

Uzależnienie od benzodiazepin: aspekty farmakologiczne

Benzodiazepine dependence: Pharmacological aspects

ADAM PŁAŻNIK

Z Zakładu Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego IPiN w Warszawie

STRESZCZENIE. *Pochodne benzodiazepiny są najpopularniejszymi lekami anksjolitycznymi. Do najpoważniejszych wad tej grupy leków należy działanie amnestyczne, stopniowy rozwój tolerancji wobec ich efektów psychotropowych oraz powstanie uzależnienia. Tematem tej pracy jest analiza mechanizmów ośrodkowych odpowiedzialnych za zjawiska tolerancji i uzależnienia. Na podstawie przeglądu wyników badań biochemicznych, elektrofizjologicznych i behawioralnych na zwierzętach, autor sugeruje, że przyczyną obu zjawisk może być stopniowy rozwój niedoczynności ośrodkowego układu GABA-ergicznego, związanego z receptorami GABA-A. Na poziomie komórkowym proces ten przejawia się osłabieniem siły prądu chlorkowego uruchamianego przez receptor GABA-A, skutkującym słabszym hamowaniem struktur limbicznych odpowiedzialnych za pośrednictwo w procesach emocjonalnych. W świetle takiej koncepcji rozwoju tolerancji na działanie benzodiazepin, korzystnie przedstawia się grupa częściowych agonistów receptora benzodiazepinowego (bretazenil, imidazenil) oraz selektywnych agonistów receptora benzodiazepinowego 1, tj. omega-1 (alpidem, zolpidem). Wymienione grupy leków, z powodu słabszego pobudzania receptora GABA-A lub działania tylko na pewną frakcję tego typu receptorowego, nie doprowadzają do nadmiernego przeregulowania systemu GABA-ergicznego, pozostawiając miejsce na oddziaływanie endogennego neuroprzekaznika - kwasu gammaaminomasłowego. Stan taki skutkuje słabszym rozwojem tolerancji.*

SUMMARY. *Benzodiazepine derivatives are among the most popular anxiolytic drugs. The most serious negative drawbacks of this group of drugs are their amnesiogenic nature, increased tolerance of psychotropic effects, and dependence. This paper analyzes the CNS mechanisms responsible for tolerance and dependence. On the basis of a review of biochemical, electrophysiological and behavioural animal studies the author suggests that both these phenomena may be caused by gradual development of hypoactivity of the central GABA-ergic system which is related to GABA-A receptors. At the cellular level this process is manifest in the weakening of the intensity of the chloride current triggered by the GABA-A receptor which leads to weaker inhibition of the limbic structures responsible for emotional mediation. In light of this conception of benzodiazepine tolerance development the group of partial antagonists of the benzodiazepine receptor (bretazenil, imidazenil) and selective agonists of the benzodiazepine 1, i.e., omega-1, receptor (alpidem, zolpidem) present themselves favourably. Because they have a weaker stimulating effect on the GABA-A receptor or affect only a fraction of this receptor type, these groups of medications do not cause excessive re-adjustment of the GABA-energetic system and leave room for the activity of the endogenous neurotransmitter - gamma aminobutyric acid. This leads to weaker tolerance development.*

Słowa kluczowe: benzodiazepiny / uzależnienie / tolerancja / farmakologia

Key words: benzodiazepines / dependence / tolerance / pharmacology

Uzależnienie od benzodiazepin jest istotnym problemem medycznym i społecznym. Stało się tak głównie z powodu masowego nadużywania tej grupy leków. Źródła i przebieg procesów w OUN będących przyczyną rozwoju uzależnień pozostają niejasne. Poznanie adaptacyjnych zmian w czynności mózgu powstających pod wpływem przewlekłego podawania tej grupy leków, może pomóc w poznaniu mechanizmów rozwoju zależności lekowych, a tym samym przyczynić się do opracowania skutecznych sposobów zapobiegania i leczenia uzależnień.

Uzależnienia od benzodiazepin bada się i ocenia metodami farmakologii doświadczalnej. Polegają one na obserwacji zaburzeń funkcji fizjologicznych organizmu i zachowania zwierząt poddanych odpowiednim testom. Do zaburzeń tych należą: zmiany w progu drgawkowym, w długości snu, wpływie zaburzającym koordynację mięśniową lub pamięć i uczenie, w zachowaniu kierowanym lękiem itp. Wnioskowanie jest więc pośrednie, trudno bowiem inaczej oceniać w modelach zwierzęcych tak złożone a podstawowe zjawiska w rozwoju uzależnień - zmiany psychiczne jak euforia i dysforia. Do modelowych objawów uzależnienia zalicza się: rozwój tolerancji na różne działania ośrodkowe i obwodowe leków, wystąpienie objawów zespołu abstynencyjnego po odstawieniu leku, sygnał różnicowy w procedurze "dyskryminacji" leków (zwierzę uczy się kojarzenia wyboru jednej z dźwigni, nagradzanego pokarmem, z wpływem modelowego związku euforyzującego, a potem sprawdza się czy badany lek jest tak samo rozpoznawany, tzn. czy wywołuje zastosowanie tej samej dźwigni), zjawisko samo-podawania (zwierzę z zaimplantowanym do żyły kateterem może samo, po pewnym przyuczeniu, przez naciskanie dźwigni wstrzykiwać sobie środki uzależniające). Jednak najbardziej adekwatne z nich są technicznie trudne do przeprowadzenia, a także dają wyniki fałszywie negatywne w przypadku takich substancji jak benzodiazepiny, z powodu ich silnego wpływu ogólnie sedatywnego i wą-

skiego "okna terapeutycznego" w zakresie oddziaływania na nastrój i emocje.

Niestety, *nie ma bezpośredniej korelacji między siłą efektu psychicznego danego leku a zmianami w funkcjonowaniu organizmu*, np. brak związku między silnie uzależniającym psychicznie działaniem amfetaminy i kokainy a słabymi objawami lub brakiem objawów fizycznych zespołu abstynencyjnego. Stąd wnioskowanie na podstawie badań przedklinicznych jest obarczone dużym błędem. Dodatkowo, rozwój tolerancji może być spowodowany procesami farmakokinetycznymi, np. wzmożonym metabolizmem. Dlatego eksperymentalne analizy leków na zwierzętach powinny opierać się na kilku jednocześnie zastosowanych modelach.

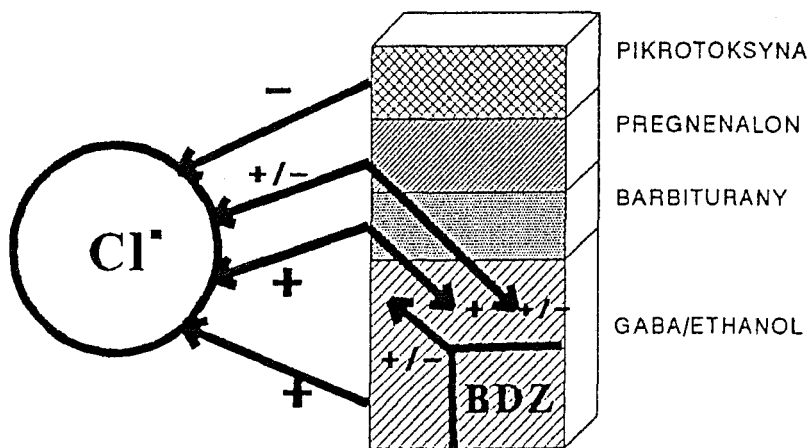
Pomimo tych wszystkich trudności, nauka dopracowała się w okresie ostatnich 30 lat wielu sprawnych narzędzi do badania zjawiska uzależnień lekowych. Przyczyny braku zadowalających postępów na tym polu należy natomiast widzieć w *niedostatecznym rozwoju wiedzy na temat mechanizmów ośrodkowego działania leków uzależniających*. Akurat w tym zakresie, w grupie środków anksjolitycznych o ustalonym w tej chwili potencjale uzależniającym, dokonał się w ostatnim okresie największy postęp. Ponieważ znajomość mechanizmów działania benzodiazepin (BDZ) rzutuje na interpretacje zjawiska uzależnienia, przed przystąpieniem do jego szczegółowej analizy należy przedstawić najistotniejsze fakty dotyczące efektów ośrodkowych tej grupy leków.

RECEPTORY BENZODIAZEPINOWE

Benzodiazepiny działają przez wpływ na 3 rodzaje receptora benzodiazepinowego (BDZ), z których dwa stanowią fragment kompleksu receptora GABA-A, zbudowanego z 5 typów podjednostek białkowych: alfa, beta, gamma, ro i delta (50). Badania przy użyciu metod biologii molekularnej stwierdziły istnienie wielu rodzajów podjednostek: alfa (1-6), beta (1-

3), gamma (1-3), ro (1-2), delta (1). W sumie, jak się obecnie wydaje, 16 genów koduje podjednostki kompleksu GABA-A/BDZ i teoretycznie możliwych jest około 10 tysięcy ich kombinacji (39, 55). Jednak 60-70% wszystkich receptorów GABA-A/BDZ zbudowanych jest z podjednostki alfa1, beta2, gamma2 (6). Dalsze analizy pozwoliły na określenie budowy receptora BDZ1 (receptor omega1: alfa1, beta2, gamma2) i receptora BDZ2 (receptor omega2: alfa2, beta3, gamma2). Podjednostka alfa zawiera miejsce wiążące benzodiazepiny, natomiast GABA wiąże się do podjednostki typu beta. Benzodiazepiny, po związaniu ze swoim receptorem, potencjalizują funkcje endogennego GABA, który po połączeniu z podjednostką beta powoduje otwarcie jonoforu chlorkowego i hiperpolaryzację błon komórkowych, nasilając w ten sposób procesy związane z hamowaniem wielu czynności OUN. Receptor GABA-A/BDZ posiada również miejsca stereoselektywnego wiązania barbituranów, środków drgawkotwórczych (np. pirotyksyny) oraz tzw. neurosteroidów (rys. 1). Obecnie znanych jest niewiele jeszcze związków wykazujących wyraźną selektywność wiązania z podtypami receptorów BDZ. Należą do nich pochodne imidazopirydynowe alpidem i zolpidem, sub-

stancja oznaczana kodem CL 218,872 oraz kwazepam (związek o budowie benzodiazepinowej), wiążące się z receptorem omega1 w OUN (47, 48, 49, 50). Największe koncentracje receptorów omega1 występują między innymi w opuszkach węchowych, mózdzku, nowej korce, istocie czarnej, a receptorów omega2 - w hipokampach, podwzgórzu, prążkowie, jądrach półleżących i rdzeniu kręgowym (6). Odmienna dystrybucja podtypów receptora omega może stanowić mechanizm selektywności efektów klinicznych zolpidemu, środka o potwierdzonym działaniu nasennym i przeciwlękowym, ale pozbawionym wpływu zwiotczającego mięśnie szkieletowe, upośledzającego rytm theta oraz uczenie i pamięć (47, 48). Z drugiej strony, duża koncentracja receptorów omega2 w hipokampach i rdzeniu kręgowym sugeruje ich rolę w efektach amnestycznych i zwiotczających mięśnie nieselektywnych pochodnych 1,4-benzodiazepiny (6). Niewątpliwie, poznanie zasad molekularnej budowy receptora GABA-A/BDZ pozwala również na analizę i zrozumienie zmian zachodzących w jego składowych, towarzyszących zjawiskom tolerancji i uzależnienia, np. różna regulacja podjednostek receptorowych przez przewlekle stosowane BDZ (p. dalej).



Rysunek 1. Schemat kompleksu receptorowego GABA-A/BDZ z zaznaczeniem przedstawicieli najważniejszych grup związków oddziałujących na ten receptor. (+) lub (-) oznaczają wpływ pobudzający lub hamujący. Szczegółowe wyjaśnienia w tekście.

Trzeci typ receptora BDZ, tzw. obwodowy, występuje na zewnętrznej błonie mitochondrialnej, w komórkach glejowych, endokrynych jąder i nadnerczy (2). Te miejsca receptorowe służą regulacji transportu cholesterolu do mitochondriów i syntezie z niego pregnenolonu oraz innych związków pochodnych, tzw. neurosteroidów: THDOC, dehydroepiandrosteronu, siarczanu pregnenolonu. Stwierdzono, że neurosteroidy wpływają na funkcje receptorów jonowych, w tym GABA-A, pobudzając jego aktywność, tzn. zachowują się jak agoniści receptorowi. Z tym działaniem są najprawdopodobniej związane ich efekty przeciwlękowe, przeciwdrgawkowe i zwiotczające mięśnie szkieletowe. Niektórzy agoniści receptora omega1, np. alpidem, wykazują wysokie powinowactwo również wobec tego rodzaju receptora benzodiazepinowego (49) i sugeruje się, że ten kierunek oddziaływania może być istotny dla ich efektów ośrodkowych.

Kolejną cechą związków wpływających na receptory BDZ, poznaną i wykorzystywaną w ostatnim okresie zarówno dla celów praktycznych, jak i dla konstrukcji hipotez dotyczących rozwoju uzależnienia, jest "częściowy" agonizm działania na kompleks receptorów GABA-A/BDZ. Interakcję leku z receptorem opisują dwa podstawowe zjawiska: siła działania (moc, *potency*) oraz skuteczność (wydajność, *efficacy*). Siła działania jest zdefiniowana jako dawka leku potrzebna dla wywołania odpowiedniego efektu. W badaniach biochemicznych określana mianem powinowactwa (*affinity*) do receptora (im większe powinowactwo tym większa "siła" działania leku). Skuteczność natomiast zależy od aktywności "wewnętrznej" leku, tzn. zdolności wywoływania zmian konformacyjnych (w strukturze) i potem w czynności receptora i opisuje maksymalny efekt możliwy do wywołania po całkowitym wysyceniu receptorów przez badaną substancję.

Pełny agonista charakteryzuje się maksymalną skutecznością (choć może mieć niską "siłę" i dla osiągnięcia pełnego efektu należy

stosować relatywnie duże dawki). Częściowy agonista może być bardzo "silny", ale z cząstkową tylko skutecznością. Oznacza to, że nawet przy pełnym wysyceniu receptorów przez częściowego agonistę, nie może on wywołać całej gamy efektów związanych z pobudzeniem danego typu receptora. Z opisanego mechanizmu wynika także to, że częściowi agoniści muszą wiązać się z większą liczbą receptorów dla spowodowania odpowiedniego działania. Ze względu na niską skuteczność, a często dużą siłę, częściowy agonista może także osłabiać lub znosić niektóre efekty pełnych agonistów. Oczywiście, w zgodzie z opisanym modelem "czysty" antagonist charakteryzuje się niekiedy dużą siłą, ale zawsze zerową skutecznością. Te wszystkie rozważania odnoszą się również do agonistów kompleksu receptorów GABA-A/BDZ (50). Stwierdzono w badaniach *in vivo*, że pełny agonista receptora BDZ działa anksjolitycznie i przeciwdrgawkowo już przy 30% wysyceniu receptorów. Natomiast częściowi agoniści, tacy jak pochodne imidazobenzodiazepiny - imidazenil i bretazenil dla wywołania zbliżonych efektów muszą wiązać się ze znacznie większą częścią receptorów BDZ (26).

Podobne analizy farmakologiczne przeprowadzone z różnymi lekami, pozwoliły na podzielenie benzodiazepinowych i niebenzodiazepinowych związków wiążących się z receptorami BDZ na następujące grupy:

-
- pełny agonista (np. diazepam),
 - częściowy agonista (bretazenil),
 - antagonist (flumazenil),
 - częściowy odwrotny agonista (FG 7142) i
 - odwrotny agonista (pochodne beta-karboliny, beta-CCM, Ro 19 4603)
-

Odwrotni antagoniści - to związki wiążące się selektywnie z receptorami BDZ, ale wywołujące efekty przeciwstawne w porównaniu z benzodiazepinami, np. nasilają lęk i drgawki oraz zjawisko *kindling* (drgawki rozniecane), hamują prąd chlorkowy itp.

Jedną z przyczyn większej selektywności działania psychotropowego częściowych agonistów receptora BDZ może być fakt, że dla osiągnięcia głębszych etapów hamowania czynności OUN, potrzebne jest większe wysycenie receptorów, na skutek mniejszej skuteczności leku. Na przykład, ponieważ dla efektu przeciwłękowego w teście uniesionego labiryntu krzyżowego bretazenil musi się związać z co najmniej 89% receptorów BDZ w OUN, pozostała wolna część (frakcja) receptorów BDZ może okazać się niewystarczająca dla wywołania silniej wyrażonego hamowania funkcji ośrodkowych, w tym sedacji czy ataksji (26).

Tego rodzaju rozważania i analizy stanęły u źródła koncepcji podziału benzodiazepin zaproponowanej przez W. Haefelego (19, 34) (tabl. 1). Według niej systemy neuronalne odpowiedzialne za wystąpienie określonych reakcji ośrodkowych modulowanych przez receptory BDZ mogą charakteryzować się brakiem lub bardzo małą rezerwą receptorową i dlatego są modyfikowane tylko przez pełnych agonistów receptorowych (34). Z przeprowadzonych badań wynika, że pełny agonista receptorów BDZ powinien powodować amnezję

wsteczną i zaburzenia koordynacji ruchowej, obok działania przeciwłękowego, przeciwdrgawkowego i hiperfagicznego.

Rozwinięciem tej koncepcji są prace badaczy pod kierunkiem E. Costy (3, 16) (tabl. 1). Podzielili oni związki wiążące się receptorami benzodiazepinowymi na 3 grupy: (FAM) - charakteryzuje się dużą mocą i skutecznością wobec większości podtypów kompleksu receptora GABA-A/BDZ (np. alprazolam, triazolam), (SAM) - dużą mocą i skutecznością wobec niektórych tylko podtypów receptora GABA-A/BDZ (np. diazepam i alpidem), (PAM) - dużą mocą ale niską skutecznością (aktywność wewnętrzna) wobec wielu różnych podtypów kompleksu receptora GABA-A/BDZ (np. bretazenil). Na przykład, imidazenil stymuluje z podobną niską skutecznością prąd chlorkowy przez wpływ na wiele podtypów receptora GABA-A/BDZ, zawierających podjednostki alfa1, 2, 3 i 5 (16). Ważną cechą leków z grupy PAM jest to, że pobudzają one w niewielkim tylko stopniu aktywność układu GABA-ergicznego mózgu traktowanego jako całość, pozostawiając możliwość oddziaływania endogennego neuroprzekaźnika. Taka sytuacja zapobiega przeregulowaniu ca-

Tablica 1. Podział agonistów receptorów benzodiazepinowych wg W. Haefely'ego i wsp. (19, 34) oraz E. Costy i wsp. (3, 16)

	Profil farmakologiczny	Przykłady
Haefely i wsp. (19, 34)	pełny agonista: związek wykazujący zdolność wywoływania amnezji i ataksji, przy niskim lub średnim wysyceniu receptorów	diazepam triazolam
	częściowy agonista: związek nie wywołujący ataksji i amnezji, nie hamujący drgawek, aktywny przeciwłękowo i nasilający przyjmowanie pokarmów przy wysokim wysyceniu receptorów. Powinien hamować efekty sedatywne pełnych agonistów	bretazenil imidazenil abekarnil
Costa i wsp. (3, 16)	FAM: wysoka skuteczność (<i>efficacy</i>) i siła (<i>potency</i>) wobec większości podtypów receptora GABA-A/BDZ	triazolam alprazolam
	SAM: duża siła i skuteczność wobec niektórych tylko podtypów receptora GABA-A/BDZ	diazepam alpidem
	PAM: duża siła, niska skuteczność (aktywność wewnętrzna) wobec wielu podtypów receptora GABA-A/BDZ	bretazenil imidazenil

tego systemu i następczym zmianom adaptacyjnym odpowiedzialnym, między innymi, za zjawiska tolerancji i uzależnienia. Z tego też powodu najsilniejszym działaniem uzależniającym, a także rozwojem tolerancji, zaburzeniami psychicznymi i potencjalizacją efektów barbituranów i etanolu charakteryzuje się grupa FAM, a najslabszym - PAM. Sprawy te będą dyskutowane bardziej szczegółowo w dalszych częściach pracy.

UZALEŻNIENIE, TOLERANCJA I ZESPÓŁ ABSTYNYNCYJNY

Nie ma w tej chwili wątpliwości co do tego, że benzodiazepiny wywołują u ludzi tolerancję, uzależniają i mogą spowodować objawy zespołu abstynencyjnego, chociaż na początku ich kariery uważano je za leki całkowicie bezpieczne (12). Takie przekonanie wynikało z porównania benzodiazepin ze znacznie bardziej toksycznym meprobamatem i barbituranami. Na przykład, alprazolam stosowany w dawce 0,5 mg dziennie przez 100 tygodni, uzależniał 100% pacjentów (52). Halazepam w dawce 40 mg 3 razy dziennie przez 3 tygodnie lub oksazepam (15 mg 3 razy dziennie przez 3 tygodnie), po odstawieniu powodował u ponad połowy pacjentów wystąpienie objawów zespołu abstynencyjnego, utrzymującego się przez następne kilka tygodni, w tym

najczęściej obserwowano drżenia mięśniowe, zaburzenia snu (o typie *rebound insomnia*), zaburzenia koncentracji, depresję, bóle mięśniowe, napady gorąca, zmęczenie (46) (tabl. 2). Rzadko natomiast dochodzi do klinicznie rozpoznawanego obniżenia progu drgawkowego, zaburzeń krążeniowych i objawów psychotycznych typu depersonalizacji.

Również w modelach zwierzęcych można wykazać rozwój tolerancji na działanie klasycznych benzodiazepin. Dotyczy to w pierwszej mierze ich wpływu amnestycznego, ataktycznego i przeciwdrgawkowego (3, 13). Znacznie słabiej i wolniej dochodzi do osłabienia działania przeciwlękowego (8, 12, 45, 55, 56). Towarzyszy temu zjawisko uzależnienia, wyrażane objawami zespołu abstynencyjnego po nagłym odstawieniu przewlekle stosowanych benzodiazepin. Generalnie znacznie słabiej i wolniej rozwija się tolerancja wobec działania ośrodkowego częściowych agonistów receptorów BDZ (imidazenil, bretazenil, abekarnil) oraz selektywnych agonistów receptora omega1 (alpidem, zolpidem, kwazepam) (3, 19, 48, 49, 55). Co więcej, wykazano, że bretazenil podawany wielokrotnie nie tylko nie traci siły swego działania przeciwdrgawkowego (u myszy), ale jest zdolny do wywołania zespołu abstynencyjnego u małą uzależnionych od diazepam (19). Zaskakującym i interesującym

Tablica 2. Najczęstsze objawy zespołu abstynencyjnego występujące po odstawieniu przewlekle stosowanych benzodiazepin

U ludzi (według częstości występowania) (46)	U gryzoni (7, 53)
objawy zmęczenia	wzrost agresywności
zaburzenia snu (<i>rebound insomnia</i>)	nasilenie reaktywności na bodźce
obniżenie nastroju (depresje)	hypertermia
zaburzenia koncentracji	spadek aktywności motorycznej
bóle mięśniowe	spadek łaknienia
drżenie	spadek wagi ciała
napady gorąca/zimna	biegunka
bóle głowy	wzrost napięcia mięśniowego
nudności	drżenie
zaburzenia równowagi	nastroszenie sierści
zaburzenia widzenia	wytrzeszcz oczu
spowolnienie mowy	zaburzenia rytmu sen/czuwanie
objawy depersonalizacji	obniżenie progu drgawkowego

faktem jest brak tolerancji krzyżowej między diazepamem i imidazenilem, w modelu tolerancji na działanie przeciwdrgawkowe diazepam (3). Zwierzęta, którym podawano przez 2 tygodnie diazepam i triazolam, wykazywały w okresie abstynencji bardzo wyraźny wzrost lęku, nasilany przez flumazenil, w teście Vogla (3). Natomiast w grupie zwierząt, w której stosowano bretazenil i imidazenil w równoważnych pod względem działania do diazepam dawkach, nie obserwowano żadnych zmian w wynikach tego testu w okresie po ich odstawieniu (3). W procedurze odróżniania sygnału generowanego przez środek drgawkotwórczy i prołękowy, pentylenetetrazol (antagonista receptora GABA-A/BDZ, blokujący kanał chlorkowy), odstawienie diazepam lub zastosowanie antagonisty receptorów BDZ flumazenilu u szczurów, którym podawano diazepam w dawce 20 mg/kg dziennie przez 6 dni, spowodowało bardzo wyraźną preferencję dźwigni związanej z bodźcem pentylenetetrazolowym (9). Dane te świadczą o niedoczynności układu GABA w okresie abstynencji, tzn. o sytuacji charakteryzującej również stan po podaniu pentylenetetrazolu.

Zespół abstynencyjny związany z zaprzestaniem podawania klasycznych BDZ jest u zwierząt bardzo podobny do klinicznych objawów abstynencji. Dochodzi do wzrostu temperatury, spadku wagi ciała, spadku łaknienia (17), a także drżenia, zaburzeń snu (*rebound insomnia*) (38), wzrostu napięcia mięśniowego, nasilenia odruchu startowego itp. (53) (tabl. 2). Jest rzeczą interesującą, choć trudną w chwili obecnej do interpretacji, że nie ma wyraźnej statystycznie korelacji między intensywnością różnorodnych objawów zespołu abstynencji benzodiazepinowej (18). Może to świadczyć o odmiennym mechanizmie, np. hamowania łaknienia i awersji na sacharynę, w tym modelu eksperymentalnym (18). Udowodniono także, że chociaż większa część objawów zespołu abstynencyjnego jest wynikiem zaburzeń w czynności receptorów BDZ zlokalizowanych ośrodkowo, pewna ich ilość jest pochodzenia obwodowego. Stwierdzono na

przykład, że flumazenil wstrzyknięty dokomorowo zwierzętom poddanym wielokrotnym iniekcjom diazepam, w przeciwieństwie do podania dootrzewnowego tego antagonisty receptorowego, wywoływał behawioralne objawy zespołu abstynencyjnego, nie wpływając jednak na szybkość pasażu jelitowego pokarmu (pasaż przyspieszany był po jego podaniu obwodowym) (7). Jedną z ciekawszych grup agonistów receptora BDZ, charakteryzującą się słabym rozwojem tolerancji i uzależnienia, stanowią selektywni agoniści receptora omega1, zolpidem i alpidem (48, 49, 54). Uważa się, że receptory omega1 mogą nie ulegać adaptacyjnym zmianom na tle przewlekłego stosowania agonistów benzodiazepinowych (p. dalej).

Wielokrotne stosowanie klasycznych BDZ powoduje również zmiany w metabolizmie OUN. Badania autoradiograficzne z użyciem 2-dezoksyglukozy wykazały, że po 28 dniach stosowania diazepam, w dawce 5 mg/kg dziennie, dochodziło do zniesienia depresyjnego wpływu tego leku na zużycie glukozy w niektórych strukturach OUN związanych z procesami emocjonalnymi (ciała suteczkowate, podkładka hipokampa), obserwowane po pojedynczym podaniu (29). W tym samym modelu eksperymentalnym zjawisko tolerancji zostało wykazane jako brak efektu pojedynczej dawki diazepam, podanego na tle przewlekłe stosowanego leku (1). Dodatkowo stwierdzono, że flumazenil powoduje u zwierząt uzależnionych bardzo silny (powyżej wartości kontrolnych) wzrost zużycia glukozy skorelowany z wystąpieniem objawów zespołu abstynencyjnego (1).

Wiele argumentów przemawia za tym, że istotnym objawem rozwoju tolerancji na benzodiazepiny, a także przyczyną zespołu abstynencyjnego, jest *postępująca niedoczynność ośrodkowego kompleksu receptora GABA-A/BDZ*. Może to, przy nagłym odstawieniu benzodiazepin, prowadzić do gwałtownego odhamowania wielu procesów fizjologicznych (np. pobudliwości neuronalnej, spadku progu drgawkowego) i psychicznych, kontrolowanych przez GABA. Oprócz omówionych po-

wyżej niektórych dowodów z badań behawioralnych, można znaleźć wiele dowodów biochemicznych i elektrofizjologicznych potwierdzających tę tezę. W procedurze przewlekłego stosowania diazepam, po odstawieniu leku wystąpiło nasilenie działania prodrżawkowego i pobudzającego aktywność elektrofizjologiczną neuronów w skrawkach hipokampów FG 7142 - odwrotnego agonisty receptora GABA-A/BDZ (30, 32). Obserwowano także osłabienie pobudzającego wpływu agonisty receptora GABA-A muscimolu na prąd chlorkowy w synaptosomach korowych (30, 32). Ponieważ opisana procedura nie wpływała na wiązanie 35 S-TBPS, znacznika kanałów chlorkowych, zanotowane zmiany są prawdopodobnie wynikiem osłabienia funkcji receptorów GABA-A/BDZ, a nie zmniejszenia ich liczby (30). Przewlekłe podawany flurazepam wyraźnie osłabiał skuteczność flunitrazepamu, diazepam, pentobarbitalu i odwrotnego agonisty receptora GABA-A/BDZ, pochodnej beta-karboliny, w nasilaniu (lub hamowaniu) pobudzającego wpływu GABA na prąd chlorkowy w preparacie neuronów korowych (22). Ten efekt flurazepamu nie był osłabiany przez antagonistę receptorowego GABA-A i blokera kanału chlorkowego, pirotoksynę, lokalizując w ten sposób opisaną interakcję wyłącznie na poziomie receptorów BDZ (22, 59).

*Efekty przeciwstawne do opisanych powyżej, tzn. zwiększenie funkcji a nie liczby receptorów GABA-A/BDZ, ocenianych przez zmiany w wychwycie jonów Cl do korowych synaptosomów, zanotowano w trakcie długotrwałego stosowania antagonisty receptorów BDZ, flumazenilu (28, 36). Dodatkowo wystąpiło zwiększenie liczby receptorów BDZ w korze mózgu, mózdzku i hipokampach oraz pobudzenie motoryczne (36). Można to zjawisko interpretować jako proces kompensacyjny, mający na celu utrzymanie homeostazy kompleksu receptora GABA-A/BDZ, blokowanego przez antagonistę. Z drugiej strony, procedura wywoływania tzw. drgawek różnicowanych (*kindling*), polegająca na wielo-*

krotnym drażnieniu elektrycznym lub chemicznym jąder migdałowatych i wynikającym z tego stopniowym i coraz silniejszym obniżeniem progu drgawkowego, wyraźnie zmniejszała wiązanie znakowanej trytem benzodiazepiny (3H-flunitrazepamu) do kory mózgu i podwzgórza (42). Wniosek, że drgawki różnicowane są związane ze zmianą w funkcjonowaniu kompleksu receptora GABA-A/BDZ, wynika także z obserwacji blokady tego zjawiska przez flumazenil - antagonistę receptorowego benzodiazepin (40).

Badanie zmian liczby i powinowactwa przewlekłe stosowanych agonistów i antagonistów tych receptorów do receptorów BDZ i GABA-A, nie doprowadziło do jasnych konkluzji (12). Na przykład, chlordiazepoksyd stosowany w dawce 30 mg/kg przez 2 tygodnie, nie wpływał na parametry wiązania 3H-flunitrazepamu i 3H-flumazenilu w OUN, oceniane metodą autoradiografii, natomiast hamował znamienne wiązanie 3H-muscymolu (agonisty receptora GABA-A), w korze mózgu, prążkowie i hipokampach (25). Jednocześnie wystąpiło wyraźne osłabienie jego działania anksjolitycznego (test uniesionego labiryntu krzyżowego). Dane te świadczą o *dysocjacji efektów biochemicznych i behawioralnych przewlekłe stosowanej benzodiazepiny* (25). W literaturze tematu można znaleźć szereg prac wykazujących wzrost, spadek bądź brak zmian w parametrach wiązania znakowanych agonistów receptora BDZ, na tle wielokrotnie podawanych, w zbliżonych dawkach, benzodiazepin (25, 55). Najczęściej obserwowanym efektem jest brak statystycznie znamiennych zmian (51). Proponowano wyjaśnienie, że różnice w rozwoju tolerancji na efekty behawioralne BDZ mogą zależeć od ich selektywnego wpływu na receptory BDZ w niektórych tylko strukturach mózgu. Na przykład, przewlekłe stosowany lorazepam najszybciej obniżał liczbę receptorów BDZ w korze mózgu myszy, w sposób skorelowany czasowo z rozwojem tolerancji na działanie ataktyczne (35). Natomiast zmniejszenie liczby miejsc wiązania BDZ w podwzgórzu i hipokampach

występowało później, z jednoczesnym brakiem jakichkolwiek zmian z mózdzku i śródmózgowiu.

Sugerowano, że jedną z przyczyn heterogenności efektów benzodiazepin może być ich różna selektywność wobec podtypów receptorów benzodiazepinowych, występujących w różnych koncentracjach w odmiennych strukturach mózgu. Jednym z dowodów na to miałyby być, obserwowany w kilku pracach, brak zmian w wiązaniu BDZ i w czynności jonoforu chlorkowego sprzężonego z receptorem GABA-A w rejonach mózgu zawierających przewagę podtypu omega1 (np. w mózdzku) (15, 33, 57). Ten podtyp receptora miałyby nie ulegać procesom adaptacyjnym na tle przewlekłej stymulacji benzodiazepinami i w związku z tym byłby związany z wyraźniej słabszym rozwojem tolerancji w grupie jego selektywnych agonistów. Nowsze wyniki badań przeczą jednak takiej konkluzji: stwierdzono na przykład występowanie wyraźnej tolerancji krzyżowej między selektywnymi agonistami receptora omega1 alpidemem i zolpidemem a midazolamem i diazepamem, w zakresie hamowania aktywności motorycznej i blokowania drgawek po izoniazydzie (48, 49). Flurazepam stosowany przez okres 4 tygodni osłabiał wiązanie trytowanego zolpidemu w korze mózgu, mózdzku i hipokampach (58).

W świetle ewidentnych niepowodzeń związanych z poszukiwaniem wspólnych zmian w receptorach BDZ, występujących na tle przewlekłego stosowania agonistów receptorowych, w ostatnim okresie wysiłek wielu grup badawczych został skoncentrowany na analizie adaptacyjnych procesów zachodzących w różnych podjednostkach receptorowych, składających się na kompleks receptora GABA-A/BDZ. Otrzymane do tej pory wyniki są jeszcze mało koherentne i trudno z nich ułożyć spójny obraz. Obserwowano na przykład obniżenie aktywności mRNA kodującego podjednostkę alfa1 receptora GABA-A/BDZ w korze mózgu szczurów i myszy poddanych długotrwałemu działaniu diazepam i loraze-

pamu (21, 27). Ponieważ podjednostki alfa zawierają miejsce wiążące benzodiazepiny, należałoby się spodziewać korelacji opisanych zmian w ekspresji alfa1 mRNA ze spadkiem liczby lub aktywności receptorów omega1 (down regulacja). Kang i Miller (27) stwierdzili jednak wyraźną dysocjację czasową obu zjawisk: obniżenie wiązania w korze mózgu wystąpiło po 7 dniach, a zmiany w ekspresji podjednostki alfa1 dopiero po 14 dniach stosowania lorazepam. Dodatkowo, w hipokampach zanotowano wyłącznie obniżenie wiązania receptorowego, bez towarzyszących zmian mRNA kodującego podjednostki alfa1 i gamma2. Podobnie obniżenie poziomu alfa1 mRNA w korze mózgu szczurów nie powodowało zmian w wiązaniu flunitrazepam i flumazenilu do korowych receptorów BDZ (20, 21). Jest możliwe, że zmiany w innych podjednostkach, np. alfa3, 5 lub 6, są wyraźniej skorelowane ze zmianami w wiązaniu receptorowym benzodiazepin oraz objawami tolerancji na ich działanie. Codzienne iniekcje 40 mg/kg flurazepam, przez 32 dni, powodowały spadek poziomu alfa5 mRNA już po pierwszej dawce, ze stopniowym powrotem, do wartości kontrolnych przez następne 16 dni, wzrost poziomu alfa3 mRNA między dniem 4 a 16 i wzrost alfa6 mRNA od 8 dnia do końca eksperymentu (43, 44).

Należy podkreślić, że jest to pole bardzo intensywnych badań i pomimo wielu sprzecznych informacji można spodziewać się wkrótce wielu nowych ekscytujących odkryć dotyczących mechanizmu działania ośrodkowego benzodiazepin na poziomie molekularnym.

ZNACZENIE RECEPTORA BENZODIAZEPINOWEGO TYPU OBWODOWEGO

Niektóre z ostatnio opublikowanych prac sugerują istotną rolę tzw. obwodowego typu receptora benzodiazepinowego w rozwoju tolerancji i uzależnienia od benzodiazepin. Ten rodzaj receptora bierze m. in. udział w syntezie neurosteroidów pobudzających funkcje kom-

pleksu receptora GABA-A/BDZ (p. wyżej), przez oddziaływanie na swoje miejsce wiązania. Stwierdzono, że równoległe iniekcje lorazepamu i antagonisty obwodowych receptorów benzodiazepinowych (PK 11195) praktycznie hamują rozwój tolerancji na działanie benzodiazepiny (zmiany progu drgawkowego), zmniejszają adaptacyjny spadek liczby receptorów BDZ w hipokampach (badania *in vivo*) oraz osłabiają objawy zespołu abstynencyjnego (kompensacyjny wzrost receptorów BDZ) (37). Specyficzność obserwowanych efektów PK 11195 była potwierdzona przez blokadę jego działania przez agonistę obwodowego typu receptorów BDZ, Ro 504864 (37). Te wielce obiecujące dane wymagają jeszcze wielu badań kontrolnych i potwierdzenia w innych ośrodkach badawczych.

ROLA ZMIAN W PROCESACH FARMAKOKINETYCZNYCH

Kontynuując negatywną z reguły analizę znaczenia różnych procesów ośrodkowych w rozwoju zjawiska tolerancji i uzależnienia od benzodiazepin, należy wziąć pod uwagę również możliwe znaczenie zmian w procesach farmakokinetycznych leków. Przynajmniej teoretycznie tolerancję można tłumaczyć przyspieszonym metabolizmem badanego leku. Znakomita większość badań nie potwierdza jednak takiego wniosku (patrz 12). W badaniach zmian koncentracji diazepam i imidazenilu w mózgu szczurów po jednorazowym ich podaniu zarówno zwierzętom kontrolnym jak i na tle 14-dniowych codziennych iniekcji wysokich dawek obu leków, okazało się, że ilość znakowanych agonistów benzodiazepinowych i ich metabolitów była podobna (3). Natomiast w tym samym modelu eksperymentalnym wykazano, że wielokrotnie podany triazolam i diazepam spowodowały wyraźny rozwój tolerancji na ich działanie przeciwdrgawkowe oraz wystąpienie objawów zespołu abstynencyjnego pod postacią nasilenia lęku w teście Vogla - reakcję potęgowaną przez flumazenil (3). Podobnie, chlordiazepoksyd

podawany w dawce 5 mg/kg przez 5 dni spowodował wystąpienie wyraźnej tolerancji na działanie sedatywne dawki 10 mg/kg tego samego leku, nie wywołując jednocześnie znamiennych zmian w koncentracji benzodiazepiny i jej metabolitów w surowicy (11).

WPŁYW BENZODIAZEPIN NA AKTYWNOŚĆ INNYCH SYSTEMÓW MONOAMINERGICZNYCH

Benzodiazepiny wywierają efekty ośrodkowe również przez oddziaływanie na funkcjonowanie innych niż kompleks receptora GABA-A/BDZ, systemów neuroprzeźkaźnikowych.

Między innymi, hamują tzw. "obroty" mózgowej serotoniny, blokują uwalnianie endogennej dopaminy z jąder półleżących i kory przedczołowej (24, 41) i osłabiają pobudzający wpływ stresu na uwalnianie dopaminy w korze przedczołowej (23). Teoretycznie, zmiany w funkcjonowaniu niektórych systemów monoaminergicznych mogłyby mieć istotne znaczenie w rozwoju uzależnienia i tolerancji wobec benzodiazepin. Przeciwnie do założeń okazało się jednak, że 3 tygodniowe podawanie diazepam w dawce 5 mg/kg nie wpływało na głębokość hamowania aktywności neuronów piramidowych hipokampa osiągnane drogą stymulacji wstępujących szlaków serotonergicznych (31).

Problem udziału układu *serotoninerгіcznego* (5-HT) w efektach benzodiazepin nie jest rozstrzygnięty. Metodą korelacji zmian behawioralnych i biochemicznych stwierdzono u zwierząt wykazujących wzrost objawów lęku w okresie abstynencji po 3 tygodniach stosowania diazepam, nasilenie stymulowanego potasem uwalniania 5-HT ze skrawków jąder migdałowatych, bez zmian w wychwycie i spoczynkowym uwalnianiu tego neuroprzeźkaźnika (10). Przedstawione dane natomiast potwierdzają bardziej jednoznacznie znaczenie hamowania neuronów 5-HT w działaniu przeciwlękowym.

Podobnie niejednoznaczne są wyniki badań nad znaczeniem interakcji benzodiazepin z układem dopaminergicznym (DA) mózgu w rozwoju tolerancji i uzależnienia. Sugestie tego rodzaju związku wynikają, między innymi, z obserwacji występowania u ludzi halucynacji, a u zwierząt - silnego pobudzenia motorycznego w zespole abstynencyjnym po benzodiazepinach. Stwierdzono jednak, że przewlekłe podawanie midazolamu (przez 2 tygodnie, 5 mg/kg, 2 razy dziennie) nie wpływało na hamujący efekt pojedynczej dawki tego leku wobec uwalniania DA w jądrach półleżących (14). Nawiasem mówiąc okazało się, że dawka midazolamu (0,05 mg) wykazująca właściwości uzależniające w modelu samo-podawania, wyraźnie (o 50%) obniżała poziom DA w jądrach półleżących (14). Ten fakt sugeruje, że nagradzający wpływ midazolamu nie jest związany ze wzrostem uwalniania DA w strukturach limbicznych, tzn. ze zjawiskiem uważanym za istotne w przypadku innych leków uzależniających (amfetaminy, kokainy, nikotyny).

Udział neuronów noradrenergicznych (NA) w efektach ośrodkowych benzodiazepin jest także trudny do interpretacji. Z jednej strony stwierdzono brak efektów antagonistów receptorów NA, propranololu i klonidyny (funkcjonalny antagonist) na nasilenie lęku występujące u zwierząt w zespole abstynencyjnym, po odstawieniu przewlekłe stosowanego chlordiazepoksydu (10 mg/kg przez 4 tygodnie) (4). Z drugiej strony, uszkodzenie neuronów NA przy pomocy selektywnej neurotoksyny (6-OHDA), wyraźnie osłabiało objawy związane z odstawieniem przewlekłe podawanego alprazolamu, diazepamu i lorazepamu, tzn. znosiło występujące w tych warunkach nasilenie spoczynkowego iskrzenia neuronów Purkiniego (5). Komórki Purkiniego znajdują się normalnie pod tonicznym, hamującym, wpływem unerwienia noradrenergicznego (5). Brak dalszych badań uniemożliwia interpretację przedstawionych faktów.

PODSUMOWANIE

Niewątpliwie, odkrycie związków działających selektywnie na poszczególne rodzaje podjednostek receptora GABA-A/BDZ, a także stwierdzenie różnej lokalizacji podtypów receptora BDZ w OUN otwiera nowe perspektywy badawcze i interpretacyjne problemu uzależnienia od benzodiazepin. Stwarza również mocną postawę do poszukiwania lepszych leków anksjolitycznych.

Do kategorii nowych obiecujących kierunków rozwoju badań nad funkcjami ośrodkowymi systemu GABA należy także zaliczyć prace dotyczące czynności receptorów benzodiazepinowych typu obwodowego, wiążące efekty ośrodkowe neurosteroidów z kompleksem receptora GABA-A/BDZ.

Postępem w rozwoju wiedzy na temat funkcjonowania mózgu, a także ważną innowacją kliniczną było niewątpliwie odkrycie tzw. częściowych agonistów receptorów BDZ. Czy w świetle przedstawionych faktów można pokusić się o skonstruowanie jednorodnej koncepcji dotyczącej mechanizmu uzależnienia i rozwoju tolerancji wobec benzodiazepin? Wydaje się, że wspólną cechą dwóch najnowszych grup agonistów benzodiazepinowych, o niewątpliwie słabszym rozwoju tolerancji i mniejszym potencjale uzależniającym, to znaczących selektywnych agonistów receptorów omega1 i częściowych agonistów receptorów benzodiazepinowych, jest ich słabszy i mniej "całościowy" wpływ zaburzający fizjologiczne funkcje kompleksu receptora GABA-A/BDZ. Zolpidem i alpidem przez oddziaływanie na pewną tylko frakcję receptorów benzodiazepinowych, a bretazenil, imidazenil i abekarnil na skutek mniejszej skuteczności, nie doprowadzają do nadmiernego "przeregulowania" kompleksu GABA-A i w związku z tym do wystąpienia, w ramach sprzężenia zwrotnego, różnego rodzaju zmian adaptacyjnych (kompensacyjnych), będących źródłem tolerancji i objawów zespołu abstynencyjnego. Wspomniana koncepcja dotyczy jednak głównie niepożądanych działań agoni-

stwów benzodiazepinowych, nieznane są natomiast mechanizmy rozwoju uzależnienia od tej grupy leków. Fakt negatywnej interakcji agonistów benzodiazepinowych z ośrodkowym układem dopaminergicznym dodatkowo utrudnia skonstruowanie możliwej obecnie do akceptacji koncepcji.

Również pytanie, czy działanie anksjogenne jest łagodną formą aktywności drgawkowej neuronów, to znaczy - czy *lęk i drgawki są generowane z tych samych miejsc*, pozostaje otwarte. Jeśli przedstawiona sugestia jest prawdziwa, to szanse znalezienia selektywnych leków przeciwłękowych są niewielkie. Ale nawet wtedy częściowi agoniści receptorów benzodiazepinowych dzięki swej unikalnej charakterystyce farmakologicznej dają szansę bardziej selektywnego oddziaływania na procesy emocjonalne.

Podziękowanie

Praca została napisana w ramach działalności statutowej Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie, temat nr 12.

PIMIENNICTWO

1. Ableitner A., Wuster M., Herz A.: Specific changes in local cerebral glucose utilization in the rat brain induced by acute and chronic diazepam. *Brain Res.* 1985, 359, 49-56.
2. Auta J., Romeo E., Kozikowski A., Ma D., Costa E., Guidotti A.: Participation of mitochondrial diazepam binding inhibitor receptors in the anticonflict, antineophobic and anticonvulsant action of 2-aryl-3-indoleacetamide and imidazopyridine derivatives. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1993, 265, 649-656.
3. Auta J., Giusti P., Guidotti A., Costa E.: Imidazenil, a partial positive allosteric modulator of GABA-A receptors, exhibits low tolerance and dependence liabilities in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1994, 270, 1262-1269.
4. Baldwin H.A., Hitchcott P.K., File S.E.: Evidence that the increased anxiety detected in the elevated plus-maze during chlordiazepoxide withdrawal is not due to enhanced noradrenergic activity. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1989, 34, 931-933.
5. Bell J., Bickford-Wimer P.C., de la Garza R., Egan M., Freedman R.: Increased central noradrenergic activity during benzodiazepine withdrawal: an electrophysiological study. *Neuropharmacol.* 1988, 27, 1187-1190.
6. Benavides J., Peny B., Ruano D., Vitorica J., Scatton B.: Comparative autoradiographic distribution of central omega (benzodiazepine) modulatory site subtypes with high, intermediate and low affinity for zolpidem and alpidem. *Brain Res.* 1993, 604, 240-250.
7. Bonnafous C., Bueno L.: Different location of benzodiazepine sites involved in gut and behavioral effects of benzodiazepine withdrawal in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1994, 49, 253-256.
8. Ellis D.M., Fontana D.J., McCloskey T.C., Commisaris R.L.: Chronic anxiolytic treatment effects on conflict behaviour in the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1990, 37, 177-186.
9. Emmett-Oglesby M.W., Spencer D.G., Elmasallamy F., Lal H.: The pentylenetetrazol model of anxiety detects withdrawal from diazepam in rats. *Life Sci.* 1983, 33, 161-168.
10. Fernandes C., Andrews N., File S.E.: Diazepam withdrawal increases 3H-5-HT release from rat amygdaloid slices. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1994, 49, 359-362.
11. File S.E.: Development and retention of tolerance to the sedative effects of chlordiazepoxide: the role of apparatus cues. *Eur. J. Pharmacol.* 1982, 81, 637-643.
12. File S.E.: The history of benzodiazepine dependence: a review of animal studies. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1990, 14, 135-146.
13. File S.E., Fernandes C.: Noise stress and the development of benzodiazepine dependence in the rat. *Anxiety* 1994, 1, 8-12.
14. Finlay J.M., Damsma G., Fibiger H.C.: Benzodiazepine - induced decreases in extracellular concentrations of dopamine in the nucleus accumbens after acute and repeated administration. *Psychopharmacol.* 1992, 106, 202-208.
15. Galpern W.R., Miller L.G., Greenblatt D.J., Shader R.I.: Differential effects of chronic lorazepam and alprazolam on benzodiazepine binding and GABA-A receptor function. *Br. J. Pharmacol.* 1990, 101, 839-842.
16. Giusti P., Ducic I., Puia G., Arban R., Walser A., Guidotti A., Costa E.: Imidazenil: a new partial positive allosteric modulator of gamma-aminobutyric acid (GABA) action at GABA-A receptors. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1993, 266, 1018-1028.
17. Goudie A.J., Leathley M.J., Cowgill J.: Assessment of the benzodiazepine-like dependence potential in rats of the putative 5-HT-1A agonist anxiolytic S-20499. *Behav. Pharmacol.* 1994, 5, 131-140.
18. Goudie A.J., Harrison A.A., Leathley M.J.: Evidence for a dissociation between benzodiazepine withdrawal signs. *Neuro Report* 1994, 4, 295-298.
19. Haefely W., Martin J.R., Schoch P.: Novel anxiolytics that act as partial agonists at benzodiazepine receptors. *Trends in Pharmacol. Sci.* 1990, 11, 452-456.
20. Heninger C., Gallager D.W.: Altered gamma-aminobutyric acid/benzodiazepine interaction after chronic diazepam exposure. *Neuropharmacol.* 1988, 27, 1073-1076.

21. Heninger C., Saito N., Tallman J.F., Garrett K.M., Vitek M.P., Duman R.S., Gallager D.W.: Effect of continuous diazepam administration on GABA-A subunit mRNA in rat brain. *J. Mol. Neurosci.* 1990, 2, 101-107.
22. Hu X-J., Ticku M.K.: Chronic flurazepam treatment produces decreased efficacy of the benzodiazepine ligands and pentobarbital with gamma-aminobutyric acid-A receptors in cortical neurons. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1994, 270, 485-490.
23. Ida Y., Tsuda A., Sueyoshi K., Shirao I., Tanaka M.: Blockade by diazepam of conditioned fear-induced activation of rat mesoprefrontal dopamine neurons. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1989, 33, 477-479.
24. Imperato A., Dazzi L., Serra M., Gessa G.L., Biggio G.: Differential effects of abecamil on basal release of acetylcholine and dopamine in the rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* 1994, 261, 205-208.
25. Ishihara S., Hiramatsu M., Kameyama T., Nabeshima T.: Development of tolerance to anxiolytic effects of chlordiazepoxide in elevated plus-maze test and decrease of GABA-A receptors. *J. Neural. Transm.* 1993, 91, 27-37.
26. Jones G.H., Schneider Ch., Schneider H.H., Seidler J., Cole J., Stephens D.N.: Comparison of several benzodiazepine receptor ligands in two models of anxiolytic activity in the mouse: an analysis based on fractional receptor occupancies. *Psychopharmacol.* 1994, 114, 191-199.
27. Kang I., Miller L.G.: Decreased GABA-A receptor subunit mRNA concentrations following chronic lorazepam administration. *Br. J. Pharmacol.* 1991, 103, 1285-1287.
28. Kulkarni S.K., Ticku M.: Chronic benzodiazepine antagonist treatment and its withdrawal upregulates components of GABA-benzodiazepine receptor ionophore complex in cerebral cortex of rat. *Brain Res.* 1990, 519, 6-11.
29. Laurie D.J., Pratt J.A.: Local cerebral glucose utilization following subacute and chronic diazepam pretreatment: differential tolerance. *Brain Res.* 1989, 504, 101-111.
30. Lewin E., Peris J., Bleck V., Zahniser N.R., Harris S.A.: Diazepam sensitizes mice to GF 7142 and reduces muscimol-stimulated ^{36}Cl flux. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1989, 33, 465-468.
31. Lista A., Blier P., de Montigny C.: Benzodiazepine receptors modulating serotonergic neurotransmission in rat hippocampus do not desensitize after long-term diazepam treatment. *Brain Res.* 1990, 526, 161-164.
32. Little H.J., Andreassen M., Lambert J.D.C.: Chronic treatment with a benzodiazepine agonist in vivo increases the actions of the benzodiazepine partial inverse agonist, FG 7142, on the hippocampal slice in vitro. *Brain Res.* 1992, 573, 243-250.
33. Marley R.J., Gallager D.W.: Chronic diazepam treatment produces regionally specific changes in GABA-stimulated chloride influx. *Eur. J. Pharmacol.* 1989, 159, 217-223.
34. Martin J.R., Schoch P., Jenck F., Moreau J-L., Haefely W.: Pharmacological characterization of benzodiazepine receptor ligands with intrinsic efficacies ranging from high to zero. *Psychopharmacol.* 1993, 111, 45-422.
35. Miller L.G., Greenblatt D.J., Barnhill J.G., Shader R.I.: Chronic benzodiazepine administration. I. Tolerance is associated with benzodiazepine receptor downregulation and decreased gamma-aminobutyric acid-A receptor function. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1988, 246, 170-176.
36. Miller L.G., Greenblatt D.J., Roy B., Gaver A., Lopez F., Shader R.I.: Chronic benzodiazepine administration. III. Upregulation of gamma-aminobutyric acid-A receptor binding and function associated with chronic benzodiazepine antagonist administration. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1989, 248, 1096-1101.
37. Miller L.G., Koff J.M.: Interaction of central and peripheral benzodiazepine sites in benzodiazepine tolerance and discontinuation. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat.* 1994, 18, 847-857.
38. Mizoguchi H., Shirayama N., Tsuda M., Yoshiike M., Suzuki T., Misawa M.: Potentiation of physical dependence on diazepam by ondansetron in rats. *Life Sci.* 1994, 54, 131-136.
39. Mohler H., Fritschy J-M.: Expression of GABA-A receptor subtypes. *Neurosci. Facts* 1992, 3, 70-71.
40. Morin A.M.: Ro 15-1788 suppresses the development of kindling through the benzodiazepine receptor. *Brain Res.* 1986, 397, 259-264.
41. Murai T., Kosikawa N., Kanayama T., Takada K., Tomiyama K., Kobayashi M.: Opposite effects of midazolam and beta-CCE on the release of dopamine from rat nucleus accumbens measured by in vivo microdialysis. *Eur. J. Pharmacol.* 1994, 261, 65-71.
42. Niznik H.B., Kish S.J., Burnham W.M.: Decreased benzodiazepine receptor binding in amygdala-kindled rat brains. *Life Sci.* 1983, 33, 425-430.
43. O'Donovan M.C., Buckland P.R., McGuffin P.: Levels of GABA-A receptor subunit mRNA in rat brain following flurazepam treatment. *J. Psychopharmacol.* 1992, 2, 364-369.
44. O'Donovan M.C., Buckland P.R., Spurlock G., McGuffin P.: Bidirectional changes in the levels of messenger RNAs encoding gamma-aminobutyric acid-A receptor alpha subunits after flurazepam treatment. *Eur. J. Pharmacol.* 1992, 226, 335-341.
45. Ozawa M., Sugimachi K., Nakada-Kometani Y., Akai T., Yamaguchi M.: Chronic pharmacological activities of the novel anxiolytic beta-carboline Abecamil in rats. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1994, 269, 457-462.
46. Pecknold J.C., McLure D.J., Fleuri D., Chang H.: Benzodiazepine withdrawal effects. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat.* 1982, 6, 517-522.
47. Perrault G., Morel E., Sanger D.J., Zivkovic B.: Differences in pharmacological profiles of a new generation of benzodiazepine and non-benzodiazepine hypnotics. *Eur. J. Pharmacol.* 1990, 187, 487-494.
48. Perrault G., Morel E., Sanger D.J., Zivkovic B.: Lack of tolerance and physical dependence upon repeated treatment with the novel hypnotic zolpidem. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1992, 263, 298-303.

49. Perrault G., Morel E., Danger D.J., Zivkovic B.: Repeated treatment with alpidem, a new anxiolytic, does not induce tolerance or physical dependence. *Neuropharmacol.* 1993, 32, 855-863.
50. Potokar J., Nutt D.J.: Anxiolytic potential of benzodiazepine receptor partial agonists. *Pharmacol. Pathophysiol.* 1994, 1, 305-315.
51. Ramsey-Williams V.A., Wu Y., Rosenberg H.C.: Comparison of anticonvulsant tolerance, cross-tolerance, and benzodiazepine receptor binding following chronic treatment with diazepam or midazolam. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1994, 48, 765-772.
52. Romach M.K., Busto U.E., Sobell L.C., Sobel M.B., Somer G.R., Sellers E.M.: Long-term alprazolam use: abuse, dependence or treatment? *Psychopharmacol. Bull.* 1991, 27, 391-395.
53. Ryan G.P., Boisse N.R.: Experimental induction of benzodiazepine tolerance and physical dependence. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1983, 226, 100-107.
54. Sanger D.J., Zivkovic B.: Differential development of tolerance to the depressant effects of benzodiazepine and non-benzodiazepine agonists at the omega (BZ) modulatory sites of GABA-A receptors. *Neuropharmacol.* 1992, 31, 693-700.
55. Sanger D.J., Benavides J., Perrault G., Morel E., Cohen C., Joly D., Zivkovic B.: Recent developments in the behavioral pharmacology of benzodiazepine (omega) receptors: evidence for the functional significance of receptor subtypes. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1994, 18, 355-372.
56. Sherif F., Orelund L.: Effects of chronic treatment with the GABA-transaminase inhibitor vigabatrin on exploratory behavior in rats. *Behav. Brain Res.* 1994, 63, 11-15.
57. Tietz E.I., Chiu T.H., Rosenberg H.C.: Regional GABA-benzodiazepine receptor chloride channel coupling after acute and chronic benzodiazepine treatment. *Eur. J. Pharmacol.* 1989, 167, 57-65.
58. Wu Y., Rosenberg H.C., Chiu T.H., Ramsey-Williams V.: Regional changes in 3H-zolpidem binding to brain benzodiazepine receptors in flurazepam tolerant rat: comparison with changes in 3H-flunitrazepam binding. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1994, 268, 675-682.
59. Yu O., Chiu T.H., Rosenberg H.C.: Modulation of GABA-gated chloride ion flux in rat brain by acute and chronic benzodiazepine administration. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1988, 246, 107-113

*Adres: Prof. Adam Płaźnik, Zakład Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego IPiN,
Al. Sobieskiego 119, 02-957 Warszawa*