simplement inactive au point de vue moteur mais pas au point de vue anxiolytique, au cours de la première session.

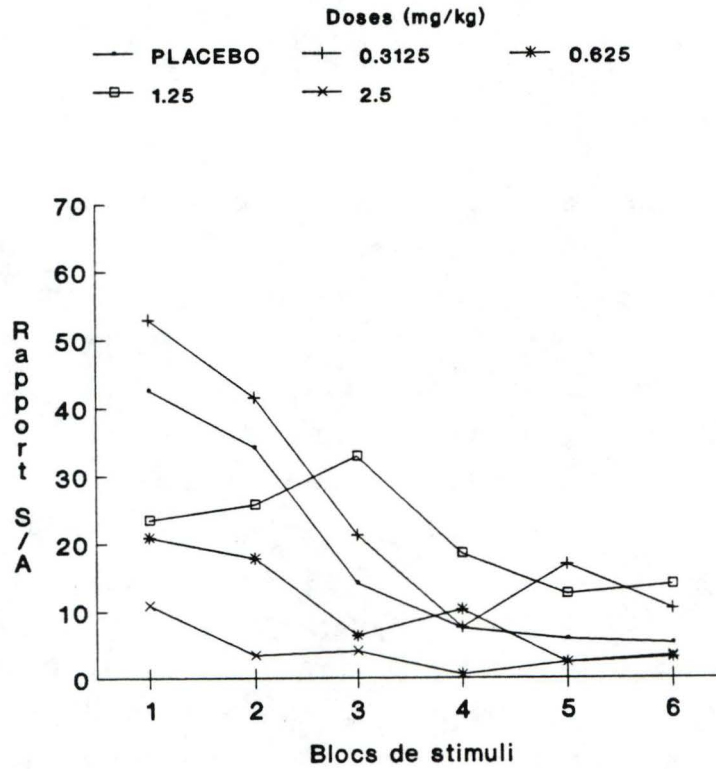
L'observation de la même courbe dans la deuxième session (Figure 2.1.B) confirme l'hypothèse d'une action anxiolytique seule puisque cette fois, la dose a un effet positif sur le sursaut. En fait, toutes les doses de diazépam administrées ont un effet positif sur le sursaut au cours de la deuxième session. L'analyse par Anova 3 montre qu'en fait, le facteur traitement est significatif pour les deux sessions (session 1: $F_{4.45}=3.38$; $p<0.05$ - session 2: $F_{4.45}=5.91$; $p<0.01$). Le diazépam a donc un effet positif sur le sursaut comme l'ont déjà souligné Davis (1979,1992) et Young et al. (1991). Entre ces deux sessions espacées de 2 h.30 seulement, les rats ont déjà fait preuve d'habituation (pour la dose de 2.5 mg/kg: $t_9=1.985$; $p<0.05$ - pour la dose de 0.625 mg/kg: $t_9=2.339$; $p<0.05$ - pour la dose de 0.3125 mg/kg: $t_9=3.268$; $p<0.01$).

Vingt-quatre heures plus tard, les réponses de sursaut des rats drogués ne se distinguent pas de celles des rats placebo (Figure 2.2.A). Les valeurs du rapport S/A étant faibles pour

DIAZEPAM

session 1

A



DIAZEPAM

session 2

B

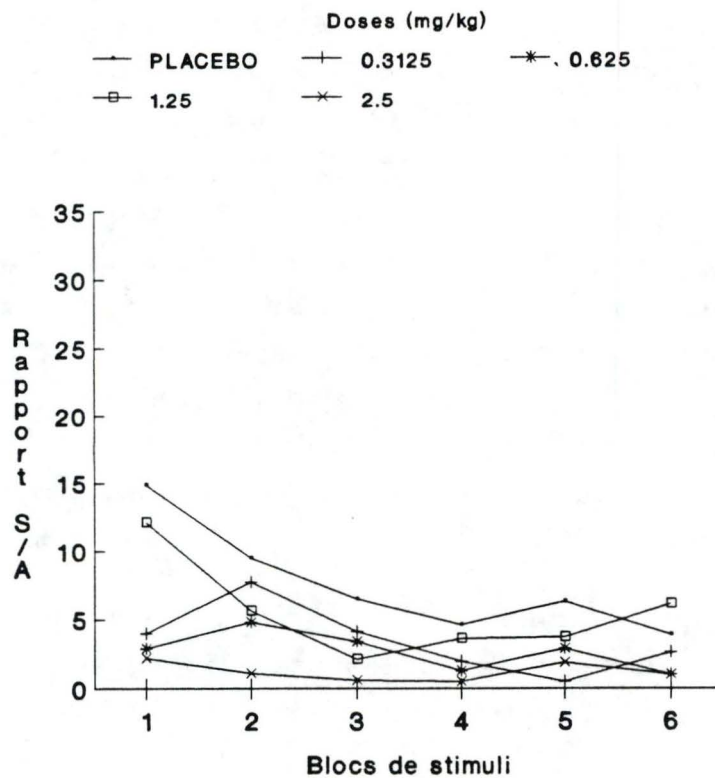
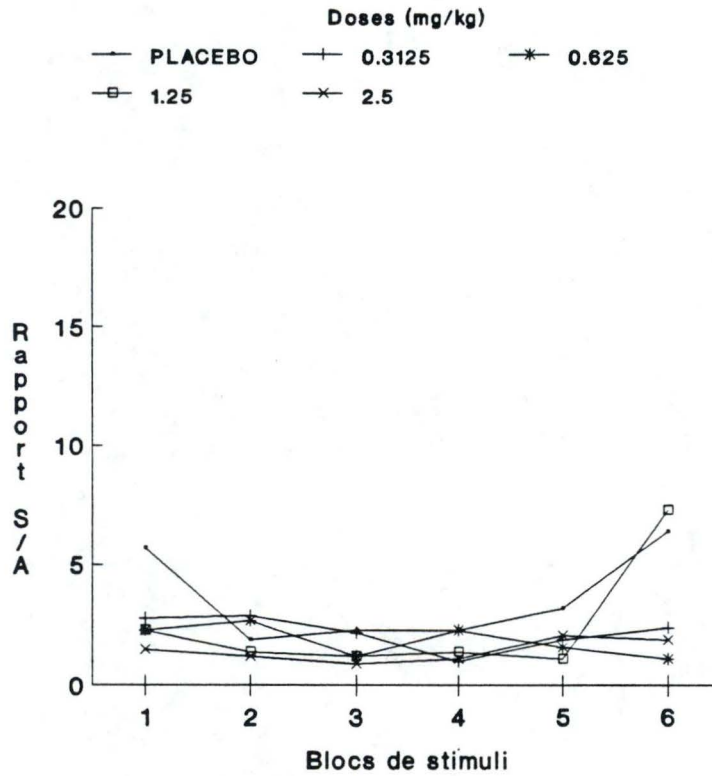


Figure 2.1: Evolution du rapport S/A pour les 4 groupes diazépam et le groupe placebo au cours de la session 1 (A) et de la session 2 (B).

DIAZEPAM

session 3



DIAZEPAM

session 4

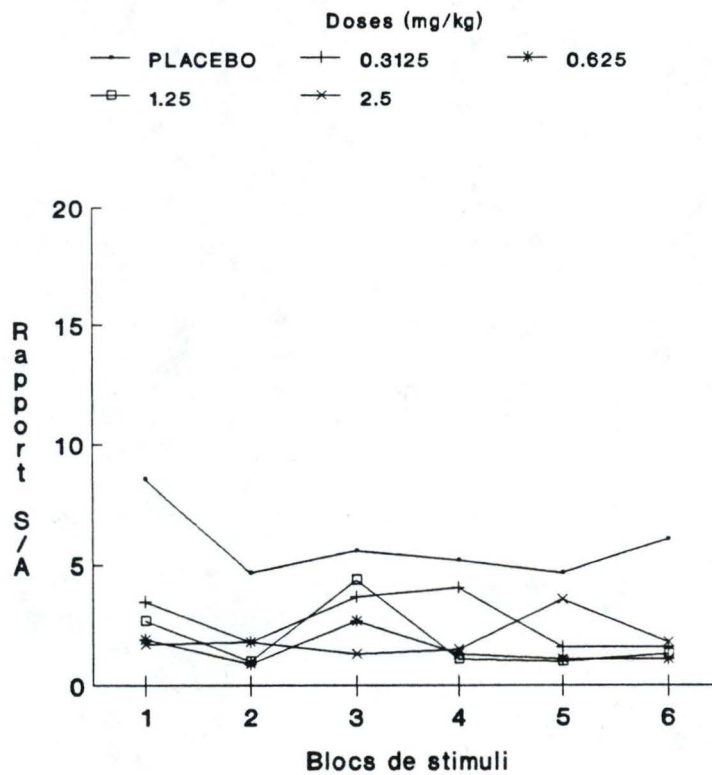


Figure 2.2: Evolution du rapport S/A pour les 4 groupes diazépam et le groupe placebo au cours de la session 3 (A) et de la session 4 (B).

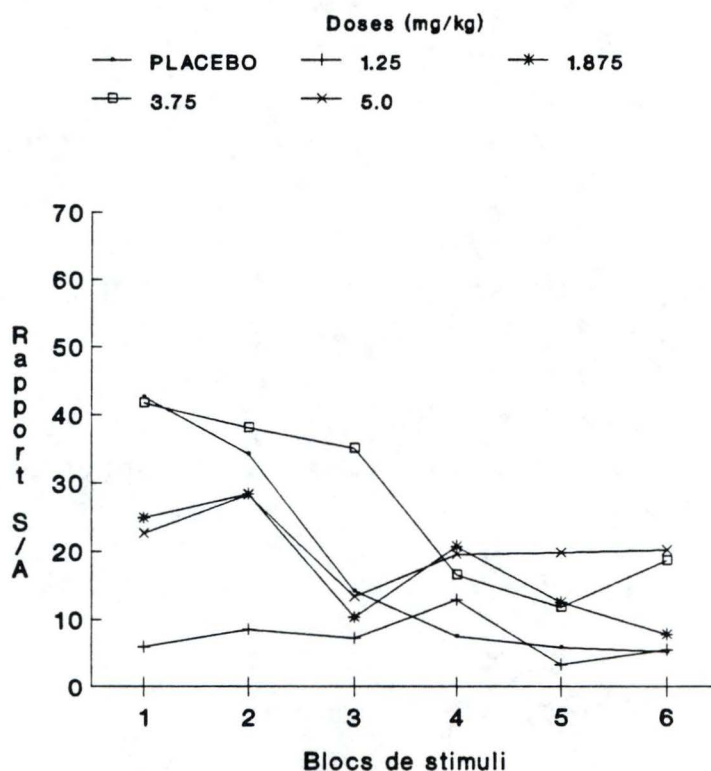
le premier bloc de la deuxième session, elles ne diminuent donc plus dans la troisième session sauf pour la courbe représentant l'effet de la dose de 1.25 mg/kg où le t de student vaut 1.836 ($df=9$; $p<0.05$). Lors de la dernière session les rats drogués ont à nouveau une amplitude de sursaut inférieure à celle des rats placebo (Figure 2.2.B). Le facteur traitement est significatif ($F_{4.45}=5.29$; $p<0.01$). Le facteur blocs de stimuli (temps) est significatif pour les trois premières sessions (session 1: $F_{5.225}=14.75$; $p<0.01$ / session 2: $F_{5.225}=3.88$; $p<0.01$ / session 3: $F_{5.225}=3.06$; $p<0.01$). Et l'interaction entre les deux facteurs est significative durant la première session ($F_{20.225}=2.05$; $p<0.01$).

2.1.2. CHLORDIAZEPOXIDE.

Lors de la première session, trois doses de chlordiazépoxyde ont un effet positif sur la réponse de sursaut. Ce sont les doses de 5 mg/kg (rapport S/A=23), de 1.875 mg/kg (rapport S/A=25), de 1.25 mg/kg (rapport S/A=6). La dose de 3.75 mg/kg est soit inactive soit légèrement potentialisante sur le sursaut (Figure 3.1.A). Le traitement a un effet significatif durant cette première session ($F_{4.45}=2.81$; $p<0.05$) ainsi que le facteur bloc de stimuli (temps) ($F_{5.225}=8.22$; $p<0.01$) et l'interaction entre les deux ($F_{20.225}=1.7$; $p<0.05$). L'effet significatif du traitement ne se maintient pas dans la session suivante. L'observation de la figure 3.1.B montre que la dose de 3.75 mg/kg conserve un effet négatif. Le facteur blocs de stimuli a un effet significatif ($F_{5.225}=2.45$; $p<0.05$). Entre les sessions 1 et 2, les rats ont développé une habituation qui est importante pour la dose de 5 mg/kg ($t_9=2.47$; $p<0.01$), pour la dose de 3.75 mg/kg ($t_9=3.807$; $p<0.01$) et la dose de 1.875 mg/kg ($t_9=2.266$; $p<0.05$). Dans la figure 3.2.A, il n'est pas possible de déceler un effet du traitement car toutes les courbes se confondent. Par contre, la dernière session montre que 3 doses (5 mg/kg: rapport S/A=2; 3.75 mg/kg: rapport S/A=6; 1.25 mg/kg: rapport S/A=1) ont un effet anxiolytique durant les 3 premiers blocs de stimuli (Figure 3.2.B). Ceci explique que le facteur traitement est à nouveau significatif ($F_{4.45}=3.54$; $p<0.05$).

CHLORDIAZEPOXIDE

A session 1



CHLORDIAZEPOXIDE

B session 2

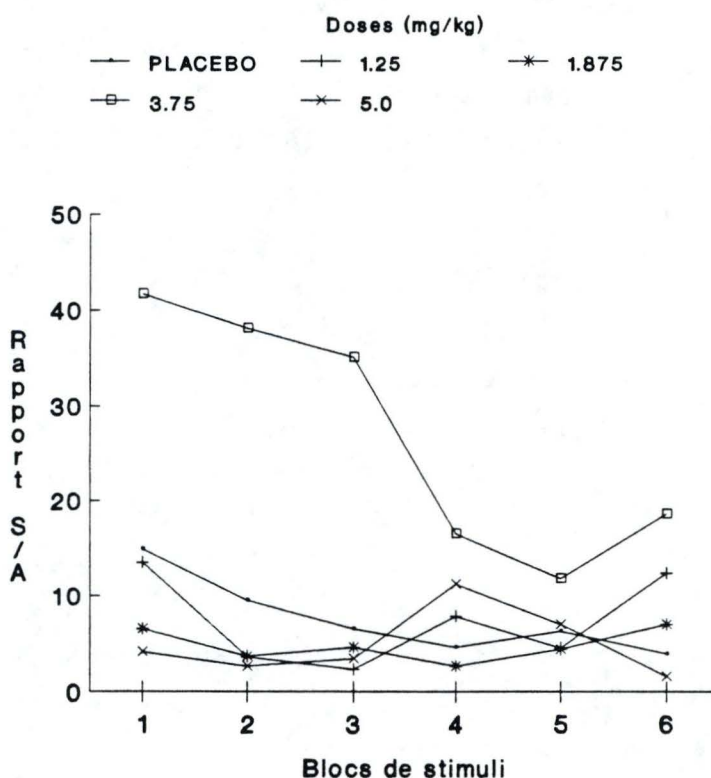
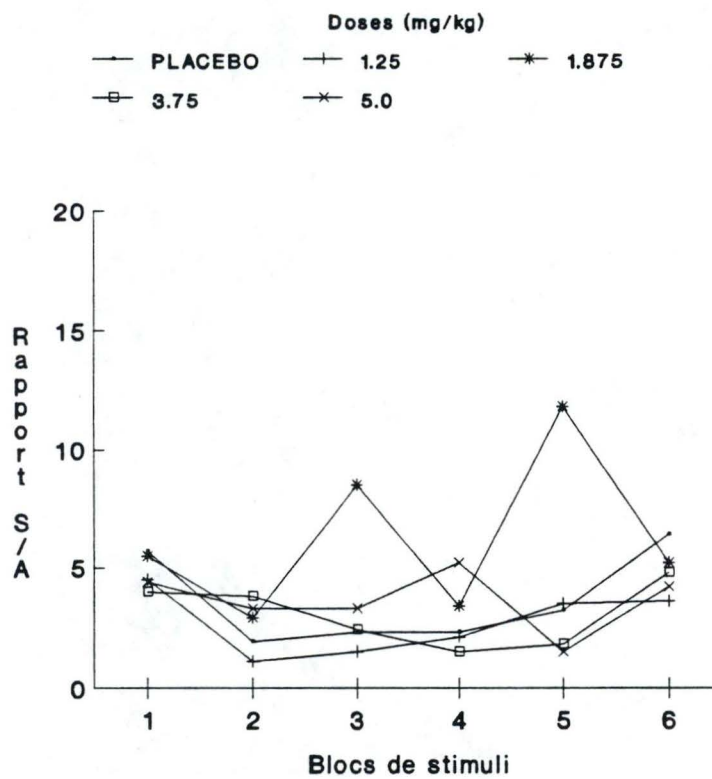


Figure 3.1: Evolution du rapport S/A pour les 4 groupes chlordiazépoxyde et le groupe placebo au cours de la session 1 (A) et de la session 2 (B).

CHLORDIAZEPOXIDE

A session 3



CHLORDIAZEPOXIDE

B session 4

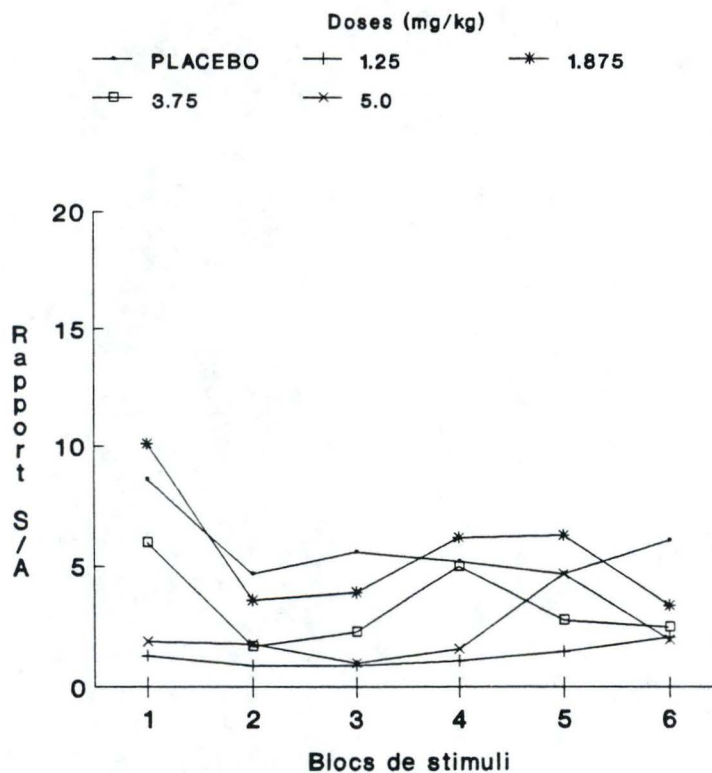


Figure 3.2: Evolution du rapport S/A pour les 4 groupes chlordiazépoxyde et le groupe placebo au cours de la session 3 (A) et de la session 4 (B).

2.2. Discussion.

Les résultats présentés ci-dessus confirment que les benzodiazépines ont une activité inhibitrice sur la réponse de sursaut (Davis, 1979, 1990, 1992; Berg and Davis, 1984; Young et al., 1991). Cependant, certaines doses semblent inactives ou potentialisantes au cours d'une session. La dose de 0.3125 mg/kg de diazépam pose ce problème, au cours de la première session. Pour tenter d'expliquer ce problème, nous sommes amenés à nous interroger sur les propriétés des benzodiazépines. Les composés benzodiazépiniques sont principalement anxiolytiques mais aussi relâchants musculaires, anticonvulsivants et sédatifs (Dodd et Rossier, 1988; Boulenger et al., 1989; Anseau, 1986). Ils ont donc un effet sur l'activité motrice à plusieurs niveaux et par conséquent sur le sursaut également. De plus, le test en open-field a montré que les benzodiazépines ont un effet biphasique sur l'activité motrice (Treit, 1985). En fait, les faibles doses ont un effet facilitateur sur l'activité motrice alors que les doses élevées ont un effet inhibiteur (Davies and Steinberg, 1984; Bruhwyler et al., 1990). Ces observations nous font penser que pour la dose de 0.3125 mg/kg, le diazépam a un effet facilitateur sur la locomotion et n'a semble-t-il pas encore, d'effet anxiolytique. Pour la dose de 2.5 mg/kg qui confère l'effet positif le plus marqué, il y a conjointement un effet moteur inhibiteur et un effet anxiolytique important.

Nous nous sommes intéressés ensuite à la dose de 1.25 mg/kg de diazépam. Dans la première session, cette dose a un effet positif sur les deux premiers blocs de stimuli. Ensuite, l'amplitude de sursaut de ces rats devient plus élevée que celle des rats placebo. Cette variation d'effets au cours de la session pourrait notamment s'expliquer par l'effet biphasique des benzodiazépines. Nous savons que les faibles doses ont un effet facilitateur sur l'activité motrice et que les fortes doses ont un effet inhibiteur. Si nous considérons l'évolution de la concentration des substances dans l'organisme, suite à l'élimination naturelle, une dose forte lors de l'injection, devient de plus en plus faible au cours du temps.

Donc la substance qui, au départ a un effet inhibiteur sur la locomotion suite à la sédation ou la relaxation musculaire qu'elle induit, devient peu à peu facilitatrice.

Le chlordiazépoxyde a lui aussi un effet biphasique sur la locomotion semblable à celui du diazépam (Bruhwyler, 1990). Il est donc normal de trouver pour ce médicament, le même phénomène que pour la dose de 1.25 mg/kg de diazépam. Dans la deuxième session, la dose de 1.25 mg/kg a d'abord un effet positif sur le sursaut pour les trois premiers blocs, puis il y a augmentation de l'amplitude. Et au terme des six blocs de stimuli, le niveau de la réponse de sursaut est le même qu'au début de la session (rapport S/A=14). Dans la troisième session, c'est la dose de 1.875 mg/kg qui manifeste une activité facilitatrice, après le deuxième bloc.

Pour le chlordiazépoxyde et le diazépam, le facteur traitement est non significatif, pour la troisième session. En fait, 24 heures après l'injection, les effets moteurs induits par les benzodiazépines ne doivent plus être présents. Il ne reste donc qu'un effet anxiolytique qui permettrait le développement d'une forte habitude. Young et al. (1991) ont étudié le phénomène d'habitude au cours de 4 jours de test. Dès le premier jour, au cours d'une session, l'habitude apparaît et se développe durant les trois jours suivants. C'est la dose de 2.5 mg/kg qui produit la plus forte diminution de l'amplitude de sursaut, comme dans notre expérience. La dose de 1.25 mg/kg est proche de l'inactivité lors du premier essai. Lors du deuxième jour, l'effet de la dose de 1.25 mg/kg est intermédiaire entre celui des deux autres doses.

Dans notre expérience, 24 h. après la première session, nous observons la convergence des courbes de toutes les doses. Et nous ne pouvons déduire de nos graphes, un effet dose-dépendant. La convergence des niveaux de réponse des différents groupes se fait lorsque l'animal s'habitue au stimulus de sursaut et que ce stimulus perd sa capacité de produire la peur. Il est donc possible que le diazépam agisse à deux niveaux c-à-d en réduisant la peur et en facilitant l'habitude.

Dans notre test, l'anxiété est produite par un stimulus acoustique soudain qui se répète régulièrement. Les benzodiazépines agissent donc en diminuant la réponse de sursaut par leur activité anxiolytique ainsi que par la relaxation musculaire et la sédation qu'elles induisent. De plus, elles atténuent la sensibilité de l'animal au stimulus, ce qui entraîne l'apparition de l'habituation à long terme. En effet, les récepteurs benzodiazépiniques de haute affinité, sont localisés dans les aires d'entrée et de codage des stimuli sensoriels et émotionnels. Ces aires, à savoir le colliculus inférieur et le noyau ventral du lemniscus latéral, assurent aussi le contrôle du comportement moteur. La correspondance de ces aires montre que les récepteurs benzodiazépiniques jouent un rôle stratégique pour moduler la perception des stimuli environnementaux et pour modifier la réactivité à ces stimuli (Walsh et al., 1986).

3. Les azaspirones.

3.1. Résultats.

3.1.1. BUSPIRONE.

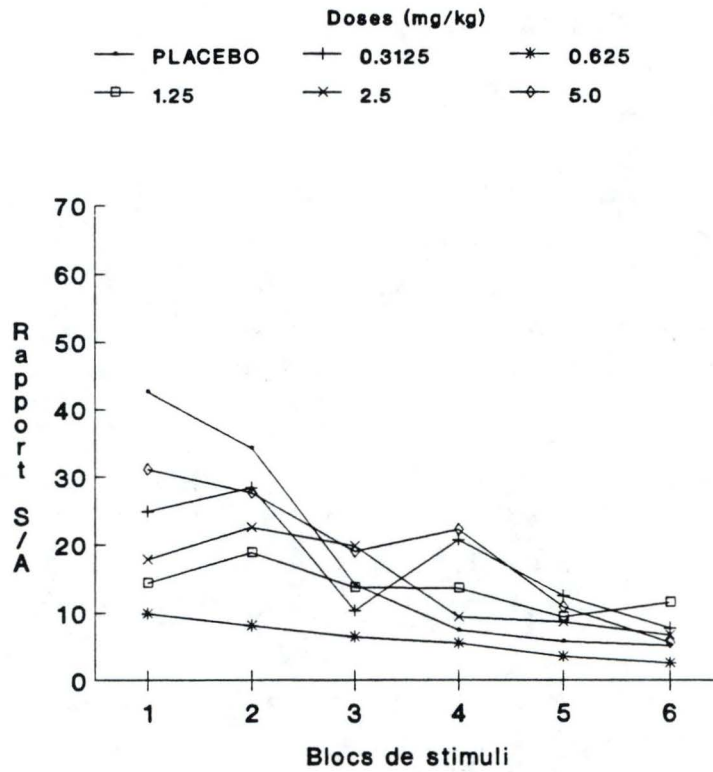
Dans la première session, les rats traités à la buspirone ont une amplitude de sursaut inférieure à celle du placebo sur les 20 premiers stimuli. Par la suite, les différentes courbes se confondent (Figure 4.1.A). Au cours de cette session, seul le facteur blocs de stimuli est significatif ($F_{5,270}=13.73$; $p<0.01$). Durant la deuxième session, on peut observer sur les premiers stimuli, un effet biphasique: trois doses sont supérieures au placebo (placebo: rapport S/A=15 ; dose de 5 mg/kg: rapport S/A=24 ; dose 2.5 mg/kg: rapport S/A=19 ; dose 1.25 mg/kg: rapport S/A=17), les deux autres sont inférieures (dose 0.625 mg/kg: rapport S/A=4 ; dose 0.3125 mg/kg: rapport S/A=7) (Figure 4.1.B). Kehne et al. (1988) ont montré que l'amplitude de sursaut est liée de façon non monotone à la dose de buspirone administrée. Le facteur traitement est significatif ($F_{5,54}=2.87$; $p<0.05$) ainsi que le facteur blocs de stimuli (temps) ($F_{5,270}=5.75$; $p<0.01$). Entre ces deux premières sessions, seules les doses de 0.625 mg/kg et de 0.3125 mg/kg autorisent une habitude (dose de 0.625 mg/kg: $t_9=2.229$; $p<0.05$ - dose de 0.3125 mg/kg: $t_9=3.041$; $p<0.01$).

Vingt-quatre heures plus tard, l'effet négatif de certaines doses continuent à se manifester (Figure 4.2.A). Les études réalisées sur la buspirone par Kehne et al. (1988) ont montré que ce composé est capable de bloquer le sursaut potentialisé. Cependant, il n'a pas le même effet lorsque le sursaut est produit par des sons seuls. En effet, il augmente l'amplitude de la réponse de sursaut et ce, pour des doses de l'ordre de 0.6 à 10 mg/kg. Les résultats présentés ici confirment ces observations. Dans cette troisième session, le facteur traitement est significatif ($F_{5,54}=2.91$; $p<0.05$). Mais il est difficile à partir du graphe de déceler un effet positif du médicament. Le facteur blocs de stimuli est significatif ($F_{5,270}=6.67$; $p<0.01$) et l'interaction traitement x blocs de stimuli l'est aussi ($F_{25,270}=2.82$; $p<0.01$).

BUSPIRONE

session 1

A



BUSPIRONE

session 2

B

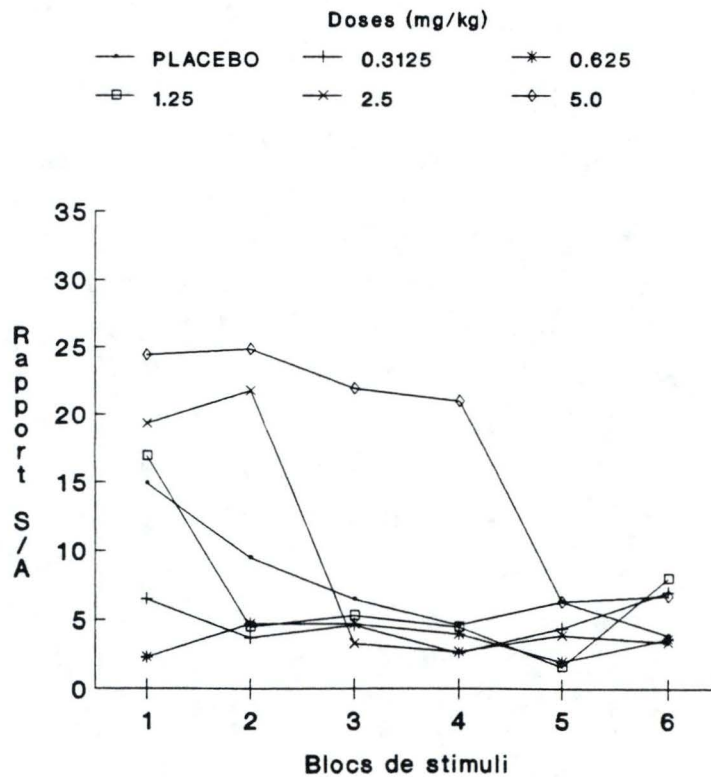
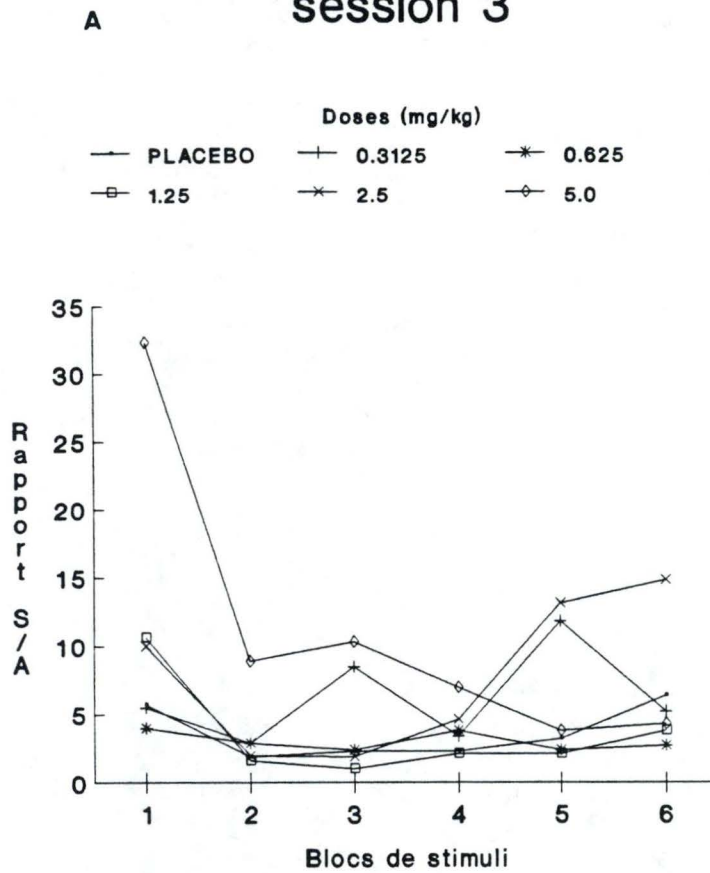


Figure 4.1: Evolution du rapport S/A pour les 5 groupes buspirone et le groupe placebo au cours de la session 1 (A) et de la session 2 (B).

BUSPIRONE

session 3



BUSPIRONE

session 4

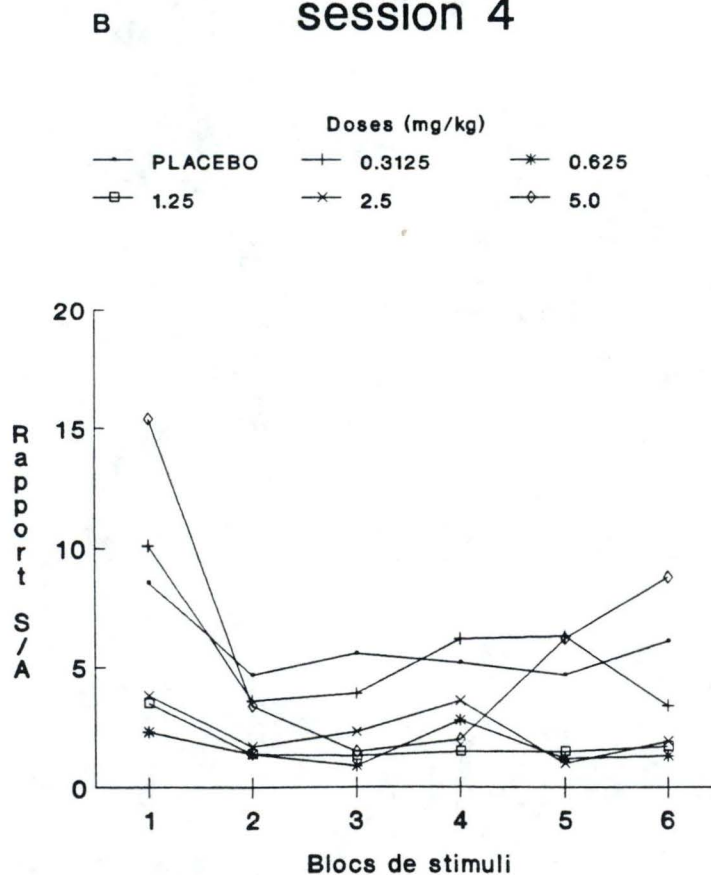


Figure 4.2: Evolution du rapport S/A pour les 5 groupes buspirone et le groupe placebo au cours de la session 3 (A) et de la session 4 (B).

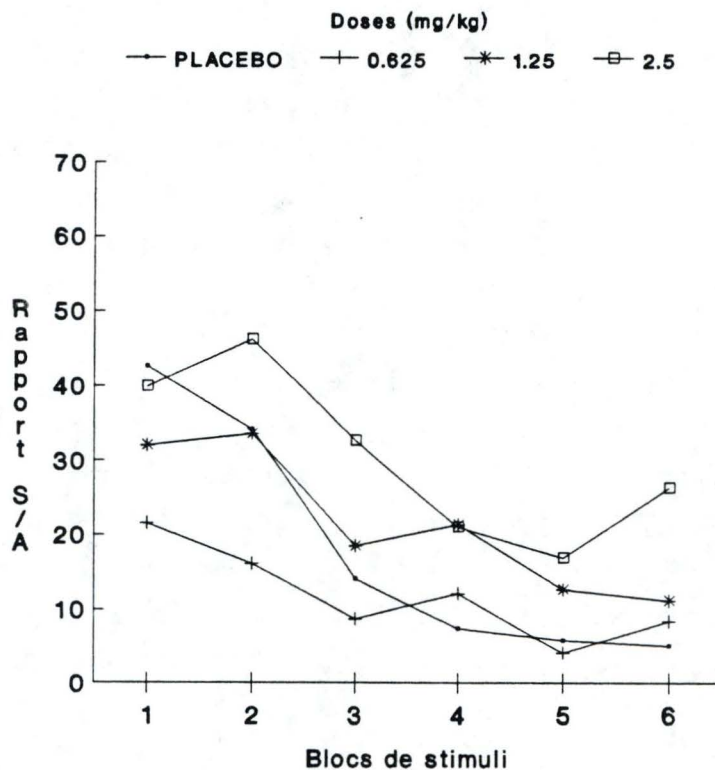
Dans la dernière session (Figure 4.2.B), dès les premiers stimuli, 3 doses ont un effet positif (2.5 mg/kg; 1.25mg/kg et 0.625 mg/kg). Le facteur traitement est significatif ($F_{5.54}=5.59$; $p<0.01$) et le facteur blocs de stimuli l'est aussi ($F_{5.270}=4.25$; $p<0.01$). Après la quatrième session, les rats ne se sont toujours pas habitués au stimuli. Pour les benzodiazépines, le facteur temps n'est plus significatif lors de cette dernière session, ce qui montre que le comportement du rat n'est plus affecté par les blocs de stimuli. Par contre, dans le cas de la buspirone, l'interaction entre les deux facteurs est significative ($F_{25.270}=1.68$; $p<0.05$). Entre les 2 dernières sessions, il y a habituation pour la buspirone aux doses de 5 mg/kg ($t_9=1.789$; $p<0.05$) et de 2.5 mg/kg ($t_9=2.037$; $p<0.05$). Seules quatre doses ont un effet sur l'habituation à long terme mais celle-ci ne se développe pas directement entre les sessions 1 et 2, comme pour les benzodiazépines.

3.1.2.GEPIRONE.

Dans la première session, la dose la plus forte à savoir 2.5 mg/kg, semble la plus défavorable tout au long de la session (Figure 5.1.A). Les deux autres doses ont pour le premier bloc, un effet positif (dose 1.25 mg/kg: rapport S/A=32 ; dose 0.625 mg/kg: rapport S/A=22). Le facteur traitement est non significatif pour cette session, mais le facteur blocs de stimuli est significatif ($F_{5.180}=16.99$; $p<0.01$). La dose de 2.5 mg/kg conserve un effet négatif au cours de la deuxième session alors que la dose de 0.625 mg/kg a un effet positif marqué. Même si le traitement est significatif ($F_{3.36}=2.89$; $p<0.01$), il est difficile de dégager l'activité réelle de la gepirone sur le sursaut, au cours de la session (Figure 5.1.B). Le facteur temps est significatif ($F_{5.180}=6.71$; $p<0.01$). Entre les 2 sessions, pour les doses de 1.25 mg/kg et 0.625 mg/kg, le t de student est significatif ($t_9=5.130$; $p<0.01$ - $t_9=2.392$; $p<0.05$). Ces résultats montrent qu'il y a habituation entre les 2 sessions puisque l'amplitude de la réponse de sursaut diminue pour ces 2 groupes.

GEPHIRONE

session 1



GEPHIRONE

session 2

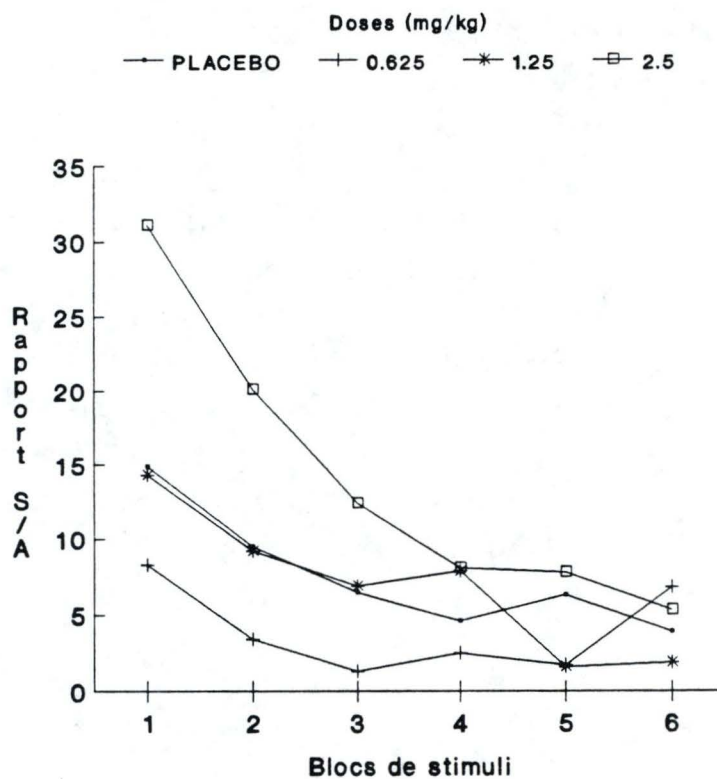
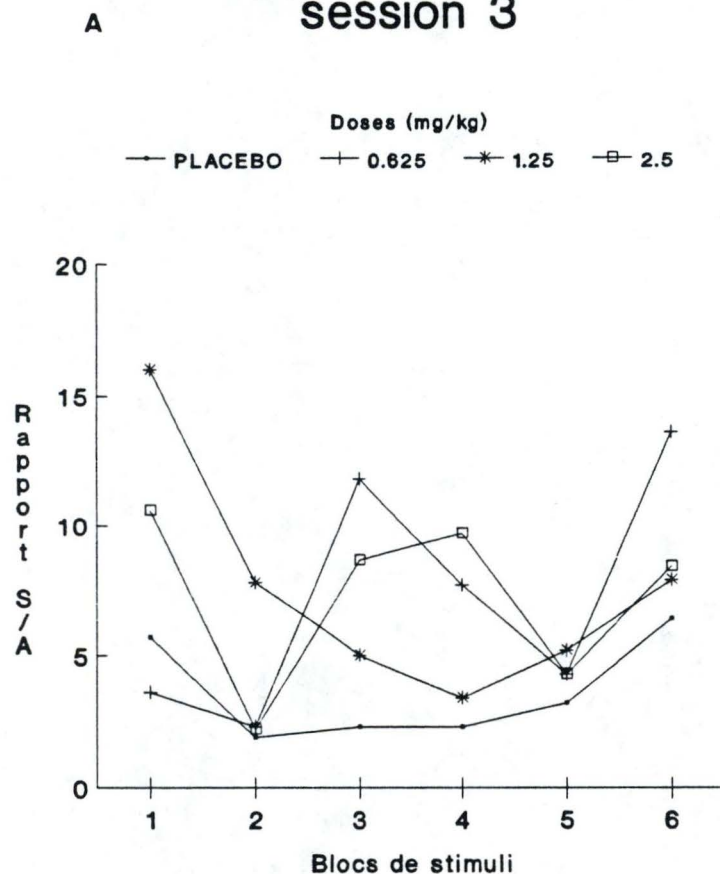


Figure 5.1: Evolution du rapport S/A pour les 3 groupes gepirone et le groupe placebo au cours de la session 1 (A) et de la session 2 (B).

GEPHIRONE

session 3



GEPHIRONE

session 4

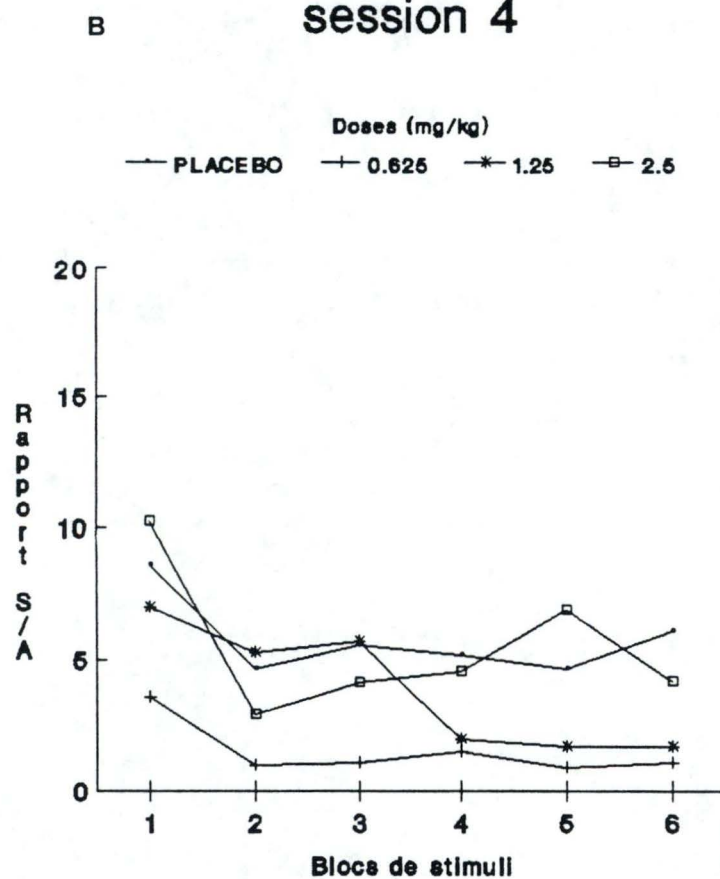


Figure 5.2: Evolution du rapport S/A pour les 3 groupes gepirone et le groupe placebo au cours de la session 3 (A) et de la session 4 (B).

Le facteur traitement est non significatif dans la troisième session, mais le facteur blocs de stimuli est significatif ($F_{5,180}=2.32$; $p<0.05$). Après convergence des doses de 2.5 mg/kg et 0.625 mg/kg, en un point lors du deuxième bloc de stimuli, les courbes divergent et restent supérieures à celle représentant le groupe placebo (Figure 5.2.A). Au cours de la dernière session, la dose de 0.625 mg/kg manifeste une activité anxiolytique que ne présentent pas les 2 autres doses, proches de l'inactivité (Figure 5.2.B). Tout au long de cette session, le facteur blocs de stimuli est significatif ($F_{5,180}= 2.52$; $p<0.05$). Il y a donc eu habitude à court terme.

3.2.Discussion.

Le modèle du sursaut non potentialisé ne permet pas de mettre en évidence une activité anxiolytique importante de la famille des azaspirones, alors que nous savons que ces substances qui ont subi des tests cliniques, ont un effet anxiolytique chez l'homme. Certains chercheurs ont étudié, comme nous, la buspirone et la gepirone dans le modèle du sursaut potentialisé. Mansbach et Geyer (1988) ainsi que Kehne et al. (1988) ont montré que la buspirone et la gepirone sont capables de bloquer le sursaut potentialisé pour des doses de 0.6 et 10 mg/kg. Les deux équipes ont aussi mesuré l'effet de ces mêmes substances lorsque le sursaut est produit par un son seul. Ils ont alors observé que les azaspirones augmentaient l'amplitude de sursaut. Kehne et al. (1988) suggèrent que l'effet potentialisateur produit par ces médicaments, n'est pas lié à l'activité anxiolytique de ces médicaments mais qu'il est produit par un changement dans la transmission 5-HT. En fait, la 5-HT augmente la réponse des neurones moteurs (White and Neuman, 1980). Donc, les agonistes 5-HT_{1A} peuvent faciliter la réponse des neurones moteurs (Davis, 1986). Le modèle du sursaut potentialisé n'est pas le seul qui ne révèle pas clairement l'effet anxiolytique des différentes substances. En effet, l'étude de la buspirone par exemple, dans les différents modèles animaux a fait apparaître des effets disparates (Broekkamp et al., 1989). L'elevated plus-maze est un labyrinthe formé de 2 bras ouverts et 2 bras fermés. Le rat est confronté à un conflit entre l'envie d'explorer ce nouvel environnement et la peur des espaces ouverts. L'étude des agents 5-HT_{1A} dans ce test a montré que leurs effets sont proches de ceux des anxiogènes (Pellow et al., 1987). Dans le modèle d'interaction sociale, deux rats placés dans une même arène expérimentale, interagissent par grooming, sniffing, etc. Ces comportements diminuent lorsque ces animaux se trouvent dans un environnement non familier. Certains affirment que la buspirone a un effet positif dans ce test (Gardner, 1985) alors que d'autres pensent qu'elle est inactive (File, 1985). Elle manifeste un effet anticonflit chez les rongeurs (Pich and Samanin, 1986). Mais le niveau d'activité est faible et la gam-

me de doses actives est très étroite. Pour expliquer ce problème, nous avons deux hypothèses: soit les azaspiroones sont de faibles anxiolytiques qui ont des effets qualitativement différents de ceux des benzodiazépines; soit les modèles de l'anxiété disponibles actuellement, ne sont pas totalement prédictifs de l'activité anxiolytique que ces substances ont chez l'homme. En fait, les modèles les plus couramment usités ont été optimisés pour les benzodiazépines et ne sont pas aptes à détecter une activité plus subtile d'autres agents (Haefely, 1989).

Soubrie et Thiebot (1986) ont suggéré que les azaspiroones étaient plus efficaces contre l'anxiété liée à un stress non contrôlable plutôt que contre l'anxiété due à des événements aversifs contrôlables (anxiété anticipatoire). Cela soulève le débat de l'existence de différents types d'anxiété chez l'homme. Selon le DSM III (Diagnostic and statistical Manual of Mental Disorders), les troubles anxieux peuvent être classés en plusieurs affections. L'anxiété généralisée est caractérisée par une attente craintive et l'exploration hypervigilante de l'environnement. L'anxiété peut se manifester sous formes de crises d'angoisse. Ces crises sont des périodes d'appréhension ou de crainte accompagnées de palpitations, de sudations, de tremblements, ... Les phobies peuvent être de plusieurs types: phobie sociale (peur d'une situation), agoraphobie (peur de se trouver seul), phobie simple (peur d'un objet, d'une situation). Les obsessions-compulsions sont définies par des idées obsédantes et des comportements destinés à produire ou empêcher un événement. Et enfin, l'anxiété post traumatique est un état anxieux qui apparaît suite à un événement stressant majeur (Ansseau, 1986). Face à ces différents types d'anxiété, nous comprenons la difficulté de mettre au point des modèles animaux correspondants. La répétition d'un stimulus acoustique ne produit qu'une anxiété transitoire, non soutenue. L'anxiété induite de cette façon ne peut être considérée que comme spécifique de la situation plutôt que comme généralisée (Palfreyman and Kehne, 1991). De fait, Walsh et al. (1986) ont étudié l'effet du chlórdiazépoxide sur le sursaut et ont conclu que la benzodiazépine agit sur

la réponse émotionnelle due à la situation nouvelle du test.

En fait, pour parvenir à modéliser l'anxiété chronique, généralisée, Palfreyman et Kehne affirment qu'il serait intéressant d'utiliser des animaux qui ont été sélectionnés pour leurs hauts niveaux d'anxiété, la souche Maudsley Reactive par exemple (Broadhurst, 1975). Ces rats adultes montrent des réponses de sursaut très élevées (Commissaris et al., 1988). Leur utilisation serait justifiée dans un autre modèle: le modèle de vocalisation induite par la séparation. Car les rats jeunes de cette même souche, lorsqu'ils sont séparés de leurs mères, émettent des vocalisations très élevées.

4. Les β -carbolines.

4.1. Résultats.

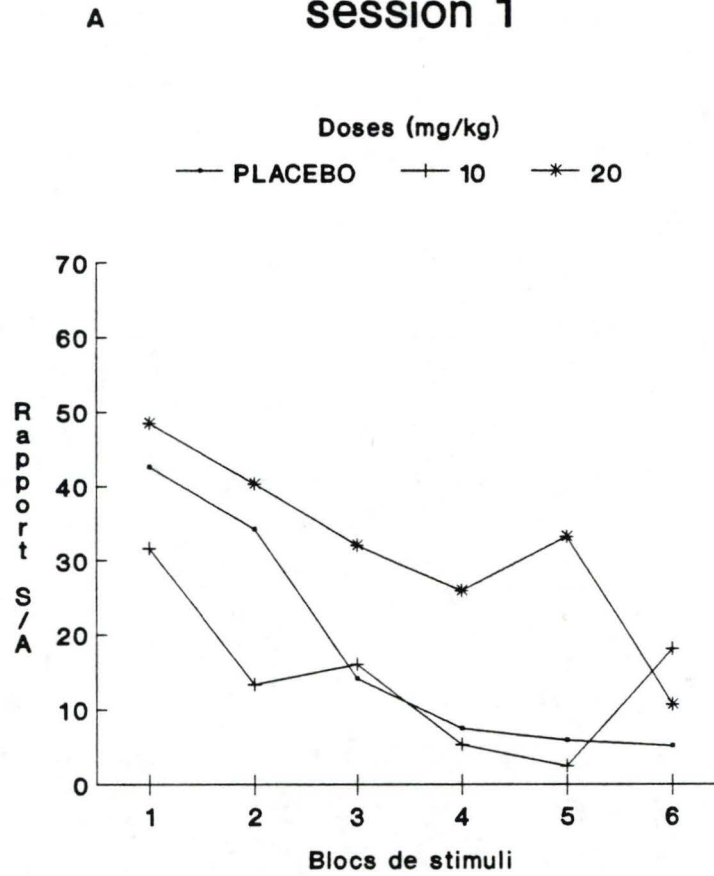
4.1.1. FG7142.

Le FG7142, considéré comme anxiogène, ne montre pas dans la première session, d'activité potentialisante importante (Figure 6.1.A). D'ailleurs, le facteur traitement à ce niveau, est non significatif. Le facteur blocs de stimuli (temps) est significatif ($F_{5.135}=12.85$; $p<0.01$) ainsi que l'interaction ($F_{10.135}=2.11$; $p<0.05$). L'effet potentialisateur se manifeste deux heures trente plus tard pour la dose de 20 mg seulement ($F_{2.27}=4.71$; $p<0.01$). Comme nous pouvons l'observer sur la figure 6.1.B, le FG7142 est capable d'augmenter le sursaut non potentialisé (rapport S/A=36 pour la dose de 20 mg/kg; rapport S/A=15 pour le placebo). Ceci n'est pas étonnant puisque nous savons que ce composé a des propriétés anxiogènes dans d'autres modèles animaux de l'anxiété. Au cours de cette session, le facteur temps est significatif ($F_{5.135}=6.87$; $p<0.01$). Entre ces deux premières sessions, il y a habituation ($t_9=1.917$; $p<0.05$) pour la dose de 10 mg/kg.

Vingt-quatre heures plus tard, le traitement est toujours significatif ($F_{2.27}=15.49$; $p<0.01$). La dose de 20 mg/kg conserve un effet nettement négatif (rapport S/A=52 pour la dose de 20 mg/kg ; rapport S/A=6 pour le placebo), ce qui suggère que le FG7142 peut avoir des effets à long terme (Figure 6.2.A). Le facteur temps et l'interaction traitement x blocs de stimuli sont significatifs ($F_{5.135}=3.6$; $p<0.05$ et $F_{10.135}=2.19$; $p<0.05$). Dans la dernière session, le groupe 20 mg/kg ne garde aucun effet nettement négatif que pour le premier bloc de stimuli (Figure 6.2.B). Le facteur traitement reste cependant significatif ($F_{2.27}=4.82$; $p<0.05$). L'analyse statistique montre que le facteur temps est significatif ($F_{5.135}=5.19$; $p<0.01$), de même que l'interaction entre les deux facteurs ($F_{10.135}=2.97$; $p<0.01$). Entre ces deux dernières sessions, la dose de 20 mg/kg autorise l'habituation à long terme ($t_9=2.439$; $p<0.05$). Il est possible qu'après 24 heures, le FG7142 n'ait plus d'effet et que l'habituation qui

FG7142

session 1



FG7142

session 2

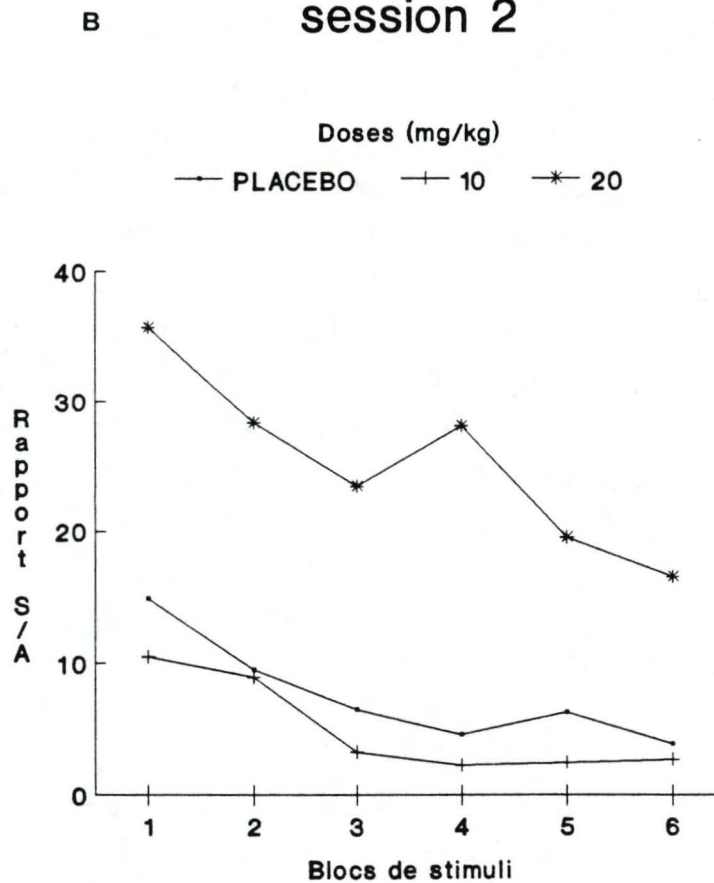
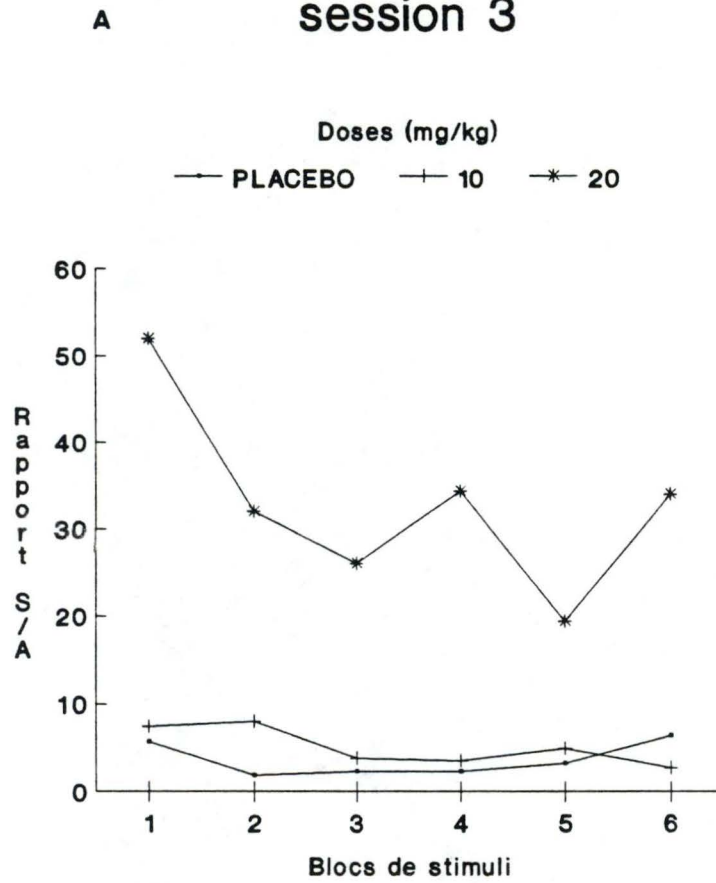


Figure 6.1: Evolution du rapport S/A pour les 2 groupes FG7142 et le groupe placebo au cours de la session 1 (A) et de la session 2 (B).

FG7142

session 3



FG7142

session 4

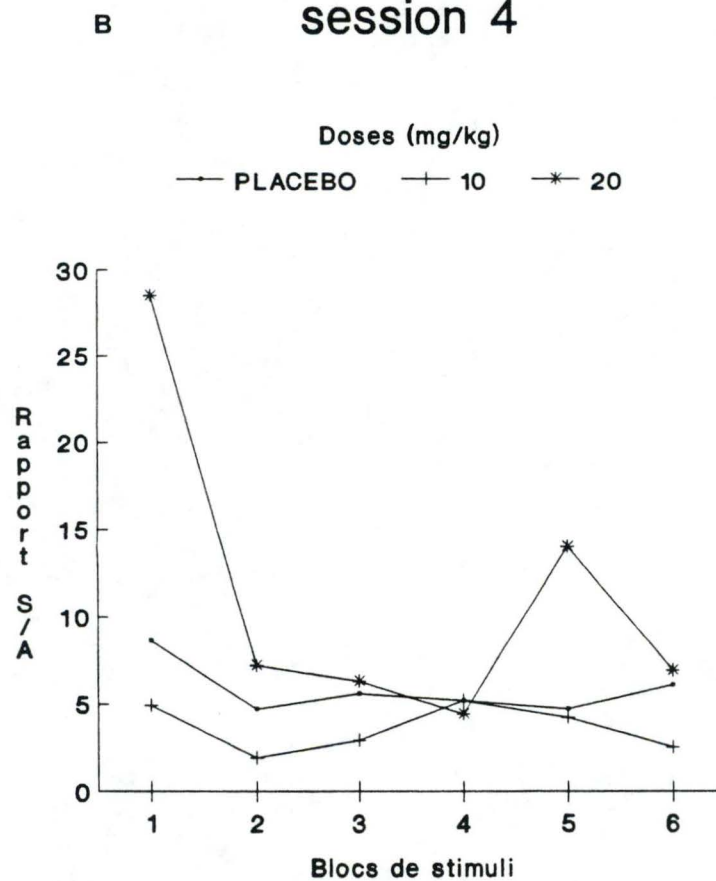


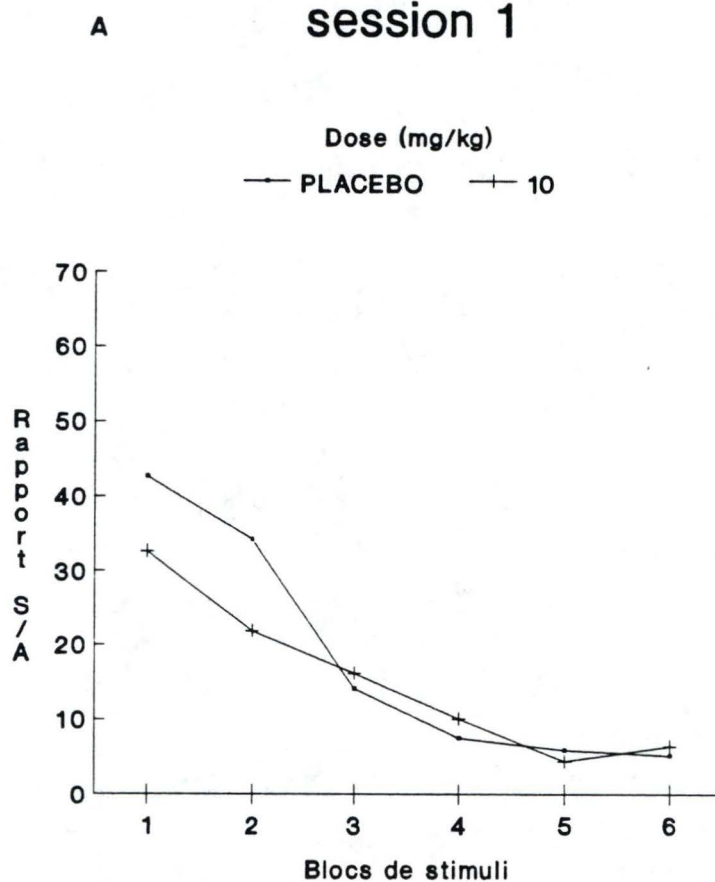
Figure 6.2: Evolution du rapport S/A pour les 2 groupes FG7142 et le groupe placebo au cours de la session 3 (A) et de la session 4 (B).

se développe ne soit pas due au traitement.

4.1.2.β-CCM.

Ce composé ne montre pas d'effet potentialisant sur la réponse de sursaut au cours de la première session (Figure 7.1.A). Le traitement n'est d'ailleurs pas significatif, par opposition au facteur blocs de stimuli ($F_{5.90}=22.32$; $p<0.01$). Le premier point de la courbe dans la deuxième session a un effet amplificateur sur le sursaut mais très vite cette courbe chute pour finalement adopter un parcours parallèle à celui de la courbe placebo (Figure 7.1.B). Seul le facteur blocs de stimuli est significatif ($F_{5.90}=6.05$; $p<0.01$). L'observation de la figure 7.2.A conduit à penser que l'effet de la β-CCM pourrait être anxiogène. Mais l'analyse statistique révèle que le facteur traitement n'est pas significatif. Le facteur temps influence toujours l'évolution de la courbe ($F_{5.90}=5.08$; $p<0.01$) et l'interaction entre les deux facteurs traitement x blocs de stimuli est significative ($F_{10.135}=4.09$; $p<0.01$). Le facteur traitement restera non significatif jusqu'à la fin du test (Figure 7.2.B). Le facteur blocs de stimuli est lui significatif ($F_{5.90}=4.41$; $p<0.01$). Nous noterons enfin qu'au cours de ces quatre sessions, nous n'avons pu observer l'apparition de l'habituation à long terme.

B-CCM session 1



B-CCM session 2

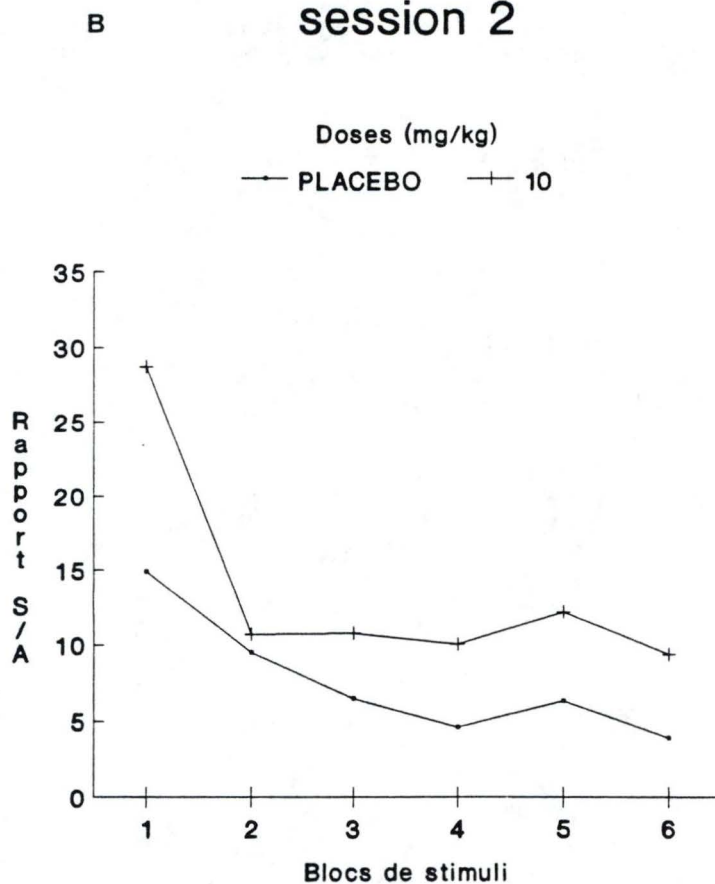
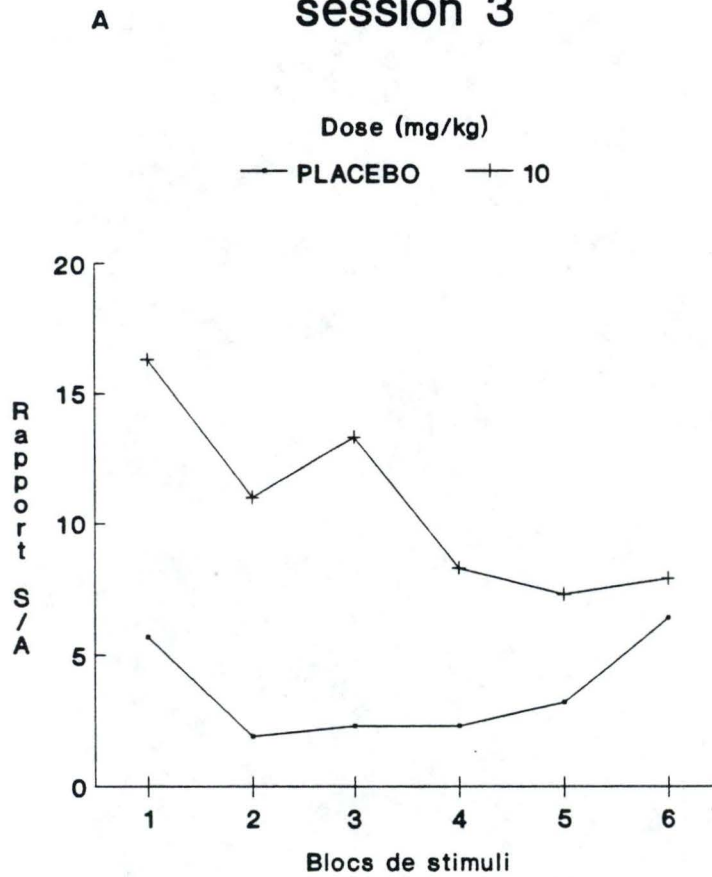


Figure 7.1: Evolution du rapport S/A pour le groupe B-CCM et le groupe placebo au cours de la session 1 (A) et de la session 2 (B).

B-CCM session 3



B-CCM session 4

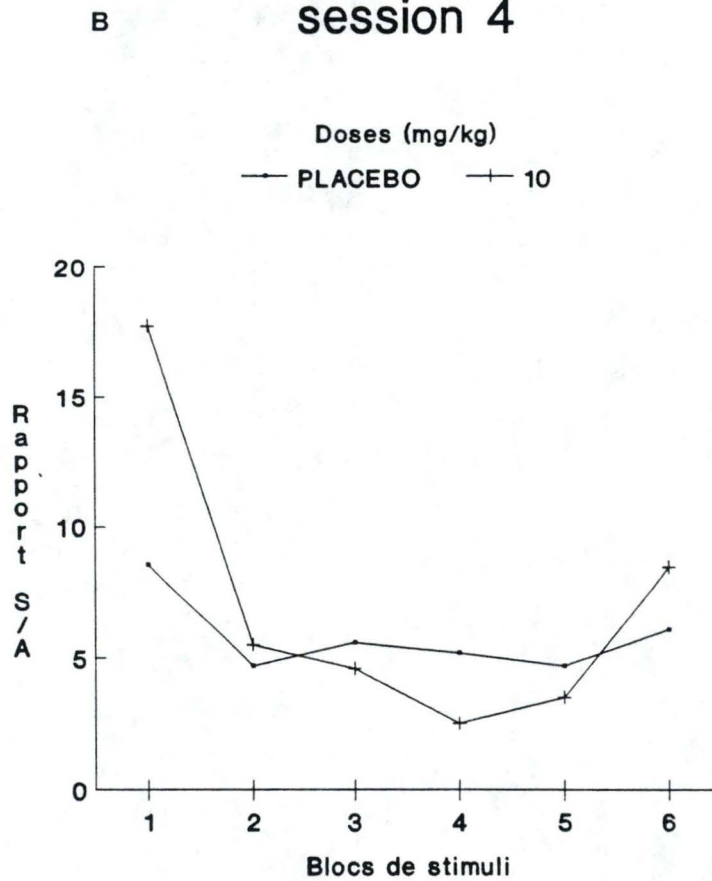


Figure 7.2: Evolution du rapport S/A pour le groupe β -CCM et le groupe placebo au cours de la session 3 (A) et de la session 4 (B).

4.2. Discussion.

Les substances de la famille des β -carbolines se fixent sur le récepteur GABA/BZD/ Cl^- . Mais l'activité qui en résulte n'est pas de type anxiolytique. Le FG7142 a été étudié dans différents modèles animaux de l'anxiété: il a produit des réactions anxiogènes dans le test d'interaction sociale et dans l'elevated plus-maze (Pellow and File, 1986). Dans l'open-field, l'accroissement de l'activité locomotrice et l'agressivité ont été interprétés en termes de stimulation non spécifique. Néanmoins, lorsque l'on compare ces effets à ceux détectés chez l'homme par Dorow et al. (1983), une potentialité anxiogène peut aussi être invoquée (Bruhwyler et al., 1991). Dans notre test, le FG7142 manifeste à la dose de 20 mg/kg, un effet nettement potentialisant dès la deuxième session: le rapport S/A de cette dose vaut le double du rapport S/A du placebo. L'effet négatif de la dose se maintient plus de 24 heures après l'administration. Nous ne pouvons tirer ces conclusions pour la dose de β -CCM testée.

Il existe en fait, une série de β -carbolines qui diffèrent quelque peu et produisent une gamme continue d'effets (anti-convulsivante à convulsivante, anxiolyse à anxiogène). Le problème rencontré avec la première β -carboline synthétisée était sa demi-vie courte, ce qui a entraîné la recherche de composés agissant plus longtemps et métaboliquement plus stables (Dorow et al., 1989). Le FG7142 répond à ces deux conditions mais il a une affinité un peu moindre pour le récepteur GABA/BZD/ Cl^- . Ces composés tels que la β -CCE et le FG7142 ont été appelés agonistes inverses ou antagonistes actifs pour tenter d'expliquer leur activité qui est inverse ou opposés à celle des benzodiazépines bien qu'elle soit modulée par les mêmes récepteurs (Braestrup et al., 1982).

Les benzodiazépines permettent la relaxation musculaire par l'intermédiaire du GABA qui exerce une action inhibitrice sur les interneurons. Par contre, les β -carbolines, en se liant aux récepteurs benzodiazépiniques, produisent une modification de la conformation du récepteur. Le canal Cl^- se fer-

me et empêche l'hyperpolarisation du neurone. Le GABA n'ayant plus d'effet inhibiteur, des convulsions peuvent se manifester (Dodd, 1988). Donc, par opposition à la relaxation musculaire induite par les benzodiazépines, le FG7142 comme les autres β -carbolines, produit un état d'hyperréactivité musculaire pouvant conduire à l'état convulsif. Notre test ne permet pas de déceler l'importance de l'effet moteur induit par les β -carbolines. Mais, comme pour les benzodiazépines, nous pensons que cet effet moteur doit, vingt-quatre heures après l'administration, être atténué pour ne laisser place qu'à l'effet anxiogène proprement dit. Une étude pharmacocinétique serait appropriée pour élucider cette question.

L'étude de l'effet du FG7142 chez des volontaires humains a montré que cette substance à une dose de 200 mg, est capable de provoquer chez l'homme, des crises d'anxiété. Les volontaires se plaignent de ressentir une anxiété sévère, une incapacité de se concentrer et une tension interne croissante. Ils sont excités, ont des bouffées de chaleur et tournent en rond. Ils se souviennent avoir eu peur de la mort. Ils manifestent tous les symptômes de personnes souffrant d'anxiété et de crises paniques (Dorow et al., 1983).

Parallèlement à l'augmentation de l'activité locomotrice observée chez l'homme après traitement au FG7142, il existe chez le rat, une augmentation de l'activité motrice dans l'open-field (Bruhwyler et al., 1991b). Dans le cas de notre test, cette augmentation d'activité ne permet pas d'expliquer l'effet potentialisant de cette substance. En effet, la réponse de sursaut est estimée par un rapport qui prend en compte l'activité générale du rat. Il est possible que le FG7142 soit un analeptique. Il augmenterait alors l'éveil et la vigilance des individus. L'étude que nous avons réalisée ne nous permet pas de confirmer cette dernière hypothèse.

5.L'halopéridol.

Nous avons choisi de tester une substance appartenant à la famille des tranquillisants majeurs afin d'estimer la sélectivité du modèle du sursaut non potentialisé, vis à vis d'une autre classe pharmacologique. En effet, en plus de leur effet tranquillisant global, les neuroleptiques peuvent agir sur la composante motrice des réflexes conditionnés et provoquer de la catalepsie (Giurgea,1985). Un rat cataleptique accepte de prendre puis conserve une attitude inhabituelle, inconfortable, qui lui a été imposée par l'expérimentateur.

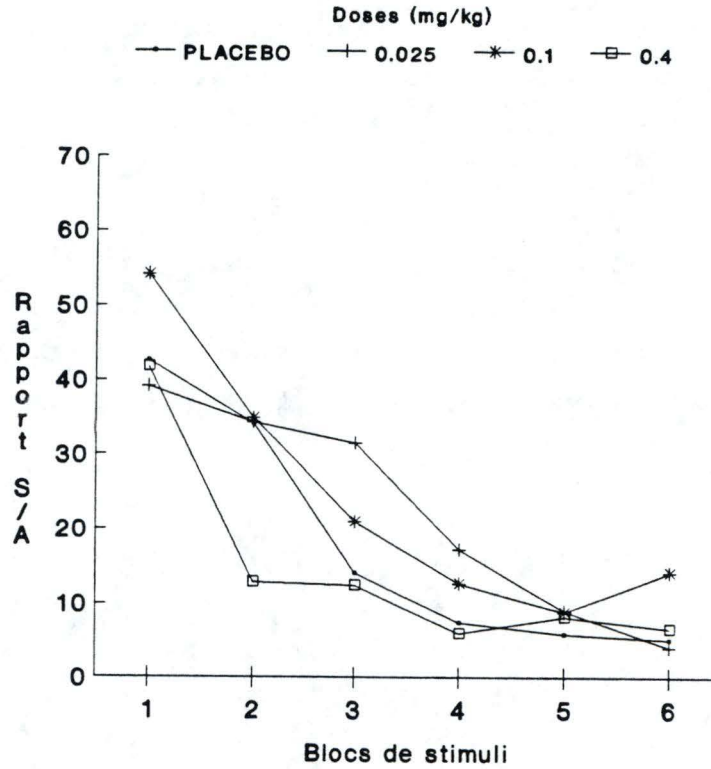
5.1.Résultats.

Dans la première session test, les différentes courbes évoluent de façon similaire à la courbe placebo (rapport S/A=43) (Figure 8.1.A). Elles semblent donc toutes inactives. De fait, le facteur traitement est non significatif mais le facteur temps est significatif ($F_{5,180}=10.21$; $p<0.01$) (Figure 8.1.B). Entre ces deux premières sessions, les trois doses d'halopéridol autorisent l'habituation à long terme au même titre que le placebo (dose de 0.4 mg/kg: $t_9=2.220$; $p<0.05$ - dose de 0.1 mg/kg: $t_9=4.369$; $p<0.01$ - dose de 0.025 mg/kg: $t_9=2.72$; $p<0.05$).

L'analyse statistique révèle que sur les deux dernières sessions, les facteurs traitement et blocs de stimuli ne sont pas significatifs. Ce qui indique que 24 heures après son administration, l'halopéridol n'a toujours pas d'effet sur la réponse de sursaut (Figures 8.2.a et 8.2.B).

HALOPERIDOL

session 1



HALOPERIDOL

session 2

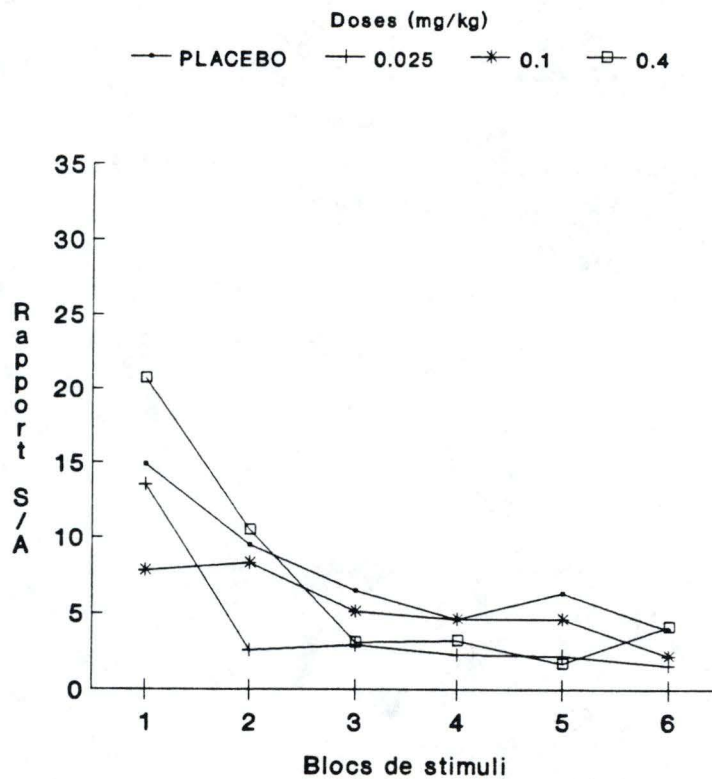
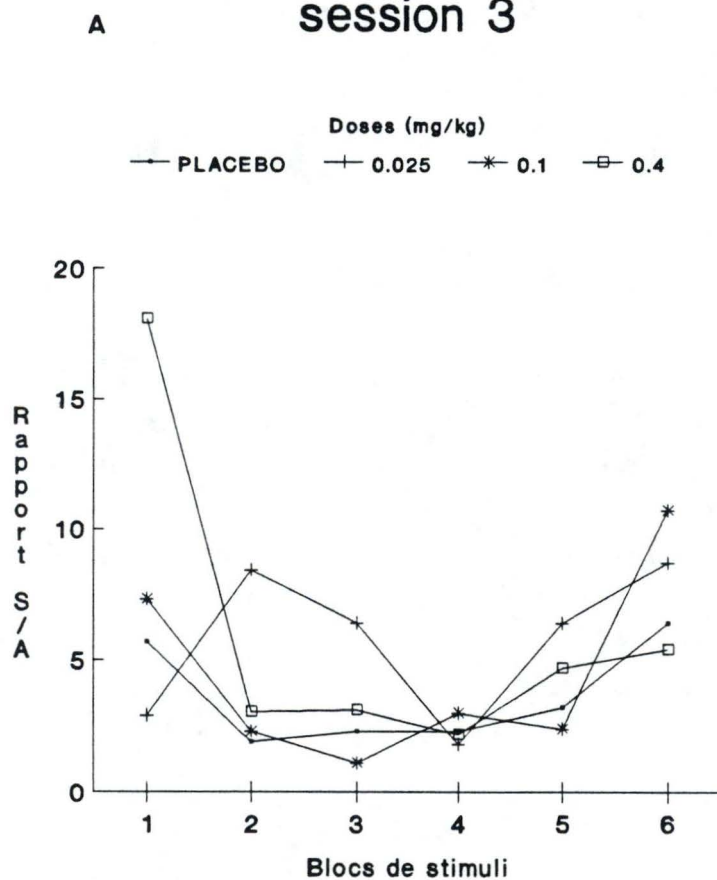


Figure 8.1: Evolution du rapport S/A pour les 3 groupes halopéridol et le groupe placebo au cours de la session 1 (A) et de la session 2 (B).

HALOPERIDOL

session 3



HALOPERIDOL

session 4

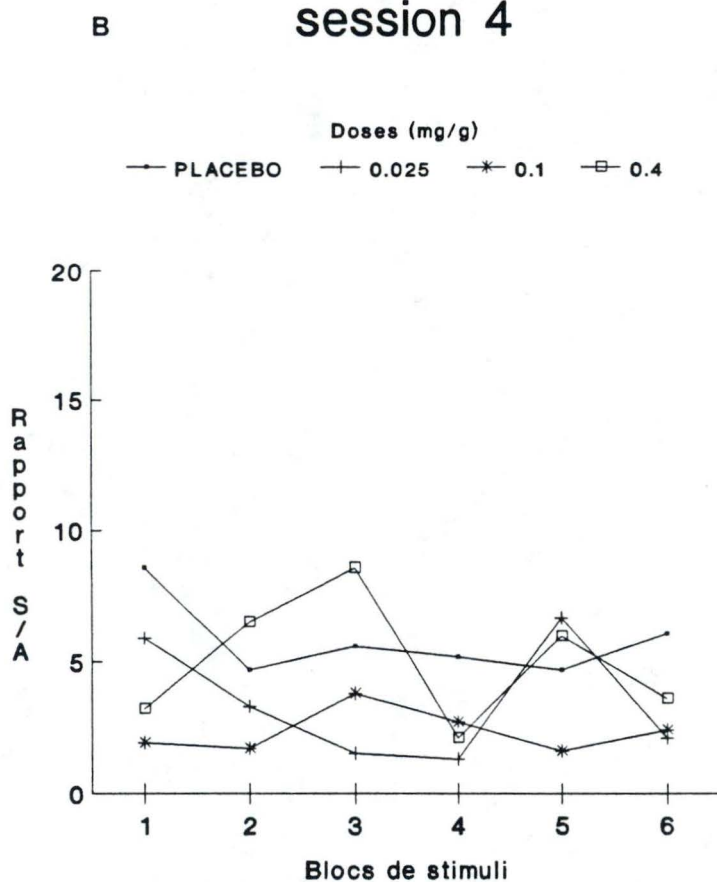


Figure 8.2: Evolution du rapport S/A pour les 3 groupes halopéridol et le groupe placebo au cours de la session 3 (A) et de la session 4 (B).

5.2.Discussion.

Les doses d'halopéridol que nous avons utilisées, ne permettent pas de mettre en évidence un effet qu'il soit positif ou négatif, sur l'amplitude de sursaut. Nos résultats confirment ceux obtenus par Svensson (1990). Celui-ci a étudié entre autres, l'effet de l'apomorphine et de l'halopéridol sur le sursaut. Il a montré qu'à la dose de 0.4 mg/kg qui est la dose maximale administrée dans nos expériences, l'halopéridol ne produit pas de modification du sursaut. Par contre, à la dose de 1.6 mg/kg, il produit une diminution marquée du sursaut, car à cette dose, les effets extrapyramidaux sont tels qu'ils provoquent un blocage complet de la motricité.

Dans le test open-field, l'halopéridol réduit l'activité exploratrice pour toutes les doses de 0.2 à 5 mg/kg et induit la catalepsie (Bruhwylér et al., 1990). Dans ce même test, l'augmentation des défécations est utilisée comme un index d'émotivité (Allain and Lechat, 1970). Le nombre de ces défécations est diminué lorsque les neuroleptiques sont administrés à des rats dans un nouvel environnement. Cette constatation confirme leur rôle de tranquillisant majeur (Allain and Lechat, 1970). Paradoxalement, Russell et al. (1987) ont montré que l'halopéridol accroît ces défécations pour des rats se trouvant dans un environnement familier. Mais cette augmentation peut être atténuée par prétraitement des animaux avec une benzodiazépine. Nous en déduisons que l'halopéridol provoque une réaction anxieuse ou dysphorique chez les rats. Bien que cette réaction soit rarement rapportée chez les animaux, nous connaissons sa présence chez l'homme (Linét, 1985).

Une explication possible de ce phénomène est que la restriction motrice induite par l'halopéridol dans l'environnement habituel de l'animal, augmente les niveaux d'anxiété, et donc le nombre de défécations (Russell et al., 1987).

L'utilisation de l'open-field pour étudier des effets anxiogènes ne semble pas appropriée car les animaux utilisés dans le test sont déjà à un niveau d'anxiété élevé, ce qui crée un effet plafond. Cet effet empêche alors l'observation

des changements de l'état émotionnel de l'animal (Sanberg, 1989). L'étude de la réponse de sursaut a montré qu'il était possible de potentialiser le réflexe grâce aux anxiogènes. Nous n'avons donc pas d'effet plafond mais l'halopéridol n'a manifesté ni action inhibitrice ni excitatrice, que ce soit sur la réponse de sursaut ou dans le nombre de défécations.

CONCLUSIONS GENERALES .

Nous reprendrons dans ce dernier chapitre, la logique suivie lors de nos expériences et nous évaluerons l'impact des résultats sur les hypothèses proposées.

L'avenir du traitement pharmacologique des troubles anxieux est lié à la synthèse de nouvelles substances anxiolytiques. Bien que les benzodiazépines occupent une part importante du marché, il va sans dire qu'elles sont amenées à être remplacées par des composés présentant moins d'effets secondaires. Il existe déjà, plusieurs substances répondant à ce profil anxiolytique avec notamment la buspirone disponible sur le marché (Buspar^R). Avant d'être utilisée chez l'homme, toute nouvelle substance doit être étudiée d'abord chez l'animal. A cette fin, il existe plusieurs modèles animaux de l'anxiété.

Néanmoins, pouvoir isoler l'effet anxiolytique d'autres effets non spécifiques est chose ardue. En effet, souvent des problèmes moteurs, motivationnels et autres viennent compliquer l'analyse.

Connaissant les différents modèles animaux de l'anxiété et les problèmes posés par leur utilisation, nous nous sommes attachés à un modèle proche de l'anxiété naturelle: le modèle du sursaut acoustique produit par la répétition régulière de sons stressants. Ce modèle n'implique ni apprentissage, ni réponse opérante, ni conflit motivationnel. De plus, la réponse anxieuse produite, à savoir le réflexe de sursaut, existe aussi chez l'homme.

Afin de vérifier la prédictibilité de ce nouveau test, nous avons d'abord étudié l'effet d'anxiolytiques connus à savoir le diazépam et la chlordiazépoxyde. Ces deux substances font partie de la famille des benzodiazépines qui, outre leur propriété anxiolytique, agissent comme relachants musculaires, anticonvulsivants et sédatifs (Ansseau, 1986).

Dans le modèle du sursaut acoustique, ces deux benzodiazépines ont produit un effet anxiolytique net. Cependant, cet effet est difficilement séparable des effets moteurs. L'effet

biphasique sur l'activité locomotrice, observée dans l'open-field à savoir un effet facilitateur sur l'activité motrice pour les faibles doses et un effet inhibiteur pour les fortes doses (Bruhwyler et al., 1990), nous permet d'expliquer l'évolution de certaines courbes. Ainsi, la dose de 0.3125 mg/kg de diazépam a un effet facilitateur sur la locomotion, puis cet effet s'inverse et devient anxiolytique. L'apparition de l'habituatation à long terme peut être expliquée par le fait que les benzodiazépines en réduisant la peur, diminuent aussi la sensibilité de l'animal aux stimuli. Cette hypothèse est renforcée par le fait que ce sont les mêmes aires cérébrales qui assurent le codage des stimuli sensoriels et émotionnels et qui contrôlent le comportement moteur (Walsh et al., 1986). Nous concluons de cette expérience que les benzodiazépines diminuent l'amplitude de la réponse de sursaut par leur activité anxiolytique non discernable de leurs effets moteurs. Le fait que ces effets inhibiteurs sur la réponse de sursaut se maintiennent à plus long terme autorise à penser que l'effet anxiolytique était déjà bien présent dès la première phase de sursaut.

Cette première étape vérifiée, nous nous sommes demandés si les substances anxiolytiques non benzodiazépiniques pouvaient atténuer la réponse de sursaut. Les résultats de nos expériences ne nous permettent pas de conclure à un effet atténuateur sur la réponse de sursaut. Nous avons en effet, observé pour certaines doses de buspirone ou de gepirone, un effet potentialisateur de la réponse de sursaut. De fait, certains chercheurs utilisant le modèle du sursaut potentialisé, ont indiqué que lorsque le sursaut est produit par un son seul, l'amplitude de sursaut des rats traités à la buspirone ou la gepirone, est augmentée (Mansbach and Geyer, 1988). Kehne et al. (1988) ont suggéré que cet effet excitateur était produit par action de la 5-HT sur les neurones moteurs.

De plus, des effets disparates pour les azaspirones, ont été enregistrés dans différents modèles de l'anxiété (Broekamp et al., 1989). Dans le test de conflit comme dans le test d'ensevelissement conditionné, ces composés manifestent une

activité anxiolytique. L'effet opposé est observé dans l'élevated plus-maze. Les azaspiroènes ont des effets anxiolytiques ou sont inactives dans le modèle d'interaction sociale. Le fait que les azaspiroènes soient actives contre l'anxiété en clinique mais pas dans le modèle du sursaut remet en question la validité de ce test comme d'ailleurs celle de la plupart des tests mentionnés ci-dessus.

Les modèles de l'anxiété, optimisés pour les benzodiazépines, se révèlent incapables de détecter une activité plus subtile (Haefely, 1989). Nous pouvons aussi nous interroger sur le type d'anxiété qu'induit le modèle. La répétition d'un son stressant ne produit qu'une anxiété transitoire non soutenue. Nous pourrions l'améliorer et nous rapprocher de l'anxiété chronique en utilisant une souche de rats qui a été sélectionnée pour son niveau élevé d'anxiété (Broadhurst, 1975).

Comme des effets anxiolytiques étaient observés après administration de benzodiazépines, il était intéressant de savoir si les agonistes inverses aux propriétés opposées aux benzodiazépines, pouvaient potentialiser le sursaut. Chez l'homme, les β -carbolines, représentées par le FG7142 et la β -CCM dans nos expériences, provoquent des crises d'anxiété (Dorow et al., 1983). La dose de 20 mg/kg de FG7142 a fortement augmenté le sursaut. A nouveau, il est fort probable qu'une composante motrice vienne s'additionner à l'effet purement anxiogène. Dans le test open-field, le FG7142 accroît la locomotion (Pellow and File, 1986; Bruhwylter et al., 1991). Il est possible que dans notre test, l'activité générale soit augmentée mais comme la réponse de sursaut est estimée par un rapport entre le sursaut et l'activité générale, cet effet doit être atténué. Nous pourrions également avancer l'hypothèse que cette substance augmente l'éveil et la vigilance des individus. En effet, certains classent les β -carbolines parmi les analeptiques (Ongini et al., 1983). Par ailleurs, le fait que l'habituation à long terme ne se développe pas avec le FG 7142 (20 mg/kg) est en soi un résultat important tendant à révéler la potentialité anxiogène de ce composé.

Un des critères de base indispensables à l'admission d'un nouveau modèle animal est sa sélectivité c-à-d qu'il doit être sensible à une seule classe thérapeutique. Nous avons réalisé une première approche de cette sélectivité en étudiant l'effet d'un tranquillisant majeur, l'halopéridol. Cette substance n'a manifestement pas d'effet sur la réponse de sursaut. Svensson (1990) a observé que la dose de 0.4 mg/kg ne modifie pas la réponse de sursaut bien qu'à cette dose, des effets extrapyramidaux soient déjà présents. Cette information combinée à la nôtre atteste que le calcul du rapport Sursaut/Activité générale est en soi suffisant pour discerner anxiété et motricité. Le test de sursaut semble donc capable de discriminer le tranquillisant mineur classique (benzodiazépine) d'un tranquillisant majeur (halopéridol).

Néanmoins, le test d'une seule molécule appartenant à une classe pharmacologique différente de celle des anxiolytiques n'est pas suffisant pour certifier la spécificité du test. Ainsi, il serait intéressant de tester l'effet de stimulants tels l'apomorphine, mais aussi des antidépresseurs; c-à-d toute substance capable de moduler la réponse de sursaut.

L'anxiété humaine est une réponse parfaitement normale à une situation stressante. Mais lorsque cette émotion devient pathologique, elle entraîne chez l'homme différents syndromes qu'ils soient aigus ou chroniques. Ainsi, l'anxiété généralisée se manifeste par la tension motrice élevée, par l'hyperactivité des fonctions neurovégétatives et l'attente avec appréhension. Les crises d'angoisse sont constituées de périodes définies d'appréhension ou de crainte, caractérisées par des symptômes de palpitations, d'étourdissements, de tremblements, de sudation, de faiblesse, etc. D'autres syndromes telles les phobies désignent une crainte précise. Ainsi, l'agoraphobie correspond à la peur de se retrouver seul dans un endroit public. Les obsessions-compulsions se définissent par des idées obsédantes et des compulsions. L'anxiété post-traumatique apparaît suite à un événement stressant majeur (Ansseau, 1986). Dans la recherche de meilleurs traitements de l'anxiété, il est donc essentiel de se demander quel est le

syndrome anxieux que nous voulons approcher par un modèle animal. Un des critères de diagnostic du désordre anxieux généralisé est la réponse de sursaut exagérée (DSM-III-R, 1989). Nous pouvons donc en déduire que l'anxiété produite dans notre modèle est de type généralisée.

Le modèle du sursaut acoustique présente différents avantages face aux autres modèles de l'anxiété: il n'implique ni apprentissage, ni choc électrique, ni conflit motivationnel. L'animal réagit aux stimuli par un réflexe naturel. La simplicité de la procédure la rend facilement reproductible et rentable. Nous avons montré que la réponse de sursaut pouvait être potentialisée et que ce test ne montre pas d'effet plafond c-à-d qu'il est possible d'augmenter l'anxiété ressentie par l'animal au-delà de celle manifestée par les placebos. De plus, ce test s'est révélé spécifique de la classe des anxiolytiques. Cependant, cette réaction réflexe est affectée par les substances ayant des effets moteurs qui ne sont pas discernables de l'effet anxiolytique attendu.

Au terme de ce travail, il serait indispensable de confirmer la sélectivité du modèle de sursaut vis-à-vis des stimulants et des antidépresseurs. Vu les résultats que nous avons obtenus avec la famille des azaspiroones, il serait intéressant d'approfondir cette étude notamment pour les substances agissant sur les récepteurs sérotonergiques (ex: 5-HT₂ antagoniste: ritansérine; 5-HT₃ antagoniste: zacopride).

BIBLIOGRAPHIE .

- Allain, P.P and Lechat, P. (1970) Action of psychotropic drugs on emotional defecation in mice. *Therapie*, 25:655-662.
- Ansseau, M. (1986) Benzodiazépines et Anxiété. Unité de Psychopharmacologie, Hôpital Universitaire de Bavière, Liège.
- Applegate, C.D.; Kapp, B.S.; Underwood, M.D. and McNall, C.L. (1983) Autonomic and somatomotor effects of amygdala central nucleus stimulation in awake rabbits. *Physiol. Behav.*, 31: 353-360.
- Archer, J. (1973) Tests for emotionality in rats and mice: A review. *Anim. Behav.*, 21:205-235.
- Arnaut, L. and Settleworth, S.J. (1981) The role of spatial and temporal contiguity in defensive burying in rats. *Anim. Learn. Behav.*, 9:275-280.
- Azmitia, E.C. and Gannon, P.J. (1986) The primate serotonergic system: a review of human and animal studies and a report on *Macaca fascicularis*. *Ad. Neurol.*, 43:407-468.
- Balter, M.B; Manheimer, D.I.; Mellinger, G.D.; Uhlenhuth, E.H. (1984) A cross-national comparison of anti-anxiety/sedative drug use. *Curr. Med. Res. Opin.*, 8 (suppl.4):5-20.
- Basile, A.S.; Hughes, R.D.; Harrisson, P.M.; Murata, Y.; Pannell, L.; Jones, E.A., Williams, R.; Skolnick, P. (1991) Elevated brain concentrations of 1,4-benzodiazepines in fulminant hepatic failure. (see comments) *N. Engl. J. Med.*, 325(7):473-478. Comment in: *N. Engl. J. Med.* 325(7):509-511.
- Berg, W.K. and Davis, M. (1984) Diazepam blocks fear-enhanced startle elicited electrically from brainstem. *Physiol. Behav.*, 32:333-336.
- Berg, W.K. and Davis, M. (1985) Associative learning modifies startle reflexes at lateral lemniscus. *Behav. Neurosci.*, 99: 191-199.
- Biggio, G. and Costa, E. (1990) GABA and benzodiazepine receptor subtypes. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.*, 46.
- Bignami, G. (1988) Pharmacology and anxiety. Inadequacies of current experimental approaches and working models. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 29:771-774.
- Blumstein, L.K. and Crawley, J.N. (1983) Further characterisation of a simple, automated exploratory model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 18:37-40.
- Bodnoff, S.R.; Suranyi-Cadotte, B.; Aitken, D.H.; Quirion, R. and Meaney, M.J. (1988) The effects of chronic antidepressant treatment in an animal model of anxiety. *Psychopharmacology*, 95:298-302.
- Boissier, J.R.; Simon, P and Aron, C. (1968) A new method for rapid screening of minor tranquilizers in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 4:145-151.
- Bolles, R.C. and Woods, P.J. (1964) The ontogeny of behavior in the albino rat. *Anim. Behav.*, 12:427-441.
- Bormann, J. (1988) Electrophysiology of GABA_A and GABA_B receptor subtypes. *Trends Neurosci.*, 11(3):112-116.
- Borszcz, G.S.; Cranney, J.; Leaton, R.N. (1989) Influence of long-term habituation of the acoustic startle response in rats: Central gray lesions, preexposure and extinction. *J. Exp. Psychol.* [*Anim. Behav.*], 15:54-64.

- Boschert, U.; Saudou F.; Amlaiky, N.; Ramboz, S.; Marotiaux, L.; Plassat, J.L. and Hen, R. (1992) 5-HT_{1B}, 5-HT₅ and 5-HT₆, three new mouse serotonin receptors: cloning coupling with the second messengers and pattern of expression in the central nervous system (Poster) International Symposium on the role of serotonin in psychiatric disorders, 24-26 june 1992, Castres (France).
- Boulenger, J.P.; Squillace, K.; Simon, P.; Herrou, M.; Leymarie, P.; Zarifian, E. (1989) Buspirone and Diazepam: comparison of subjective, psychomotor and biological effects. *Neuropsychobiology*, 22:83-89.
- Bradley, P.B.; Engel, G.; Feniuk, W.; Fozard, J.R.; Humphrey, P.P.A.; Middlemis, D.N.; Mylecharane, E.J.; Richardson, B.P. and Saxena, P.R. (1986) Proposals for the classification and nomenclature of functional receptors for 5-Hydroxytryptamine. *Neuropharmacology*, 25(6):563-576.
- Braestrup, C.; Nielsen, M.; Olsen, C.E. (1980) Urinary and brain β -carboline-3-carboxylates as potent inhibitors of brain benzodiazepine receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 77:2288-2292.
- Braetrup, C.; Schmiechen, R.; Neef, G.; Nielsen, M.; Petersen, E.N. (1982) Interaction of convulsive ligands with benzodiazepine receptors. *Science*, 216:1241-1243.
- Briley, M. and Chopin, P. (1991) Serotonin in anxiety: evidence from animal models. In: 5-hydroxytryptamine in psychiatry a spectrum of ideas. Sandler, M.; Coppen, A. and Harnett S. (Eds), Oxford University Press, 15:157-165.
- Broadhurst, P.L. (1975) The Maudsley reactive and non reactive strains of rats: a survey. *Behav. Genet.*, 5:299-319.
- Brocco, M.J.; Koek, W.; Degryse, A.D. and Colpaert F.C. (1990) Comparative studies on the anti-punishment effects of chlordiazepoxide, buspirone and ritanserin in the pigeon, Geller-Seifter and Vogel conflict procedures. *Behavioral Pharmacology*, 1:403-418.
- Broekkamp, C.L.E.; Berendsen, H.H.G, Jenck F.; Van Delft A.M.L. (1989) Animal models for anxiety and response to serotonergic drugs. *Psychopathology*, 22(1):2-12.
- Brown, J.S.; Kalish, H.I. and Farber, I.E. (1951) Conditioned fear as revealed by magnitude of startle response to an auditory stimulus. *J. Exp. Psychol.*, 41:317-328.
- Bruhwyler, J.; Chleide, E.; Liégeois, J.F.; Delarge, J. and Mercier, M. (1990) Anxiolytic potential of sulpiride, clozapine and derivatives in the open-field test. *Pharmacol. Biochem Behav.*, 36:57-61.
- Bruhwyler, J. (1990) Anxiolytic potential of a microgram dose of chlordiazepoxide in the open-field test. *Eur. J. Pharmacol.*, 187:547-549.
- Bruhwyler, J.; Chleide, E.; Liégeois, J.F.; Delarge, J. and Mercier, M. (1991a) Effects of specific dopaminergic agonists and antagonists in the open-field test, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 39:367-371.
- Bruhwyler, J.; Chleide, E.; Houbeau, G. and Mercier, M. (1991b) Stimulant effect of the β -carboline FG7142 in the open-field test. *Eur. J. Pharmacol.*, 200:183-185.
- Bruhwyler, J. and Hassoun, A. (1992) The use of radioreceptor assays for the determination of BZD in biological samples: a review. *J. Anal. Toxicol.*, 16:244-252.

- Cassella, J.V. and Davis, M. (1986) Neural structures mediating acoustic and tactile startle reflexes and the acoustically-elicited pinna response in rats: Electrolytic and ibotenic acid studies. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 12:1273.
- Chabot, C.C. and Taylor, D.H. (1992) Daily rhythmicity of the rat acoustic startle response. *Physiol. Behav.*, 5(4):885-889.
- Chronwall, B.; Wolff, J.R. (1980) Prenatal and postnatal development of GABA-accumulating cells in the occipital neocortex of rat. *J. Comp. Neurol.*, 190:187-208.
- Clark, T.K. (1979) The locus coeruleus in behavior regulation: Evidence for behavior specific versus general involvement. *Behav. Neural. Biol.*, 25:271-300.
- Commissaris, R.L.; Harrington, G.M.; Baginski, T.J. and Altman, H.J. (1988) MR/Har and MNRA/Har Maudsley rats strains: differences in acoustic startle habituation. *Behav. Genet.*, 18:663-669.
- Cooper, S.J. (1985) A microgram dose of diazepam produces specific inhibition of ambulation in the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 22:25-30.
- Cowen, P.J.; Green, A.R.; Nutt, d.J. (1981) Ethyl β -carboline carboxylate lowers seizure threshold and antagonizes flurazepam-induced sedation in rats. *Nature*, 290:54-55.
- Crawley, J.N. (1981) Neuropharmacologic specificity of a simple animal model for the behavioral actions of benzodiazepines. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 15:695-699.
- Crawley, J.N. and Davis L.G. (1982) Baseline exploratory activity predicts anxiolytic responsiveness to diazepam in five mouse strains. *Brain Res. Bull.*, 8:609-612.
- Crowley, M.; Bovet, J. (1980) Social synchronisation of circadian rhythms in Deer mice. *Behav. ecol. sociobiol.*, 7:99-105.
- Dantzer, R. (1987) Benzodiazepine and aggressive behavior. 7th European Winter Conference on Brain Research, Val Thorens
- Davies, C.; Steinberg, H. (1984) A biphasic effect of chlor-diazepoxide on animal locomotor activity. *Neurosci. Lett.*, 46:347-351.
- Davis, M. (1979) Diazepam and Flurazepam: Effects on conditioned fear as measured with the potentiated startle paradigm. *Psychopharmacology*, 62:1-7.
- Davis, M.; Gendelman, D.S.; Tiscler, M.D. and Gendelman P.M. (1982) A primary acoustic startle circuit: Lesion and stimulation studies. *J. Neurosci.*, 2:791-805.
- Davis, M. (1984) The mammalian startle response. In: Neural mechanisms of startle behavior. Eaton, R.C. (eds) New York and London Plenum Press, 287-351.
- Davis, M. (1986) Pharmacological and anatomical analysis of fear conditioning using the fear-potentiated startle paradigm. *Behav. Neurosci.*, 100:814.
- Davis, M. and Gallager, D.W. (1988) Continuous slow release of low levels of diazepam produces tolerance to its depressant and anxiolytic effects on the startle reflex. *Eur. J. Pharmacol.*, 150:23-33.

- Davis, M. (1989) Sensitization of the acoustic startle reflex by footshock. *Behav. Neurosci.*, 103(3):495-503.
- Davis, M.; Schlesinger, L.S. and Sorenson, C.A. (1989) Temporal specificity of fear-conditioning: Effects of different conditioned stimulus-unconditioned stimulus intervals on the fear-potentiated startle effect. *J. Exp. Psychol. [Anim. Behav.]*, 15(4): 295-300.
- Davis, M. (1990) Animal models of anxiety based on classical conditioning: the conditioned emotional response (CER) and the fear-potentiated startle effect. *Pharmacol. Ther.*, 47: 147-165.
- Davis, M. (1992a) The role of amygdala in fear-potentiated startle: implications for animal models of anxiety. *Trends. Pharmacol.Sci.*, 13:35-41.
- Davis, M. (1992b) Anxiolytics and fear-potentiated startle. (Symposium 17) British Association for Psychopharmacology and European Behavioral Pharmacology Society, Joint Meeting 2-7 August 1992, Cambridge (UK) published in: *Journal of Psychopharmacology (Abstract Book)*, 46.
- Dodd, R.H.; Rossier, J. (1988) Ligands naturels et synthétiques des récepteurs des benzodiazépines. In: *Séries interactions Chimie-Biologie, Bases moléculaires et applications 1. Neuropharmacologie*. Picot, A.; Ed Inserm, 80.
- Dorow, R.; Horowski, R.; Paschelke, G.; Amin, M.; Braestrup, C. (1983) Severe anxiety induced by FG7142, a β -carboline ligand for BZD receptors. *Lancet*, 98-99.
- Dorow, R.; Duba, T.; Sauerbrey, N.; Höller, L. (1989) β -carboline: a promise for the future? β -carboline: new insights into the clinical pharmacology of BZD receptor ligands. New pharmacological approaches to Depression and Anxiety, International Conference on antidepressive and anxiolytic drugs, 7-8 december 1989, London.
- Dourish, C.T.; Hutson, P.H. and Curzon, G. (1986) Putative anxiolytics 8-OH-DPAT, buspirone and TVXQ7821 are agonists at 5-HT_{1A} autoreceptors in the raphe nuclei. *Trends Pharmacol. Sci.*, 212-214.
- Dourish, C.T. (1987) Brain 5-HT_{1A} receptors and anxiety. In: *Brain 5-HT_{1A} receptors*. Dourish, C.T.; Ahenius, S.; Hutson, P.H. (eds) Chichester, England, Ellis Horwood, 261-277.
- DSM-III-R (1989) Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux. American Psychiatric Association, Ed. Masson, Paris.
- Eison, M.S. (1984) Use of animal models: toward anxiolytic drugs. *Psychopathology [suppl 1]*, 17:27-44.
- Falls, W.A.; Miserendino, M.J.D. and Davis, M. (1992) Extinction of fear-potentiated startle: blockade by infusion of an NMDA antagonist into the amygdala. *J. Neurosci.*, 12(3): 854-863.
- Falter, U.; Gawer, A.J. and Gobert, J. (1992) Resistance of baseline activity in the elevated plus-maze to exogenous influences. *Behavioral Pharmacology*, 3:123-128.
- Feldman, R.S. and Quenzer, L.F. (1984) *Fundamentals of Neuropsychopharmacology*, Sunderland: Sinower.

- File, S.E. and Hyde, J.R.G. (1979) A test of anxiety that distinguishes between the actions of benzodiazepines and those of other of minor tranquillisers and of stimulants. *Pharmac. Biochem. Behav.*, 11:65-69.
- File, S.E. and Lister, R.G. (1984) Do the reductions social interaction produced by picrotoxin and phenylenetetrazole indicate anxiogenic actions? *Neuropharmacology*, 23:793-796.
- File, S.E. (1985a) Tolerance to the behavioral actions of benzodiazepines. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 9:113.
- File, S.E. (1985b) Animal models for predicting clinical efficacy of anxiolytic drugs: social behaviour. *Neuropsychobiology*, 13:55-62.
- File, S.E. (1987) The contribution of behavioural studies to the neuropharmacology of anxiety. *Neuropharmacology*, 26(7b): 877-886.
- File, S.E. (1992) A multilevel analysis (Symposium 4) British association for Psychopharmacology and European Behavioural Pharmacology Society, Joint Meeting, 2-7 August 1992, Cambridge (UK) published in: *J. Psychopharmacol.* (Abstract book), 4.
- Fuller, R.W. (1988) The pharmacology and therapeutic potential of serotonin receptor agonists and antagonists. In: *Advances in drug research*, 17:349-380.
- Gaddum, J.H. and Picarelli, Z.P. (1957) *Br. J. Pharmacol. Chemother.*, 12:323-328.
- Gallager, D.W.; Kehne, J.H.; Wakeman, E.A. and Davis, M. (1983) Developmental changes in pharmacological responsiveness of the acoustic startle reflex: effects of picrotoxin. *Psychopharmacology*, 79:87-93.
- Gardner, C.R. (1988) Potential use of drugs modulating 5-HT activity in the treatment of anxiety. *Gen. Pharmac.*, 19(3): 347-356.
- Gelders, Y.G. and Meert, T.F. (1989) Ritanserin: a thymosthenic with 5-HT₂ receptor blocking properties applied in anxiety disorders. New pharmacological approaches to depression and anxiety. International conference on anti-depressive and anxiolytic drugs, 7-8 december 1989, London.
- Geller, I. and Seifter, J. (1960) The effects of meprobamate, barbiturates, d-amphetamine and promazine on experimentally induced conflict in the rat. *Psychopharmacology*, 1:482-492.
- Geyer, M.A. and Braff, D.L. (1987) Startle habituation and sensorimotor gating in schizophrenia and related animal models. *Schizophr. Bull.*, 13(4):643-688.
- Giurgea, C.E. (1985) Bases théoriques et expérimentales de la Psychopharmacologie. Cours et Documents de la Faculté de Psychologie et des Sciences de l'Éducation, Ciaco(eds) U.C.L., Louvain-la-Neuve.
- Glaser, T. and Traber, J. (1983) Buspirone: action on serotonin receptors in calf hippocampus. *Eur. J. Pharmacol.*, 88: 137-138.
- Glick, S.D. (1976) Screening and therapeutics, animal models and human problems. In: *Behavioral Pharmacology*. Glick, S.D. and Goldfarb, J.(eds). St Louis: Mosby.

- Goodman and Gilman (1985) *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Seventh Edition, MacMillan Publishing Co, New York.
- Grillon, C.; Ameli, R.; Woods, S.W., Merikangas, K. and Davis, M. (1991) Fear-potentiated startle in humans: Effects of anticipatory anxiety on the acoustic blink reflex. *Psychophysiology*, 28(5):588-595.
- Groves, P.M.; Wilson, C.J. and Miller, S.W. (1976) Habituation of the acoustic startle response: a neural systems analysis of habituation in the intact animal. In: *Advances in Psychobiology*, 3:327-379.
- Haefely, W. (1978) Behavioral and neuropharmacological aspects of drugs used in anxiety and related states. In: *Psychopharmacology: a generation of progress*. Lipton, M.A.; DiMascio, A. and Killam, K.F. (eds) New York: Raven Press.
- Haefely, W.E. (1988) Benzodiazepines. *Int. Anesthesiol. Clin.*, 26:262-272.
- Haefely, W.E. (1989) Animal and human models of anxiety: Benzodiazepine receptors and other biological targets in the induction and treatment of anxiety. New pharmacological approaches to depression and anxiety. International conference on antidepressive and anxiolytic drugs, 7-8 december 1989, London.
- Haefely, W.E. (1990) Benzodiazepines: current concepts. Hindmarch, Z. et al (eds), Bradon Leonard ed., 1.
- Hammond, G.R. (1973) Lesions of pontine and medullary reticular formation and prestimulus inhibition of the acoustic startle response in rats. *Physiol. Behav.*, 10:239-243.
- Hamon M. (1991) Functional consequences of the stimulation of multiple 5-HT receptors. International Symposium on the role of serotonin in psychiatric disorders, 24-26 june 1992 Castres (France).
- Henke, P.B. (1983) Unit-activity in the central amygdala nucleus of rats in response to immobilization-stress. *Brain Res. Bull.*, 10:833-837.
- Heuring, R.E. and Peroutka, S.J. (1987) Characterisation of a novel [³H]5-hydroxytryptamine binding site subtype in bovine brain membranes. *J. Neurosci.*, 7:894-903.
- Heuring, R.E.; Schlegel, J.R. and Peroutka, S.J. (1987) Species variations in RU24969 interactions with non-5-HT_{1A} binding sites. *Eur. J. Pharmacol.*, 12:279-282.
- Hill, R.T. and Tedeschi, D.H. (1971) Animal testing and screening procedures in evaluating psychotropic drugs. In: *An introduction to Pharmacology*. Rech, R.H. and Moore, K.E. (eds) New York: Raven Press.
- Hitchcock, J.M. and Davis, M. (1986) Lesions of the amygdala but not of the cerebellum or red nucleus, block conditioned fear as measured with potentiated startle paradigm. *Behav. Neurosci.*, 100(1):11-22.
- Hitchcock, J.M. and Davis, M. (1991) Efferent pathway of the amygdala involved in conditioned fear as measured with the fear-potentiated startle paradigm. *Behav. Neurosci.*, 105(6): 826-842.

- Hoffman, H.S. and Ison, J.R. (1980) Principles of reflex modification in the domain of startle. I. Some empirical findings and their implications for the interpretation of how the nervous system processes sensory input. *Psychol. Rev.*, 87:175-189.
- Horlinton, M. (1970) Startle response circadian rythm in rats: lack of correlation with motor activity. *Physiol. Behav.*, 5:49-53.
- Hoyer, D.; Pazos, A.; Probst, A. and Palacios, J.M. (1986) Serotonin receptors in the human brain. I. Characterization and autoradiographic localisation of 5-HT_{1A} recognition sites. Apparent absence of 5-HT_{1B} recognition sites. *Brain Res.*, 376:85-96.
- Hoyer, D. (1992) What is the significance of multiple receptor subtypes for the function of serotonin neurotransmission? International Symposium on the role of serotonin in psychiatric disorders, 24-26 june 1992. Castres (France).
- Ison, J.R. and Hammond, G.R. (1971) Modification of the startle reflex in the rat by changes in the auditory and visual environments. *J. Comp. Psychol.*, 75:435-452.
- Ison, J.R.; Bowen, G.P. and Kellogg, C. (1991) Potentiation of acoustic startle behavior in the rat (Rattus norvegicus) at the onset of darkness. *J. Comp. Psychol.*, 105(1): 3-9.
- Iwata, J.; Chida, K. and LeDoux, J.E. (1987) Cardiovascular responses elicited by stimulation of neurons in the central amygdaloid nucleus in awake but not anesthetized rats resemble conditioned emotional responses. *Brain Res.*, 418: 183-188.
- Jacqmin, P., Lesne, M. (1986) Benzodiazépines: De l'importance de la Pharmacocinétique et de l'Expérience Clinique. Unité de Pharmacocinétique et de Toxicologie Cliniques. Ed Roche.
- Jadoul, C. (1986) Contribution à l'étude de l'habituation au stress de rats isolés et sociaux ayant subi des perturbations du rythme circadien au cours de l'ontogenèse. Mémoire FNDP.
- Jordan, W.P. and Leaton, R.N. (1982) The effects of mesencephalic reticular formation lesions on long- and short-term habituation of the startle and lick suppression responses in the rat. *J. Comp. Psychol.*, 96:170-183.
- Jordan W.P. and Leaton, R.N. (1983) Habituation of the acoustic startle response in rats after lesions in the mesencephalic reticular formation or in the inferior colliculus. *Behav. Neurosci.*, 97 (5), 710-724.
- Jordan, W.P. (1989) Mesencephalic reticular formation lesions made after habituation trainig abolish long-term habituation of the acoustic startle response in rats. *Behav. Neurosci.*, 103:805-815.
- Kehne, J.H and Davis, M. (1985) Central noradrenergic involvement in yohimbine excitation of startle: Effects of DSP4 and 6-OHDA. *Brain Res.*, 330:31-41.

- Kehne, J.H.; Astrachan, D.I.; Astrachan, E.; Tallman, J.F. and Davis M. (1986) The role of spinal cord cyclic AMP in the acoustic startle response in rats. *J. Neurosci.*, 6(11):3250-3257.
- Kehne, J.H., Cassella, J.V. and Davis, M. (1988) Anxiolytic effects of buspirone and gepirone in the fear-potentiated startle paradigm. *Psychopharmacology*, 94:8-13.
- Kehne, J.H.; Boulis, N.M. and Davis, M. (1991) Effects of phosphodiesterase inhibitor rolipram on the acoustic startle response in rats. *Psychopharmacology*, 105:27-36.
- Kelly, J.B. and Masterton, B. (1977) Auditory sensitivity of the albino rat. *J. Comp. Psychol.*, 91(4):930-936.
- Lane, J.D.; Crenshaw, C.M.; Guerin, C.F.; Cherek, D.R. and Smith, J.E. (1982) Changes in biogenic amine and benzodiazepines receptors correlated with conditioned emotional response and its reversal by diazepam. *Eur. J. Pharmacol.*, 83: 183-190.
- Langer, S.Z. and Arbilla, S. (1988) Imidazopyridines as a tool for the characterization of benzodiazepine receptors: a proposal for a pharmacological classification as omega receptors subtypes. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 29(4):763-766.
- Leaton, R.N. and Borszcz, G.S. (1985) Potentiated startle: its relation to freezing and shock intensity in rats. *J. Exp Psychol. [Anim. Behav.]*, 11: 421-428.
- Leaton, R.N. and Supple, W.F. (1987) The amygdala and long-term habituation of the acoustic startle response and freezing in rats. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 13:644.
- Leaton, R.N. and Supple, W.F. (1991) Medial cerebellum and long-term habituation of acoustic startle in rats. *Behav. Neurosci.*, 105(6):804-816.
- LeDoux, J.E.; Iwata, J.; Cicchetti, P. and Reis, D.J. (1988) Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. *J. Neurosci.*, 8:2517-2529.
- Leeb-Lundberg, F and Olsen, R.W. (1980) *Psychopharmacology and Biochemistry of Neurotransmitter Receptors*. Yamamura, H.I.; Olsen, R.W. and Usdin, E. (eds), Elsevier, 593-606.
- Lehmann, H.E. and Ban, T.A. (1971) Effects of psychoactive drugs on conflict avoidance behavior in human subjects. *Acta. Nerv. Sup.*, 13:82-85.
- Leitner, D.S. and Cohen, M.E. (1985) Role of the inferior colliculus in the inhibition of acoustic startle in the rat. *Physiol. Behav.*, 34(1):65-70.
- Levitan, I.; Kaczmarek, L. (1991) *The neuron. Cell and Molecular Biology*. Oxford University Press.
- Lievens, S. and Knaepen, E. (1981) Manipulation exogène du rythme circadien au cours de l'ontogenèse du rat; mise en évidence des effets ultérieurs. *Mémoire en sciences zoologiques, UCL (inédit)*.
- Linnet, L.S. (1985) Tourette syndrome, pimozide and school phobia: the neuroleptic separation anxiety syndrome. *Am. J. Psychiatry*, 145(5):613-615.

- Lubbert, H.; Snutch, T.P.; Dascal, N.; Lester, H.A. and Davidson, N. (1987) Rat brain 5-HT_{1C} receptors are encoded by 5-6 kbase mRNA size class and are functionally expressed in injected *Xenopus* oocytes. *J. Neurosci.*, 7:1159-1165.
- Lüddens, H. and Wisden, W. (1991) Function and pharmacology of multiple GABA_A receptor subunits. *Trends Pharmacol. Sci.*, 12:49-51.
- Lund, J. (1981) Radioreceptor assay for benzodiazepines in biological fluids using a new dry and stable receptor preparation. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 41:275-280.
- Maatch, J.L. (1959) Learning and fixation after a single shock trial. *J. Comp. Psychol.*, 52:408-415.
- Mansbach, R.S. and Geyer, M.A. (1988) Blockade of potentiated startle responding in rats by 5-hydroxytryptamine 1A receptors ligands. *Eur. J. Pharmacol.*, 156: 375-383.
- Martin, I.L. (1987) The benzodiazepines and their receptors: 25 years of progress. *Neuropharmacology*, 26(7b):957-970.
- Matsubara, K.; Matsushita, A. (1982) Changes in ambulatory activities and muscle relaxation in rats after repeated doses of diazepam. *Psychopharmacology*, 77:279-283.
- Möhler, H. and Okada, T. (1977) Benzodiazepine receptor: demonstration in the central nervous system. *Science*, 198: 849-851.
- Nishikawa, T. and Scatton, B. (1986) Neuroanatomical site of inhibitory influence of anxiolytic drugs on central serotonergic transmission. *Brain Res.*, 371:123-132.
- Olsen, R.W. (1981) GABA-benzodiazepine-barbiturate receptor interactions. *J. Neurochem.*, 37:1-13.
- Ongini, E.; Barzaghi, C. and Marzanatti, M. (1983) Intrinsic and antagonistic effects of β -carboline FG7142 on behavioral and EEG actions of benzodiazepines and pentobarbital in cats. *Eur. J. Pharmacol.*, 95:125-129.
- Ornitz, E.M.; Guthrie, D.; Kaplan, A.R.; Lane, S.J. and Norman, R.J. (1986) Maturation of startle modulation. *Psychophysiology*, 23:624-634.
- Palfreyman, M.G. and Kehne, J.H. (1991) Does 5-HT have a role in anxiety and the action of anxiolytics? in: 5-Hydroxytryptamine in Psychiatry: a spectrum of ideas. Sandler, M.; Coppen, A. and Harnett, S. (eds) Oxford University Press: 207-227.

- Pascoe, J.P. and Kapp, B.S. (1985) Electrophysiological characteristics of amygdaloid central nucleus neurons during Pavlovian fear conditioning in the rabbit. *Behav. Brain Res.*,16:117-133.
- Pazos, A., Hoyer, D. and Palacios, J.M. (1984) The binding of serotonergic ligands to the porcine choroid plexus : characterisation of a new type of serotonin recognition site. *Eur. J. Pharmacol.*,106:539-546.
- Pazos, A. and Palacios, J.M. (1985) Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. I. Serotonin-1 receptors. *Brain Res.*,346:205-230.
- Pellow, S. and File, S.E. (1986) Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in a elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.*,24:525-529.
- Pellow, S.; Johnston, A.L.; File, S.E. (1987) Selective agonists and antagonists for 5-hydroxytryptamine receptor subtypes, and interactions with yohimbine and FG7142 using the elevated plus-maze test in the rat. *Eur. J. Pharmacol.*, 39:917-928.
- Peroutka, S.J.; Heuring, R.E., Mauk, M.D. and Kocsis, J.D. (1986) Analysis of 5-HT₁ binding site subtypes and potential functional correlates. *Psychopharmacol. Bull.*,22:813-817.
- Peroutka, S.J. and Schmidt, A.W. (1991) An overview of 5-hydroxytryptamine receptor families in: 5-hydroxytryptamine in psychiatry: a spectrum of ideas. Sandler, M.; Coppen, A. and Harnett, S. (eds). Oxford University Press,2:2-22.
- Pestiaux, J.L.; De Jaer, M.; Dierickx, Y.; De Somer, M. (1985) La consommation et le coût des médicaments. Enquête nationale parmi les affiliés de la Mutualité Socialiste.
- Pich, E.M. and Samanin, R. (1986) Disinhibitory effects of buspirone and low doses of Sulpiride and Halopéridol in two experimental anxiety models in rats: possible role of dopamine. *Psychopharmacology*,89:125-130.
- Pilz, P.K.D.; Schnitzler, H.U. and Menne, D. (1987) Acoustic startle threshold of the albino rat (*Rattus norvegicus*). *J. Comp. Psychol.*,101:67-72.
- Piret, B. Depaulis, A. and Vergnes, M. (1991) Opposite effects of agonist and inverse agonist ligands of benzodiazépine receptor on self-defensive and submissive postures in the rat. *Psychopharmacology*,103:56-61.
- Riblet, L.A.; Taylor, D.P.; Eison, M.S. and Stanton, H.C. (1982) Pharmacology and Neurochemistry of Buspirone. *J. Clin. Psychiatry*,43,12 [sec.2]:11-16.
- Riblet, L.A.; Eison, M.S.; Taylor, D.P.; Temple, D.L. and Vander Maelen, C.P. (1984) Neuropharmacology of Buspirone. *Psychopathology*,17 (suppl.3):69.
- Richter, C.P. (1971) Inborn nature of the rats 24-hour clock. *J. Comp. Psychol.*,75(1):1-4.
- Rickels, K. and Schweizer, E.E. (1986) Benzodiazepines for treatment of panic attacks: a new look. *Psychopharmacol. Bull.*, 22(1):93-99.

- Robinson, D.S. (1991) Antidepressant efficacy of 5-HT_{1A} partial agonist drugs in 5-hydroxytryptamine in psychiatry: a spectrum of ideas. Sandler, M.; Coppen, A. and Harnett, S. Oxford University Press, 13:157-165.
- Rosen, J.B. and Davis, M. (1988) Enhancement of acoustic startle by electrical stimulation of the amygdala. *Behav. Neurosci.*, 102:195-202.
- Rosen, J.B.; Hitchcock, J.M.; Sananes, C.B.; Miserendino, M.J.D. and Davis, M. (1991) A direct projection from the central nucleus of the amygdala to the acoustic startle pathway: anterograde and retrograde tracing studies. *Behav. Neurosci.*, 105(6):817-825.
- Rosenberg, H.C. and Chiu, T.H. (1985) Time course for development of benzodiazepine tolerance and physical dependence. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 9:123.
- Ross, L.E. (1961) Conditioned fear as a function of CS-USC and probe stimulus intervals. *J. Exp. Psychol.*, 61:265-273.
- Russell, K.H., Hagenmeyer-Houser, S.H. and Sanberg, P.R. (1987a) Haloperidol produces increased defecation in rats in habituated environments. *Bull. Psychonom. Soc.*, 25(1):13-16.
- Russell, K.H., Hagenmeyer-Houser, S.H. and Sanberg, P.R. (1987b) Haloperidol-induced emotional defecation: a possible model for neuroleptic anxiety syndrome. *Psychopharmacology*, 91:45-49.
- Sananes, C.B. and Davis, M. (1992) N-methyl-D-aspartate lesions of the lateral and basolateral nuclei of the amygdala block fear potentiated startle and shock sensitisation of the startle. *Behav. Neurosci.*, 106(1):72-80.
- Sanberg, P.R. (1989) Neuroleptic-induced emotional defecation: Effects of Pimozide and Apomorphine. *Physiol. Behav.*, 46:199-202.
- Sanders-Bush, E. and Conn, P.J. (1987) Neurochemistry of serotonin neuronal systems: consequences of serotonin receptor activation. In: *Psychopharmacology: the third generation of progress*. Meltzer, H.Y. (eds), Raven press, New York, 95-103.
- Sansone, M. (1979) Effects of repeated administration of chlordiazepoxide on spontaneous locomotor activity in mice. *Psychopharmacology*, 66:109-110.
- Salt, J.S. and Taberner, P.V. (1984) Differential effects of benzodiazepines and amphetamine on exploratory behaviour in weanling rats: An animal model for anxiolytic activity. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatr.*, 8:163-169.
- Schwartz, G.; Hoffman, H.S.; Stitt, C.L. and Marsh, R.R. (1976) Modification of the rat's acoustic startle response by antecedent visual stimulation. *J. Exp. Psychol. [Anim. Behav.]*, 2:28-37.
- Shivers, B.D.; Killisch, I.; Sprengel, R.; Sontheimer, H.; Köhler, M.; Schofield, P.R.; Seeburg, P.H. (1989) Two novel GABA_A receptor subunits exist in distinct neuronal subpopulations. *Neuron*, 3:327-337.
- Snyder, S. (1987) *Les drogues et le cerveau. Utilité et méfaits des médicaments du cerveau*. Pour la Science diffusion. Belin. Paris.

- Soubrie, P. and Thiebot, M.H. (1986) Some pre-clinical observations with buspirone: its effects of animal models of anxiety, depression and impulse control. Proc. 15th C.I.N.P. Congr. Puerto Rico, 153.
- Spencer, D.G.; Schuurman, T. ; Glaser, T.; Kümmel, B.; Schölmhammer, G. and Trager, J. (1989) Buspirone, ipsapirone and related compounds: 5-HT_{1A} receptors in anxiety. New pharmacological approaches to depression and anxiety. International conference on antidepressive and anxiolytic drugs, 7-8 december 1989, London.
- Squires, R. and Braestrup, c. (1977) Benzodiazepine receptor in rat brain. *Nature*, 266:732-734.
- Stein, I.; Wise, C.D.; Berger, B.D. (1973) Antianxiety action of benzodiazepines: Decrease in activity of serotonergic neurones in the punishment system. In: Benzodiazepines. Garrattini, S.; Mussini, E.; Randell, L.O. (eds) Raven Press, New York, 299-326.
- Steinbusch, M. and Niewenhuys, R. (1983) The raphe nuclei of the rat brainstem: a cytoarchitectonic and immunohistochemical study. In: Chemical Neuroanatomy, Emson, P. (eds) Raven Press, New York, 131-207.
- Study, R.E. and Barker, J.L. (1981) Diazepam and (-) potentiation of gamma-amino butyric acid responses incultured central neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 78:7180-7184.
- Suranyi - Cadotte, B.E.; Bodnoff, S.R. and Welner, S.A. (1990) Antidepressant-anxiolytic interactions: involvement of the benzodiazepine-GABA and serotonin systems. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry.*, 14:633-654.
- Svensson, L. (1990) The role of the dopaminergic system in the modulation of the acoustic startle response in the rat. *Eur. J. Pharmacol.*, 175:107-111.
- Ticku, M.K. and Olsen, R.W. (1978) *Life Sci.*, 22:1643.
- Ticku, M.K. (1983) Benzodiazepine-GABA receptor-ionophore complex. Current concepts. *Neuropharmacology*, 22(12b):1459-1470.
- Treit, D.; Treit, J.P.J. and Fibiger, H.C. (1981) Conditioned defensive burying: A new paradigm for the study of anxiolytic agents. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 15:619-626.
- Treit, D. (1985) Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 9 (2):203-222.
- Vrana, S.R.; Spence, E.L. and Lang, P.J. (1988) The startle probe response: A new measure of emotion ? *J. Abnorm. Psychol.*, 97:487-491.
- Walsh, R.N.; Cummins, R.A. (1976) The open-field test: a critical review. *Psychol. Bull.*, 83:482-504.
- Walsh, T.J.; McLamb, R.L. and Tison, H.A. (1986) A comparison of the effects of RO 15-1788 and chlordiazepoxide on hot-plate latencies, acoustic startle and locomotor activity. *Psychopharmacology.*, 88:514-519.
- Westenberg, H. (1992) How efficacious are serotonin related drugs in anxiety and related disorders ? International Symposium on the role of serotonin in psychiatric disorders. 24-26 june 1992. Castres (France).

- White, S.R.; Neuman, R.S. (1980) Facilitation of spinal motoneurone excitability by 5-hydroxytryptamine and nora-drenaline. *Brain Res.*,185:1-9.
- Witkin, J.M. and Barrett, J.E. (1986) Interaction of buspirone and dopaminergic agents on punished behavior of pigeons. *Pharmacol. Biochem. Behav.*,24:751-756.
- Wong, P.T.; MacGeer, E.G. (1981) Postnatal changes of GABAergic and glutamatergic parameters. *Brain Res. Brain res. Rev.*,1: 519-529.
- Yagaloff, K.A. and Hartig, P.R. (1985) ¹²⁵I-Lysergic acid diethylamide binds to a novel serotonergic site on rat choroid plexus epithelial cells. *J. Neurosci.*,5: 3178-3183.
- Young, B.J.; Helmstetter, F.J.; Rabchenuk, S.A. and Leaton, N.L. (1991) Effects of systemic and intra-amygdaloid Diaze-pam on long-term habituation of acoustic startle in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*,39 (4):903-909.