

F. J. Arranz Estévez

# El papel modulador de las neuroquininas en las conductas afectivas

Departamento Médico  
Laboratorios Dr. Esteve, S. A.  
Barcelona

Las neuroquininas (NK) son moléculas peptídicas que tienen una acción moduladora de otros sistemas neurotransmisores, entre ellos los monoaminérgicos, en el sistema nervioso central, así como en tejidos periféricos. Existen numerosas evidencias de que estas sustancias, y en especial la sustancia P y su principal receptor NK<sub>1</sub>, intervienen en numerosos procesos fisiológicos y patológicos, entre ellos las respuestas conductuales y afectivas al estrés. Los antagonistas del receptor NK<sub>1</sub> han mostrado actividad preclínica en diversos modelos de ansiedad y de depresión. Los ratones mutantes con ausencia del gen del receptor NK<sub>1</sub> presentan un aumento de la frecuencia de descarga de las neuronas serotoninérgicas del rafe dorsal, un efecto que también se observa tras la administración de antagonistas de la sustancia P. La administración crónica de antagonistas NK<sub>1</sub> produce un aumento de la transmisión serotoninérgica en el hipocampo, que está mediada por la interacción con otros sistemas de neurotransmisión. También se ha demostrado la eficacia clínica de estos fármacos en pacientes con depresión mayor, aunque los resultados no han sido concluyentes. Son precisos más estudios para aclarar el papel que pueden desempeñar este tipo de fármacos en el tratamiento de los trastornos afectivos en el futuro.

**Palabras clave:**  
Neuroquininas. Sustancia P. Depresión. Ansiedad. Revisión.

*Actas Esp Psiquiatr* 2005;33(1):55-65

## The modulatory role of neurokinins in affective behaviors

Neurokinins (NK) are peptide molecules with modulatory actions on other neurotransmitter systems, notably the monoaminergic ones, within the central nervous system and peripheral tissues. A great deal of evidence supports a role for these substances, mainly for substance

P and its main receptor NK<sub>1</sub>, in a number of physiologic and pathologic conditions, including affective and behavioral responses to stress. NK<sub>1</sub> receptor antagonists have shown preclinical activity in several paradigms of anxiety and depression. Mutant mice lacking the NK<sub>1</sub> receptor gene have an increased firing rate of dorsal raphe serotonergic neurons, an effect that can also be seen after the administration of substance P antagonists. When given chronically, NK<sub>1</sub> antagonists promote an enhancement of serotonergic transmission in the hippocampus that seems to be mediated by interaction with other neurotransmission systems. Clinical efficacy of such drugs has also been demonstrated among patients with major depression, although the results have been inconclusive. More research is needed to elucidate the precise role these drugs could play in the treatment of affective disorders in the future.

**Key words:**  
Neurokinin. Substance P. Depression. Anxiety. Review.

## INTRODUCCIÓN

Desde hace más de 40 años, la actividad de la mayoría de los fármacos empleados en el tratamiento de la ansiedad y la depresión se basa en la modulación de los diversos mecanismos que regulan la actividad del sistema gabaérgico y otros sistemas monoaminérgicos. Sin embargo, en los últimos años se han identificado posibles nuevas dianas para estos fármacos, entre las que se cuentan las taquiquininas, un conjunto de sustancias peptídicas que comparten la propiedad de producir una contracción rápida de la musculatura lisa y que en el sistema nervioso central (SNC) de los mamíferos reciben también el nombre de neuroquininas (NK). Tras el descubrimiento de la primera de ellas, la sustancia P (SP), en 1931, pronto se vio que ésta se localizaba preferentemente en la médula espinal, especialmente en las raíces posteriores, y rápidamente se intuyó que desempeñaba un importante papel en la percepción del dolor<sup>1</sup>. Desde entonces se ha avanzado notablemente en clarificar el papel que cumple la SP en la transmisión de los estímulos dolorosos<sup>1,2</sup> y se han tratado de desarrollar analgésicos basados en el

Correspondencia:  
Francisco Javier Arranz Estévez  
Departamento Médico  
Laboratorios Dr. Esteve, S. A.  
Av. Mare de Déu de Montserrat, 221  
08041 Barcelona  
Correo electrónico: fjarranz@estev.e

bloqueo de sus receptores. Sin embargo, a pesar de que durante estos años los progresos en el conocimiento acerca de la implicación de la SP en los mecanismos nociceptivos han sido considerables, todos los esfuerzos investigadores por tratar de obtener nuevos fármacos orientados a esta diana han sido infructuosos. Quizás ello se deba a que las acciones de los neuropéptidos son sólo moduladoras y, por consiguiente, de menor envergadura y más difíciles de demostrar que las de los neurotransmisores clásicos, aunque también se ha sugerido que los neuropéptidos pudieran ser moléculas redundantes que en los organismos superiores han perdido su importancia<sup>3,4</sup>. Sea como fuere, la realidad es que los antagonistas de la SP han fracasado como analgésicos<sup>4,5</sup>, probablemente porque estos fármacos son capaces de amortiguar la respuesta del organismo a estímulos estresantes, pero esta atenuación no es suficiente para producir analgesia, ya que para ello se necesita un bloqueo más completo de las aferencias sensoriales al SNC<sup>4</sup>. En los últimos años, el progreso en el conocimiento de la función que desempeñan la SP y otras NK en condiciones fisiológicas y patológicas se ha ampliado a otros campos, habiéndose implicado a las NK en procesos, como el vómito, la tos, o procesos inflamatorios, como el asma o el síndrome del intestino irritable, así como en la fisiopatología de diversas enfermedades neurológicas y psiquiátricas, como la esquizofrenia, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis múltiple o la enfermedad de Alzheimer<sup>6</sup>. Uno de esos campos a los que se ha extendido el estudio de un posible papel fisiopatológico de las NK es el de los trastornos depresivos y la ansiedad, ya que existen numerosas evidencias de que las NK, y en especial la SP, intervienen en las respuestas conductuales y afectivas al estrés. El presente artículo resume el estado actual de la investigación relativa a las NK como mediadoras en los procesos de ansiedad y depresión y al desarrollo de fármacos antagonistas de estos neuropéptidos.

## NEUROBIOLOGÍA DE LAS NEUROQUININAS

Las NK son un grupo de moléculas compuestas por cadenas cortas de aminoácidos que pueden actuar como neurotransmisor en el sistema nervioso y desempeñan un papel, todavía mal conocido, probablemente modulador de la transmisión monoaminérgica. La primera de ellas, la SP, fue descubierta por Von Euler y Gaddum, aislada del intestino del caballo en forma de polvo blanco (de ahí su nombre). Cincuenta años después se descubrieron otros neuropéptidos afines, la neuroquinina A (NK-A), inicialmente llamada sustancia K, y la neuroquinina B (NK-B), que en un principio se designó como neuromedina K, las cuales comparten con la SP una misma secuencia de aminoácidos carboxi-terminal: Phe-X-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub>, siendo X Phe o Val<sup>7,8</sup>. Todas las NK se producen a través de péptidos precursores, sintetizados en los ribosomas de las neuronas peptidérgicas a partir de dos genes. En los mamíferos, la SP y la NK-A derivan del gen de la preprotaquinina A (PPT-A). La transcripción alternativa del gen PPT-A origina tres variantes de ARNm, la  $\alpha$ PPT-A,  $\beta$ PPT-A y  $\gamma$ PPT-A, respectivamente. Las

tres variantes determinan la síntesis de SP a través de la producción intermedia de tres variantes de protaquinina A ( $\alpha$ PT-A,  $\beta$ PT-A y  $\gamma$ PT-A), respectivamente, pero la NK-A se forma únicamente a partir de  $\beta$ PPT-A y de la  $\gamma$ PPT-A<sup>8,9</sup>. Las protaquininas, almacenadas en el interior de vesículas, alcanzan la terminal nerviosa mediante transporte axonal, durante el cual se produce la escisión de las mismas mediante la acción de unas proteasas llamadas convertasas para generar los productos finales, los cuales se liberan en la hendidura sináptica a través de exocitosis debido a su gran hidrofilia<sup>1</sup>. La NK-B se origina a partir del gen de la preprotaquinina B mediante un mecanismo similar<sup>8,9</sup>. La SP es el neuropéptido más abundante y más ampliamente estudiado, tanto en el SNC como en el sistema nervioso autónomo. La mayor densidad de SP se localiza en la asta dorsal de la médula espinal, en la sustancia negra, la amígdala, el *locus coeruleus*, el hipotálamo y los núcleos pedunculares, mientras que otras áreas cerebrales tienen una densidad más moderada (núcleo *accumbens*, putamen, etc.) o escasa, como en el caso de la corteza, el hipocampo o el cerebelo. Asimismo, la SP se expresa en el sistema nervioso periférico, especialmente en los ganglios espinales y en los nervios vegetativos. Se han identificado tres receptores de NK, denominados NK<sub>1</sub>, NK<sub>2</sub> y NK<sub>3</sub>, y se ha propuesto la existencia de un cuarto receptor (NK<sub>4</sub>), pero ésta no está demostrada. Aunque todas las NK comparten cierta afinidad por ellos, la SP es la que posee una mayor afinidad por el receptor NK<sub>1</sub> y es, por tanto, su ligando natural, mientras la NK-A y la NK-B son los ligandos principales de los receptores NK<sub>2</sub> y NK<sub>3</sub>, respectivamente<sup>10</sup>. El receptor NK<sub>1</sub> contiene siete dominios transmembrana y está asociado a proteínas G<sup>7,8</sup>. Es el más abundante y se distribuye ampliamente en el SNC, en las neuronas y las células gliales, así como en tejidos periféricos, incluyendo células no nerviosas. La mayor densidad de éste se encuentra en las raíces dorsales de la médula y en el caudado-putamen, pero no en la sustancia negra. El receptor NK<sub>3</sub> está también extensamente distribuido en el SNC, aunque su expresión no se solapa con la de los receptores NK<sub>1</sub>, pues el receptor NK<sub>3</sub> se encuentra principalmente en las capas corticales profundas, en la vía nigroestriada y también en la médula espinal<sup>7</sup>. En cuanto al receptor NK<sub>2</sub>, no se ha establecido con seguridad su expresión en el SNC, pero sí se sabe que se distribuye ampliamente en los tejidos periféricos y también en las neuronas sensitivas de las astas posteriores medulares<sup>7</sup>. Al igual que el NK<sub>1</sub>, el receptor NK<sub>2</sub> contiene también siete dominios transmembrana y está, asimismo, asociado a proteínas G<sup>7,8</sup>. La SP se colocaliza extensamente con otros neurotransmisores clásicos y con otros neuropéptidos<sup>11</sup>, aunque, en contraste con aquellos, sus receptores se distribuyen ampliamente en el SNC. Sin embargo, existen divergencias entre la distribución de la SP y la de sus receptores en el SNC, lo cual podría deberse a que la SP alcanza sus receptores por difusión o a que se une también a receptores NK<sub>2</sub> o NK<sub>3</sub> o, simplemente, a la incapacidad de las técnicas de laboratorio para demostrar la distribución verdadera de los receptores<sup>10,12</sup>. La SP se localiza en vesículas presinápticas, tanto en dendritas como en los cuerpos neuronales, de las que se libera rápidamente, mediante un

proceso calciodependiente, tras la aplicación de un estímulo nocivo agudo o por efecto del estrés. Los receptores NK<sub>1</sub> se hallan en la membrana celular somatodendrítica, pero la unión de la SP produce rápidamente la migración de éstos al interior del citoplasma. Dicha internalización es reversible en unos 30 min, volviendo los receptores a su localización inicial, y es proporcional a la intensidad del estímulo estresante aplicado. Por otra parte, la estimulación repetida o intensa activa neuronas relativamente distantes mediante un mecanismo de difusión<sup>12</sup>.

## IMPLICACIÓN DE LAS NEUROQUININAS EN LA PRODUCCIÓN DE CONDUCTAS AFECTIVAS

La implicación de las NK, y especialmente de la SP, en los mecanismos que generan la ansiedad y depresión deriva de varios hechos. En primer lugar, tanto la SP como su receptor NK<sub>1</sub> se expresan altamente en regiones cerebrales críticas para la regulación del comportamiento afectivo y las respuestas neuroquímicas al estrés<sup>10</sup>; además, en dichas regiones la SP está colocalizada con los sistemas monoaminérgicos, los cuales están involucrados en los mecanismos que subyacen a la depresión y a la ansiedad<sup>13</sup>. Por último, se ha demostrado en animales de experimentación que la SP se libera en la sustancia gris periacueductal (PAG) y estructuras límbicas como respuesta a estímulos aversivos o nocivos. Así, se ha observado un aumento de la SP en el hipocampo, septo, PAG y área tegmental ventral de las ratas sometidas a una descarga eléctrica inevitable, al aislamiento social o a la inmovilización forzosa<sup>14-16</sup>. Más recientemente se ha observado que la exposición de las ratas a una situación de estrés produce una liberación duradera de SP en el núcleo medial de la amígdala, no así en el núcleo central. Además, la microinyección bilateral de un antagonista NK<sub>1</sub> en el núcleo medial amigdalárico contrarrestó el efecto ansiogénico inducido por la situación estresante y antagonizó también los efectos ansiogénicos de la inyección de SP en dicha área, lo que confirmaría que el núcleo medial de la amígdala es un área cerebral crítica para la producción de respuestas emocionales al estrés<sup>17</sup>. Todo ello indica que la SP regula las respuestas a estímulos nocivos y estresantes, interviniendo en la aparición del comportamiento defensivo<sup>13</sup> y, como se ha demostrado también, en las reacciones cardiovasculares al estrés<sup>18</sup>. Algunos estudios han demostrado también la implicación del receptor NK<sub>1</sub> en la génesis de las conductas afectivas como respuesta al estrés. Así, la separación materna de las crías de cobayo o el estrés inducido mediante la inmovilización en jerbos producen endocitosis de este receptor en las neuronas del núcleo basolateral de la amígdala, la cual puede antagonizarse mediante la administración sistémica de antagonistas NK<sub>1</sub><sup>13,19</sup>. Varios estudios han investigado, también en humanos, el papel que desempeña la SP en la respuesta al estrés<sup>20-22</sup>. Algunos de estos estudios han investigado, además, la función de la SP como mediador en las respuestas inmunes inducidas por el estrés, poniendo de manifiesto la existencia de una conexión entre la SP en el sistema nervioso periférico y el siste-

ma inmunitario<sup>22</sup>. Así, en un estudio con pacientes con síndrome doloroso crónico, Almay et al.<sup>20</sup> observaron una relación inversa entre los niveles de SP en el líquido cefalorraquídeo y la percepción subjetiva de «ansiedad psíquica», evaluada mediante una escala analógica visual. También se observó esta correlación entre los niveles de SP y el rasgo de personalidad «tensión interna», determinado mediante las escalas de personalidad del Instituto Karolinska. En un grupo de paracaidistas que saltaban por primera vez, Szedlowski et al.<sup>21</sup> determinaron los niveles plasmáticos de SP, 2 h antes del salto, inmediatamente después y 1 h después del mismo. A diferencia de los niveles plasmáticos de  $\beta$ -endorfina, los cuales se incrementaron inmediatamente antes del salto, para descender posteriormente, los niveles plasmáticos de SP no se modificaron en ningún momento. Estos resultados se oponen a la idea de que la SP se libera ante una situación estresante. Sin embargo, los sujetos con un elevado estado de ansiedad inmediatamente antes del salto, evaluado mediante el *State-Trait-Anxiety Inventory* (STAI), presentaban niveles plasmáticos de SP significativamente más altos en las tres mediciones que los sujetos con una ansiedad-estado menor, mientras que la ansiedad-rasgo no influyó en las concentraciones plasmáticas de SP. Ello indica que la secreción de SP se ve influida por el nivel de ansiedad-estado durante la exposición a un estrés agudo. Resultados similares encontraron Fedher et al.<sup>22</sup> en un estudio con sujetos sometidos a un procedimiento diagnóstico (colonoscopia o sigmoidoscopia): efectivamente, los sujetos con un mayor nivel de ansiedad previo a la exploración (valorado mediante el cuestionario *Multiple Affect Adjective Checklist-Revised* [MAACL-R]), tenían niveles séricos de SP más elevados que los sujetos con un nivel bajo de ansiedad, y existía una alta correlación entre las puntuaciones de ansiedad y los niveles de SP iniciales. Además, los sujetos con alta ansiedad inicial mantuvieron niveles de SP más elevados que los sujetos con baja ansiedad una vez finalizada la exploración y 3 días después de la misma, aunque en esta última medición las diferencias ya no alcanzaron significación estadística. Ello sugiere que los niveles elevados de ansiedad se asocian con mayores niveles de SP en sangre periférica, los cuales permanecen elevados durante bastante tiempo tras la finalización de la situación ansiosa inicial. Estos mismos autores<sup>22</sup> sugieren que los niveles elevados de SP en los estados de ansiedad pueden influir en la respuesta inmune mediada por los linfocitos T. En este estudio, los sujetos con niveles elevados de ansiedad (y de SP) tenían un porcentaje de linfocitos T CD3+, así como una cifra absoluta y un porcentaje de linfocitos T citotóxicos (CD8+) en sangre significativamente superiores, en comparación con los individuos con baja ansiedad, en las valoraciones previa y posterior al procedimiento terapéutico. Asimismo, existía una elevada correlación positiva entre el porcentaje de linfocitos T CD8+ y los niveles séricos de SP en el control previo y en los posteriores a la situación de estrés. Aunque este tipo de estudio no permite establecer una relación causal, en opinión de los autores es muy posible que la SP forme parte de un «sistema de alarma neurogénico» que interrelacionaría el SNC y los sistemas inmunitario y endocrino, en el cual la SP

desempeñaría un papel en la movilización linfocitaria, aumentando en número de linfocitos T citotóxicos.

En cuanto a la depresión, son escasas las evidencias directas de la existencia de una hiperactividad neuroquininérgica en este trastorno. No obstante, se ha comunicado un aumento de los niveles de SP en el líquido cefalorraquídeo de pacientes deprimidos<sup>23</sup>, aunque otro estudio posterior no pudo replicar este hallazgo<sup>24</sup>. Más recientemente se ha observado un aumento estadísticamente significativo de los niveles séricos de SP en pacientes con depresión mayor, aunque sólo un 37 % de ellos presentó un descenso de los niveles séricos de SP (de entre el 15 y el 50 %) tras el tratamiento antidepresivo de 4 semanas de duración<sup>25</sup>, el cual se correlacionó con una mejor respuesta al tratamiento. También se ha demostrado *post mortem* la reducción de receptores NK<sub>1</sub> en la corteza orbitofrontal de sujetos con trastorno depresivo mayor en comparación con sujetos normales, lo que podría reflejar un intento de adaptación al aumento de disponibilidad de SP en los sujetos deprimidos<sup>26</sup>. Además se ha demostrado en animales de experimentación que los ansiolíticos y algunos antidepresivos producen una disminución de los niveles cerebrales de SP<sup>27</sup>. Asimismo, en un modelo experimental de depresión en la rata se observó que las concentraciones de SP y NK-A estaban aumentadas en la corteza frontal y disminuidas en el estriado en comparación con los controles y que el tratamiento con litio anuló estas diferencias<sup>28</sup>. En conjunto, todos estos datos sugieren que las NK, y sobre todo la SP, están involucradas en las conductas afectivas.

## MANIPULACIÓN EXPERIMENTAL DEL SISTEMA NEUROQUININÉRGICO

Para el estudio de la función que desempeñan las NK en los comportamientos afectivos se ha utilizado la estimulación farmacológica de sus receptores con agonistas neuroquininérgicos, así como su inactivación, bien con agentes farmacológicos (antagonistas de los receptores o sustancias citotóxicas) o mediante manipulación genética (ratones *knockout*)<sup>29</sup>. La NK más estudiada ha sido la SP. Los potenciales efectos antidepresivos y ansiolíticos de los antagonistas de los receptores NK<sub>1</sub> han suscitado un gran interés por el desarrollo de dichos compuestos y, por consiguiente, han promovido una intensa investigación por parte de la industria farmacéutica. Sin embargo, el estudio del posible papel de la SP en los trastornos afectivos se ha visto durante largo tiempo dificultado por problemas técnicos derivados de la poca idoneidad de los antagonistas NK<sub>1</sub> para estos fines<sup>5,29</sup>. Efectivamente, los primeros antagonistas sintetizados eran moléculas grandes de naturaleza peptídica, lo que condicionaba su escasa penetración de la barrera hematoencefálica, además de tener una escasa potencia y selectividad. A principios de la década de 1990 se introdujo el CP96345, el primer antagonista NK<sub>1</sub> de tipo no peptídico, una sustancia con elevada afinidad por los receptores NK<sub>1</sub> humanos. No obstante, éste y otros compuestos similares

presentaban mucha menor afinidad por los receptores de la rata, lo que hacía muy difícil la valoración preclínica de estas sustancias. Otros problemas derivan de que no todas estas sustancias presentan una buena biodisponibilidad en el SNC, y algunas de ellas producen efectos inespecíficos a altas dosis, lo que implica que en algunos estudios se utilicen parejas de enantiómeros, uno de ellos activo en el receptor NK<sub>1</sub> y el otro inactivo, para poder así atribuir los posibles efectos observados al bloqueo del receptor<sup>5</sup>. Recientemente se han desarrollado nuevos modelos experimentales con animales que tienen receptores NK<sub>1</sub> con una secuencia peptídica más parecida a la humana, como el cobayo, el gato, el conejo, etc. Por ejemplo, la administración de un agonista NK<sub>1</sub> a jerbos produce un golpeteo rítmico de las extremidades inferiores, que equivale a la respuesta conductual a un estímulo aversivo y puede antagonizarse con un antagonista NK<sub>1</sub>, por lo que es un modelo frecuentemente utilizado para la valoración de la penetración de este tipo de fármacos en el SNC<sup>30</sup>. Asimismo, se han introducido antagonistas NK<sub>1</sub> con elevada capacidad de penetración de la barrera hematoencefálica y sin efectos inespecíficos a altas dosis<sup>5,29</sup>.

La actividad de los agonistas y antagonistas neuroquininérgicos se ha estudiado, tanto en modelos de ansiedad, como en modelos de depresión y en modelos mixtos de ansiedad/depresión. Varios estudios preclínicos demuestran que la infusión central de SP o de agonistas del receptor NK<sub>1</sub> en diversos animales produce conductas defensivas, como, por ejemplo, una respuesta aversiva condicionada<sup>13</sup>, agresión<sup>31</sup> o la potenciación de la respuesta de sobresalto acústico<sup>32</sup>, así como cambios cardiovasculares que remedan a los propios de la respuesta a una amenaza<sup>18</sup>. En cobayos, la administración de SP o de un agonista NK<sub>1</sub> produjo una activación locomotora, acompañada de vocalizaciones audibles, habiéndose demostrado que esta respuesta está mediada por el receptor NK<sub>1</sub>, puesto que la administración de un antagonista, pero no de su enantiómero inactivo, inhibió dichas vocalizaciones<sup>13,33</sup>, las cuales fueron también inhibidas por fluoxetina o imipramina, pero no por diazepam. De igual manera, el estrés que supone separar transitoriamente a las crías de sus madres indujo vocalizaciones similares, que fueron también inhibidas mediante la administración de diversos antagonistas NK<sub>1</sub>. En este modelo, la administración aguda de los antidepresivos fenelzina, imipramina, fluoxetina o venlafaxina, así como de los ansiolíticos diazepam, clordiazepóxido o buspirona produjo, asimismo, una inhibición dosis-dependiente y completa de las vocalizaciones<sup>13,33</sup>. De forma similar, la inyección intraventricular de SP o agonistas NK<sub>1</sub> produjo un incremento de la ansiedad en ratones en un modelo de laberinto elevado<sup>34-36</sup>. Por el contrario, la administración de antagonistas NK<sub>1</sub> tuvo un efecto ansiolítico similar al producido por el diazepam<sup>35</sup> y antagonizó los efectos ansiogénicos del pentilentetrazol<sup>37</sup> y de la SP<sup>36</sup> en este modelo. Además, contrarrestó la disminución del número de linfocitos periféricos que se produjo al someter a los animales a una prueba estresante<sup>36</sup>. Asimismo, la administración de varios antagonistas NK<sub>1</sub> produjo efectos ansiolíticos en un modelo de laberinto elevado en pri-

mates<sup>38</sup>, así como en el modelo de interacción social en la rata y en el jerbo<sup>39-42</sup>. Por último, los antagonistas NK<sub>1</sub> han demostrado también actividad en modelos más puros de depresión, como el del estrés crónico leve en la rata<sup>43</sup>. En cuanto al receptor NK<sub>2</sub>, tanto la inyección intraventricular de NK-A como la de un agonista NK<sub>2</sub> tuvieron un efecto ansiogénico<sup>35</sup> e inhibidor del efecto ansiolítico del diazepam<sup>37</sup> en los ratones en la prueba del laberinto elevado. Por el contrario, la administración de antagonistas NK<sub>2</sub> tuvo un efecto ansiolítico similar al producido por el diazepam en dicho modelo<sup>35</sup> y produjo, asimismo, una inhibición de la acción ansiogénica del pentilentetrazol, no neutralizada por la administración de flumazenilo<sup>37</sup>. Otros modelos experimentales de ansiedad, como el test del la caja clara/oscura en el ratón<sup>44,45</sup> o el modelo de amenaza de un intruso en primates<sup>44</sup>, han servido también para demostrar la actividad ansiolítica de los antagonistas NK<sub>2</sub>. Finalmente, en un modelo de laberinto elevado en ratones, la administración de agonistas NK<sub>3</sub> produjo efectos ansiolíticos<sup>46,47</sup>, los cuales se potenciaron con el pretratamiento con naloxona<sup>47</sup>, mientras que la administración de un antagonista NK<sub>3</sub> provocó los efectos contrarios<sup>37,46</sup> o ningún efecto<sup>47</sup>.

En resumen, la evidencia experimental sugiere que los agonistas NK<sub>1</sub> o NK<sub>2</sub> serían ansiogénicos y los antagonistas NK<sub>1</sub> o NK<sub>2</sub> son ansiolíticos, mientras que lo contrario sucede con los agonistas y antagonistas NK<sub>3</sub>, respectivamente. Sin embargo, las cosas no son tan sencillas, ya que se ha visto que la actividad de las NK no es uniforme, pues depende de la dosis y el lugar de administración, así como del modelo empleado y de la cepa y sexo de los animales utilizados<sup>40,48,49</sup>. Por ejemplo, la inyección sistémica de SP tiene efecto ansiolítico en la rata cuando se administra a dosis bajas (50 µg/kg), mientras que produce efectos ansiogénicos si se administra a dosis altas (500 µg/kg)<sup>50</sup>. Asimismo, administrada directamente en el pálido ventral produce efectos ansiolíticos a dosis bajas (1 ng) que no se observan con dosis más altas (100 ng)<sup>50,52,53</sup>. Contrariamente, la inyección intraventricular de dosis bajas (1 pmol) o intermedias (10 pmol) produce respuestas aversivas que no aparecen con dosis más elevadas (100 pmol), las cuales tienden a ser ansiolíticas<sup>35,51</sup>. Por otro lado, aplicada en la PAG dorsal<sup>54</sup>, el núcleo septal lateral<sup>51</sup> o en el núcleo medial de la amígdala (pero no en el núcleo central)<sup>17</sup> produce un incremento de la ansiedad. Además, se han hallado diferencias en la actividad ansiolítica de los antagonistas NK<sub>1</sub> en función del sexo de los animales y del modelo experimental utilizado. Así, la administración de un antagonista NK<sub>1</sub> tuvo un efecto ansiolítico en ratas macho, en el modelo de campo abierto (*open field*), pero no tuvo este mismo efecto en las ratas hembra ni en los machos en el test del laberinto elevado. Asimismo, se registraron diferencias en la actividad ansiolítica en función de la cepa de rata utilizada para el ensayo<sup>49</sup>. Se ha sugerido también que la SP podría ser inactiva en el SNC, debiendo sus efectos a los fragmentos peptídicos amino (N)-terminal (SP<sub>1-7</sub>) y carboxi (C)-terminal (SP<sub>5-11</sub>, SP<sub>6-11</sub> o SP<sub>7-11</sub>), que se producen mediante el metabolismo enzimático de la SP<sup>52,54</sup>. Dichos fragmentos tienen también actividades diferentes, según su lugar de administración en el

SNC de la rata. Así, se ha observado que la inyección del fragmento N-terminal en el pálido ventral produce efectos ansiolíticos y promnésicos<sup>52,53</sup> que no se observan (al menos con la misma claridad) cuando se inyecta en la PAG<sup>48,54</sup>. La administración del fragmento C-terminal en dicha área produjo, asimismo, efectos ansiolíticos y propiedades reforzadoras<sup>52,53</sup>, pero mostró actividad ansiogénica cuando el lugar de administración fue la PAG<sup>48,54</sup>. También se ha demostrado en primates el efecto ansiolítico de la administración sistémica del fragmento N-terminal de la SP<sup>55</sup>.

Además del papel que desempeña la SP en las respuestas al estrés (ansiedad de estado), otros estudios sugieren que la SP puede estar también involucrada en los mecanismos genéticos que predisponen a la ansiedad-rasgo. Así, Sudakov et al.<sup>56</sup> midieron los niveles de SP en el hipocampo, el hipotálamo y el cerebro medio de ratas pertenecientes a dos cepas, una de ellas con gran predisposición genética a presentar ansiedad (Fischer-344 [F-344/N]) y la otra con menor emocionabilidad (Wistar Albino Glaxo [WAG/G]) y en la que previamente se ha demostrado una mayor densidad de receptores benzodiazepínicos corticales. Tal como se esperaba, se demostró que la ansiedad ante un ambiente novedoso, evaluada en 5 paradigmas experimentales (test del laberinto elevado, test de Vogel, test del campo abierto, test de la caja clara/oscular y tabla de agujero) era significativamente mayor en ratas F344/N que en ratas WAG/G. Por otra parte, los niveles de SP en situación basal eran inferiores en la cepa de ratas con alto nivel de ansiedad en comparación con las ratas con baja ansiedad. Asimismo, los niveles de SP tras el estrés descendieron, pero sólo en las ratas menos ansiosas. Todo ello indica que las ratas genéticamente predispuestas a la ansiedad no sólo tienen menor densidad de receptores benzodiazepínicos en la corteza, sino también menores niveles cerebrales de SP. Este estudio demostró también un descenso del fragmento inhibidor de la fijación (*binding*) de diazepam (DBI) y la presencia de niveles elevados de neuropéptido Y (NPY) en las ratas más ansiosas, lo que para los autores constituirían mecanismos compensadores. Por último, la administración intraventricular de dosis bajas de SP disminuyó la ansiedad en ambas cepas, aunque las ratas más ansiosas fueron más sensibles a sus efectos. Sin embargo, dosis altas de SP no tuvieron efecto ansiolítico, lo que probablemente refleja la diferente actividad de la SP en función de la dosis y la vía de administración ya mencionada. En resumen, estos hallazgos discrepan de los de otros estudios que encuentran un aumento de la SP como respuesta al estrés<sup>14-16</sup>, así como de los estudios que refieren un efecto ansiogénico tras la administración de SP o agonistas NK<sub>1</sub><sup>13,18,31-36</sup>. No obstante, parece claro que la SP se halla involucrada en las bases genéticas que predisponen a los sujetos a presentar niveles altos de ansiedad, pudiendo deberse las diferencias entre los estudios a aspectos técnicos, como dosis y vías de administración de la SP o cepa animal estudiada.

Una demostración, aún más sólida, de la implicación de la SP en las respuestas al estrés deriva de los estudios de inacti-

vacación genética del sistema SP-receptor  $NK_1$  llevados a cabo en ratones con supresión selectiva del gen Tac-1 (ratones *knockout* Tac-1 [*Tac1*<sup>-/-</sup>])<sup>57</sup>. Este gen determina en los ratones la producción de tres proteínas precursoras que dan, a su vez, origen a varios péptidos, entre ellos la SP y la NK-A. De esta manera, los animales mutantes son incapaces de producir SP o NK-A y son menos sensibles al dolor, aunque no presentan, por lo demás, otras alteraciones en cuanto a su desarrollo o fertilidad. Cuando se estudió su comportamiento en modelos experimentales de ansiedad (laberinto elevado, interacción social, campo abierto, etc.) los ratones normales (*Tac1*<sup>+/+</sup>) mostraron, efectivamente, ansiedad al ser sometidos a las pruebas, mientras que éstas no parecían ser ansiogénicas para los animales mutantes (*Tac1*<sup>-/-</sup>). En este mismo experimento, los ratones *Tac1*<sup>-/-</sup> sometidos a dos modelos experimentales de depresión, como el test de natación forzada (Test de Porsolt) o el test de suspensión (*tail suspension test*) mostraron una disminución del tiempo de inmovilidad en comparación con los ratones *Tac1*<sup>+/+</sup>, similar a la observada en ratones normales, tras el tratamiento con fármacos antidepressivos: imipramina, amitriptilina o fluoxetina. Asimismo, en otro paradigma experimental de depresión, los ratones *Tac1*<sup>-/-</sup> no mostraron la hiperactividad producida por bulbectomía que sí apareció en los ratones normales bulbectomizados. En resumen, estos hallazgos demuestran que el efecto neto de la supresión de la producción de SP y NK-A en estos animales es la disminución de la emocionalidad, lo que sugiere que la SP y la NK-A desempeñan un papel fundamental en los mecanismos que generan ansiedad y depresión.

Otros autores han utilizado también ratones transgénicos para poner al descubierto la implicación de los receptores  $NK_1$  en las conductas afectivas<sup>29,31,33,58</sup>. Así, Rupniak et al.<sup>33</sup>, en crías de ratones mutantes homocigotos con inactivación genética (*knockout*) del receptor  $NK_1$  (*NK1*<sup>-/-</sup>), observaron una reducción de las vocalizaciones ultrasónicas inducidas al separar a las crías de sus madres. El mismo modelo utilizaron Santarelli et al.<sup>29,58</sup> para estudiar el comportamiento en diversos modelos de ansiedad y depresión, como el test del laberinto elevado, la supresión de la alimentación inducida por la novedad (*novelty suppressed-feeding*) o el test de vocalizaciones ultrasónicas de crías inducidas por separación de la madre. Estos autores produjeron también la inactivación farmacológica del receptor  $NK_1$  mediante la administración de RP67580, un antagonista de este receptor, específico para el ratón y la rata. Además, para controlar los posibles efectos inespecíficos que pudiera producir la administración de RP67580, un grupo de animales recibió RP68651, su enantiómero farmacológicamente inactivo. En resumen, los animales *NK1*<sup>-/-</sup> mostraron una reducción de la ansiedad en respuesta al estrés producido por la exposición a la prueba del laberinto elevado, en comparación con los animales normales (*NK1*<sup>+/+</sup>) y con los mutantes heterocigotos (*NK1*<sup>+/-</sup>). Además, en este paradigma los ratones *NK1*<sup>-/-</sup> presentaron una supresión del aumento de cortisol tras la exposición a la prueba que sí se produjo en los animales controles. De igual manera, los mutantes homocigotos presentaron una reducción de la ansiedad y las respuestas relacionadas con el es-

trés, respecto a los controles, en los otros modelos citados. De forma similar, los ratones normales tratados con RP67580 manifestaron una conducta menos ansiosa, en respuesta al estrés, que los ratones normales tratados con placebo. La administración del enantiómero inactivo no mostró eficacia, por lo que los efectos de RP67580 deben atribuirse al antagonismo de los receptores  $NK_1$ . Es importante destacar que el efecto de la administración de RP67580 fue similar al obtenido mediante la administración de diazepam, utilizado para la validación de los modelos experimentales como modelos de ansiedad. Por otra parte, el efecto ansiolítico de diazepam se manifestó no sólo en los animales normales, sino también en los ratones mutantes (*NK1*<sup>-/-</sup>), lo que indica que la acción ansiolítica del sistema gabaérgico no precisa necesariamente del sistema peptidérgico y que, por tanto, estos dos sistemas pueden actuar de forma independiente. Estos mismos autores, Santarelli et al.<sup>29</sup>, determinaron la inducción de la expresión de la proteína c-Fos como medida de la activación neuronal tras la exposición de ratones a una situación de estrés, como es la prueba del laberinto elevado. A diferencia de los ratones normales tratados con el placebo, los animales pretratados con RP67580, así como los ratones *knockout*  $NK_1$ , presentaron una inducción notablemente menor de la expresión de la proteína c-Fos en el núcleo paraventricular del hipotálamo como respuesta al estrés, lo que es consistente con el papel fundamental que este núcleo desempeña en la respuesta normal al estrés. Estos hallazgos han sido parcialmente replicados mediante la supresión de los receptores  $NK_1$  a través de la administración de la neurotoxina SP-saponina (SP-SAP). La SP-SAP es la conjugación de la saporina (un agente citotóxico inhibidor de la síntesis proteica en los ribosomas, incapaz de atravesar la barrera hematoencefálica) con la SP. De esta forma, la administración de SP-SAP aprovecha la internalización de los receptores  $NK_1$  para producir la muerte selectiva de las neuronas que expresan este receptor. Mediante la inyección de SP-SAP en la amígdala de la rata se ha demostrado una reducción de la ansiedad en la prueba del laberinto elevado en comparación con los animales control<sup>12</sup>. Sin embargo, también se ha demostrado lo contrario, es decir, la actividad ansiogénica de la administración intraamigdal de SP-SAP en los ratones<sup>59</sup>. Para estos autores<sup>59</sup> la discrepancia entre sus resultados y los obtenidos con animales *NK1*<sup>-/-</sup> pueden deberse a las diferentes especies animales estudiadas o, más probablemente, a las diferentes técnicas empleadas. Efectivamente, la administración de SP-SAP no sólo produce la eliminación de los receptores  $NK_1$ , como ocurre con la anulación de los receptores mediante la administración de antagonistas o por medios genéticos, sino que produce la necrosis de la neurona y con ella la pérdida también de los receptores y neurotransmisores coexpresados, así como de las conexiones interneuronales.

### Interacción de la sustancia con otros sistemas de neurotransmisión

Se ha especulado que los efectos de los antagonistas  $NK_1$  sobre la ansiedad y la depresión podrían involucrar meca-

nismos de acción independientes de las vías noradrenérgicas y serotoninérgicas<sup>13</sup>. Sin embargo, se sabe que la SP se colocaliza ampliamente con los neurotransmisores clásicos, así como con otros neuropéptidos<sup>11,60</sup>, y se ha demostrado en primates y en los humanos, que la SP y la serotonina se coexpresan en aproximadamente el 50% de las neuronas del núcleo dorsal del rafe (NDR)<sup>60</sup>. Estos datos, unidos a otros hallazgos como, por ejemplo, el descenso de los niveles de SP en el cerebro anterior de las ratas tras el tratamiento crónico con antidepresivos, hacen muy improbable la ausencia de contribución de los sistemas monoaminérgicos a los efectos de los antagonistas NK<sub>1</sub><sup>61</sup>. Puesto que las neuronas que contienen SP se colocan, entre otras, con las neuronas serotoninérgicas y noradrenérgicas y, habida cuenta de la implicación de estos dos sistemas en los procesos que subyacen a la ansiedad y la depresión, se ha investigado la relación existente entre ellos y el sistema SP-NK<sub>1</sub>. Así, se ha observado que la administración, aguda o crónica, de L-760735 (un antagonista NK<sub>1</sub>) produce un incremento de la actividad de las neuronas serotoninérgicas del NDR, apreciándose un aumento de la frecuencia de descarga, que se acompaña de un cambio del patrón de disparo neuronal a un patrón más eficaz. Estos datos sugieren que la SP endógena participa en la inhibición funcional de este núcleo<sup>62</sup>. En el estudio anteriormente citado de Santarelli et al.<sup>58</sup> los autores estudiaron *in vivo* la actividad de las neuronas serotoninérgicas del NDR en ratones normales tratados o no con un antagonista NK<sub>1</sub> (RP67580), así como en ratones mutantes NK<sub>1</sub><sup>-/-</sup>. Estos investigadores observaron que las neuronas del NDR, tanto de los ratones *knockout* NK<sub>1</sub> como de los ratones normales tratados con el antagonista NK<sub>1</sub> experimentaron un aumento de su frecuencia de disparo, en comparación con los animales normales no tratados, lo que indica que la actividad serotoninérgica del NDR es inhibida por el sistema SP-NK<sub>1</sub>. El aumento, a más del doble, de la frecuencia de disparo de las neuronas serotoninérgicas se observó a los 30 min de la administración del antagonista NK<sub>1</sub>, lo que contrasta con el aumento de la actividad serotoninérgica que también producen la mayoría de antidepresivos, puesto que ésta se observa sólo tras el tratamiento crónico. Por ello se investigó si la actividad de los autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> se modifica en estas circunstancias, para permitir un aumento tan rápido de la activación serotoninérgica. Así, se observó una reducción del número de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> en el NDR, de los ratones *knockout* NK<sub>1</sub><sup>63</sup>. Además, la administración de 8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) tetralin (8-OH-DPAT), un agonista serotoninérgico selectivo de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, directamente en el NDR, produjo una inhibición dosis-dependiente de la frecuencia de disparo neuronal en los ratones normales (como era esperable), pero no en los ratones NK<sub>1</sub><sup>-/-</sup><sup>58,61</sup> ni tampoco en ratos normales pretratadas con un antagonista NK<sub>1</sub><sup>64</sup>, lo que indica que el antagonismo de la SP disminuye la expresión del receptor 5-HT<sub>1A</sub> presináptico. Por el contrario, la aplicación de 8-OH-DPAT en el hipocampo, donde se expresan receptores 5-HT<sub>1A</sub> postsinápticos de las neuronas del NDR, produjo una inhibición del disparo de las neuronas piramidales, tanto en los animales NK<sub>1</sub><sup>-/-</sup> como en los normales, tratados o no con el anta-

gonista NK<sub>1</sub>, indicando que la SP no altera la actividad de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> postsinápticos<sup>58,61</sup>. De forma similar, el tratamiento a largo plazo con el antagonista NK<sub>1</sub> CP-96,345 produjo una desensibilización notable de los autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> presinápticos, acompañada de un aumento de la frecuencia de disparo de las neuronas del NDR del 50 y del 90% a los 2 y 14 días de tratamiento, respectivamente. También se observó una activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> postsinápticos de las neuronas piramidales del hipocampo a los 14 días de tratamiento<sup>64</sup>, tal como ocurre con los antidepresivos en este mismo modelo<sup>61</sup> y en concordancia con el tiempo de latencia que se observa en la clínica hasta la aparición de los efectos de estos fármacos. Por otra parte, se ha demostrado que la administración *in vitro* de antagonistas NK<sub>1</sub> no tiene efectos sobre la sensibilidad de los autorreceptores 5-HT<sub>1B</sub> presinápticos ni sobre los receptores  $\alpha_2$  postsinápticos localizados en las terminales serotoninérgicas, los cuales regulan la liberación de serotonina mediante una acción inhibitoria sobre la misma<sup>61</sup>. En resumen, estos hallazgos sugieren que la inactivación del sistema SP-NK<sub>1</sub> produce un aumento de la frecuencia de disparo de las neuronas del NDR a través de la reducción en la expresión del autorreceptor 5-HT<sub>1A</sub> presináptico (*downregulation*); a su vez, este aumento de actividad del rafe estimula a los receptores 5-HT<sub>1A</sub> del hipocampo (postsinápticos), cuya función está preservada. Este dato es consistente con la menor ansiedad que presentan los ratones *knockout* NK<sub>1</sub>, si bien es cierto que en otro estudio en cobayos normales<sup>62</sup> el tratamiento con un antagonista NK<sub>1</sub> no produjo desensibilización de los autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub>. En opinión de los autores de este estudio<sup>62</sup>, esta diferencia podría ser reflejo de una adaptación más que una verdadera desensibilización de los receptores ocurrida en los ratones transgénicos.

Como puede verse, existe una estrecha relación entre el sistema SP-NK<sub>1</sub> y las vías serotoninérgicas. Sin embargo, mediante técnicas inmunocitoquímicas se demostró que, a pesar de la abundancia de receptores NK<sub>1</sub> en el NDR (especialmente en las dendritas de la subregión dorsomedial), el solapamiento entre estos receptores y las neuronas serotoninérgicas es bastante discreto, tanto en la rata<sup>65,66</sup> como en el ratón<sup>29,58</sup>. Asimismo, se ha demostrado que gran parte de las neuronas del NDR y de la PAG que expresan receptores NK<sub>1</sub> son glutamatérgicas o, en menor proporción, encefalinérgicas. Por consiguiente, si la mayoría de receptores NK<sub>1</sub> no se localiza en las neuronas serotoninérgicas, la modulación de la actividad de éstas por aquéllos debe ser indirecta a través de otros mecanismos. Por tanto, es razonable pensar que en el NDR y en la PAG, la SP actuaría primariamente sobre los citados sistemas (principalmente el glutamatérgico) y éstos, a su vez, lo harían sobre los sistemas monoaminérgicos<sup>65</sup>. En concordancia con esta hipótesis, se ha demostrado, mediante el registro intracelular de la actividad eléctrica *in vitro*, que la activación del disparo serotoninérgico de las neuronas del rafe producido por la aplicación directa de SP es bloqueado por la administración de tetrodotoxina. Esto indica que dicha activación es el resultado, a su vez, de la acción activadora directa de las interneuronas glutamatérgicas sobre las neuronas serotoninérgicas<sup>67</sup>.

Puesto que las neuronas noradrenérgicas del *locus coeruleus* estimulan a las neuronas serotoninérgicas del rafe, se investigó también la posible localización de receptores NK<sub>1</sub> en el *locus coeruleus* y se demostró la existencia de una alta densidad de receptores NK<sub>1</sub> en las neuronas noradrenérgicas de dicho núcleo<sup>29,58,61</sup>. Se ha demostrado también que la aplicación de SP sobre las neuronas noradrenérgicas produce un efecto excitatorio<sup>61</sup>. Por otra parte, los ratones *knock-out* NK<sub>1</sub> no presentan un aumento de la frecuencia espontánea de disparo de las neuronas noradrenérgicas<sup>61</sup>, como tampoco se observa tras la administración de antagonistas NK<sub>1</sub> a ratas o jerbos, aunque sí se ha observado en ratones tratados con RP68750, lo que probablemente se deba a un efecto específico de esta sustancia<sup>61</sup>. No obstante, la administración de un antagonista NK<sub>1</sub> sí produce una atenuación de la inhibición de la actividad noradrenérgica y serotoninérgica producida por la administración del agonista  $\alpha_2$  clonidina<sup>61,68</sup>. Todo ello sugiere que la actividad de los antagonistas NK<sub>1</sub> se produciría a través de las neuronas noradrenérgicas del *locus coeruleus*, las cuales estimularían, a su vez, a las neuronas serotoninérgicas del NDR. Avala esta hipótesis la demostración de que es necesaria la integridad de las neuronas noradrenérgicas para que se produzca la activación serotoninérgica tras la administración de un antagonista NK<sub>1</sub>. Efectivamente, en ratones tratados con RP68750 se produjo un aumento de la actividad de las neuronas serotoninérgicas y noradrenérgicas a los pocos minutos de la administración del fármaco. Sin embargo, el efecto activador del disparo serotoninérgico no se produjo en ratas pretratadas con la neurotoxina selectiva noradrenérgica DSP-4<sup>61</sup>. En este sentido, los antagonistas NK<sub>1</sub> se diferencian de los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, los cuales no aumentan la frecuencia de disparo en el NDR, y se asemejarían a la mirtazapina y el bupropión, dos fármacos con mecanismo de acción dual que sí tienen esta acción, siempre que se mantenga la integridad de las vías noradrenérgicas<sup>61</sup>. Estos hallazgos contradicen también la idea, anteriormente expuesta<sup>13</sup>, de que los efectos (sobre todo los ansiolíticos) producidos por el sistema SP-NK<sub>1</sub> son independientes del sistema serotoninérgico, tal como se había sugerido al observarse que los efectos de los antagonistas NK<sub>1</sub> aparecen rápidamente, sin el período de latencia que se observa con los fármacos serotoninérgicos.

Además de los sistemas glutamatérgico y noradrenérgico, otros sistemas de neurotransmisión pueden estar también involucrados en la estimulación de las neuronas del NDR producida por los antagonistas NK<sub>1</sub>. A diferencia de la rata y el ratón, los cobayos y los primates tienen relativamente pocos receptores NK<sub>1</sub> en el NDR, lo que indica que probablemente los antagonistas de la SP deben sus efectos al bloqueo de estos receptores en otras áreas cerebrales<sup>62</sup>. Sin embargo, en los humanos y en los primates sí se ha encontrado una alta densidad de receptores NK<sub>1</sub> en la habénula lateral, una estructura de donde parten las principales proyecciones descendentes (gabaérgicas) desde el cerebro anterior al NDR, las cuales mantienen un tono inhibitorio funcional sobre la actividad de éste. A su vez, el NDR envía proyecciones ascendentes a es-

estructuras cerebrales que presentan también una elevada densidad de receptores NK<sub>1</sub> y están involucradas en la respuesta al estrés, como la amígdala y la corteza cingulada. Estas últimas envían eferencias a la habénula lateral, cerrando de este modo un circuito que estaría involucrado en la coordinación de las respuestas al estrés<sup>62</sup>. En apoyo de esta hipótesis, la aplicación directa de un antagonista NK<sub>1</sub> en la habénula lateral produjo un aumento de la frecuencia de disparo del NDR, mientras que ni la aplicación sobre áreas adyacentes a la habénula ni tampoco la aplicación directa sobre el NDR modificaron la actividad de éste<sup>62</sup>. Finalmente, en relación con otros neurotransmisores, se ha especulado con la posible contribución de las vías dopaminérgicas a los efectos antidepresivos de los antagonistas NK<sub>1</sub>. Efectivamente, la administración sistémica del antagonista NK<sub>1</sub> GR205,171 produjo una activación de la vía dopaminérgica mesocortical, observándose un aumento de la frecuencia de disparo de las neuronas dopaminérgicas del área tegmental ventral y de los niveles de dopamina en la corteza frontal de la rata, aunque no en el estriado ni en el núcleo *accumbens*, sin afectar a la actividad de las neuronas del NDR<sup>69</sup>. También se ha descrito la interacción de las neuronas que expresan receptores NK<sub>1</sub> con las neuronas del sistema del factor liberador de corticotropina<sup>66</sup>, las cuales se colocan con las neuronas serotoninérgicas de la subregión dorsomedial del NDR que, a su vez, envían proyecciones a áreas límbicas.

Al margen de todo lo expuesto, es evidente que la compleja relación de la SP con otros sistemas de neurotransmisión tiene implicaciones que van más allá de la producción de las conductas afectivas. Por ejemplo, se sabe de la existencia de una estrecha conexión entre las vías dopaminérgicas y la SP en el sistema nigroestriado<sup>52</sup> y la vía mesolímbica<sup>70</sup>, así como de la implicación de la SP en las vías de recompensa<sup>52,59</sup>. También se sabe que en las neuronas colinérgicas del pálido ventral (la principal fuente de acetilcolina en la corteza) existen receptores NK<sub>1</sub>, los cuales estimulan a dichas neuronas, habiéndose demostrado que la administración de SP en dicha área produce un aumento de acetilcolina en la corteza frontal y de dopamina en el núcleo *accumbens*<sup>52</sup>. En definitiva, la amplia colocalización de los sistemas neuroquininérgicos con otros sistemas neuronales permite que las NK participen también en los mecanismos subyacentes a un amplio número de funciones no relacionadas con las conductas afectivas, como, por ejemplo, el dolor, la memoria, el aprendizaje o la recuperación funcional tras una lesión nerviosa, cuyo estudio queda fuera del objetivo de este artículo.

## ENSAYOS CLÍNICOS CON ANTAGONISTAS NK<sub>1</sub>

Kramer et al.<sup>13</sup> comunicaron por primera vez la eficacia de MK-869 (también llamado *aprepitant*), un antagonista NK<sub>1</sub> sin afinidad por receptores serotoninérgicos, dopaminérgicos o noradrenérgicos, en el tratamiento de la depresión. Se llevó a cabo un estudio aleatorizado de fase II, de 6 semanas de duración, comparativo con paroxetina y placebo. Los pacientes fueron diagnosticados de episodio único o

recurrente de depresión mayor, según criterios del DSM-IV, y debían presentar una puntuación igual o superior a 22 en la Escala de depresión de Hamilton (HAM-D<sub>17</sub>). Asimismo, debían presentar una ansiedad moderadamente alta, determinada mediante una puntuación en la Escala de ansiedad de Hamilton (HAM-A) igual o superior a 15 y una puntuación  $\geq 4$  (moderadamente enfermo) en la subescala de gravedad de la Escala de Impresión Clínica Global (CGI-G). Tras 6 semanas de tratamiento con 20 mg/día de paroxetina, 300 mg/día de aprepitant o placebo, se registró una mejoría similar en la puntuación media de la HAM-D<sub>21</sub> (variable principal de eficacia) en ambos grupos de tratamiento activo y estadísticamente superior a la registrada en el grupo placebo. Además, a diferencia de lo observado en el grupo tratado con paroxetina, el tratamiento con aprepitant se acompañó de una reducción progresiva en la puntuación de la HAM-A, que alcanzó la significación estadística en las semanas 4 y 6. La tolerancia en el grupo de aprepitant fue similar a la de placebo y superior a la de paroxetina, grupo en el que hubo más abandonos por efectos adversos. Aunque estos resultados sugieren firmemente un efecto antidepressivo y ansiolítico de los antagonistas NK<sub>1</sub>, un estudio posterior de determinación de dosis, comparativo con placebo y fluoxetina, no logró demostrar diferencias entre los tres brazos de tratamiento y, finalmente, el desarrollo de aprepitant como antidepressivo o ansiolítico fue suspendido<sup>71</sup> y así ocurrió también con otros fármacos similares<sup>71,72</sup> con actividad antagonista NK<sub>1</sub>, cuyo desarrollo ha sido discontinuado.

## CONCLUSIONES

La SP es el neuropéptido más abundante y más estudiado, tanto en el SNC como en el sistema nervioso periférico. Está involucrada en los mecanismos neurales que modulan el comportamiento afectivo, la memoria, la recompensa y la reparación neuronal, habiéndose implicado en la patogenia de diversas enfermedades psiquiátricas y no psiquiátricas. Desde el descubrimiento de la SP, las NK han sido objeto de investigación constante, e incesantes han sido los avances en el conocimiento de su función fisiológica y también en condiciones patológicas. Sin embargo, la realidad es que, a pesar de los notables avances logrados en los últimos 50 años, y aunque el receptor NK<sub>1</sub> ha sido una diana farmacológica perseguida desde hace 20 ó 30 años, las aplicaciones clínicas derivadas de estos progresos han sido muy escasas.

La SP se expresa ampliamente en los circuitos cerebrales que median las respuestas conductuales y afectivas al estrés y parece estar involucrada en la producción de dichas respuestas. Aunque su acción es compleja y mal conocida, se estima que produce sus efectos de forma indirecta a través de la modulación de la actividad monoaminérgica y de otros sistemas de neurotransmisión. Los antagonistas de los receptores NK<sub>1</sub> han mostrado actividad preclínica en diversos modelos de ansiedad y depresión, proporcionando así una base teórica para el empleo de estos fármacos en el tratamiento de dichas enfermedades. En humanos, los antago-

nistas NK<sub>1</sub> parecen comportarse como antidepressivos y producen también una mejoría de la ansiedad asociada a la depresión, con una tolerancia similar a la del placebo y ausencia de los efectos secundarios propios de los inhibidores de la recaptación de serotonina. Sorprende, sin embargo, que a pesar del intenso esfuerzo investigador realizado en este campo, sólo se hayan publicado tres estudios positivos con otros tantos antagonistas NK<sub>1</sub><sup>13,61,71,72</sup>, y que ninguno de estos fármacos haya conseguido alcanzar el mercado, pues su eficacia inicial no ha podido ser replicada en otros estudios. No obstante, otros estudios sobre antagonistas de los receptores NK continúan en fase de desarrollo y no es descartable que estos fármacos puedan llegar a utilizarse en el tratamiento de la ansiedad y/o la depresión en un futuro.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Snijdelaar DG, Dirksen R, Slappendel R, Crul BJ. Substance P. Eur J Pain 2000;4:121-35.
2. White DM. Release of substance P from peripheral sensory nerve terminals. J Peripher Nerv Syst 1997;2(3):191-201.
3. Wahlestedt C. Reward for persistence in substance P research. Science 1998;281:1624-5.
4. Hill R. NK<sub>1</sub> (substance P) receptor antagonists-why are they not analgesic in humans? Trends Pharmacol Sci 2000;21:244-6.
5. Rupniak NM, Kramer MS. Discovery of the anti-depressant and anti-emetic efficacy of substance P receptor (NK<sub>1</sub>) antagonists. Trends Pharmacol Sci 1999;20:485-90.
6. Duffy RA. Potential therapeutic targets for neurokinin-1 receptor antagonists. Expert Opin Emerg Drugs 2004;1:9-21.
7. Baby S, Nguyen M, Tran D, Raffa RB. Substance P antagonists: the next breakthrough in treating depression? J Clin Pharm Ther 1999;24(6):461-9.
8. Harrison S, Geppetti P. Substance P. Int J Biochem Cell Bio 2001; 33:555-76.
9. Sthal S. Psicofarmacología esencia. Bases neurocientíficas y aplicaciones clínicas, 2.<sup>a</sup> ed. Barcelona: Ariel, 2002.
10. Saria A. The tachykinin NK1 receptor in the brain: pharmacology and putative functions. Eur J Pharmacol 1999;375(1-3):51-60.
11. Ribeiro-da-Silva A, Hökfelt T. Neuroanatomical localisation of substance P in the CNS and sensory neurons. Neuropeptides 2000; 34(5):256-71.
12. Mantyh PW. Neurobiology of substance P and the NK<sub>1</sub> receptor. J Clin Psychiatry 2002;63(Suppl. 11):6-10.
13. Kramer MS, Cutler N, Feighner J, Shrivastava R, Carman J, Sramek JJ, et al. Distinct mechanism for antidepressant activity by blockade of central substance P receptors. Science 1998;281:1640-5.
14. Brodin E, Rosen A, Schott E, Brodin K. Effects of sequential removal of rats from a group cage, and of individual housing of rats, on substance P, cholecystokinin and somatostatin levels in the periaqueductal grey and limbic regions. Neuropeptides 1994;26(4):253-60.
15. Bannon MJ, Deutch AY, Tam SY, Zamir N, Eskay RL, Lee JM, et al. Mild footshock stress dissociates substance P from substance K and dynorphin from Met and Leu-enkephalin. Brain Res 1986; 381(2):393-6.
16. Rosen A, Brodin K, Eneroth P, Brodin E. Short-term restraint stress and s.c. saline injection alter the tissue levels of substance

- P and cholecystokinin in the peri-aqueductal grey and limbic regions of rat brain. *Acta Physiol Scand* 1992;146(3):341-8.
17. Ebner K, Rupniak NM, Saria A, Singewald N. Substance P in the medial amygdala: emotional stress-sensitive release and modulation of anxiety-related behavior in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(12):4280-5.
  18. Culman J, Unger T. Central tachykinins: mediators of defence reaction and stress reactions. *Can J Physiol Pharmacol* 1995;73: 885-91.
  19. Smith DW, Hewson L, Fuller P, Williams AR, Wheeldon A, Rupniak NMJ. The substance P antagonist L-760, 735 inhibits stress-induced NK<sub>1</sub> receptor internalisation in the basolateral amygdala. *Brain Res* 1999;848:90-5.
  20. Almay BG, Johansson F, Von Knorring L, Le Greves P, Terenius L. Substance P in CSF of patients with chronic pain syndromes. *Pain* 1988;33(1):3-9.
  21. Schedlowski M, Fluge T, Richter S, Tewes U, Schmidt RE, Wagner TO. Beta-endorphin, but not substance-P, is increased by acute stress in humans. *Psychoneuroendocrinology* 1995;20(1):103-10.
  22. Fehder WP, Sachs J, Uvaydova M, Douglas SD. Substance P as an immune modulator of anxiety. *Neuroimmunomodulation* 1997; 4(1):42-8.
  23. Rimon R, le Greves P, Nyberg F, Heikkila L, Salmela L, Terenius L. Elevation of substance P-like peptides in the CSF of psychiatric patients. *Biol Psychiatry* 1984;19(4):509-16.
  24. Berrettini WH, Rubinow DR, Nurnberger JI Jr, Simmons-Alling S, Post RM, Gershon ES. CSF substance P immunoreactivity in affective disorders. *Biol Psychiatry* 1985;20(9):965-70.
  25. Bondy B, Baghai TC, Minov C, Schule C, Schwarz MJ, Zwanzger P, et al. Substance P serum levels are increased in major depression: preliminary results. *Biol Psychiatry* 2003;53(6):538-42.
  26. Stockmeier CA, Shi X, Konick L, Overholser JC, Jurjus G, Meltzer HY, et al. Neurokinin-1 receptors are decreased in major depressive disorder. *Neuroreport* 2002;12:1223-7.
  27. Shirayama Y, Mitsushio H, Takashima M, Ichikawa H, Takahashi K. Reduction of substance P after chronic antidepressants treatment in the striatum, substantia nigra and amygdala of the rat. *Brain Res* 1996;739:70-8.
  28. Husum H, Vasquez PA, Mathe AA. Changed concentrations of tachykinins and neuropeptide Y in brain of a rat model of depression: lithium treatment normalizes tachykinins. *Neuropsychopharmacology* 2001;24(2):183-91.
  29. Santarelli L, Gobbi G, Blier P, Hen R. Behavioral and physiologic effects of genetic or pharmacologic inactivation of the substance P receptor (NK<sub>1</sub>). *J Clin Psychiatry* 2002;63(Suppl. 11):11-7.
  30. Ballard TM, Sanger S, Higgins GA. Inhibition of shock-induced foot tapping behaviour in the gerbil by a tachykinin NK1 receptor antagonist. *Eur J Pharmacol* 2001;412(3):255-64.
  31. De Felipe C, Herrero JF, O'Brien JA, Palmer JA, Doyle CA, Smith AJ, et al. Altered nociception, analgesia and aggression in mice lacking the receptor for substance P. *Nature* 1998;392:394-7.
  32. Krase W, Koch M, Schnitzler HU. Substance P is involved in the sensitization of the acoustic startle response by footshocks in rats. *Behav Brain Res* 1994;63:81-8.
  33. Rupniak NM, Carlson EC, Harrison T, Oates B, Seward E, Owen S, et al. Pharmacological blockade or genetic deletion of substance P (NK<sub>1</sub>) receptors attenuates neonatal vocalisation in guinea-pigs and mice. *Neuropharmacology* 2000;39(8):1413-21.
  34. Gavioli EC, Canteras NS, de Lima TC. The role of lateral septal NK1 receptors in mediating anxiogenic effects induced by intracerebroventricular injection of substance P. *Behav Brain Res* 2002;134(1-2):411-5.
  35. Teixeira RM, Santos AR, Ribeiro SJ, Calixto JB, Rae GA, de Lima TC. Effects of central administration of tachykinin receptor agonists and antagonists on plus-maze behavior in mice. *Eur J Pharmacol* 1996;311(1):7-14.
  36. Teixeira RM, de Lima TC. Involvement of tachykinin NK1 receptor in the behavioral and immunological responses to swimming stress in mice. *Neuropeptides* 2003;37(5):307-15.
  37. Ribeiro RL, de Lima TC. Participation of GABAA receptors in the modulation of experimental anxiety by tachykinin agonists and antagonists in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2002;26(5):861-9.
  38. Varty GB, Cohen-Williams ME, Morgan CA, Pylak U, Duffy RA, Lachowicz JE, et al. The gerbil elevated plus-maze II: anxiolytic-like effects of selective neurokinin NK1 receptor antagonists. *Neuropsychopharmacology* 2002;27(3):371-9.
  39. Cheeta SC, Tucci S, Sandhu J, Williams AR, Rupniak NMJ, File SE. Anxiolytic actions of the substance P (NK1) receptor antagonist L-760735 and the 5-HT<sub>1A</sub> agonist 8-OH-DPAT in the social interaction test in gerbils. *Brain Res* 2001;915:170-5.
  40. File SE. Anxiolytic action of a neurokinin-1 receptor antagonist in the social interaction test. *Pharmacol Biochem Behav* 1997;58:747-52.
  41. Gentsch C, Cutler M, Vassout A, Veenstra S, Brugger F. Anxiolytic effect of NKP608, a NK1-receptor antagonist, in the social investigation test in gerbils. *Behav Brain Res* 2002;133(2):363-8.
  42. Vassout A, Veenstra S, Hauser K, Ofner S, Brugger F, Schilling W et al. NKP608: a selective NK-1 receptor antagonist with anxiolytic-like effects in the social interaction and social exploration test in rats. *Regul Pept* 2000;96(1-2):7-16.
  43. Papp M, Vassout A, Gentsch C (2000): The NK1-receptor antagonist NKP608 has an antidepressant-like effect in the chronic mild stress model of depression in rats. *Behav Brain Res* 115:19-23.
  44. Walsh DM, Stratton SC, Harvey FJ, Beresford IJ, Hagan. The anxiolytic-like activity of GR159897, a non-peptide NK2 receptor antagonist, in rodent and primate models of anxiety. *Psychopharmacology (Berl)* 1995;121(2):186-91.
  45. Stratton SC, Beresford IJ, Harvey FJ, Turpin MP, Hagan RM, Tyers MB. Anxiolytic activity of tachykinin NK2 receptor antagonists in the mouse light-dark box. *Eur J Pharmacol* 1993;250(3):R11-2.
  46. Ribeiro SJ, Teixeira RM, Calixto JB, de Lima TC. Tachykinin NK3 receptor involvement in anxiety. *Neuropeptides* 1999;33(2): 181-8.
  47. Ribeiro SJ, de Lima TC. Naloxone-induced changes in tachykinin NK3 receptor modulation of experimental anxiety in mice. *Neurosci Lett* 1998;258(3):155-8.
  48. De Araujo JE, Huston JP, Brandao ML. Aversive effects of the C-fragment of substance P in the dorsal periaqueductal gray matter. *Exp Brain Res* 1998;123:84-9.
  49. Vendruscolo LF, Takahashi RN, Bruske GR, Ramos A. Evaluation of the anxiolytic-like effect of NKP608, a NK1-receptor antagonist, in two rat strains that differ in anxiety-related behaviors. *Psychopharmacology (Berl)* 2003;170(3):287-93.
  50. Hasenohrl RU, Jentjens O, de Souza Silva MA, Tomaz C, Huston JP. Anxiolytic-like action of neurokinin substance P administered systemically or into the nucleus basalis magnocellularis region. *Eur J Pharmacol* 1998;354(2-3):123-33.

51. Gavioli EC, Canteras NS, de Lima TC. Anxiogenic-like effect induced by substance P injected into the lateral septal nucleus. *Neuroreport* 1999;10(16):3399-403.
52. Hasenöhrl RU, de Souza-Silva MA, Nikolaus S, Tomaz C, Brandao ML, Schwarting RKW, et al. Substance P and its role in neural mechanisms governing learning, anxiety and functional recovery. *Neuropeptides* 2000;34(5):272-80.
53. Nikolaus S, Huston JP, Hasenöhrl RU. Anxiolytic-like effects in rats produced by ventral pallidal injection of both N- and C-terminal fragments of substance P. *Neurosci Lett*, 2000;283(1):37-40.
54. De Araujo JE, Silva RC, Huston JP, Brandao ML. Anxiogenic effects of substance P and its 7-11 C terminal, but not the 1-7 N terminal, injected into the dorsal periaqueductal gray. *Peptides* 1999;20(12):1437-43.
55. Barros M, de Souza Silva MA, Huston JP, Tomaz C. Anxiolytic-like effects of substance P fragment (SP[1-7]) in non-human primates (*Callithrix penicillata*). *Peptides* 2002;23(5):967-73.
56. Sudakov SK, Medvedeva OF, Ruskova IV, Terebilina NN, Goldberg SR. Differences in genetic predisposition to high anxiety in two inbred rat strains: role of substance P, diazepam binding inhibitor fragment and neuropeptide Y. *Psychopharmacology (Berl)* 2001;154(4):327-35.
57. Bilkei-Gorzo A, Racz I, Michel K, Zimmer A. Diminished anxiety- and depression-related behaviors in mice with selective deletion of the Tac1 gene. *J Neurosci* 2002;22(22):10046-52.
58. Santarelli L, Gobbi G, Debs PC, Sibille ET, Blier P, Hen R, et al. Genetic and pharmacological disruption of neurokinin 1 receptor function decreases anxiety-related behaviors and increases serotonergic function. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98(4):1912-7.
59. Gadd CA, Murtra P, de Felipe C, Hunt SP. Neurokinin-1 receptor-expressing neurons in the amygdala modulate morphine reward and anxiety behaviors in the mouse. *J Neurosci* 2003;23(23):8271-80.
60. Sergeev V, Hokfelt T, Hurd Y. Serotonin and substance P coexist in dorsal raphe neurons of the human brain. *Neuroreport* 1999;10:3967-70.
61. Blier P, Gobbi G, Haddjeri N, Santarelli L, Mathew G, Hen R. Impact of substance P receptor antagonism on the serotonin and norepinephrine systems: relevance to the antidepressant/anxiolytic response. *J Psychiatry Neurosci* 2004;29(3):208-18.
62. Conley RK, Cumberbatch MJ, Mason GS, Williamson DJ, Harrison T, Locker K, et al. Substance P (neurokinin 1) receptor antagonists enhance dorsal raphe neuronal activity. *J Neurosci* 2002;22(17):7730-6.
63. Froger N, Gardier AM, Moratalla R, Alberti I, Lena I, Boni C, et al. 5-hydroxytryptamine (5-HT)<sub>1A</sub> autoreceptor adaptive changes in substance P (neurokinin 1) receptor knock-out mice mimic antidepressant-induced desensitization. *J Neurosci* 2001;21(20):8188-97.
64. Haddjeri N, Blier P. Sustained blockade of neurokinin-1 receptor enhances serotonin neurotransmission. *Biol Psychiatry* 2001;50:191-9.
65. Commons KG, Valentino RJ. Cellular basis for the effects of substance P in the periaqueductal gray and dorsal raphe nucleus. *J Comp Neurol* 2002;447(1):82-97.
66. Commons KG, Connolley KR, Valentino RJ. A neurochemically distinct dorsal raphe-limbic circuit with a potential role in affective disorders. *Neuropsychopharmacology* 2003;28(2):206-15.
67. Liu R, Ding Y, Aghajanian GK. Neurokinins activate local glutamatergic inputs to serotonergic neurons of the dorsal raphe nucleus. *Neuropsychopharmacology* 2002;27:329-40.
68. Haddjeri N, Blier P. Effect of neurokinin-1 receptor antagonists on the function of 5-HT and noradrenaline neurons. *Neuroreport* 2000;11:1323-7.
69. Lejeune F, Gobert A, Millan MJ. The selective neurokinin (NK<sub>1</sub>) antagonist, GR205,171, stereospecifically enhances mesocortical dopaminergic transmission in the rat: a combined dialysis and electrophysiological study. *Brain Res* 2002;935(1-2):134-9.
70. Altier N, Stewart J. Dopamine receptor antagonists in the nucleus accumbens attenuate analgesia induced by ventral tegmental area substance P or morphine and by nucleus accumbens amphetamine. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;285(1):208-15.
71. Krishnan KRR. Clinical experience with substance P receptor (NK<sub>1</sub>) antagonists in depression. *J Clin Psychiatry* 2002;63(Suppl. 11):25-9.
72. Kramer MS, Winokur A, Kelsey J, Preskorn SH, Rothschild AJ, Snavely D, et al. Demonstration of the efficacy and safety of a novel substance P (NK<sub>1</sub>) receptor antagonist in major depression. *Neuropsychopharmacology* 2004;29(2):385-92.