

## AKADEMILINE LOENG

### Ärevus: sõber ja vaenlane sinus eneses

**Eero Vasar** – Tartu Ülikooli füsioloogia instituut

Veel mõni aeg tagasi peeti närviteadlaste hulgas emotsioonide molekulaarsete ja rakuliste mehhanismide uurimist tühjaks tööks ja vaimu närimiseks. Õnneks läinud sajandi üheksakümnendatel aastatel toimus kardinaalne muutus ja mitmete teadusgruppide intensiivse töö tulemusena on meie teadmised emotsionaalse käitumise alusmehhanismide kohta oluliselt laienenud. Näiteks on õnnestunud kirjeldada neid närviringe, mis on kõige otsesemalt seotud ärevusseisundite tekkimisega (1, 2). Ärevus kuulub negatiivsete emotsioonide hulka ning füsioloogilistes piirides aitab ta isendil kohaneda olukordades, kus organismis peituvate varujõudude mobiliseerimine on hädavajalik. Ärevus on emotsioon, mis on tihedalt seotud organismi vastusega mitmesugustele stressogeensetele teguritele, sõltumata sellest kas need on füüsilist või psüühilist laadi.

Lähtudes ohustavate tegurite tegelikust või potentsiaalsest olemasolust, on võimalik ärevusseisundeid jagada kaheks – hirmuks ja ärevuseks. Hirmuemotsioonist räägitakse, kui on tegemist otseselt ähvardava ohuga. Ärevuse puhul ei ole tegemist otsese ohuga, ohustav tegur on potentsiaalne ja ta on välditav. Mõnikord kaotab ärevus oma kohastumusliku tähenduse ja muutub inimese elukvaliteeti oluliselt häirivaks haiguslikuks seisundiks. Seda juhul, kui ärevusega kaasnevad reaktsioonid on ülemääraseid (paanikahäire) või ärevusseisund kestab liiga kaua (generaliseerunud ärevushäire). Järelikult ei ole patoloogilise ja füsioloogilise ärevuse erinevus mitte kvalitatiivset laadi, vaid see kannab kvantitatiivset iseloomu. Ärevushäired on psühhiaatrilistest haigustest kõige levinumad. Arvatakse, et umbes kolmandik inimestest kogeb oma elu jooksul seisundit, kus on tegemist patoloogilise ärevusega. Suurenenud ärevus on sageli oluliseks depressiivsete seisunditega kaasnevaks sümptomiks.

Vaatamata olulistele saavutustele ärevuse neurobioloogiliste mehhanismide mõistmisel on patoloogiliste ärevusseisundite molekulaarne taust paljuski veel ebaselge. Tänapäevane arusaam ärevuse molekulaarsetest mehhanismidest põhineb suuresti teatud ravimite efektiivsusel ärevushäirete ja depressiooni ravis. Keemilised ühendid, mis interakteeruvad närvirakkude pidurdust esilekutsuva virgatsaine  $\gamma$ -aminovõihappe (GAVH) A-alatüübi retseptoritega ( $GAVH_A$ ), on efektiivsed ravimid ärevushäirete ravis (3). Ravimid, mis valikuliselt pidurdavad serotoniini ja noradrenaliini tagasihaaret närvirakkude poolt, on leidnud kasutamist depressiivsete seisundite ja patoloogilise ärevuse ravis. Siiski peab nentima, et need ravimid ei ole ideaalsed, sest neil on olulised kõrvaltoimed. Bensodiasepiini retseptorite agonistid, mis suurendavad  $GAVH_A$  retseptorite tundlikkust endogeense GAVH suhtes, põhjustavad kroonilisel kasutamisel sõltuvust ja seepärast on need ravimid uimastite nimekirjas (4). Antidepressandid, mis pidurdavad serotoniini tagasihaaret, võivad suurendada ärevust, kui ravi alustatakse suurte annustega. Nüüdisaegsed uuringud viitavad, et neid aineid ei saa kasutada lastel ja noorukitel. Selektiivsed serotoniini tagasihaarde inhibiitorid on lastel ja noorukitel vähese efektiivsusega ning nende kasutamine võib viia enesetappude sageduse suurenemiseni (5). Sellepärast on hädavajalikud alusuuringud, mis aitaksid paremini mõista ärevuse molekulaarseid ja rakulisi mehhanisme. Sisuliselt on tegemist tungimisega inimhinge kõige varjatumasse sügavusse. Selline käsitlusviis aitab selgitada uusi molekulaarseid sihtmärke, mille kaudu oleks võimalik ärevusseisundeid mõjustada. See aitab kaasa uute senisest selektiivsemate

ärevusevastaste ainete loomisele. Kindlasti ei ole molekulaarse psühhofarmakoloogia ülesandeks inimeste vabastamine füsioloogilisest ärevusest kui võimsast bioloogilisest kohastumuslikust mehhanismist, vaid senisest efektiivsem hingepiinade ravimine.

Hingevaevuste leevendamise kõrval ei saa tähtsusetuks pidada ärevushäirete ja depressiivsete seisundite profülaktikat, sest lihtsam on haigust ära hoida kui seda ravida. Ärevushäiretega seotud molekulaarsete sihtmärkide kirjeldamine loob põhimõtteliselt uusi võimalusi ka siin, sest kasutades alusuuringutest pärinevat informatsiooni, on võimalik identifitseerida neid inimesi, kellel on oluliselt suurenenud risk haigestuda ärevushäiretesse. Pelgalt arstlike ettekirjutuste järgimisega, mis aitavad neil inimestel hoiduda situatsioonidest, kus nende kohanemisevõime ei ole piisav, on võimalik vältida haigestumist ärevushäiretesse ja depressiooni.

Tartu Ülikooli füsioloogia instituudi neurofüsioloogia uurimisrühm (Eero Vasar, Sulev Kõks, Vallo Volke ja praegu Helsingi Ülikoolis töötav Vootele Vöikar) on seadnudki oma töö põhiliseks eesmärgiks ärevuse molekulaarsete mehhanismide selgitamise, et leida uusi ärevusega seotud molekulaarseid sihtmärke. Uurimisrühm alustas oma tegevust psühhofarmakoloogia valdkonnas, kuid viimaste aastatega on huvikeskmesse tõusnud molekulaargeneetilise käsitusviisi rakendamine neurobioloogias ja psühhofarmakoloogias. Nimetatud käsitusviisi eeliseks tuleb pidada asjaolu, et see võimaldab senisest enam tungida üksikute ajustruktuuride tasemel toimivate närviprotsesside molekulaarsesse olemusse. Nende uuringute käigus on kasutusele võetud hulk Eesti tingimustes uusi tänapäevaseid uurimismeetodeid: transgeenne tehnoloogia geneetiliselt modifitseeritud katseloomade loomiseks, diferentsiaalkloneerimise rakendamine erinevate geenide ekspressiooni analüüsiks ajustruktuuride tasemel, geenikiipide tehnoloogia ühenukleotiidsete geeni polümorfismide ja geeni ekspressiooni analüüsimiseks.

## **Nüüdisaegsete geenitehnoloogiliste meetodite rakendamine ärevusega seotud molekulaarsete sihtmärkide selgitamiseks ajus**

Leidmaks uusi sihtmärke ärevuse ja emotsionaalsete häirete molekulaarsete mehhanismide käsitlemiseks rakendati katseloomadel, kelleks olid Wistari liini isased rotid, loomulikke ärevust esile kutsuvaid situatsioone. Rottide eksponeerimine kassilõhna suhtes põhjustas rottidel uudistamisaktiivsuse vähenemise kuni täieliku tardumiseni, mis on nende katseloomade liigiomaseks käitumuslikuks reaktsiooniks ärevusseisundite korral. Teise mudelina kasutati ülestõstetud pluss-puuri mudelit (*elevated plus-maze*), mis on farmakoloogiliselt hästi valideeritud katsesituatsiooniks ärevuselaadse käitumise uurimisel. Nii rottide kui hiirte populatsioonid käituvad väga erinevalt ülestõstetud pluss-puuri mudelis. Osa loomi jääb peitu puuri suletud õlgadesse, teised aga uudistavad aktiivselt katseseadeldise avatud osi. Selle alusel on võimalik katseloomi jagada ärevateks ja mitte-ärevateks. Nii kiskjalõhna kui ka pluss-puuri mudelites analüüsiti diferentsiaalse kloneerimise abil muutusi erinevate geenide ekspressioonis negatiivsete emotsioonidega seotud ajustruktuurides (periaikveduktaalne hallaine, mandelkeha ja otsmikukoor). Kassilõhna mõjul toimub mitmete geenide ekspressiooni suurenemine roti mandelkehas, ühes keskses ärevuse ja hirmu regulatsiooniga seotud ajustruktuuris. Meil õnnestus sedastada mitmete närviülekanedega seotud geenide (karboksüpeptidaas E, türosiini 3-monooksügenaas/trüptofaani 5-monooksügenaas, wolframiin, Rho GTP-aas, neurokondriin, Ca/kalmoduliin-sõltuv proteiini kinaas ja Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPaasi alfa (<sup>+</sup>) isovormi katalüütiline alaühik) ekspressiooni suurenemist mandelkehas (6). Samuti leidsime, et vähenes mitmete geenide ekspressioon, mis avaldavad antagonistlikku toimet mitmetele ülaltloodud geenidele (niskariin ja Rab geranüülgeranüüli tranferaas). Seega õnnestus meil kirjeldada uusi ärevusega seotud signaaliülekaned radasid närvirakkudes. Nii kassilõhna kui ka pluss-puuri eksperimendis leidsime limbilise süsteemiga seotud membraanivalgu (LSAMP) üleekspressiooni

(6, 7). Kassilõhna-katses oli see täheldatav mandelkehas ja pluss-puuri-uuringus periakveduktaalses hallaines. Wolframiin ja LSAMP on valitud meie järgnevate uuringute sihtmärgiks, et selgitada nende valkude rolli ärevuse mehhanismides ja üldse närvisüsteemi talitluses (7, 8).

### **L-arginiini/lämmastikmonooksiidi (NO) süsteem kui uute perspektiivsete anksiolüütiliste ja antidepressiivsete ravimite märklaud**

Lämmastikmonooksiid (NO) kui aju virgatsaine avastamisest on möödunud 13 aastat. Täna on veenvalt kirjeldatud NO osalemine paljudes olulistest protsessides nagu õppimine ja mälu, valu, toitumiskäitumine, neurodegeneratsioon. Meie uurimisrühm on olnud haaratud NO uuringutesse juba varakult ja see on meil võimaldanud kirjeldada NO mõningaid olulisi funktsioone ajus esimeste seas. Kasutades erinevaid etoloogilisi, neurofüsioloogilisi ja biokeemilisi meetodeid, oleme uurinud NO sünteesi mõjustavate ainete toimet katseloomade käitumisele, NO sünteesi aktiivsusele ja teiste virgatsainete tasemele ajus ärevuse ja depressiooni kontekstis. Meie uuringud on kindlalt tõestanud, et NO osaleb ärevuse ja hirmu regulatsioonis, olles ärevust suurendavaks virgatsaineks. Just meie rühm näitas esimesena, et selektiivselt ajus NO sünteesi pärssivatel ainetel (7-nitroindasool ja TRIM) on ärevust vähendav toime pluss-puuri mudelis (9). Sellist toimet on kinnitanud ka teiste uurijate tulemused. Me oleme suutnud ka tõestada, et kahest ajus leiduvast NO süntetaasi (NOS) vormist on just neuronaalne alavorm peamine märklaud ärevuse- ja depressioonivastase toime saavutamisel. Samuti on õnnestunud näidata, et NO ja cGMP hulga samaaegne suurendamine ajus põhjustab ärevuse suurenemist hiirtel. Nii põhjustas L-arginiini (NO eelkäija molekul) ja sildenafili (5ndat tüüpi fosfodiesteraasi inhibiitor) koosmanustamine ärevuse märgatava suurenemise pluss-puuri mudelis (10). See uuring näitab peale NO olulise rolli ärevuse kontekstis esimest korda ka cGMP osalemist.

Üheks keerulisemaks probleemiks NO uurimisel on täpse meetodi puudumine mõõtmaks NO ülimaldalaid hulki organismis. Meie rühm on kirjeldanud NO sünteesi aktiivsuse määramiseks mikrodialüüsil baseeruvat meetodit, kus määratakse NO sünteesi kõrvalprodukti hulka, mis on võrdne tekkiva NO hulgaga (11). Kasutades seda meetodit, oleme näidanud, et erinevatesse gruppidesse kuuluvad antidepressiivsed ravimid pidurdavad NOSi aktiivsust hipokampuses pärast ravimite lokaalset manustamist. Serotoniini (5-HT) manustamine ei mõjutanud NOSi aktiivsust hipokampuses. Kuna antidepressandid ei mõjutanud NOSi aktiivsust *in vitro* tingimustes, tekib NOSi pidurdamine ajus ilmselt mingi kaudse mehhanismi kaudu (12).

NO ei funktsioneeris ajus isoleeritult, vaid täidab teatud funktsioone ka vastasmõjude kaudu teiste virgatsainetega. Sellepärast oleme uurinud NO toimeid klassikaliste virgatsainete tasemel. Selleks mõõtsime serotoniini ja dopamiini hulga muutusi ajus pärast NO sünteesi suurendamist või pärssimist. Tulemused näitavad, et NO pidurdab serotoniini ja dopamiini vabanemist hipokampuses, kusjuures nende virgatsainete vabanemine on ka tavaolukorras NO negatiivse kontrolli all (11). Manustades katseloomale NO sünteesi tõstvaid aineid, serotoniini tase langeb, NO sünteesi pärssivad ained põhjustavad serotoniini hulga suurenemise. Viimane leid on eriti tähelepanuväärne, kuna NOSi inhibiitorite mõju serotoniini tasemele on analoogne klassikaliste depressioonivastaste ravimitega ja seega võib olla bioloogiliseks aluseks NOSi inhibiitorite depressioonivastasele toimele (12).

### **Psühhofarmakoloogiline ja molekulaar-geneetiline käsitusviis kolestsükliini, ajus levinud neuropeptiidi rolli selgitamiseks emotsionaalse käitumise regulatsioon**

Neuropeptiid kolestsükliini (CCK) uuringud on tööühma tähelepanu keskmes olnud juba rohkem kui kakskümmend aastat. Selles valdkonnas on Tartu Ülikoolis kaitstud hulk meditsiinikandidaadi ja -doktori väitekirju (Andres Soosaar, Jaanus

Harro, Aavo Lang, Sulev Kõks, Vallo Volke, Jakov Šlik ja Alar Veraksitš). CCK näib funktsioneerivat virgatsainena, millel on oluline tähendus loomade kohanemisel uudses situatsioonis. Psühhofarmakoloogilistes uuringutes õnnestus meil näidata, et CCK anksiogeenne toime avaldub ainult uudses ja aversiivses keskkonnas ning selle efekti vahendajaks on CCK teist tüüpi (CCK<sup>2</sup>) retseptorid ajus. CCK anksiogeenset toimet potentseerib olulisel määral naloksoon, opioidi retseptorite antagonist. Seega ei interakteeru opioidsed peptiidid ja CCK mitte ainult valutundlikkuse regulatsioonis, vaid opioidsed peptiidid on ka CCK anksiogeense toime antagonistideks.

Teostatud alusuuringutes õnnestus meil näidata, et rottide ärevuskäitumine sõltub aastaegadest (13). Rotid on tunduvalt ärevamad suvel ja väiksema ärevusega talvel, sellega kaasneb CCK<sup>2</sup> ja 5-HT<sub>2</sub> retseptorite suurem tihedus ajukoores suvel võrreldes talvega. See leid võib olla seotud asjaoluga, et vabas looduses elavad laborirottide eelkäijad pidid ja peavad enam olema valmis oma eksistentsi eest võitlemiseks suvel kui talvel.

Oluliseks edusammuks CCK seotud uuringute juures on transgeense tehnoloogia rakendamine. Nimelt on füsioloogia instituudis viimase viie aasta vältel uuritud CCK<sup>2</sup> retseptori puudulikkusega hiirt kui võimalikku mudelit koletsüstokiniini rolli selgitamiseks emotsionaalse käitumise regulatsioonis (14). Uue uurimistehnoloogia kasutusele võtmisega on osutunud vajalikuks erinevate metodoloogiliste eksperimentide korraldamine. Nii on koostöös Helsingi Ülikooliga uuritud kahe olulise transgeense tehnoloogia otstarbel rakedatava hiireliini C57Bl/6 ja 129Sv käitumuslike iseärasusi. Nendest uuringutest selgus, et need hiireliinid erinevad üksteisest käitumuslike iseärasuste tõttu ja seda esmajoones ärevuskäitumise osas. 129Sv liini hiired on tunduvalt ärevamad C57Bl/6 hiirtega võrreldes (15, 16). Seda asjaolu tuleb arvestada, kui üritatakse iseloomustada geneetiliselt modifitseeritud loomade käitumist, sest mõlema vanemaliini geneetiline taust võib tingida sedavõrd olulisi käitumuslikke nihkeid, et

neid võidakse trakteerida kui geneetilisest manipulaatsioonist tingitud. CCK<sup>2</sup> retseptori puudulikkusega hiirte uurimisel on olulisemaid tulemusi saadud liikumisaktiivsuse, valutundlikkuse ja ärevuse osas (14, 17–20). Nimetatud hiired reageerivad oluliselt tugevamini dopamiini agonisti amfetamiini manustamisest tingitud mootorika aktivatsioonile. Samuti on nende katseloomade juttkehas (*corpus striatum*) tunduvalt rohkem dopamiini retseptoreid võrreldes „metsikut“ tüüpi liigikaaslastega, kellel CCK<sup>2</sup> retseptori defekti ei esine. Nende uuringute põhjal on võimalik väita, et CCK<sup>2</sup> retseptorite puudulikkusega hiirtel esineb märkimisväärne dopamiini retseptorite ülitundlikkus (17, 21).

Huvitav on asjaolu, et dopaminergilise süsteemi ülitundlikkus esineb ainult isastel CCK<sup>2</sup> retseptori puudulikkusega hiirtel. Isastel geneetiliselt modifitseeritud hiirtel on vähenenud ka valutundlikkus plantaar-analgeesia ja „kuuma plaadi“ testides ning mehaaniline tundlikkus von Frey testis võrreldes „metsikut“ tüüpi liigikaaslastega. Huvitavaks leiuks on, et nendel katseloomadel ei teki hüperalgeesiat istmikunärvi ligeerimisel. Seega võib sellise geneetilise defektiga isaste hiire uurimisel saada olulist informatsiooni neuropaatilise valu molekulaarsete mehhanismide mõistmiseks. CCK<sup>2</sup> retseptori puudulikkusega hiirte juttkehas on suurenenud  $\mu$ -opioidi, morfiini toimet vahendavate, retseptorite tihedus (18). Nende uuringute alusel võib väita, et CCK<sup>2</sup> retseptori geneetiliselt indutseeritud kahjustamine põhjustab opioidse süsteemi aktiivsuse suurenemist ajus, millest ongi tingitud olulised muutused valutundlikkuses.

Emastel CCK<sup>2</sup> retseptori puudulikkusega hiirtel on vähenenud ärevus etoloogilistes mudelites. Samuti hoiab CCK<sup>2</sup> retseptorite geneetiline väljalülitamine ära isolatsioonist tingitud ärevuse suurenemise emasloomadel (20). Sotsiaalset isolatsiooni peetakse depressiivsete seisundite mudeliks hiirtel ja rottidel. Nendest katsetest võib järeldada, et CCK<sup>2</sup> retseptoritel on oluline tähendus ärevuse ja depressiivsete seisundite tekkimises emastel hiirtel. Seoses oluliselt vähenenud ärevusega on bensodiasepiini agonisti

diasepaami anksiolüütiline toime nõrgem nendel katseloomadel võrreldes „metsikut“ tüüpi liigikaaslastega (14).

Lisaks käitumuslikele nihetele leiti nimetatud katseloomade väikeajus bensodiasepiini sidumiskohtade suurenemine võrreldes „metsikut“ tüüpi liigikaaslastega. Tehtud katsed lubavad oletada põhilise pidurdusmediaatori GAVH funktsiooni tugevnemist CCK<sup>2</sup> retseptorite geneetilise väljalülitamise tagajärjel. Selle arvamuse kasuks räägib ka GAVHA retseptori alfa2-alaühiku (vahendab diasepaami anksiolüütilist toimet) geeni ekspressiooni oluline suurenemine geneetiliselt modifitseeritud hiirte hipokampuses. Teostatud uuringud osutavad sellele, et CCK<sup>2</sup> retseptorite väljalülitamine põhjustab erinevaid muutusi isaste ja emaste hiirte käitumises. Isasloomadel on märkimisväärsed muutused mehaanilises ja valutundlikkuses ning liikumisaktiivsuses, emasloomadel on esiplaanil nihked ärevuse vähenemise suunas. Sellepärast sobibki nimetatud geneetiliselt modifitseeritud hiir valutundlikkuse ja ärevuse molekulaarsete mehhanismide uurimiseks. Uurimisrühma edusammude hulka tuleb pidada ka hiire loomist, kelle ajus toodetakse võrreldes liigikaaslastega tunduvalt enam neuropeptiidi CCK ja esimesed uuringud lubavad väita, et nimetatud transgeenne hiir käitub vastupidiselt CCK<sup>2</sup> retseptori puudulikkusega hiirele.

## Kokkuvõte

Kasutades liigispetsiifilisi ärevuse mudeleid rottidel, oleme leidnud mitmeid uusi ärevusega seotud sihtmärke. Kaks neist (wolframiin ja LSAMP) on meie järgnevate uuringute objektiks, kasutades selleks nii transgeenset tehnoloogiat kui ka geneetiliste polümorfismide uurimist inimesel. Samuti on meil õnnestunud tõestada ajus esineva lämmastikmooksiidi olulist tähendust ärevuse regulatsioonis. Selektiivsed neuronaaalse NO süntetaasi inhibiitorid on meie uuringute põhjal potentsiaalsed ärevusevastased ja antidepressiivsed ravimid inimesel. Lisaks eeltoodule oleme välja töötanud originaalse käsitlusviisi transgeensete katseloomade fenotüübi iseloomustamiseks. Kasutades seda metodoloogiat, oleme jõudnud oluliste tulemusteni neuropeptiidi koletsüstokiniini teist tüüpi (CCK<sup>2</sup>) retseptori puudulikkusega hiire fenotüübi kirjeldamisel. Märkimist väärib, et see geneetiline modifikatsioon põhjustab erinevaid muutusi isastel ja emastel loomadel. Ärevusega seotud fenotüübi muutus esineb ainult emastel isenditel. CCK<sup>2</sup> retseptori geneetiline väljalülitamine vähendab neil oluliselt ärevust. Samuti hoiab see geneetiline modifikatsioon ära isolatsioonist tingitud ärevuse suurenemise emasloomadel. Saadud tulemused tõusevad uude valgusesse, kui me arvestame, et ka inimestel on ärevushäired oluliselt sagedasemad naistel.

## Kirjandus

1. Davis M. Neurobiology of fear responses: the role of amygdala. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1997;9:382–402.
2. Le Doux JE. Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci* 2000;23:155–84.
3. Möhler H, Fritschy JM, Rudolph U. A new benzodiazepine pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;200:2–8.
4. Stewart SH, Westra HA. Benzodiazepine side-effects: from the bench to the clinic. *Curr Pharm Des* 2002; 8:1–3.
5. Whittington CJ, Kendall T, Fonagy P, Cottrell D, Cotgrove A, Boddington E. Selective serotonin reuptake inhibitors in childhood depression: systematic review of published versus unpublished data. *The Lancet* 2004;363:1341–5.
6. Köks S, Luuk H, Nelovkov A, Areda T, Vasar E. A screen for genes induced in the amygdaloid area during cat odor exposure. *Genes, Brain Behav* 2004;3:80–9.
7. Nelovkov A, Philips MA, Köks S, Vasar E. Rats with low exploratory activity in the elevated plus-maze have the increased expression of limbic system-associated membrane protein gene in the periaqueductal grey. *Neurosci Lett* 2003;352:179–82.
8. Köks S, Planken A, Luuk H, Vasar E. Cat odour exposure increases the expression of wolframin gene in the amygdaloid area of rat. *Neurosci Lett* 2002;322:116–20.

9. Volke V, Wegener G, Bourin M, Vasar E. Antidepressant- and anxiolytic-like effects of selective neuronal NOS inhibitor 1-(2-trifluoromethylphenyl)-imidazole in mice. *Behav Brain Res* 2003; 140:141–7.
10. Volke V, Wegener G, Vasar E. Augmentation of the NO-cGMP cascade induces anxiogenic-like effect in mice. *J Physiol Pharmacol* 2003;54: 653–60.
11. Wegener G, Volke V, Rosenberg R. Endogenous nitric oxide decreases hippocampal levels of serotonin and dopamine in vivo. *Br J Pharmacol* 2000;130:575–80.
12. Wegener G, Volke V, Harvey BH, Rosenberg R. Local, but not systemic, administration of serotonergic antidepressants decreases hippocampal nitric oxide synthase activity. *Brain Res* 2003;959:128–34.
13. Köks S, Männistö PT, Bourin M, Shlik J, Vasar V, Vasar E. Cholecystokinin-induced anxiety in rats: relevance of pre-experimental stress and seasonal variations. *J Psychiat Neurosci* 2000;25:33–42.
14. Raud S, Rünkorg K, Verakšitš A, Reimets A, Nelovkov A, Abramov U, Matsui T, Bourin M, Volke V, Köks S, Vasar E. Targeted mutation of CCK2 receptor gene modifies the behavioural effects of diazepam in female mice. *Psychopharmacol (Berl)* 2003;168:417–25.
15. Vöikar V, Köks S, Vasar E, Rauvala H. Strain and gender differences in the behavior of mouse lines commonly used in transgenic studies. *Physiol Behav* 2001;72:271–81.
16. Vöikar V, Vasar E, Rauvala H. Behavioral alterations induced by repeated testing in C57BL/6J and 129S2/Sv mice: implications for phenotyping screens. *Genes, Brain Behav* 2004;3:27–38.
17. Köks S, Volke V, Verakšitš A, Rünkorg K, Sillat T, Abramov U, Bourin M, Huotari M, Männistö PT, Matsui T, Vasar E. Cholecystokinin2 receptor-deficient mice display altered function of brain dopaminergic system. *Psychopharmacol (Berl)* 2001;158:198–204.
18. Verakšitš A, Rünkorg K, Kurrikoff K, Raud S, Abramov U, Matsui T, Bourin M, Köks S, Vasar E. Altered pain sensitivity and morphine-induced anti-nociception in mice lacking CCK<sup>2</sup> receptors. *Psychopharmacol (Berl)* 2003;166:168–75.
19. Rünkorg K, Verakšitš A, Kurrikoff K, Luuk H, Raud S, Abramov U, Matsui T, Bourin M, Köks S, Vasar E. Distinct changes in the behavioural effects of morphine and naloxone in CCK<sup>2</sup> receptor-deficient mice. *Behav Brain Res* 2003;144:125–35.
20. Abramov U, Raud S, Köks S, Innos J, Kurrikoff K, Matsui T, Vasar E. Targeted mutation of CCK<sup>2</sup> receptor gene antagonises behavioural changes induced by social isolation in female, but not in male mice. *Behav Brain Res* 2004;155:1–11.
21. Köks S, Abramov U, Verakšitš A, Bourin M, Matsui T, Vasar E. CCK<sup>2</sup> receptor-deficient mice have increased sensitivity of dopamine D2 receptors. *Neuropeptides* 2003;37:25–9.

## Summary

### Anxiety: a friend and an enemy of your mind

The current review is focused on the experimental research of anxiety performed by the members (E. Vasar, S. Köks, V. Volke and V. Vöikar) of the research group of neurophysiology at the Department of Physiology, University of Tartu between the years 2000 and 2003. Using species specific models of anxiety, several new molecular targets were described in rats. Two of them, wolframin and limbic system-associated membrane proteins (LAMP), were chosen for further studies. The methods of transgenic technology in mice as well as detection of genetic polymorphisms in man will be applied in order to establish the functional role of these proteins in regulation of emotional behaviour. Also, significant progress was made in the research of nitric oxide (NO) in the mechanisms of anxiety. According to the studies,

the selective inhibitors of neuronal NO synthase possess anxiolytic- and antidepressant-like properties. An original approach was developed for characterization of the phenotype of transgenic mice. By applying this approach, the phenotype of mice lacking the brain subtype of the cholecystokinin (CCK<sup>2</sup>) receptors was described. Apparently, this genetic modification causes different changes in the behaviour of male and female mice. The phenotype related to reduced anxiety was present only in female animals. Moreover, this genetic manipulation blocked also development of anxiety due to social isolation in female mice. In the light of this finding, it is worthy of noting that the prevalence of anxiety disorders is 2–3 times higher in women compared with men.

eero.vasar@ut.ee