

Variaciones en las acciones de algunos ansiolíticos de acuerdo con el género y la especie

Ofir Picazo Picazo**1
Alonso Fernández-Guasti*1
Carolina López-Rubalcava*1

Summary

A comparison between the anxiolytic effects of diazepam (0.25, 0.5, 1.0 and 2.0 mg/kg), indorenate (2.5 and 5.0 mg/kg) and ipsapirone (5.0 and 10.0) in male and female rats during the proestrous and metestrous phase, and between rats and mice, was made. The burying behaviour test was used to measure the anxiety levels. In this test, increases in the behaviour latency are interpreted as prolonged reactivity, while reductions in the burying behaviour are considered to reflect anxiolytic states. In males and females, diazepam increases in the burying behaviour latencies were consistently higher than those observed after the serotonergic anxiolytics. It was also found that males were more sensitive than females to the actions of diazepam on the burying behaviour. Metestrous females were much less responsive to the actions of all anxiolytics in the burying behaviour latencies than proestrous females and males.

Finally, proestrous females were less susceptible to the effects of diazepam in the burying behaviour latencies than metestrous females and males. When comparing the two rodent species (mice and rats). All anxiolytic drugs induced a reduction on the burying behaviour.

However, a difference in the diazepam sensitivity was found between the species: rats show a clear effect after 1.0 mg/kg while after 0.25 mg/kg action may be already observed in mice. As for the serotonergic anxiolytics, these compounds produce similar responses at similar doses in both species.

Resumen

Se compararon los efectos de los ansiolíticos diazepam (0.5, 1.0 y 2.0 mg/kg), indorrenato (2.5 y 5.0 mg/kg) e ipsapirona (5.0 y 10.0 mg/kg) entre las ratas macho y hembra en proestro y metaestro y entre ratas macho y los ratones macho. Como modelo de ansiedad se utilizó la conducta de enterramiento defensivo que se observa en los roedores. Las diferencias más sobresalientes en relación con el género y la fase del ciclo endocrino en la respuesta a los ansiolíticos estudiados fueron las siguientes: Tanto en los machos como en las hembras en proestro, los efectos del diazepam sobre la reactividad (reflejada como un aumento en la latencia de enterramiento) son más marcados que los producidos por los ansiolíticos serotoninérgicos. También se encontró que los in-

dividuos de sexo masculino resultaban más sensibles a las acciones ansiolíticas del diazepam que las hembras, independientemente de la fase del ciclo en que éstas se encuentren.

Además se observó que las ratas que se encuentran en metaestro, en comparación con los machos y aquellas que se encontraran en proestro, son menos sensibles a los efectos que producen el diazepam y el indorrenato sobre la reactividad. Finalmente, las ratas en proestro son más sensibles a los efectos del diazepam sobre la reactividad que el resto de los animales estudiados. En relación con el efecto de los ansiolíticos en las diferentes especies de roedores, se encontró que los ratones fueron más sensibles al efecto del diazepam en comparación con las ratas. Sin embargo, cuando se les administraron ansiolíticos serotoninérgicos no se observó ninguna diferencia entre las dos especies.

Introducción

Desde hace varios años los ansiolíticos benzodiazepínicos han mostrado ser muy eficaces en el tratamiento de la ansiedad (21, 22). Sin embargo, se ha encontrado que estos fármacos poseen una gran cantidad de efectos colaterales entre los que se encuentran alteraciones musculares, fatiga, somnolencia, desarrollo de la dependencia y de la tolerancia, etc. (23 y 25). Estos problemas han llevado a considerar también a los agonistas parciales del receptor GABA-benzodiazepínico como agentes potenciales para el alivio de la ansiedad (23 y 24).

En años recientes se ha propuesto que la serotonina podría desempeñar un papel muy importante en la regulación de la ansiedad (16, 17 y 26). Sin embargo, hay controversia respecto al posible papel que desempeña la serotonina endógena (27). En contraste, parece claro que los agonistas serotoninérgicos del tipo 5 HT_{1A}, tales como la ipsapirona (10, 19, 41 y 42), el indorrenato (10 y 11) y la buspirona (9 y 48) poseen propiedades ansiolíticas eficaces en algunos modelos animales e incluso, en algunos casos, en la práctica clínica (20, 36 y 40).

Varios autores han demostrado que el efecto de algunas drogas varía entre los individuos de diferentes especies (18) o de diferente sexo dentro de la misma especie (3 y 35). El objetivo del presente trabajo fue el de analizar el posible efecto diferencial de los agonis-

* Sección de Terapéutica Experimental, Departamento de Farmacología y Toxicología, CINVESTAV, Ap. Postal 22026, 14000 México D.F.

** Centro Interdisciplinario de Ciencias de la Salud, Km 38.5 Carr. Xochimilco-Oaxtepec, Ex-Hacienda del Mayorazgo, I.P.N. México.
1 División de Investigaciones en Neurociencias, Instituto Mexicano de Psiquiatría, Calz. México-Xochimilco 101, 14370 México D.F.

tas 5-HT_{1A}: ipsapirona e indorrenato, a) en individuos del sexo masculino y femenino (en diversas fases del ciclo endocrino) de la especie *Rattus norvegicus* de la cepa Wistar y b) en individuos de sexo masculino de la especie *Rattus norvegicus* de la cepa Wistar y en los *Mus musculus* de la cepa Swiss Webster. En ambos casos se utilizó la benzodiacepina diazepam, como droga ansiolítica de referencia.

En todos los experimentos incluidos en esta serie de trabajos, se utilizó la conducta defensiva de enterramiento como paradigma para establecer los niveles de ansiedad. Varias líneas de investigación han mostrado que este es un paradigma apropiado para el análisis de la ansiedad ya que cubre los criterios de correlación, isomorfismo y homología (43). En este paradigma se registra la latencia al desplegarse la conducta de enterramiento defensivo y el tiempo acumulativo que el animal invierte en enterrar el estímulo aversivo. De esta manera, el incremento en la latencia al despliegue de la conducta de enterramiento refleja una reducción en la reactividad, mientras que la reducción en el tiempo acumulativo de enterramiento se interpreta como una reducción en los niveles de ansiedad (45). Además, este paradigma presenta la enorme ventaja de que los animales de las dos especies seleccionadas para el presente estudio pueden ser utilizadas en el mismo modelo. De esta forma, las conclusiones de las posibles variaciones observadas se pueden atribuir a las diferencias de las especies.

Todos los animales tuvieron acceso libre a la comida y al agua mientras estuvieron sujetos a un ciclo invertido de luz-oscuridad (12.00: 12.00 hrs.), iniciándose el periodo luminoso a las 10.00 p.m. Los experimentos se realizaron entre las 11.00 y las 13.00 horas, durante un periodo comprendido entre los meses de julio y septiembre.

En la primera serie experimental, la ciclicidad estral en las hembras fue establecida por citología vaginal.

Variaciones en los efectos de los ansiolíticos de acuerdo con el género y a la fase endocrina en las hembras de la especie *Rattus norvegicus*.

En algunos trabajos se ha señalado la existencia de diferencias genéricas importantes en la transmisión serotoninérgica. Así, por ejemplo, se ha encontrado que en las hembras se observa una tasa de recambio de serotonina mucho más alto que en los machos (38). Además, se ha demostrado que ocurren cambios en la concentración de receptores serotoninérgicos a lo largo de las diferentes fases del ciclo endocrino (4), que posiblemente estén determinadas por los cambios en las concentraciones de hormonas esteroides que se suceden a lo largo de este ciclo (15).

Recientemente hemos reportado cambios en los niveles de ansiedad a lo largo de las diferentes fases del ciclo estral en la rata (13).

En estos experimentos encontramos que en la fase de proestro se observan niveles bajos de ansiedad mientras que en la fase de metaestro se encuentran

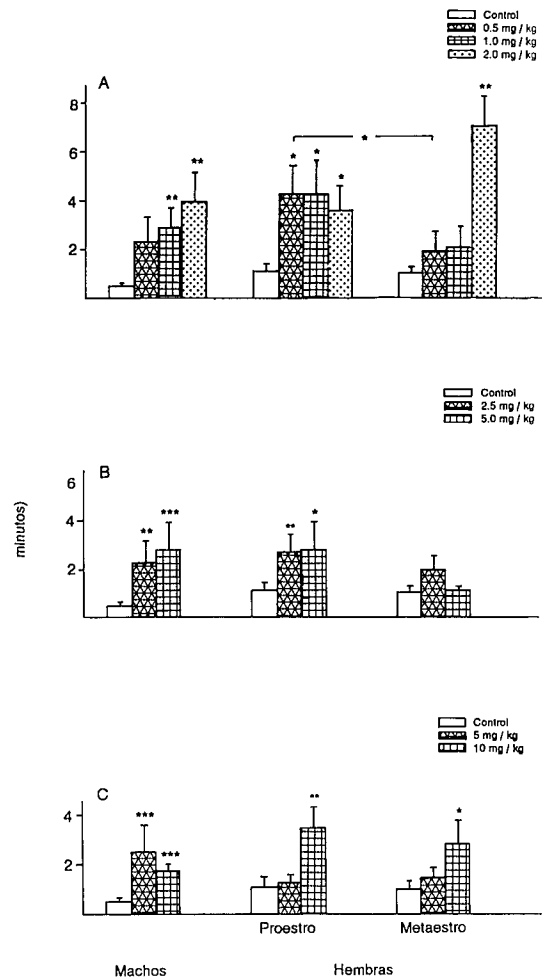


FIGURA 1. Efecto del diazepam y de los ansiolíticos serotoninérgicos indorrenato e ipsapirona sobre la latencia de enterramiento defensivo en ratas macho y ratas hembra en diferente fase del ciclo endocrino. Los valores se expresan como promedio \pm E.E. Las comparaciones estadísticas se hicieron con la prueba U de Mann Whitney. * $p < 0.05$ ** $p < 0.02$ *** $p < 0.01$.

niveles altos. No se encontraron diferencias en la reactividad entre los diferentes grupos probados. Con base en estos antecedentes el resto de los experimentos conductuales se llevó a cabo en hembras en estas dos fases del ciclo, y en individuos masculinos.

La figura 1 muestra el efecto de los diferentes fármacos sobre la reactividad de los individuos (latencia al desplegarse la conducta de enterramiento). En el panel A se muestra el efecto del diazepam (Hoffman-La Roche, México) (0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 mg/kg, IP) sobre este parámetro. En esta figura se observa que en los machos aumenta la latencia de enterramiento, dependiendo de la dosis que se administre. Sin embargo, en las hembras en proestro se observa un drástico incre-

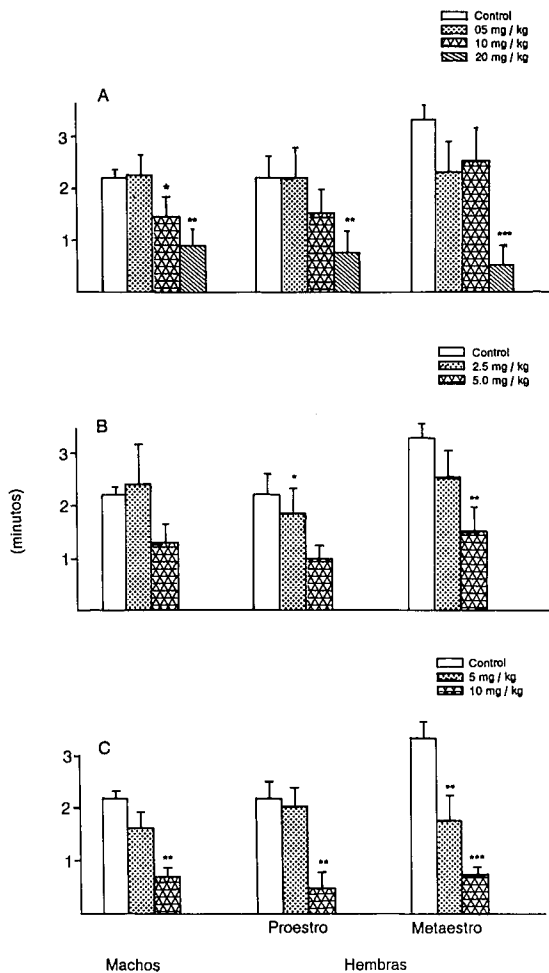


FIGURA 2. Efecto del diazepam y de los ansiolíticos serotoninérgicos indorrenato e ipsapirone sobre la conducta de enterramiento defensivo en ratas macho y ratas hembra en diferente fase del ciclo endocrino. Los valores se expresan como promedio \pm E.E. Las comparaciones estadísticas se hicieron con la prueba U de Mann Whitney. * $p < 0.05$ ** $p < 0.02$ *** $p < 0.01$.

mento en la latencia de enterramiento después de la administración de la dosis baja de diazepam (0.5 mg/kg). Fue muy interesante que el incremento en la dosis no haya producido un efecto mayor. Por el contrario, en las hembras en metaestro, la inyección de las dosis baja y media de diazepam (0.5 y 1.0 mg/kg) no tuvo ningún efecto y sólo la dosis alta (2.0 mg/kg) indujo un incremento en la latencia de enterramiento. Al comparar las diferentes fases del ciclo se observó una diferencia estadísticamente significativa en el efecto de la dosis baja de diazepam entre las hembras probadas en proestro y aquellas probadas en metaestro. El panel B de esta figura muestra el efecto del indorrenato (Departamento de Farmacología, CINVESTAV, Méxi-

co) (0.0, 2.5 y 5.0 mg/kg, IP) sobre la latencia de enterramiento. Como se puede observar, este agonista serotoninérgico produjo un incremento en este parámetro, en los machos y en las hembras en proestro dependiendo de la dosis administrada. Incluso la inyección de la dosis alta no provocó alteración alguna en este parámetro en las hembras en metaestro. La acción de la ipsapirone (División Farmacéutica de los Laboratorios Miles, E.U.) (0.0, 5.0 y 10 mg/kg, IP) sobre la latencia, al despliegue de la conducta de enterramiento, se muestra en el panel C de la figura 1. La inyección de la dosis baja (5 mg/kg) de este ansiolítico serotoninérgico produjo un discreto efecto sólo en los machos. La administración de la dosis mayor (10 mg/kg) provocó un aumento similar en este parámetro en los tres grupos de animales analizados.

La figura 2 (panel A) muestra el efecto de las diferentes dosis de diazepam (Hoffman-La Roche, México) (0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 mg/kg, IP) sobre la conducta defensiva de enterramiento. Como se reportó anteriormente (13), se encontraron niveles de ansiedad altos en las hembras en la fase de metaestro. Sin embargo, en los tres grupos (machos, y hembras en proestro y metaestro) se encontró una reducción similar en la conducta defensiva de enterramiento después de la administración de esta benzodiazepina. En el panel B de la misma figura se muestra el efecto de varias dosis del agonista serotoninérgico indorrenato (Departamento de Farmacología, CINVESTAV, México) (0.0, 2.5 y 5.0 mg/kg, IP) sobre los niveles de ansiedad en machos y hembras en diversas fases del ciclo. En todos los casos se encontró una clara reducción, dependiendo de la dosis administrada, en la conducta defensiva de enterramiento. Por último, el panel C muestra el efecto del ansiolítico serotoninérgico ipsapirone (División Farmacéutica de los Laboratorios Miles, E.U.) (0.0, 5.0 y 10 mg/kg, IP) sobre la conducta acumulativa de enterramiento en machos y en hembras éstas en proestro y metaestro. En esta figura se observa claramente que en los tres grupos de animales ésta se reduce dependiendo de la dosis, en el parámetro estudiado. Sin embargo, las hembras en metaestro parecen ser más sensibles a los efectos de este fármaco, ya que la dosis baja (5.0 mg/kg) indujo un claro efecto ansiolítico.

Variaciones en los efectos de los ansiolíticos de acuerdo con la especie: comparación entre *Rattus norvegicus* y *Mus musculus*.

Una serie de informes recientes muestran que hay variaciones importantes en el efecto ansiolítico de los agonistas serotoninérgicos, que parecen depender de los modelos animales utilizados para estudiar estos efectos ansiolíticos. De esta manera se ha encontrado que la ipsapirone, la buspirona y el indorrenato producen claras acciones ansiolíticas en los modelos de conducta defensiva de enterramiento (10,29 y 44), de exploración (11) y de conflicto (1,8 y 9), mientras que prácticamente no producen ningún efecto en los mode-

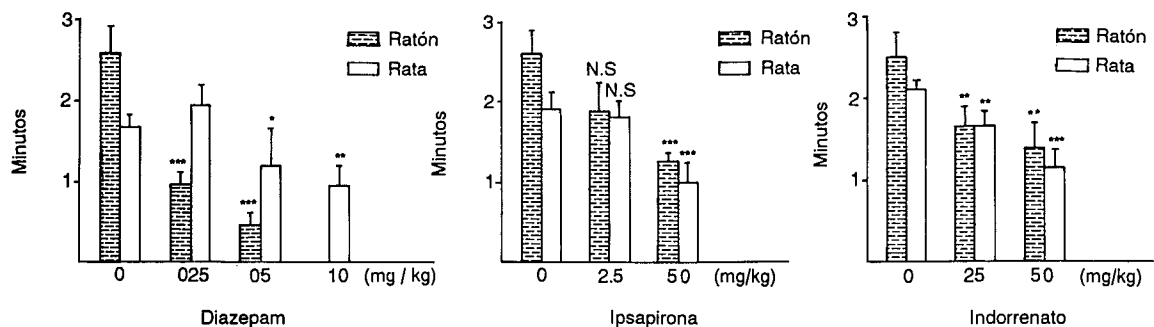


FIGURA 3. Efecto del diazepam y de los ansiolíticos serotoninérgicos indorrenato e ipsapirona sobre la conducta de enterramiento defensivo en ratas y ratones de sexo masculino. Los valores se expresan como promedio \pm E.E. Las comparaciones estadísticas se realizaron con la prueba U de Mann Whitney.

* $p < 0.05$ ** $p < 0.02$ *** $p < 0.01$.

los de laberinto elevado en forma de cruz (7,34 y 8), de cuatro planchas y de respuesta emocional condicionada (8). Además, se ha reportado que algunos fármacos serotoninérgicos como la buspirona, tienen notables efectos ansiolíticos en las aves (2 y 48), mientras que en los roedores produce acciones confusas (6 y 14).

Por lo anterior, el propósito de esta serie experimental consistió en analizar el efecto de dos ansiolíticos serotoninérgicos, la ipsapirona y el indorrenato, en dos especies de roedores: la rata y el ratón. Al igual que en la serie experimental anterior, se utilizó al diazepam como fármaco ansiolítico de referencia. Sin embargo, en contraste con el experimento anterior, se utilizaron sólo animales del sexo masculino.

En la figura 3 se muestra el efecto de diversas dosis de los ansiolíticos utilizados en este estudio sobre el tiempo acumulativo de conducta defensiva de enterramiento. A diferencia del primer experimento, no se encontraron diferencias en la latencia al desplegarse la conducta de enterramiento, por lo que estos datos no han sido incluidos. El panel A de esta figura muestra claramente que la inyección de diazepam (Hoffman-La Roche, México) (0, 0.25, 0.5 y 1.0 mg/kg, IP) produce una reducción en ambas especies dependiente de la dosis que se administre. Sin embargo, después de la administración de este fármaco se encontraron diferencias importantes de acuerdo con la especie de que se tratara. Así, mientras que en los ratones el efecto de la inyección de 0.25 mg/kg es muy notable, en las ratas fue necesaria una dosis de 1.0 mg/kg para inducir un efecto similar. Los paneles B y C de esta figura muestran el efecto de la ipsapirona (División Farmacéutica de los Laboratorios Miles, E.U.) (0, 2.5 y 5.0 mg/kg) y de indorrenato (Departamento de Farmacología, CINVESTAV, México) (0, 2.5 y 5.0 mg/kg) sobre la conducta de enterramiento. En esta figura se aprecia claramente que, en contraste con el efecto diferencial del diazepam, estos fármacos producen el mismo efecto ansiolítico en ambas especies a las mismas dosis.

Discusion

Las diferencias más notables en relación con el género y la fase del ciclo endócrino en la respuesta a los ansiolíticos estudiados, se pueden resumir de la siguiente manera: tanto en los machos como en las hembras en proestro, los efectos del diazepam sobre la reactividad (reflejada como un aumento en la latencia de enterramiento) son más marcados que los producidos por los ansiolíticos serotoninérgicos. También se encontró que los machos resultaron más sensibles a las acciones ansiolíticas del diazepam que las hembras, independientemente de la fase del ciclo en que éstas se encontraran.

Además, las ratas que se encontraban en metaestro, en comparación con los machos y con aquellas que se encontraban en proestro, son menos sensibles a los efectos que producen el diazepam y el indorrenato sobre la reactividad. Finalmente, las ratas en proestro fueron más sensibles a los efectos del diazepam sobre la reactividad que el resto de los animales estudiados.

Aunque es bien conocida la función de los estrógenos y la progesterona sobre la conducta reproductiva, su papel como mediadores de la neurotransmisión apenas se está descubriendo.

Muchos estudios recientes indican que estos esteroides son moduladores importantes del ácido gamma-aminobutírico (GABA) (30 y 32) a través de cuyo receptor actúan las benzodiazepinas (22).

Actualmente se sabe que durante la fase de proestro se presentan en la rata los niveles más elevados de $17\text{-}\beta$ -estradiol y progesterona (15), y que ambas hormonas incrementan la actividad inhibitoria del sistema GABA-benzodiazepínico (30,5 y 39), lo que podría explicar por qué la dosis más baja de diazepam (0.5 mg/kg) afecta la reactividad de las hembras en proestro que en teoría se encuentran con un tono GABAérgico más elevado (12). Se puede esgrimir un argumento similar para explicar la aparente insensibilidad de las hembras en metaestro, ya que esta fase endocrina se caracteriza por una relativa ausencia de hormonas es-

teroides (15), lo que hablaría en favor de la disminución del tono GABAérgico de estos animales.

De manera similar a como ocurre con el diazepam, los agentes serotoninérgicos ipsapirona e indorrenato en general, tampoco modificaron la reactividad de las hembras en metaestro, mientras que en los machos y en las hembras en proestro sí se observaron cambios. Con la información disponible actualmente no es posible explicar esta aparente insensibilidad de las hembras en metaestro a los efectos que tienen los ansiolíticos serotoninérgicos sobre la reactividad. Sin embargo, la causa de este fenómeno podría estar relacionado con las variaciones del sistema serotoninérgico a lo largo del ciclo (4), lo que necesariamente requiere de un mayor apoyo experimental.

La capacidad de respuesta de un sujeto es equivalente a su reactividad. Esta característica se abate con la administración de benzodiacepinas (lo que se observa en el modelo de conducta defensiva de enterramiento como un aumento en la latencia de enterramiento). El hecho de que la inyección de ipsapirona e indorrenato modifique en menor proporción la reactividad de las ratas, en comparación con el diazepam (nótese el cambio de escala en la figura 1), representa una enorme ventaja de los ansiolíticos serotoninérgicos sobre las benzodiacepinas.

Con respecto a la mayor sensibilidad de los machos a los efectos ansiolíticos del diazepam, puede sospecharse que estos animales tienen un nivel basal de neurotransmisión GABAérgica mayor, pues se ha reportado que las hembras responden en forma más efectiva que los machos a los efectos convulsivantes del antagonista GABAérgico picrotoxina (35). Esta información sugiere que el tono GABAérgico es menor en las hembras que en los machos.

Por esta razón, sería necesario aplicarles dosis más elevadas de fármacos ansiolíticos a las hembras para obtener efectos similares a los encontrados en los machos. No obstante, es necesario hacer más experimentos para confirmar esta aseveración.

Por lo que se refiere a las variaciones en los efectos de los ansiolíticos de acuerdo con la especie, se encontraron también diferencias interesantes en la respuesta de los roedores al diazepam. En los ratones se observó que a partir de la dosis de 0.25 mg/kg se presentaban efectos ansiolíticos, mientras que en las ratas no fue sino hasta la dosis de 1.0 mg/kg cuando se vio claramente el efecto. Hay otros reportes en los que se señala que el diazepam reduce la conducta de enterramiento defensivo en las ratas en un margen de dosis de 0.5 mg/kg a 1.0 mg/kg (45 y 10). Estas evidencias concuerdan con los resultados del presente trabajo. Contrariamente, en 1990, Rohmer y colaboradores (37) encontraron que a dosis menores (0.2 y 0.5 mg/kg) se producía una clara reducción de la conducta de enterramiento defensivo en las ratas. Las diferencias entre los hallazgos de Rohmer y los de este trabajo, se pueden de-

ber a la intensidad del choque eléctrico utilizado como estímulo aversivo.

Mientras que en nuestro experimento se utilizó una intensidad de 0.3 mA, Rohmer y cols. utilizaron una intensidad de 1.0 mA. Como apoyo a nuestras observaciones al respecto queremos mencionar que otros autores han encontrado diferencias en cuanto a la acción del diazepam sobre la conducta de enterramiento defensivo de los roedores, las cuales dependen de la intensidad de choque (45).

Como se mencionó anteriormente, se observó que el diazepam producía en los ratones una notable reducción de la conducta de enterramiento a la dosis de 0.25 mg/kg. Sin embargo, Njung'e y Handley (33) reportan que los ratones hembra de la cepa MFI responden de una forma bifásica al diazepam; de manera que las dosis pequeñas (0.1 mg/kg) de diazepam producen un incremento en la conducta de enterramiento, mientras que las dosis altas (1.0 a 5.0 mg/kg) producen una reducción. Estas diferencias de dosis-respuesta al diazepam podrían deberse fundamentalmente a dos variables biológicas: la fase del ciclo en que fueron evaluadas las hembras y la cepa a la que corresponden los animales de experimentación.

Con respecto a la primera variante, ya se ha señalado que las hembras responden de forma distinta a los ansiolíticos, dependiendo de la fase endócrina en la que se encuentren (12). En el segundo caso, se ha reportado que la neurotransmisión en ciertas áreas cerebrales varía según la cepa de los roedores, de modo que se presenta un ciclo circadiano característico para cada neurotransmisor (47). Este fenómeno también se ha observado en el receptor GABA-benzodiacepínico, cuyo ritmo varía además a lo largo del año (28). Estas evidencias podrían justificar no sólo las variaciones interespecíficas mostradas en este trabajo, sino otras similares reportadas en la literatura (31 y 37).

Con respecto al efecto de los ansiolíticos serotoninérgicos, la ipsapirona y el indorrenato a las mismas dosis, provocaron una reducción en la conducta de enterramiento en las dos especies utilizadas.

Esto concuerda con reportes anteriores de nuestro grupo de investigación (10) y de otros laboratorios (29). A diferencia de lo que se encontró con el ansiolítico diazepam, parece ser que no varía el efecto de los ansiolíticos serotoninérgicos de acuerdo con la especie. Aunque pudiera esperarse que variara la conducta debido al recientemente establecido ritmo circadiano de los receptores S1A (46), ésto no ocurrió debido a que los experimentos se llevaron a cabo durante un corto periodo del día (11.00 a 13.00 hrs).

Con base en estos hallazgos, resulta evidente que los tratamientos con agentes ansiolíticos, como los probados en este estudio, deberían tomar en cuenta tanto el sexo como la fase del ciclo en el que se encuentren los individuos.

REFERENCIAS

1. AMRIC CL, BENNET DA: A comparison of the anticonflict activity of serotonin agonists and antagonists in rats. *Soc Neurosci Abstr*, 12:907, 1986.
2. BARRET JE, WITKIN JM, MANSBACH RS, SKOLNICK P, WEISSMAN BA: Behavioural studies with anxiolytic drugs III. Antipunishment actions of buspirone in the pigeon do not involve benzodiazepine receptor mechanism. *J Pharmacol Exp Ther*, 238:1009-1013, 1986.
3. BIEGON A, SEGAL M, SAMUEL D: Sex differences in behavioural and thermal responses to pargyline and tryptophan. *Psychopharmacology*, 61:77-80, 1979.
4. BIEGON A, BERCOVITZ H, SAMUEL D: Serotonin receptors concentration during the estrous cycle of the rat. *Brain Res*, 187:221-225, 1980.
5. CATTANEO E, MANTERO G, MAGGI A: Regulation of the GABAergic transmission by estrogens in the CNS of rat. *Pharmacol Res Commun*, 19:971-972, 1987.
6. CRAFT RM, NOWARD JL, POLLARD GT: Conditions of defensive burying as a model for identifying anxiolytics. *Pharmacol Biochem Behav*, 30:775-780, 1988.
7. CRITCHLEY MAE, HANDLEY SL: Effects in the X maze anxiety model of agents acting at the 5-HT₁ and 5-HT₂ receptors. *Psychopharmacology*, 93:507-506, 1987.
8. DOURISH CT: Brain 5-HT receptors and anxiety. En: Dourish Ct, Ahlenius S., Hutson PH (eds). *Brain 5-HT_{1A} receptors: Behavioural and neurochemical pharmacology*. Ellis Horwood Ltd, Chichester, 1987.
9. EISON A, EISON M, STANLEY M, RIBLET L: Serotonergic mechanisms in the behavioral effects of buspirone and gepirone. *Pharmacol Biochem Behav*, 24:701-707, 1986.
10. FERNANDEZ-GUASTI A, HONG E: Antianxiety effect of various putative S₁ receptor agonists on the conditioned defensive burying paradigm. En: P Bevan, A Cools, T Archer (eds). *The Behavioural Pharmacology of 5-HT*. Lawrence Earlbaum Assoc. Inc., Nueva York, pages. 377-382, 1989.
11. FERNANDEZ-GUASTI A, LOPEZ-RUBALCAVA C: Evidence for the involvement of the 5-HT_{1A} receptor in the anxiolytic action of indorenate and ipsapirone. *Psychopharmacology*, 101:354-358, 1990.
12. FERNANDEZ-GUASTI A, PICAZO O: The actions of diazepam and serotonergic anxiolytics vary according to the gender and the estrous cycle phase. *Pharmacol Biochem Behav*, 37:77-81, 1990.
13. FERNANDEZ-GUASTI A, PICAZO O, ROLDAN-ROLDAN G, SALDIVAR A: Sexual behavior II. En: T Archer, S Hansen (eds). *Behavioral Biology Neuroendocrine Axis*. Lawrence Erlbaum Assoc. Inc., New Jersey, pages. 105-110, 1991.
14. FILE SE: Animal models for predicting clinical efficacy of anxiolytic drugs: social behaviour. *Neuropsychobiology*, 13:55-62, 1985.
15. FREEMAN M: The ovarian cycle of the rat. En: E Knobil, J Neill (eds). *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, pages. 1893-1928, 1988.
16. GARDNER C: Pharmacological studies of the role of serotonin in animal models of anxiety. En: A Green (ed). *Neuropharmacology of Serotonin*. Oxford University Press, Nueva York, pages. 281-325, 1985.
17. GARDNER C: Recent developments in 5-HT-related pharmacology of animal models of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*, 24:1479-1485, 1986.
18. GREEN AR, GOODWIN GM: The pharmacology of the hypothermic response of rodents to 8-OH-DPAT administration and the effects of psychotropic drug administration on this response. En: CT Dourish, S Ahlenius, PH Hutson (eds). *Brain 5-HT_{1A} receptors: Behavioural and neurochemical pharmacology*. Ellis Horwood, Chichester, pages. 161-171, 1987.
19. GLASER T, TRABER J: Binding of the putative anxiolytic TVX Q 7821 to hippocampal 5-hydroxytryptamine (5-HT) recognition sites. *Naunyn Schiedebergs Arch Pharmacol*, 329:211-215, 1985.
20. GOLDBERG H, FINNERTY R: The comparative efficacy of buspirone and diazepam in the treatment of anxiety. *Am J Psychiatry*, 136:1184-1187, 1979.
21. HAEFELY W: Tranquilizers. En: D Graham-Smith (ed). *Psychopharmacology 2, part I: Preclinical Psychopharmacology*. Elsevier Science Publisher, Amsterdam, pages. 92-182, 1985.
22. HAEFELY W: The GABA-benzodiazepine interaction fifteen years later. *Neurochem Res*, 15:169-174, 1990a.
23. HAEFELY W, MARTIN J.R, PETER SCHOCH: Novel anxiolytics that act as partial agonist at benzodiazepine receptors. *Trends Pharmacol Sci*, 11:452-456, 1990b.
24. HAEFELY W: The GABA-benzodiazepine receptor: biology and pharmacology. En: D Burrows, M Roth, R Noyes (eds). *Handbook of anxiety, vol. 3: The neurobiology of anxiety*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pages. 165-188, 1990c.
25. HAEFELY W: The GABA-benzodiazepine receptor complex and anxiety. En: N Sartorius, V Andreoli, G Casano, L Eisenberg, P Kielholz, P Pancheri, G Racagni (eds). *Anxiety. Psychobiological and clinical perspectives*. Hemisphere Publishing Corporation, New York, pages. 23-36, 1990d.
26. IVERSEN SD: 5-HT and anxiety. *Neuropharmacology*, 23:1553-1560, 1984.
27. JOHNSTON AL, FILE SE: 5-HT and anxiety: Promises and pitfalls. *Pharmacol Biochem Behav*, 24:1467-1470, 1986.
28. KAFKA MS, WIRZ-JUSTICE A, NABER D, MOORE RY, BENEDITO MA: Circadian rhythms in rat brain neurotransmitter receptors. *Fed Proc*, 42: 2796-2801, 1983.
29. KORTE SM, BOHUS B: The effect of ipsapirone on behavioural and cardiac responses in the shock-probe defensive burying test in male rats. *Eur J Pharmacol*, 181:307-310, 1990.
30. MAGGI A, PEREZ J: Progesterone and estrogens in rat brain modulation of GABA (gamma-aminobutyric acid) receptor activity. *Eur J Pharmacol*, 103:165-168, 1984.
31. NAGGIO JC, HARDER DB: Genotype and environment interactively determine the magnitude, directionality and abolition of defensive burying in mice. *Animal Learn Behav*, 11:162-172, 1983.
32. HAJEWSKA H, HARRISON N, SCHWARTZ R, BARKER J, PAUL S: Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor. *Science*, 232:1004-1007, 1986.
33. NJUNG'E K, HANDLEY SI: Evaluation of marble-burying behaviour as a model of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*, 38:63-67, 1991.
34. PELLOW S, JOHNSTON AL, FILE SE: Selective agonists and antagonists for 5-hydroxytryptamine receptor subtypes, and interactions with yohimbine and FG 7142 using the elevated plus-maze test in the rat. *J Pharma Pharmacol*, 39:917-928, 1987.
35. PERICIC D, HANEV H, GEBER J: Sex related differences in the response of mice, rats and cats to administration of picrotoxin. *Life Sci*, 38:905-913, 1986.
36. RICKELS K, FREEMAN E, SONDEHEIMER S: Buspirone in the treatment of premenstrual syndrome. *Lancet*, 1:777, 1989.
37. ROHMER JG, DI SCALA G, SANDNER G: Behavioural analysis of the effects of benzodiazepine receptor ligands in the conditioned burying paradigm. *Behav Brain Res*, 38:45-54, 1990.
38. ROSECRANS J: Differences in brain area 5-Hydroxytryptamine turnover and rearing behaviour in rats and mice of both sexes. *Eur J Pharmacol*, 9:379-382, 1970.

39. SMITH S, WATERHOUSE B, CHAPIN J, WOODWARD D: Progesterone alters GABA and glutamate responsiveness: a possible mechanism for its anxiolytic action. *Brain Res*, 400:353-359, 1987.
40. TAYLOR DP, EISON MS, RIBLET LA, VANDERMAELEN CP: Pharmacological and clinical effects of buspirone. *Pharmacol Biochem Behav*, 23:687-694, 1985.
41. TRABER J, DAVIES M, DOMPERT W, GLASER T, SCHUURMAN T, SEIDEL P: Brain serotonin receptors as a target for the putative anxiolytic TVX Q 7821. *Brain Res Bull*, 12:741-744, 1984.
42. TRABER J, GLASER T, SPENCER D, SCH WRMAN T, ZILLES X, SCHLEICHER A: Behavioural Pharmacology and Autoradiographic Distribution of a Novel Anxiolytic: TVX Q 7821. IV Congreso de Biología Psiquiátrica. Philadelphia, 1985.
43. TREIT D: Animal models for the study of antianxiety agents: A review. *Neurosc Biobehav Rev*, 9:203-222, 1985.
44. TREIT D, FUNDYTUS M: A comparison of buspirone and chlordiazepoxide in the shock-probe/burying test for anxiolytics. *Pharmacol Biochem Behav*, 30:1071-1075, 1988.
45. TREIT D, PINEL J, FIBIGER H: Conditioned defensive burying: new paradigm for the study of new anxiolytic agents. *Pharmacol Biochem Behav*, 15:619-626, 1981.
46. WESEMANN W, WEINER N: Circadian rhythm of serotonin binding in rat brain. *Progr Neurobiol*, 35:405-428, 1990.
47. WIRZ-JUSTICE A: Circadian rhythms in mammalian neurotransmitter receptors. *Progr Neurobiol*, 29:219-259, 1987.
48. WITKIN JM, BARRET JE: Interaction of buspirone and dopaminergic agents on punished behaviour in pigeons. *Pharmacol Biochem Behav*, 24:751-756, 1986.