



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE PSICOLOGIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**“EFECTO DEL SEXO, LAS HORMONAS SEXUALES Y UN
ANSIOLITICO SOBRE LA ACTIVIDAD ELECTRICA
CORTICAL DE LA RATA”.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRIA EN PSICOBIOLOGIA
P R E S E N T A :**

ENRIQUE LUGALDE ESPARZA

Directora: Dra. María Corsi Cabrera

**Sinodales: Dr. Roberto Prado Alcalá
Dr. Alonso Fernández Guasti
Dr. Jorge Juárez González
Mtra. Consuelo Arce Ortiz**

MEXICO, D. F.,

JUNIO DE 1997



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

A mi esposa:

Ma. Guadalupe, por ser desde siempre la mejor parte de mi vida, por su amor sin condiciones, por su apoyo en todo momento.

A mis hijos:

Enrique, por ser la alegría de mi vida, por todo el amor que eres capaz de enseñarme a sentir por tí.

Mariana Guadalupe, por tí tiene sentido la vida, no es necesario que hables para expresar lo que sientes, y lo importante que eres en mi vida.

A mi madre:

Que me enseñó a luchar en la vida, por hacer lo que uno cree es lo más correcto, por su cariño y su apoyo, por la confianza que me ha hecho sentir para lograr todos mis objetivos.

A mis hermanos:

Miguel, Claudia y Rocio, por todos esos años que hemos compartido juntos, por su cariño y comprensión.

RECONOCIMIENTOS

A la Dra. María Corsi Cabrera por su valiosa dirección y asesoría, por su apoyo incondicional y comprensión. Por mostrarme el camino y darme la oportunidad de conocer el mundo de la investigación.

A las Mtras. Yolanda del Río y Consuelo Arce por su gran e inestimable ayuda y colaboración en este trabajo de investigación, así como por sus acertados comentarios.

Al Dr. Miguel Angel Guevara, por elaborar los programas necesarios para hacer posible esta investigación, por su amistad.

A mis extraordinarios compañeros de laboratorio: Consuelo, Yolanda, Enrique, Berenice, Julieta y Yolanda, por su entrega total en la elaboración del presente trabajo, y sobre todo por su amistad, sin su ayuda no habría sido posible lograrlo.

Al MVZ. Abraham Roldan por su ayuda técnica, así como por sus deseos de colaborar en todo momento.

A Enrique Pérez y al Dr. Jorge Juárez por su participación y ayuda en el trabajo experimental.

Al Dr. Alonso Fernández Guasti por sus acertados comentarios y por donar las sustancias para la realización de la presente investigación.

A los miembros del jurado por sus acertados comentarios y sugerencias.

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Sueño del Departamento de Psicofisiología, División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Psicología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

A CONACYT por la beca proporcionada para la realización del presente trabajo.

INDICE

I.	Introducción	1
II.	Fenomenología de la ansiedad	3
	Cambios fisiológicos y conductuales en la rata en una prueba de ansiedad	4
III.	Tratamiento farmacológico de la ansiedad	6
	Benzodiazepinas (BZD)	7
	Absorción de las BZD	8
	Distribución de las BZD	8
	Metabolismo de las BZD	9
	Eliminación de las BZD	9
	Mecanismo de acción de las BZD	10
	El complejo supramolecular receptor de GABA- receptor de BZD-ionóforo de cloro	10
	Acción de las BZD sobre las monoaminas del SNC	11
	Acción de las BZD sobre la adenosina del SNC	12
	Acción de las BZD sobre la acetilcolina del SNC	13
	Relación de las BZD con la progesterona	13
	Lugar de acción de las BZD	13
IV.	Modelos animales para evaluar la acción de agentes ansiolíticos	15
V.	Electroencefalografía y ansiedad	17
VI.	Trabajo experimental	22
	Objetivos generales	24
	Sujetos	24
VII.	Procedimiento	26

Gonadectomía	26
Implantación	26
Habitación	27
Administración de hormonas	27
Registro electroencefalográfico (EEG)	28
Prueba de ansiedad: "Laberinto elevado en forma de cruz"	29
Análisis del EEG	29
VIII. Resultados	31
Potencia absoluta	31
Potencia relativa	42
Correlación	48
Prueba del laberinto elevado	53
IX. Discusión	54
X. Conclusiones	60
XI. Referencias	62

RESUMEN

En los últimos años se ha publicado un extenso número de estudios que indican diferencias tanto individuales como entre los sexos en los patrones de actividad electroencefalográfica (EEG). Los resultados muestran de manera clara diferencias en el funcionamiento entre hombres y mujeres, tanto en la actividad EEG como en su respuesta ante diversas situaciones del medio ambiente, como por ejemplo, los cambios conductuales que ocurren durante diferentes estados fisiológicos (ansiedad, estrés) y que se han relacionado con la presencia de esteroides hormonales.

Por esto, nos pareció interesante investigar el efecto combinado que las hormonas sexuales y un ansiolítico (diazepam), provocan en el EEG de ratas machos y hembras en la edad adulta (gonadectomizados después de la pubertad), con y sin la acción de esteroides gonadales.

Para tal efecto se registró el EEG de 60 ratas adultas de la cepa Wistar, 30 machos y 30 hembras divididos en 3 grupos de cada sexo. Los machos recibieron propionato de testosterona, 5 α -dihidrottestosterona (5 α -DHT) o vehículo; mientras que a las hembras se les administró progesterona, benzoato de estradiol o vehículo.

Se registró el EEG durante 3 días, uno de línea base ya fuera con hormona o con aceite, otro con hormona o con aceite más el vehículo del diazepam y otro con hormona o con aceite más diazepam (2 mg/Kg i.m.). Con la Transformada Rápida de Fourier se calculó la potencia absoluta (PA) y la potencia relativa (PR), y con el coeficiente de correlación Producto-Momento de Pearson, la correlación interparietal (CI), de las bandas del EEG.

El análisis cuantitativo del EEG mostró que: el diazepam, en los machos gonadectomizados incrementa la PA de alfa, beta1 y beta2, así como la CI de delta, y disminuye la CI de theta lento, theta rápido y beta1; mientras que en las hembras gonadectomizadas, adicionalmente disminuye la PA de theta lento y theta rápido.

Los efectos del diazepam sobre el EEG no fueron modificados por el tratamiento con propionato de testosterona, en tanto que con la 5 α -DHT disminuyó la CI de todas las bandas.

En el caso de las hembras, la administración combinada de diazepam y cada esteroide sexual provocó: con el estradiol, una respuesta similar en el EEG de las hembras a la de los machos gonadectomizados o tratados con testosterona; y, con la progesterona, adicionalmente asimetría interparietal y disminución en la correlación interparietal de todas las bandas electroencefalográficas.

Estos resultados nos proporciona información sobre los efectos del diazepam en el acoplamiento interparietal del EEG y demuestran que la respuesta EEG al diazepam en las ratas adultas es sexualmente dimórfica y depende de los efectos activadores de los esteroides gonadales.

I. INTRODUCCION

El estrés y la ansiedad se han convertido, seguramente, en una característica de nuestros días; forman parte de la cultura y de la forma de vida actual, sobre todo de las grandes ciudades, debido, en gran medida, a la creciente industrialización, desarrollo y complejidad tecnológica, que no sólo provoca un gran deterioro en el medio ambiente, sino también daños importantes al organismo, como el estrés y la ansiedad mencionados.

La ansiedad en los seres humanos se presenta como respuesta a un peligro real, que en muchas ocasiones genera un sentimiento persistente de tensión y de miedo, un aumento en la reactividad a los estímulos y una serie de cambios a nivel del Sistema Nervioso, tales como: desórdenes gastrointestinales, tensión muscular, presión arterial, vértigo o insomnio. Cuando la ansiedad se presenta ante estímulos reales funciona sobre la base de un sistema de alerta biológico ante situaciones que se perciben como potencialmente peligrosas, las cuales son capaces de activar y modular la conducta, elevando el nivel adaptativo; cuando se presenta ante situaciones imaginarias puede convertirse en patológico, sobre todo cuando las manifestaciones son excesivas en intensidad y duración, afectando la calidad de vida ostensiblemente.

Mientras que el estrés ha sido definido como la activación de mecanismos de defensa fisiológica, ya sea por medios fisiológicos o psicológicos (Abbott y Bonder, 1996), la ansiedad ha sido conceptualizada como una hipersensibilidad a los estímulos aversivos, la cual puede estar mediada por un funcionamiento excesivo de los sistemas de neurotransmisión, particularmente el de las catecolaminas, el de la serotonina y principalmente el sistema GABAérgico (Deakin, 1988; Haefely, 1988). Se conoce muy poco acerca de los mecanismos responsables de esta alteración, sin embargo, para su tratamiento se cuenta con varias alternativas, entre ellas, el empleo de fármacos, denominados ansiolíticos, los cuales disminuyen o eliminan la ansiedad.

Tanto el estrés como la ansiedad provocan cambios en el cuerpo humano; entre estos cambios se encuentra la secreción de un gran número de sustancias, particularmente de hormonas, como son: las catecolaminas, la adrenocorticotropina (ACTH), el cortisol, la prolactina y la hormona luteinizante (Mark y cols., 1992; Rebuffé-Scrive y cols., 1992; Rozénzweig y Leiman, 1992).

La participación del sistema endócrino en los cambios conductuales y fisiológicos asociados con el estrés, es evidente. El sistema endócrino está involucrado en actividades tales como la respuesta a las demandas del medio externo y parece ser activado de modo diferente en machos que en hembras. En los hombres los niveles de epinefrina y cortisol son más altos que en las mujeres; el sistema neuroendócrino y la hormona luteinizante responden de modo diferente en las mujeres que en los hombres.

El registro de la actividad electroencefalográfica (EEG) ha sido útil para investigar el funcionamiento cerebral en diferentes condiciones. El patrón de actividad EEG particular refleja estados funcionales globales; la composición del EEG varía con diversas manipulaciones experimentales como la privación de sueño, el estrés y manifestaciones conductuales específicas (Arce, 1993; Corsi-Cabrera y cols., 1994; Iwata y Mikuni, 1980; John y cols., 1992; Juárez y cols., 1992, entre otros). Algunos estudios han reportado, además, diferencias sexuales en el EEG y en las respuestas relacionadas al estrés tanto en el hombre (Corsi-Cabrera y cols., 1989; Creutzfeldt, 1976), como en la rata (Corsi-Cabrera y cols., 1993).

Si los cambios observados en el EEG en situaciones generadoras de ansiedad se deben al estrés, la administración de un ansiolítico deberá provocar los efectos opuestos. Sin embargo, puesto que hay diferencias sexuales en las respuestas al estrés, el efecto del ansiolítico debería ser diferente entre los sexos y/o dependiente de los niveles hormonales.

Con el propósito de evaluar el efecto combinado de las hormonas sexuales y un ansiolítico sobre la actividad EEG de ratas machos y hembras se diseñó esta investigación.

II. FENOMENOLOGIA DE LA ANSIEDAD

Se ha descrito a la ansiedad como un cambio en el estado de ánimo en el cual convergen numerosos factores, uno de ellos es el hormonal del cual se tiene quizá el mejor ejemplo en la placidez del embarazo, en los cambios afectivos que caracterizan la adolescencia, o en la menopausia, entre otros. Además, en las mujeres en edad fértil es frecuente observar fluctuaciones del estado de ánimo que coinciden con las variaciones de los niveles circulantes de las hormonas gonadales relacionadas con las funciones reproductivas. Sin embargo, a la fecha no se ha esclarecido completamente la o las acciones de las hormonas gonadales sobre la actividad de los circuitos neuronales encargados del procesamiento emocional, es decir, del sistema límbico.

Altos niveles de ansiedad se han reconocido como una de las características del síndrome premenstrual (Golub, 1976). La progesterona disminuye rápidamente antes de la menstruación, por lo tanto, se ha atribuido el incremento en los niveles de ansiedad a la ausencia de progesterona.

Tradicionalmente, los estudios del ciclo menstrual se enfocaban únicamente hacia la potencia de los estrógenos para producir proliferación endometrial, y de la progesterona para transformar ese epitelio endometrial en tejido glandular con propiedades secretoras. Sin embargo, en estudios más recientes se ha demostrado que las fluctuaciones cíclicas de las hormonas gonadales femeninas se asocian con cambios en el estado de ánimo. Durante la primera fase del ciclo menstrual las mujeres son más activas y reportan mayor sensación de bienestar. Cuando los niveles de progesterona empiezan a elevarse hay una conducta más introvertida, pasiva y receptiva. En el periodo premenstrual, cuando descienden los niveles hormonales, puede presentarse ansiedad, irritabilidad, hostilidad, angustia y rasgos de depresión; además, este periodo se encuentra relacionado con deterioro del humor (Bancroft y Backstrom, 1985) y de la ejecución de algunas tareas cognoscitivas (Creutzfeldt y cols., 1976); un mejoramiento en las mismas variables se observa durante, o alrededor, de la ovulación.

Los cambios conductuales que ocurren durante esos diferentes estados fisiológicos se han

relacionado con la presencia de esteroides. A este respecto, es bien conocido que la progesterona posee propiedades antiagresivas y ansiolíticas (Bancroft y Backstrom, 1985; Haefely, 1988). Esta hormona en algunas ocasiones se usa clínicamente para el tratamiento de la ansiedad asociada con el síndrome premenstrual y sobre todo en tratamientos crónicos como la menopausia.

En estudios con animales se ha demostrado que las hembras, durante el estro conductual y vaginal incrementan la ambulación de campo abierto, en comparación a hembras ovariectomizadas o en otras fases del ciclo estral, lo que ha sido interpretado como una reducción en la ansiedad (Gray y Levine, 1964).

Los resultados encontrados por Fernández-Guasti y Picazo (1992), sugieren similitudes con los resultados clínicos: con niveles bajos de progesterona se observa un aumento en la conducta de enterramiento, comportamiento que se ha interpretado como ansiedad en ratas.

Aunque en todos los casos los corticosteroides provienen de las progestinas, cuando nos enfrentamos a una situación estresante se producen más corticosteroides, los cuales son necesarios para que el organismo afronte la situación; lo anterior produce una disminución en los niveles circulantes de esta hormona. En las mujeres, estas fluctuaciones hormonales afectan el ciclo menstrual.

CAMBIOS FISIOLÓGICOS Y CONDUCTUALES EN LA RATA EN UNA PRUEBA DE ANSIEDAD

Existen diferencias en las conductas que hembras y machos roedores exhiben en una prueba de ansiedad. En particular, las hembras adultas muestran un mayor patrón ambulatorio (actividad psicomotora) y de actividad en la cola, y defecan menos que las ratas machos en una prueba de campo abierto (Anderson, 1941; Broadhurst, 1957). Durante el estro conductual y vaginal, las hembras aumentan su conducta de ambulación a campo abierto, lo cual ha sido interpretado como una disminución de la ansiedad (Fernández-Guasti y Picazo, 1992). Estos datos se han usado como evidencia para indicar que las hembras exhiben menos emocionalidad (ansiedad, timidez), que los machos; pero en cambio, las ratas machos muestran mayores niveles de

interacción social que las ratas hembras y son más resistentes a un choque eléctrico que éstas (Johnston y File, 1991).

Johnston y File (1991) observaron que la conducta de las hembras y de los machos difiere dependiendo de la prueba de ansiedad utilizada, y encontraron que el ciclo estral parece jugar un papel importante en la actividad espontánea de correr en una rueda.

Las ratas hembras muestran menos aversión para el brazo abierto en la prueba del laberinto elevado en forma de cruz, comparadas con las ratas machos; también entran más en los brazos del laberinto, lo cual indica un mayor nivel de actividad motora en esta prueba (Blizard y cols., 1975; Farabollini y cols., 1987).

Estos resultados parecen indicar que las ratas hembras Wistar son menos ansiosas que las ratas machos Wistar en la prueba del laberinto en forma de cruz. Hay evidencias de que algunos agentes ansiolíticos reducen la aversión que muestran las ratas para la entrada al brazo abierto del laberinto (Lister, 1987; Pesould y Treit, 1992).

III. TRATAMIENTO FARMACOLOGICO DE LA ANSIEDAD

Como ya se mencionó en la introducción, la ansiedad ha sido conceptualizada como una hipersensibilidad a los estímulos aversivos, la cual puede estar mediada por un funcionamiento excesivo de los sistemas de neurotransmisión, particularmente el de las catecolaminas y el de la serotonina (Deakin, 1988; Haefely, 1989A y B). También se ha asumido que el sistema GABAérgico está alterado. Se conoce muy poco acerca de los mecanismos responsables de esta alteración; sin embargo, para su tratamiento se cuenta con varias alternativas, entre ellas, el empleo de fármacos que disminuyen o eliminan la ansiedad y son denominados ansiolíticos. Entre estas drogas se encuentran las benzodiazepinas como el diazepam (Rozenzweig y Leiman, 1992), los barbitúricos como el pentobarbital, y el alcohol etílico (Gray, 1982). Dichos compuestos tienen perfiles farmacológicos, químicos y clínicos muy diferentes, pero todos son efectivos para reducir la ansiedad (Goodman y Gilman, 1988). Los barbitúricos han caído en desuso, pues en la práctica clínica las benzodiazepinas han probado ser más efectivas como ansiolíticos debido a su potencia ansiolítica, anticonvulsivante, sedativa y relajante muscular; no obstante que las benzodiazepinas son los ansiolíticos más usados, tienen una serie de efectos colaterales, tales como: ataxia, disminución de la coordinación motora de movimientos finos, producción de estados hipnóticos, dependencia física, síndrome de abstinencia y tolerancia. En algunos usuarios crónicos de las benzodiazepinas se han presentado casos de homicidios e incluso suicidios, asociados a la pérdida de la memoria (Gray, 1982).

Una de las razones para utilizar las benzodiazepinas en las poblaciones clínicas humanas es que estos agentes farmacológicos parecen inhibir algunas formas de agresión en animales experimentales; sin embargo, no son muy claros los efectos "anti-agresivos" globales que sean indicadores relevantes de la eficacia de éstas.

Randall y Kappel (1961), reportaron que uno de los primeros efectos de las benzodiazepinas es la capacidad para incrementar la ingesta de comida, así como la absorción de agua; estos

resultados sugieren que los ansiolíticos tienen un efecto estimulante directo sobre los sistemas biológicos que controlan estas conductas motivadas. Además, los ansiolíticos facilitan las conductas consumatorias en presencia o ausencia de estímulos que provoquen "miedo".

Benson y cols. (1970), demostraron que los ansiolíticos evitan la manifestación de una gran variedad de reacciones somáticas al estrés, incluyendo la elevación de la presión arterial y de la temperatura corporal.

BENZODIACEPINAS

El término benzodiazepina (BZD), es frecuentemente empleado de manera general y amplia, ya que es usado para fármacos que tienen propiedades farmacológicas características, las cuales son clásicas hoy en día. Los componentes estructurales relacionados con la base benzo 1,4 diazepina, son comúnmente llamadas BZD (Haefely, 1988).

Las BZD han sido clasificadas en cuatro grupos farmacológicos, dependiendo del radical que se une a su estructura básica, la mayoría de estos compuestos tiene átomos de nitrógeno en las porciones 1 y 4 del anillo heterocíclico:

- I) 2-cetobenzodiazepinas, su mejor exponente es el diazepam, el radical que se une es el grupo cetona y posee metabolitos farmacológicamente activos;
- II) 3-hidroxibenzodiazepinas, sus mejores exponentes son el oxacepam y el lorazepam, el radical que se une es el grupo hidroxilo, no posee metabolitos con actividad farmacológica;
- III) 7-nitrobenzodiazepinas, su mejor exponente es el nitrazepam, el radical que se une es el grupo nitrilo y puede o no poseer metabolitos con actividad farmacológica;
- IV) triazolobenzodiazepinas, su mejor exponente es el triazolam, el radical que se une es el anillo triazolo, un anillo heterocíclico de cinco miembros y puede o no poseer metabolitos farmacológicamente activos.

En años recientes se ha desarrollado una gran cantidad de nuevos ansiolíticos; entre estos compuestos se encuentran varios agentes con efectos específicos sobre la serotonina y que no

interactúan con los receptores de las benzodiazepinas. Estos agentes son: la buspirona, la ipsapirona y el indorrenato (Fernández-Guasti y Hong, 1990); todos ellos producen efectos ansiolíticos en diversos modelos experimentales con animales.

Las benzodiazepinas ejercen sus efectos ansiolíticos reduciendo la transmisión serotoninérgica central y pueden deprimir la actividad motora, por lo menos en parte, reduciendo la transmisión noradrenérgica central. Las benzodiazepinas también disminuyen la velocidad del recambio cerebral de la serotonina. Estos resultados apoyan la creencia común de que la acción depresora de las benzodiazepinas puede depender de su acción en las sinapsis serotoninérgicas en interacción con el ácido gama-aminobutírico (GABA).

El GABA y la serotonina han sido reconocidos como los principales neurotransmisores involucrados en la regulación de la ansiedad (Oakley y Tyers, 1992; Zivkovic y cols., 1992).

ABSORCION DE LAS BZD.

Cuando las drogas se administran por vía oral, la absorción comienza en el tracto gastrointestinal. Generalmente, las BZD se absorben de manera rápida y completa (Lader, 1992). Todas se unen a la molécula de albúmina plasmática humana y a las glicoproteínas.

La absorción en el estómago y el yeyuno es la más importante, pero el sitio de mayor absorción depende de las propiedades químicas de cada droga. La absorción gástrica se ve favorecida con un estómago vacío, ya que la droga hace contacto sin dificultad con las paredes (Lader, 1992).

DISTRIBUCION DE LAS BZD

Aunque no se ha encontrado una clara relación entre las concentraciones plasmáticas y sus efectos clínicos (Ellinwood y cols., 1987; Greenblatt y cols., 1992), se sabe que las BZD pasan con relativa facilidad la barrera hematoencefálica y se captan en un gran porcentaje y de manera rápida dentro de la sustancia gris en el cerebro, donde se difunden lentamente debido a que las concentraciones de droga libre (no unida), que determina la tasa de difusión, son bajas (Lader, 1992).

Por otra parte, las drogas hipoliposolubles se excretan por el riñón sin ser modificadas; las altamente liposolubles, sin embargo, se difunden fácilmente a lo largo de las membranas del cuerpo y se reabsorben por difusión desde el filtrado glomerular en el riñón. La presencia de la droga en forma libre o de sus metabolitos en las heces, sugiere una degradación hepática biliar (Lader, 1992).

METABOLISMO DE LAS BZD

En cuanto a la transformación, es una forma de metabolismo hepático y tiene dos fases: una preparatoria (oxidación, reducción e hidrólisis), y otra sintética (conjugación). La primera es una biotransformación lenta, donde la oxidación es la forma más común de metabolismo, mientras que la reducción y la hidrólisis son poco usuales. Se producen metabolitos activos que convierten a las BZD en fármacos de acción prolongada. Por otra parte, la conjugación consiste en el acoplamiento de moléculas tales como ácidos glucorónidos, radicales acetil y sulfatos para formar glucouronatos, metabolitos menos liposolubles y más fácilmente excretables.

ELIMINACION DE LAS BZD

El metabolismo del diazepam tiene una fase rápida (vida media, 7-10 horas) y otra lenta (vida media, 2-6 días). Durante la primera es transformado a N-desmildiazepam (Nordiazepam), el cual, en la siguiente fase es metabolizado lentamente y aparece en la orina en forma de metabolitos conjugados hasta 24-36 horas después de la primera dosis.

Las sustancias altamente liposolubles tienen una baja tasa de eliminación renal. Para ser eliminadas, deben ser metabolizadas a sus derivados, que son más polares. La mayor parte de las sustancias posee un grupo hidroxilo incorporado a su molécula, lo que permite un rápido acoplamiento con ácido glucorónido o sulfato. A través de este ensamble, se inactivan farmacológicamente y se vuelven solubles en agua, por lo cual se excretan rápidamente por la orina.

MECANISMO DE ACCION DE LAS BZD

El descubrimiento de los substratos neuroanatómicos y de los mecanismos neurofisiológicos involucrados en los fenómenos de ansiedad no ha sido sencillo. Las dificultades emergen, en parte, debido a que la ansiedad como manifestación clínica tiene un carácter subjetivo difícil de determinar en forma específica. Sin embargo, un avance importante en esta área se dio con el descubrimiento de que en el cerebro de los mamíferos, incluyendo al hombre, se encuentran sitios de unión para las benzodiazepinas que son de alta afinidad y estereoespecíficos para estas sustancias.

Se ha comprobado que la administración de benzodiazepinas altera una serie de neurotransmisores en el Sistema Nervioso Central, por lo que se piensa que éstos entonces juegan un papel importante en la patogénesis de los trastornos de ansiedad. Entre los neurotransmisores que han sido involucrados en esto sobresalen la noradrenalina, la serotonina y el ácido gamma-aminobutírico.

Se sabe que las benzodiazepinas producen sus efectos al unirse en forma alostérica al receptor GABA y canales de cloro. Un intento de explicación de cómo el GABA interviene en la acción de las benzodiazepinas propone que el diazepam y sustancias afines, facilitan la transmisión mediada por GABA, debido a que la velocidad del recambio del GABA disminuye tras la inyección del diazepam (Stephens y col., 1987).

EL COMPLEJO SUPRAMOLECULAR RECEPTOR DE GABA-RECEPTOR DE BZD-IONOFORO DE CLORO.

La exposición constante a BZD afecta el mecanismo natural de retroalimentación de la liberación de GABA, lo que resulta en una disminución de su producción o liberación (Scharf y Feil, 1983). Sin embargo, las BZD requieren de la presencia de transmisiones GABAérgicas funcionales para mostrar su acción.

Todos los receptores de las BZD de tipo central parecen estar acoplados -estructural y funcionalmente- a receptores de GABA y a canales de cloro (ionóforos de cloro), para formar

un complejo supramolecular.

El modelo que permite unificar tales interacciones comprende una proteína tetramérica formada por cuatro protómeros (subunidades) muy similares, delimitada en el centro por un canal anión. Cada subunidad posee tres elementos con diferentes funciones: un ionóforo de cloro, como efector/transductor; el receptor de GABA, con la función de reconocimiento del neurotransmisor, que induce cambios en la conformación del ionóforo; y otro elemento más, que capta a las BZD, con funciones de modulación alostérica del acoplamiento receptor de GABA-ionóforo de cloro. El probable modulador alostérico endógeno (ligando) de estas interacciones moleculares puede ser una proteína ácida termoestable, la cual modifica indirectamente la conformación de la organización supramolecular del sitio de reconocimiento en el receptor de GABA (cambiando su afinidad al neurotransmisor), mediante un proceso de activación o inhibición acoplado a la función de los receptores centrales de las BZD.

Cuando el GABA se une a su sitio de reconocimiento, el ionóforo de cloro se abre permitiendo una redistribución a lo largo de la membrana de acuerdo al gradiente de concentración (cambios en la conductancia al cloro), mediado por GABA.

ACCION DE LAS BZD SOBRE LAS MONOAMINAS DEL SNC.

La tasa de síntesis-liberación de las catecolaminas (noradrenalina y dopamina) disminuye de manera transitoria bajo el efecto de las BZD (Jacqmin y Lesne, 1985); éstas producen una marcada disminución en la actividad unitaria de las neuronas del rafe dorsal (Trulson y cols., 1982), y disminuyen la síntesis-liberación de 5-HT (Stein y cols., 1977).

La 5-HT, en el Sistema Nervioso Central, se encuentra implicada en una gran variedad de enfermedades neurológicas y psiquiátricas relacionadas con: actividad locomotora, sueño, conducta sexual, memoria, ingesta, funciones cardiovasculares, etc. Todas estas conductas son alteradas por manipulaciones en las vías serotoninérgicas.

Las primeras evidencias de la participación de la 5-HT en la ansiedad provienen de trabajos clínicos, ya que algunos pacientes ansiosos o deprimidos presentan una reducción en el metabolismo de la serotonina. La administración de ansiolíticos, como el diazepam,

disminuyen la recaptura y la actividad de la serotonina, aunque el papel que juegan las benzodiazepinas sobre las vías serotoninérgicas es muy controvertido porque no es necesario que estas vías se encuentren intactas para que las benzodiazepinas logren su efecto ansiolítico (Kahn y cols., 1988; Kennett y cols., 1987).

El papel de la serotonina en la ansiedad se ha investigado de diversas formas; por ejemplo, con lesiones en las vías serotoninérgicas, o con drogas que actúan más o menos selectivamente en los receptores de la 5-HT, por la destrucción de porciones del núcleo del rafe (el sitio de origen de las vías serotoninérgicas), etc.

La disminución en la función de la 5-HT, por medio de la paraclorfenilalanina (un inhibidor de la síntesis de la serotonina), restablece las respuestas suprimidas en la prueba de conflicto de Geller-Seifter y de Vogel; este efecto puede ser bloqueado con la administración de 5-hidroxitriptofano, aminoácido precursor de la serotonina, o por medio de algunos agonistas serotoninérgicos (Engel y cols., 1984; Tye y cols., 1979).

La destrucción de vías serotoninérgicas, a través de algunas neurotoxinas como la 5,6 o 5,7 dihidroxitriptamina, restablece las respuestas suprimidas en las pruebas de Geller-Seifter y de Vogel (Kahn y cols., 1988; Pellow y cols., 1985).

Asimismo, se han encontrado diferencias drásticas (40-50%), en el número de receptores a la serotonina, que se manifiestan a lo largo del ciclo estral y, que muchas de éstas diferencias dependen de la acción de hormonas esteroides (como el estradiol), de tal suerte que un mayor tono serotoninérgico provocado por la 5-HT ocasiona un aumento en los niveles de ansiedad (Picazo y Fernández-Guasti, 1995).

ACCION DE LAS BZD SOBRE LA ADENOSINA DEL SNC.

La participación de este nucleótido al respecto, se apoya en el postulado de que la adenosina se libera tanto de manera continua como fásica, como un neurotransmisor específico desde las terminales purinérgicas para actuar como un modulador inespecífico de la liberación presináptica de otros neurotransmisores (Jacqmin y Lesne, 1985; Stein y cols., 1977). El mecanismo de acción de las BZD incluiría la inhibición de la recaptura celular de adenosina,

umentando así su efecto depresor sobre el disparo espontáneo de las neuronas corticales (Phillis y Wu, 1982).

ACCION DE LAS BZD SOBRE LA ACETILCOLINA DEL SNC.

Las BZD pueden cambiar el contenido y la velocidad del recambio de acetilcolina, lo cual sugiere que las neuronas colinérgicas pueden ser un blanco de la acción de las BZD, éstas inducen una depresión del sistema colinérgico (Rektor, y cols., 1986), reduciendo la tasa de disparo de las neuronas colinérgicas subcorticales, lo cual también es causado por el GABA.

RELACION DE LAS BZD CON LA PROGESTERONA

Wieland y cols. (1991, 1992), demostraron que la progesterona afecta la cantidad de receptores al GABA y a la serotonina; mientras que Haefely (1989B) y Haefely y cols. (1975) encontraron que la progesterona, al igual que las benzodiazepinas, incrementa la sensibilidad al GABA.

Picazo y Fernández-Guasti (1995) han encontrado que la alopregnenalona, un metabolito reducido de la progesterona el cual se produce en el tejido cerebral, es más activo que la misma progesterona para disminuir la ansiedad. Estos efectos ansiolíticos de la alopregnenalona pueden ser bloqueados por un neuroesteroide antagonista de este metabolito, el flumazenil.

La acción ansiolítica de esta hormona secretada endógenamente durante el ciclo estral, o exógenamente administrada, es mediada por el mismo o por mecanismos muy similares al de las benzodiazepinas, pero que están por debajo de la acción de éstas.

LUGAR DE ACCION DE LAS BZD.

Los receptores benzodiazepínicos se encuentran ampliamente distribuidos en el Sistema Nervioso Central y son sumamente abundantes en regiones cerebrales tales como la amígdala, que es una estructura del Sistema Límbico, la cual ha sido implicada en la neurobiología del temor o la ansiedad (Pesould y Treit, 1995). Estudios conductuales en animales han sugerido

específicamente que la amígdala se encuentra involucrada en la mediación de los efectos ansiolíticos de las benzodiazepinas. Por ejemplo, microinfusiones de benzodiazepinas en la amígdala pueden disminuir la ansiedad en un paradigma de conflicto, tal es el caso de la conducta desinhibida suprimida por castigo. Además, este efecto anti-conflicto puede ser bloqueado por la coadministración de antagonistas de receptores benzodiazepínicos, tales como el flumazenil (Hodges y cols., 1987).

IV. MODELOS ANIMALES PARA EVALUAR LA ACCION DE AGENTES ANSIOLITICOS

El enorme valor que posee la existencia de modelos animales en el comportamiento humano, normal o patológico, es algo que debe ser reconocido por todo investigador, ya que los avances en muchas áreas del conocimiento se deben, en gran medida, a la disponibilidad de un modelo que permita comprender los mecanismos subyacentes del proceso y, además, los principios básicos que nos han de guiar para intervenir de la forma más correcta. Estos modelos deben ser confiables, sensibles, reproducibles y específicos a los objetivos de la investigación.

Los modelos animales pueden proveer el grado de control experimental necesario para conducir la investigación neurocientífica.

Las pruebas que involucran el trabajo con animales fueron empleadas inicialmente para predecir la seguridad y la eficiencia de algunos componentes farmacológicos nuevos, por los peligros obvios que están involucrados al estudiar, en los humanos, los efectos de componentes no probados.

En el caso de la ansiedad, los modelos animales han sido numerosos, entre ellos existen: los de conflicto, interacción social, evitación pasiva y activa, respuesta de sobresalto por miedo, aversión al sabor, estimulación eléctrica, castigo de conducta locomotora, situaciones de no reforzamiento, exploración en un hoyo, respuesta emocional condicionada, preferencia de lugar, ambientes novedosos, conducta de enterramiento, cruces entre dos compartimentos iluminado/oscuero y, agresión y sonda electrificada, entre otros (Barret, 1992; Morales, 1992).

De los modelos anteriores los más empleados son los de conflicto de Geller-Vogel, el de enterramiento y el modelo del laberinto elevado en forma de cruz.

Los modelos de conflicto consisten básicamente en someter a ratas privadas de comida (Geller) o de agua (Vogel) a una situación operante donde la ingesta de comida/agua se asocia en forma contingente con un choque eléctrico (estímulo aversivo), generándose así una situación conflictiva de aproximación/evitación. Los resultados usuales muestran que los animales

presentan pocas o cero respuestas durante la presencia del estímulo aversivo y más en su ausencia. Si a los sujetos se les administra, previamente a la prueba, un ansiolítico como el diazepam, las respuestas suprimidas durante el choque eléctrico se restablecen.

En el modelo de enterramiento (Fernández-Guasti y Hong, 1990; Pinel y Treit, 1978), se coloca una barra electrificada dentro de la cámara donde se encuentra el sujeto, generándose de esta manera la situación de conflicto, debido a que el animal cada vez que la toca sufre un choque eléctrico. El animal procede a enterrar la barra para así evitar el estímulo provocador de ansiedad. Se han observado, con la administración de ansiolíticos, los mismos resultados que en el modelo de Geller-Vogel.

En la prueba del laberinto elevado, los brazos se encuentran a 50 centímetros del piso; dos de los brazos, de 10 centímetros de ancho, se encuentran abiertos y los otros dos se encuentran circundados por una pared de 50 centímetros de alto. En una primera exposición, las ratas normalmente evitan entrar al brazo abierto, permaneciendo más en el brazo cerrado; el bajo número de entradas y de permanencia en el brazo abierto es el mejor índice de ansiedad de este paradigma.

El modelo de laberinto elevado en forma de cruz, al igual que el de conflicto de Geller-Vogel y el de enterramiento, han probado ser instrumentos sensibles a la ansiedad (Pesold y Treit, 1992).

Un gran número de estudios con el laberinto elevado muestran la efectividad de los agentes ansiolíticos como el diazepam, ya que aumentan selectivamente el número de entradas de la rata al brazo abierto del laberinto y la cantidad de tiempo que pasan en él. Los agentes no ansiolíticos, incluyendo los antidepresivos y los tranquilizantes mayores no tienen efectos específicos sobre la actividad en el brazo abierto (Farabollini y cols., 1987; Fernández-Guasti, 1992; Pesold y Treit, 1992).

V. ELECTROENCEFALOGRAFIA Y ANSIEDAD

El electroencefalograma o EEG es una técnica que permite conocer algunos aspectos del funcionamiento cerebral a través del registro de su actividad eléctrica. Su empleo ha permitido discriminar entre distintos estados fisiológicos como el sueño y la vigilia; también se ha usado para la exploración de cambios ante diversas condiciones como el reposo y la realización de tareas, para determinar las diferencias que existen en el funcionamiento cerebral entre sujetos sanos y enfermos, o en grupos que difieren en personalidad, inteligencia u otro rasgo psicológico, para evaluar el efecto de fármacos y para investigar diferencias sexuales ante diversas circunstancias, entre otros.

Además de la inspección visual del EEG, se han utilizado técnicas computacionales que permiten cuantificar la actividad eléctrica cerebral. Entre las técnicas computacionales más comunes se encuentra el análisis espectral del EEG y el análisis de correlación entre dos señales dadas. El análisis espectral puede obtenerse mediante el algoritmo matemático de la Transformada Rápida de Fourier (TRF), el cual descompone una señal compleja en todas las frecuencias que la componen y proporciona información acerca de la energía o potencia (cuadrado de la amplitud de los componentes de la señal) de cada frecuencia; el resultado es un espectro de potencia.

A partir del espectro de potencia (Potencia Absoluta) pueden obtenerse otros parámetros como la potencia relativa o porcentaje de cada uno de los componentes del espectro, tomando como 100% la potencia total (John, 1987).

Asimismo se han podido realizar comparaciones funcionales entre diferentes áreas corticales gracias a los análisis del espectro de coherencia y de correlación entre dos señales. Estos análisis dan información sobre el grado de semejanza morfológica, la polaridad (negativa o positiva de una onda) y la fase en tiempo (Harmony y cols., 1973; Shaw, 1984).

Partiendo de la base de que el EEG refleja los procesos neurofisiológicos subyacentes, se ha considerado que una actividad neuronal compartida por dos áreas corticales se manifiesta como

una actividad EEG muy parecida; en la medida en que los procesos neurofisiológicos subyacentes sean diferentes, las dos señales de EEG también lo serán. Esto quiere decir que mientras mayor sea la relación funcional entre dos áreas, más semejante será su actividad (Grindel, 1982; Shaw, 1984). Los análisis de coherencia o de correlación proporcionan una forma de investigar la organización entre dos zonas de la corteza o entre diversas estructuras cerebrales (Grindel, 1982; Shaw, 1984). Su empleo ha mostrado que el grado de correlación cambia de un estado fisiológico a otro, lo cual permite discriminar los cambios en la organización funcional que acompañan a cada estado.

La actividad electroencefalográfica, registrada sobre la superficie cortical en la rata, tal como fue descrita por Vanderwolf (1992), consiste principalmente en actividad rápida y de bajo voltaje, con frecuencias que van de los 10 a los 50 Hz, y que corresponden aproximadamente a los ritmos beta (12-30 Hz) y gamma (30-50 Hz) en la nomenclatura tradicional utilizada para el hombre; las ondas rítmicas que van de los 10 a los 16 Hz corresponden a la actividad alfa en el hombre y a los husos de sueño.

Las ondas lentas de 2-6 Hz, con una mayor amplitud, corresponden parcialmente a las frecuencias correspondientes a delta (0.3-3.5 Hz) y a theta (4.0-7.5 Hz). Además de estos patrones, un ritmo theta, con frecuencias que van de los 5 a los 12 Hz, puede registrarse durante la vigilia y el sueño paradójico, con electrodos colocados sobre la corteza posterior, encima de la formación hipocampal (Bland y Wishaw, 1976; Corsi-Cabrera y cols., 1994; Kleinlogel, 1990; Krijzer en Kleinlogel, 1990; Trachsel y cols., 1992; Ugalde y cols., 1994). Los patrones particulares de actividad electroencefalográfica registrados durante la vigilia reflejan el estado funcional del cerebro y la composición electroencefalográfica varía de acuerdo con las diferentes manipulaciones experimentales como en la privación de sueño, el estrés y la conducta.

En estudios previos realizados en este laboratorio se han encontrado diferencias sexuales en la actividad eléctrica cerebral tanto en el hombre (Arce, 1993; Corsi-Cabrera y cols., 1989 y 1993; Ramos, 1994), como en la rata (Juárez y cols., 1995B).

Las mujeres tienen mayor correlación interhemisférica y mayor potencia absoluta en

comparación a los hombres (Arce, 1993; Corsi-Cabrera y cols., 1989; Flor-Henry y cols., 1987). Además, la correlación interhemisférica presenta oscilaciones significativas durante el ciclo menstrual en la mujer (Solís-Ortíz y cols., 1991, 1992A y 1994) y durante el ciclo estral en la rata (Corsi-Cabrera y cols., 1992); en ambos casos, la correlación interhemisférica es mayor en el periodo periovulatorio, cuando los niveles hormonales están elevados. Estos resultados sugieren una posible influencia por parte de las hormonas femeninas sobre la actividad eléctrica cerebral.

Por otro lado, la privación total de sueño induce un aumento significativo de la potencia absoluta de las frecuencias correspondientes a delta en el espectro de potencia y una disminución significativa de la correlación interparietal del ritmo theta en el EEG de la vigilia en la rata (Ugalde y cols., 1994). La privación de sueño paradójico durante 72 horas induce un aumento de la potencia absoluta y de la potencia relativa de theta y una disminución significativa de la potencia relativa de la banda delta y de la correlación interparietal en la rata (Corsi-Cabrera y cols., 1994). Sin embargo, los cambios observados después de la privación total de sueño y de la privación de sueño paradójico en el EEG de la vigilia pueden estar reflejando estrés no-específico o factores ansiosos derivados de las técnicas de privación total o selectiva de sueño, pues las ratas de control de estrés que estuvieron expuestas al nado forzado, también mostraron un aumento en la potencia relativa de theta y una disminución en la correlación interhemisférica. En estudios donde se registró la actividad EEG con electrodos colocados sobre la corteza, se observó un aumento de la potencia relativa en las frecuencias comprendidas entre 7.5 y 13 Hz; este aumento también se ha reportado en ratas expuestas a estrés psicológico, inducido por el condicionamiento a la expectativa de un electrochoque (Iwatta y Mikuni, 1980). Sin embargo, los efectos del estrés sobre la correlación interhemisférica no han sido explorados. Los cambios observados en la correlación interhemisférica y en la potencia relativa de theta tal vez se deban al estrés y no a la privación de sueño; si esto es así, la administración de un ansiolítico debería inducir los efectos opuestos. Por lo tanto, estamos interesados en estudiar los cambios en el EEG de la vigilia, inducidos por una dosis ansiolítica de diazepam, un ansiolítico muy conocido.

Por otra parte, en un extenso cuerpo de la literatura se ha demostrado que el estrés está relacionado con una respuesta sexualmente dimórfica, y que este dimorfismo sexual es dependiente del estado gonadal y de la secreción hormonal en ratas adultas. Por ejemplo, las ratas hembras adultas deambulan más y defecan menos que las ratas machos adultas; estas respuestas se modifican con la castración y se reinstauran con terapia hormonal (Beatty y Fessler, 1976; Blizzard y cols., 1975); la interacción social es modulada por un medio ambiente familiar o no-familiar en ratas machos adultas, pero no en las hembras, y la respuesta diferencial al medio ambiente, exhibida por los machos intactos, desaparece en los machos que son castrados en la prepubertad (Primus y Kellogg, 1989, 1990); la sensibilidad a choques eléctricos es mayor en los machos que en las hembras (Woolley y cols., 1961, 1962), y la respuesta de choque-castigo se incrementa en ambos, hembras adultas y machos adultos castrados neonatalmente, después de una inyección de estrógenos o progesterona (Rodríguez-Sierra y cols., 1986). La conducta de enterramiento también cambia durante el ciclo estral en la rata (Fernández-Guasti y Picazo, 1992).

El análisis cuantitativo del EEG en la corteza parietal en vigilia, de ratas adultas intactas ha mostrado la existencia de diferencias sexuales. Los machos tienen mayor potencia relativa de theta y menor potencia relativa de delta y beta que las hembras. La correlación interhemisférica es mayor en los machos que en las hembras (Juárez y cols., 1995B). Estas diferencias sexuales son dependientes de la acción organizacional de los esteroides sexuales durante el periodo crítico prenatal de diferenciación sexual del cerebro. La exposición a propionato de testosterona, en los fetos femeninos, durante los días 14-19 de gestación, masculinizan el EEG. La potencia relativa de theta y los valores de correlación interparietal de esas hembras, registradas a los 100 días de edad, fueron similares a las de los machos y significativamente mayores a las de las hembras no tratadas (Juárez y cols., 1995B).

Además, los efectos organizacionales de los esteroides sexuales en las diferencias sexuales sobre la potencia relativa y la correlación interparietal mencionadas necesitan de la acción activadora de los esteroides sexuales: la gonadectomía posterior a la pubertad elimina dichas

diferencias (Del Río, 1996).

Estos resultados, tomados en conjunto, sugieren la hipótesis de que los efectos del diazepam sobre la actividad EEG será diferente en machos y en hembras, y dependiente de la presencia de esteroides gonadales. Por esto, los objetivos de esta investigación son; 1) comparar los efectos del diazepam sobre el EEG de ratas machos y hembras en la edad adulta, sin la acción de esteroides gonadales. 2) Investigar si los efectos del diazepam sobre el EEG se modifican por la presencia de esteroides sexuales, administrados después de la gonadectomía. 3) Para corroborar los efectos ansiolíticos del diazepam, evaluar experimentalmente la ansiedad utilizando la prueba del laberinto elevado en forma de cruz, de acuerdo con los procedimientos descritos por Pellow y cols. (1985).

Con lo anterior en mente, se registró la actividad EEG de ratas hembras y machos de la cepa Wistar, gonadectomizadas después de la pubertad, con y sin restitución hormonal, en un modelo de ansiedad.

VI. TRABAJO EXPERIMENTAL

En base a las evidencias anteriores, los patrones particulares de actividad electroencefalográfica (EEG) registrados durante la vigilia reflejan el estado funcional global del cerebro. La composición del EEG varía de acuerdo a diferentes manipulaciones experimentales como la privación de sueño, el estrés y la producción de conductas.

La privación total de sueño induce un incremento significativo en la potencia absoluta del ritmo delta y una disminución significativa de la correlación interparietal del ritmo theta en el EEG de la vigilia de la rata (Ugalde y cols., 1994).

La privación de sueño paradójico durante 72 horas provoca disminución en la potencia relativa del ritmo delta, aumento en la potencia relativa y en la potencia absoluta del ritmo theta y disminución en la correlación interparietal en el EEG de la rata (Corsi-Cabrera y cols., 1994). Sin embargo, los cambios observados en el EEG de la vigilia después de la privación total de sueño y de la privación de sueño paradójico pueden estar reflejando un estrés no específico o factores ansiosos derivados de las técnicas de privación total o selectiva de sueño, pues las ratas de control de estrés que estuvieron expuestas al nado forzado, también mostraron un aumento en la potencia relativa del ritmo theta y una disminución en la correlación interparietal, pero no se observaron cambios en la potencia absoluta del ritmo theta.

Si los cambios observados en la correlación interparietal y en la potencia relativa de theta se deben al estrés y no a la privación de sueño paradójico, la administración de un ansiolítico debería inducir los efectos opuestos. Los efectos de los ansiolíticos sobre la correlación interhemisférica no se han explorado, por lo que es interesante estudiar los cambios en el EEG de la vigilia inducidos por una dosis ansiolítica de diazepam, una benzodiazepina con efectos ansiolíticos bien conocidos.

En los últimos años se han publicado estudios que demuestran que las respuestas relacionadas al estrés son sexualmente dimórficas y dependen de los niveles de hormonas gonadales, y que los efectos de las benzodiazepinas están modulados por los esteroides sexuales. Por ejemplo,

en las pruebas de campo abierto, las ratas hembras deambulan más y defecan menos que las ratas macho; estas respuestas se modifican con la castración y se restituyen con terapia hormonal (Beatty y Fessler, 1976; Blizzard y cols., 1975); la interacción social es modulada por un medio ambiente familiar o no-familiar en ratas machos adultos, pero no en las hembras, y la respuesta diferencial al medio ambiente, exhibida por los machos intactos, desaparece en los machos que son castrados en la prepubertad (Primus y Kellogg, 1990); la sensibilidad a choques eléctricos es mayor en los machos que en las hembras (Woolley y cols., 1961), y la respuesta de choque-castigo se incrementa en ambos, hembras adultas y machos adultos castrados neonatalmente, después de una inyección de estrógenos o progesterona (Rodríguez-Sierra y cols., 1986). La conducta de enterramiento también cambia durante el ciclo estral en la rata (Fernández-Guasti y Picazo, 1992). Durante el estro vaginal y conductual, las hembras incrementan su conducta ambulatoria en campo abierto, lo cual se ha interpretado como una reducción en la ansiedad (Fernández-Guasti y Picazo, 1992). Las ratas macho muestran mayores niveles de interacción social que las ratas hembra y son más resistentes a un choque eléctrico que éstas (Johnston y File, 1991).

Los análisis cuantitativos del EEG de la corteza parietal de ratas adultas han mostrado diferencias sexuales. Los machos tienen mayor potencia relativa del ritmo theta y menor del ritmo delta que las hembras. El acoplamiento interhemisférico, evaluado con la correlación interparietal, es mayor en los machos que en las hembras (Juárez y Corsi-Cabrera, 1995A). Estas diferencias sexuales dependen de la acción organizadora de los esteroides sexuales durante el periodo crítico prenatal de diferenciación sexual del cerebro. La exposición de fetos hembra a propionato de testosterona durante los días 14-19 de gestación, masculiniza el EEG. Los valores de potencia relativa de theta y de correlación interparietal de estas ratas hembra, a los 100 días de edad, son similares a los de ratas macho y significativamente mayores que los de ratas hembra no tratadas (Juárez y cols., 1995B).

Además del efecto organizador de los esteroides sexuales, las diferencias sexuales en la potencia relativa y en la correlación interparietal necesitan de la acción activadora de estas sustancias, pues la gonadectomía después de la pubertad las elimina (Del Río-Portilla y cols.,

1996).

Estos hallazgos en conjunto, sugieren que los efectos del diazepam sobre la actividad EEG podría ser diferente entre machos y hembras, y depender de la presencia de esteroides sexuales.

El propósito de este estudio fue investigar los efectos del diazepam sobre el EEG de ratas hembras y machos con y sin la acción activadora de los esteroides sexuales.

OBJETIVOS GENERALES

- A) Conocer el efecto de la progesterona o del benzoato de estradiol, sobre el EEG de ratas hembras gonadectomizadas; y de la testosterona o la 5α -dihidrotestosterona (5α -DHT), sobre el EEG de las ratas machos gonadectomizados.
- B) Caracterizar el efecto de un ansiolítico (diazepam), sobre el EEG, en ratas hembras y machos gonadectomizadas.
- C) Caracterizar la interacción de un ansiolítico con las hormonas antes mencionadas sobre el EEG en un modelo de ansiedad.

SUJETOS

- Se utilizaron 60 ratas de la cepa Wistar, 30 hembras y 30 machos a la edad de 80 días, con un peso entre 250-300 gramos para las hembras y entre 300-350 gramos para los machos.
- Desde la edad de 60 días se mantuvo a las ratas con acceso libre a comida y agua, bajo un horario de 12 horas de luz por 12 horas de oscuridad, con el objeto de estabilizar su ciclo circadiano.
- Se dividieron al azar en seis grupos (cuatro experimentales y dos controles), de 10 sujetos cada uno, de acuerdo con el siguiente tratamiento (las dosis se pusieron cada 24 horas y durante 5 días):
 - 10 hembras recibieron progesterona (2mg/0.20ml).
 - 10 hembras recibieron benzoato de estradiol ($5\mu\text{g}$ /0.10ml).
 - 10 hembras recibieron aceite de maíz (0.10 ml).

- 10 machos recibieron propionato de testosterona (1mg/0.10ml).
- 10 machos recibieron 5 α -DHT (1.3mg/0.13ml).
- 10 machos recibieron aceite de maíz (0.10ml).

Tanto los sujetos experimentales como los controles (60 ratas), recibieron una dosis de 2 miligramos de diazepam por Kg. de peso. Las manipulaciones se realizaron de acuerdo con el siguiente calendario.

EDAD EN DIAS MANIPULACION EXPERIMENTAL

- 80: Gonadectomía.
- 90: Implantación de electrodos.
- 100 - 101: Habitación.
- 106 - 108: Administración reitutiva de hormona o vehículo.
- 109: Registro del EEG de la línea base.
 Administración de hormona o vehículo.
- 110: Administración del vehículo del diazepam.
 30 minutos después de la administración del
 vehículo del diazepam, registro del EEG.
 Prueba del laberinto (la mitad de los sujetos
 de cada grupo).
 Administración de hormona o vehículo.
- 111: Administración del diazepam.
 30 minutos después, registro del EEG con el
 diazepam.
 Prueba del laberinto (la mitad de los sujetos
 de cada grupo).

VII. PROCEDIMIENTO

GONADECTOMIA

La gonadectomía se llevó a cabo de la siguiente manera:

- Se inyectó por vía intraperitoneal una mezcla de 0.5 mg de atropina y 40 mg de pentobarbital sódico por Kg de peso.
- Una vez que la rata se encontraba anestesiada se le hizo una incisión en el abdomen en el caso de las hembras, y en el escroto en el caso de los machos, hasta encontrar los ovarios o los testículos según el sexo, procediendo a cortarlos y extraerlos. Se ligaron los vasos y las venas que irrigan las gónadas para evitar posibles hemorragias, al término de la cirugía se suturó con hilo catgut y con hilo de seda.
- Terminada la gonadectomía se inyectaron 40,000 unidades de penicilina benzatínica (1'200,000), para evitar procesos infecciosos.

Se dieron 10 días de recuperación después de la cirugía para proceder a la implantación.

IMPLANTACION

La implantación se llevó a cabo de la siguiente forma:

- Se anestesió a la rata de igual manera que en el procedimiento de la gonadectomía. Una vez anestesiada, se fijo a la rata en un aparato estereotáxico siguiendo los procedimientos convencionales.

- Se hizo un corte longitudinal sobre la línea media del cráneo, desde la región frontal hasta antes de llegar a los músculos de la nuca; posteriormente se separó el periostio y se implantaron los siguientes electrodos:

A: Dos electrodos en la corteza parietal, uno en el hemisferio derecho y otro en el hemisferio izquierdo, consistentes en pijas de acero galvanizado despuntadas, que se atornillaron en el cráneo hasta rozar la duramadre. Estas se situaron tres milímetros posteriores a Bregma y tres milímetros laterales a la línea media.

B: Otros dos electrodos se colocaron bilateralmente en el hueso frontal, once milímetros anteriores a Bregma y dos milímetros laterales a la línea media.

- Al terminar la cirugía, los electrodos se fijaron en el cráneo con cemento acrílico dental.
- Se inyectaron 40,000 unidades de penicilina benzatínica (1'200,000), para prevenir posibles infecciones.
- Se dieron 10 días de recuperación después de la implantación para iniciar el procedimiento del registro de la actividad EEG.

HABITUACION

Antes de proceder al registro de la actividad electroencefalográfica, cada rata tuvo dos días consecutivos de habituación a la condición experimental, 15 minutos por día. La habituación consistió en colocar a la rata dentro de su propia vivienda en una cámara sonoamortiguada y tenuemente iluminada; se le pusieron los conectores, replicando de esta manera la condición experimental.

ADMINISTRACION DE HORMONAS

Después de 16 días de recuperación post-implantación se administraron intramuscularmente las dosis correspondientes de las hormonas o el vehículo (benzoato de estradiol, progesterona o aceite en el caso de las hembras; propionato de testosterona, 5 α -DHT o aceite en el caso de los machos), durante tres días consecutivos (cada 24 horas), para obtener los niveles hormonales óptimos, reportados en la literatura (Clemens y cols., 1978; Ward, 1972). Veinticuatro horas después de la tercera administración de hormonas o vehículo se inició el registro de la actividad EEG. Se hicieron tres registros electroencefalográficos en días consecutivos. El primer registro del EEG se tomó como línea base; el segundo se realizó 30 minutos después de la administración del vehículo del diazepam; y el tercero se hizo 30 minutos después de la administración de la dosis de diazepam, tanto el vehículo como el diazepam se inyectaron por vía intraperitoneal.

Para mantener los niveles hormonales, después del primer y segundo registros se administraron

las dosis de hormonas correspondientes.

REGISTRO ELECTROENCEFALOGRAFICO (EEG)

Para tomar cada uno de los registros del EEG, se trasladó individualmente a la rata dentro de su propia vivienda, a una cámara sonoamortiguada y tenuemente iluminada.

Se registró la actividad EEG en forma monopolar de las derivaciones parietales (activas) referidas al hueso frontal (inactivo), con un polígrafo Grass modelo 8-16E, con filtros de corte entre 1 y 35 Hz. La señal se capturó en línea en una computadora 486, tipo PC, por medio de un convertidor analógico-digital de 16 canales, con 12 bits de resolución y un rango de voltaje de -1 a +1 volts.

Las señales EEG de los dos canales (P3-F3 y P4-F4) se muestrearon simultáneamente, una en cada canal del convertidor.

Se tomaron, en cada uno de los tres registros, 20 épocas de EEG, libres de artefactos, para cada derivación. Cada muestra tuvo una duración de 2.00 segundos (256 puntos). Se utilizó una frecuencia de muestreo de 128 Hz (7.81 msec. de intervalo entre punto y punto muestreados). Los datos se almacenaron para su posterior análisis fuera de línea. Con la Transformada Rápida de Fourier se obtuvieron la Potencia Absoluta (PA) y la Potencia Relativa (PR); y con la correlación producto momento de Pearson, la Correlación Interparietal. Se calculó la PA, la PR y la Correlación Interparietal para las siguientes bandas de actividad EEG:

- Delta 1.5-3.5 Hz
- Theta lento 4.0-7.5 Hz
- Theta rápido 8.0-9.5 Hz
- Alfa 10.0-12.5 Hz
- Beta1 13.0-17.5 Hz
- Beta2 18.0-25.0 Hz
- Banda Total 1.5-25.0 Hz

PRUEBA DE ANSIEDAD: "LABERINTO ELEVADO EN FORMA DE CRUZ"

Después del registro con el vehículo del diazepam o después del registro con diazepam se realizó la prueba de ansiedad, la cual consistió en colocar a la rata, en forma individual, en el centro del laberinto elevado en forma de cruz. Puesto que es una prueba sensible al aprendizaje, la mitad de los animales de cada grupo realizaron la prueba con diazepam y la otra mitad con el vehículo del ansiolítico.

El aparato es un laberinto en forma de cruz, hecho de madera, elevado a 50 cm sobre el nivel del suelo. La cruz tiene dos brazos que se encuentran descubiertos y dos brazos perpendiculares cubiertos con paredes laterales de 50 cm de alto. La base de cada brazo mide 10 cm de ancho (Pellow y cols., 1985).

La prueba se realizó en una cámara sonoamortiguada y tenuemente iluminada; un observador inadvertido por los animales, registro las conductas.

Durante los cinco minutos que duró la prueba, el observador midió el tiempo que la rata pasaba en cada brazo del laberinto: el tiempo total que estuvo en los brazos abiertos y el tiempo que estuvo en los brazos cerrados. El laberinto se limpió después de cada prueba.

Además del registro observacional, se registró el EEG mientras la rata se encontraba en el laberinto.

ANALISIS DEL EEG

Con la TRF se aplicó un filtro digital para eliminar frecuencias que salen de la banda de interés (1.5 - 35 Hz) y la posible corriente directa (DC) que contamina la señal.

Con el objeto de normalizar los datos obtenidos de la actividad cerebral de las ratas, se transformaron a logaritmos los valores de potencia absoluta mediante la fórmula $y = \ln(x)$; y los valores de la potencia relativa con la fórmula $y = \log \{x/(100-x)\}$ (John, 1987). Los valores de correlación se transformaron a puntajes "Z" de Fisher de acuerdo a la fórmula:

$$Z = 1.1513 \log_{10} \{(1 + r)/(1 - r)\} \text{ (Guilford y Fruchter, 1984).}$$

Se realizaron los siguientes análisis estadísticos, con los datos transformados:

Se compararon los parámetros del EEG (potencia absoluta, potencia relativa y correlación interparietal) de todos los grupos de hembras y de machos en todas sus condiciones (línea base, vehículo y diazepam):

- Para el análisis de la potencia absoluta y de la potencia relativa se hizo un análisis de varianza mixto de tres factores (A = Grupos, B = Condiciones y C = Hemisferios).

- Para el análisis de la correlación interparietal se hizo un análisis de varianza mixto de dos factores (A = Grupos, B = Condiciones).

Los resultados significativos obtenidos de los ANDEVA's se sometieron a una prueba de comparaciones múltiples, con el objeto de discriminar cuáles fueron los grupos causantes de las diferencias. La prueba aplicada para este fin fue la F de Tukey.

El valor de significancia estadística para aceptar los resultados fue de $p < 0.01$, tanto para los ANDEVA's como para el análisis de comparaciones múltiples.

VIII. RESULTADOS

POTENCIA ABSOLUTA

Los resultados de los análisis de varianza mixtos (ANDEVA's) de tres factores; grupos por condiciones por hemisferios (tabla1), mostraron efectos principales significativos para:

- a) El factor grupos, en las bandas de delta, alfa (que correspondería al rango de alfa2 en el hombre), beta1 y beta2.
- b) El factor condiciones, en las bandas de theta lento (que correspondería al rango de theta en el hombre), theta rápido (que correspondería al rango de alfa1 en el hombre), alfa, beta1 y beta2.
- c) El factor hemisferios, en todas las bandas.

También se encontraron interacciones significativas entre: a) grupos por condiciones para las frecuencias correspondientes a delta, theta rápido, alfa, beta1 y beta2, b) grupos por condiciones por hemisferios para las frecuencias correspondientes a theta lento, alfa, beta1 y beta2 y para la banda total.

TABLA 1. Valores de probabilidad obtenidos en los ANDEVA's con la potencia absoluta, transformada a logaritmos, de las frecuencias correspondientes a delta, theta lento, theta rápido, alfa, beta1, beta2 y banda total, para los factores: A = Grupos, B = Condiciones y C = Hemisferios.

	GRUPOS	CONDIC.	HEMISF.	A x B	A x C	B x C	AxBxC
GL.	(5,54)	(2,108)	(1,54)	(2,108)	(5,54)	(2,108)	(10,108)
DELTA	0.0006	0.2944	0.0090	0.0007	0.3567	0.0322	0.0434
THETA L	0.0262	0.0028	0.0031	0.0492	0.7128	0.1024	0.0131
THETA R	0.0201	0.0001	0.0028	0.0026	0.1817	0.1451	0.0446
ALFA	0.0001	0.0001	0.0047	0.0007	0.6477	0.0201	0.0024
BETA1	0.0008	0.0001	0.0012	0.0001	0.5225	0.0417	0.0169
BETA2	0.0001	0.0001	0.0064	0.0001	0.1829	0.1390	0.0167
TOTAL	0.4152	0.0562	0.0015	0.1719	0.5281	0.0761	0.0115

Efecto de grupos.

Dado que las bandas que mostraron un efecto principal de grupos, también mostraron interacciones significativas con el factor condiciones, se describirán solamente las interacciones.

Efecto de condiciones.

La comparación entre los días de registro (condiciones) mostró que no hay diferencias entre la línea base y el vehículo del diazepam, por lo que para el resto de las comparaciones sólo se harán entre la línea base y el diazepam. La potencia absoluta de las frecuencias correspondientes a theta lento y a theta rápido, disminuye significativamente con la inyección de diazepam en comparación con la línea base; las frecuencias correspondientes a alfa, beta1 y beta2, presentan el efecto contrario, es decir, aumento de la potencia absoluta con la inyección del diazepam en comparación a la línea base (Fig. 1).

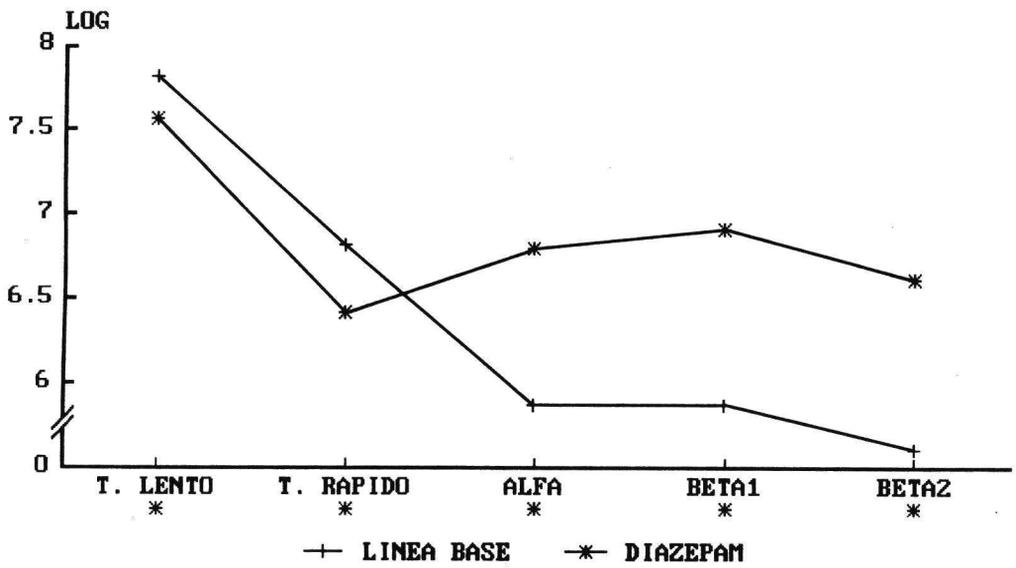


Fig. 1 Media de la potencia absoluta, transformada a logaritmos, en las condiciones de línea base y diazepam. Efecto principal.

El factor hemisferios mostró efectos principales significativos en todas las bandas: la potencia absoluta fue mayor en el hemisferio derecho que en el hemisferio izquierdo (Fig. 2).

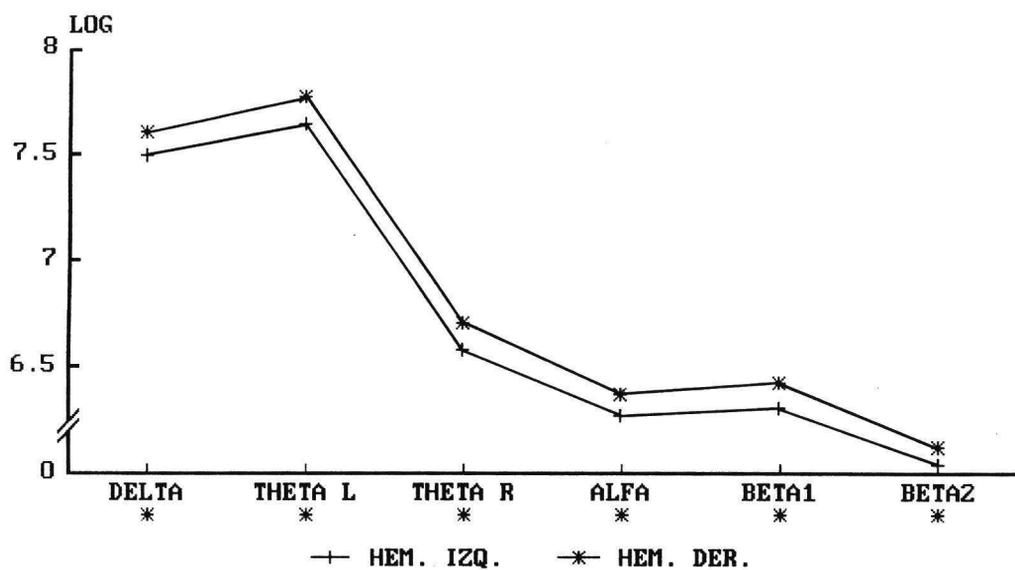


Fig. 2 Media de la potencia absoluta, transformada a logaritmos, en los hemisferios izquierdo (HEM. IZQ.) y derecho (HEM. DER.). Efecto principal.

Interacción grupos por condiciones.

No se observaron diferencias significativas entre los valores de potencia absoluta entre los diferentes grupos en la línea base, pero sí después de la administración de diazepam y entre las condiciones intragrupo, lo que indica que los efectos del diazepam sobre el EEG parecen depender de los esteroides gonadales y sexuales; por esta razón, decidimos poner los resultados de la interacción de grupos por condiciones en dos partes, en la primera se presentan los resultados de las ratas gonadectomizadas, sin tratamiento de reemplazo hormonal, y en la segunda parte se describen los resultados de la interacción de los grupos que recibieron esteroides gonadales.

Ratas gonadectomizadas sin tratamiento de reemplazo hormonal.

El diazepam, en comparación a la línea base, provocó en los machos un aumento de la potencia absoluta en las frecuencias rápidas, alfa, beta1 y beta2, en ambos parietales (Fig. 3).

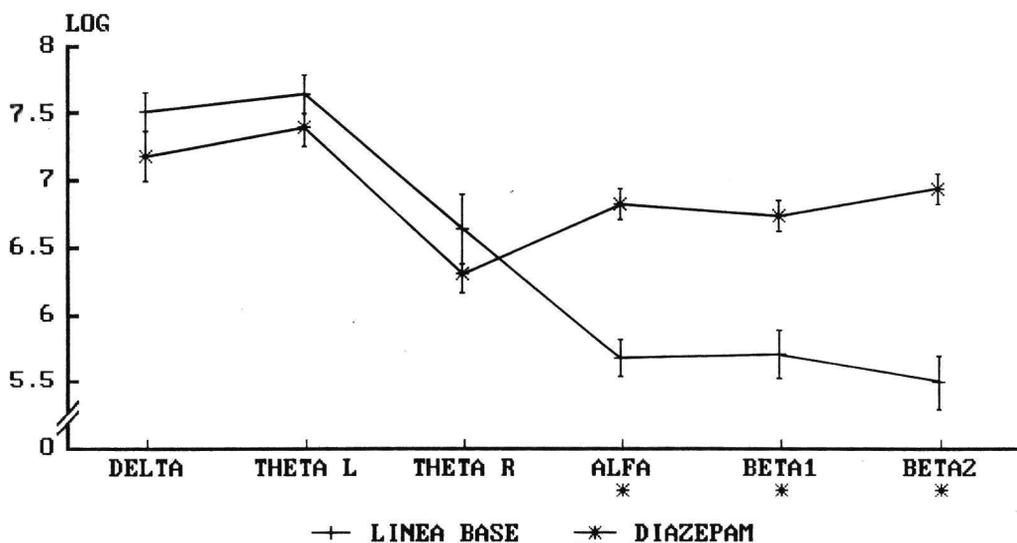


Fig. 3 Media y error estándar de la potencia absoluta, transformada a logaritmos, del grupo control de machos gonadectomizados, en las condiciones de línea base y diazepam.

En las hembras gonadectomizadas, el diazepam provocó, además, una disminución de la potencia absoluta en las frecuencias correspondientes a theta lento y a theta rápido, en ambos parietales (Fig. 4). El aumento en la potencia absoluta de alfa, beta1 y beta2, con respecto a la línea base, es significativamente menor en las hembras, que en los machos.

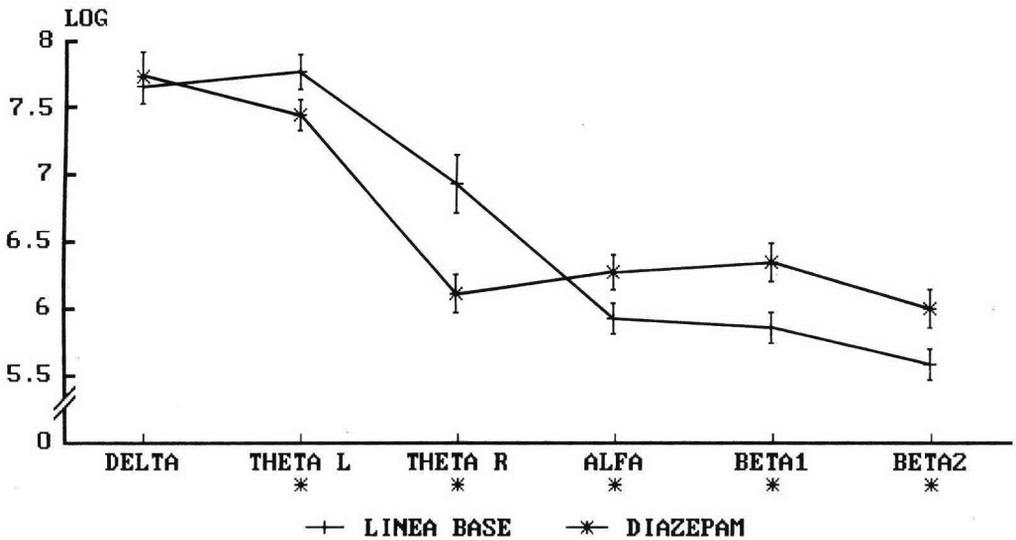


Fig. 4 Media y error estándar de la potencia absoluta, transformada a logaritmos, del grupo control de hembras gonadectomizadas, en las condiciones de línea base y diazepam.

Ratas gonadectomizadas con tratamiento de reemplazo hormonal.

Las Figs. 5 y 6 muestran los efectos del diazepam sobre la potencia absoluta en los grupos tratados con propionato de testosterona y con 5α -DHT. Se observa un aumento de la potencia absoluta en las frecuencias correspondientes al rango de alfa, beta1 y beta2, provocado por el diazepam, en ambos parietales, de estos dos grupos de machos. En cambio, la potencia absoluta de delta, aumenta sólo en el grupo de 5α -DHT. Estas diferencias no fueron significativas contra el grupo control de machos.

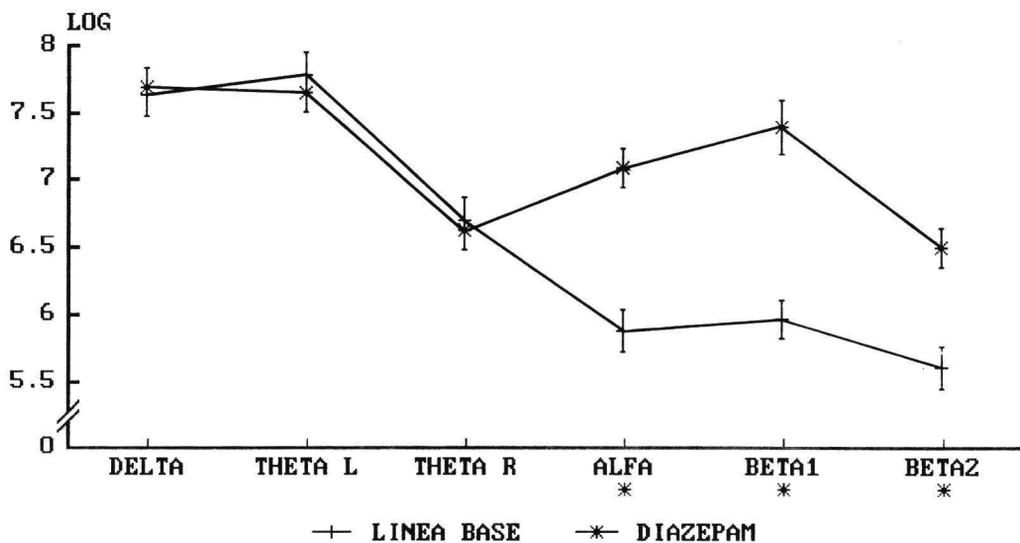


Fig. 5 Media y error estándar de la potencia absoluta, transformada a logaritmos, del grupo de machos gonadectomizados con restitución hormonal con propionato de testosterona, en las condiciones de línea base y diazepam.

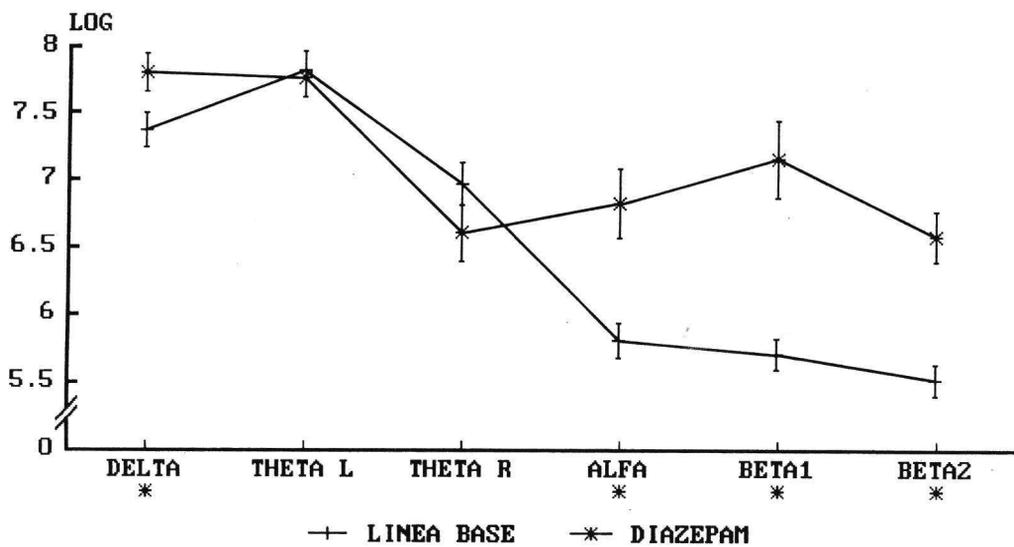


Fig. 6 Media y error estándar de la potencia absoluta, transformada a logaritmos, del grupo de machos gonadectomizados con restitución hormonal con 5α -dihidrotestosterona, en las condiciones de línea base y diazepam.

Los efectos del diazepam sobre la potencia absoluta en las hembras tratadas con benzoato de estradiol o con progesterona, que se muestran en las Figs. 7 y 8, fueron diferentes entre ellas, y entre el grupo de benzoato de estradiol y el grupo control de hembras. La potencia absoluta en las frecuencias rápidas alfa, beta1 y beta2 también aumenta en comparación a la línea base, en los grupos de benzoato de estradiol y progesterona. Aunque este aumento fue mayor al observado en el grupo control de hembras, la diferencia no fue significativa. Por otro lado, la disminución de la potencia absoluta que se observa en theta lento y en theta rápido en el grupo control de hembras, se observó también en el grupo de hembras tratadas con progesterona, pero se encuentra ausente en el grupo de hembras tratadas con benzoato de estradiol.

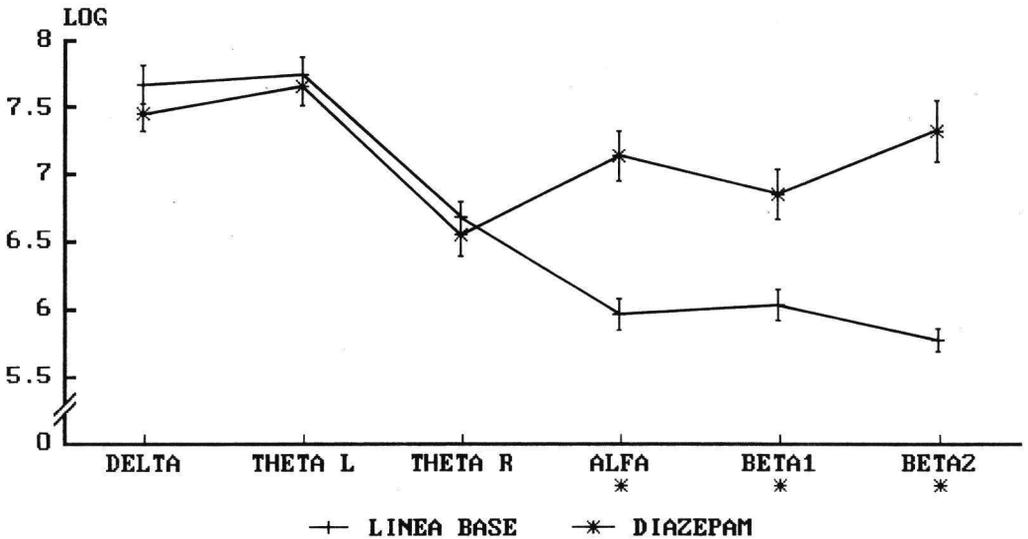


Fig. 7 Media y error estándar de la potencia absoluta, transformada a logaritmos, del grupo de hembras gonadectomizadas con restitución hormonal con benzoato de estradiol, en las condiciones de línea base y diazepam.

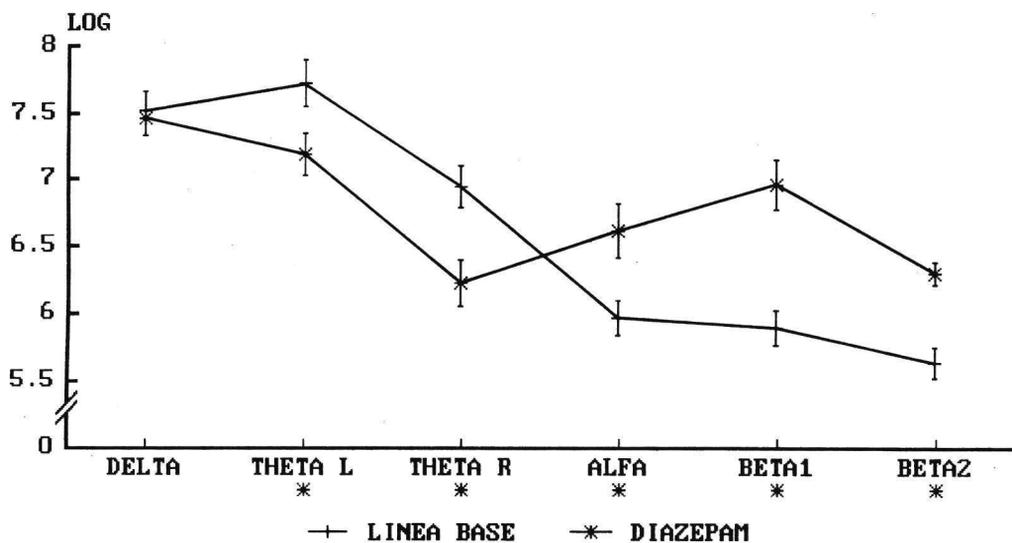


Fig. 8 Media y error estándar de la potencia absoluta, transformada a logaritmos, del grupo de hembras gonadectomizadas con restitución hormonal con progesterona, en las condiciones de línea base y diazepam.

Interacción grupos por condiciones por hemisferios.

El diazepam muestra un claro efecto asimétrico sobre la potencia absoluta en el grupo tratado con progesterona. La potencia absoluta fue similar en ambos parietales durante el día de registro de línea base y durante el día de registro con vehículo, pero con la inyección del diazepam, la potencia absoluta de theta lento, alfa, beta1, beta2 y en la banda total, fue mayor en el parietal derecho, provocando una clara asimetría entre los parietales. Esta asimetría es el resultado de la disminución de la potencia absoluta de theta lento en el parietal izquierdo y del aumento de la potencia absoluta de alfa, beta1, beta2 y en la banda total en el parietal derecho con la administración del diazepam (Fig. 9).

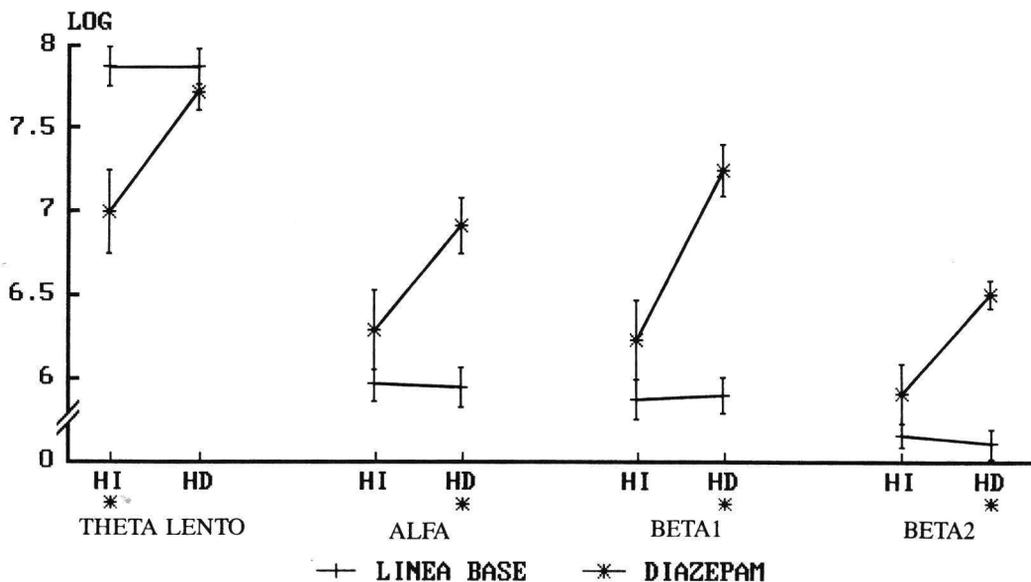


Fig. 9 Media y error estándar de la potencia absoluta, transformada a logaritmos, en los hemisferios izquierdo (HI) y derecho (HD) del grupo de hembras gonadectomizadas con restitución hormonal con progesterona, en las condiciones de línea base y diazepam. Interacción grupos por hemisferios por derivaciones.

POTENCIA RELATIVA

Los resultados obtenidos de los ANDEVA's mixtos de tres factores, grupos por condiciones por hemisferios (tabla2), son similares a los obtenidos en la potencia absoluta y los corroboran; por lo que sólo se describirán brevemente. Se encontraron efectos principales significativos para:

- a) El factor grupos, en las frecuencias correspondientes a delta, alfa y beta1.
- b) El factor condiciones, en las frecuencias correspondientes a theta lento, theta rápido, alfa, beta1 y beta2.
- c) El factor hemisferios únicamente fue significativo para las frecuencias correspondientes a beta2.

Se encontraron interacciones significativas para: a) grupos por condiciones en las frecuencias correspondientes a theta lento, theta rápido, alfa, beta1 y beta2, b) grupos por hemisferios solamente para las frecuencias correspondientes a theta rápido.

TABLA 2. Valores de probabilidad obtenidos en los ANDEVA's con la potencia relativa, transformada a logaritmos, de las frecuencias correspondientes a delta, theta lento, theta rápido, alfa, beta1 y beta2, para los factores: A = Grupos, B = Condiciones y C = Hemisferios.

	GRUPOS	CONDIC.	HEMISF.	A x B	A x C	B x C	AxBxC
GL.	(5,54)	(2,108)	(1,54)	(2,108)	(5,54)	(2,108)	(10,108)
DELTA	0.0092	0.5737	0.8876	0.1083	0.0622	0.1879	0.9881
THETA L	0.0500	0.0001	0.7848	0.0001	0.4043	0.3246	0.8466
THETA R	0.1395	0.0001	0.6591	0.0001	0.0056	0.5793	0.5035
ALFA	0.0029	0.0001	0.0604	0.0001	0.6553	0.0771	0.5343
BETA1	0.0010	0.0001	0.6538	0.0001	0.0959	0.3079	0.8805
BETA2	0.0670	0.0001	0.0010	0.0001	0.7639	0.1897	0.5071

Efecto de grupos.

Dado que las bandas que mostraron efectos principales de grupos, también mostraron interacciones significativas (excepto en el caso de delta), con el factor condiciones, aquí sólo se describirá la banda delta, mientras que los resultados de las bandas alfa y beta1 se incluirán dentro de las interacciones.

Para la banda delta, se observaron diferencias entre el grupo de aceite-hembras y el grupo de progesterona, siendo mayor la potencia relativa en el grupo de aceite-hembras en comparación al grupo de progesterona (Fig. 10).

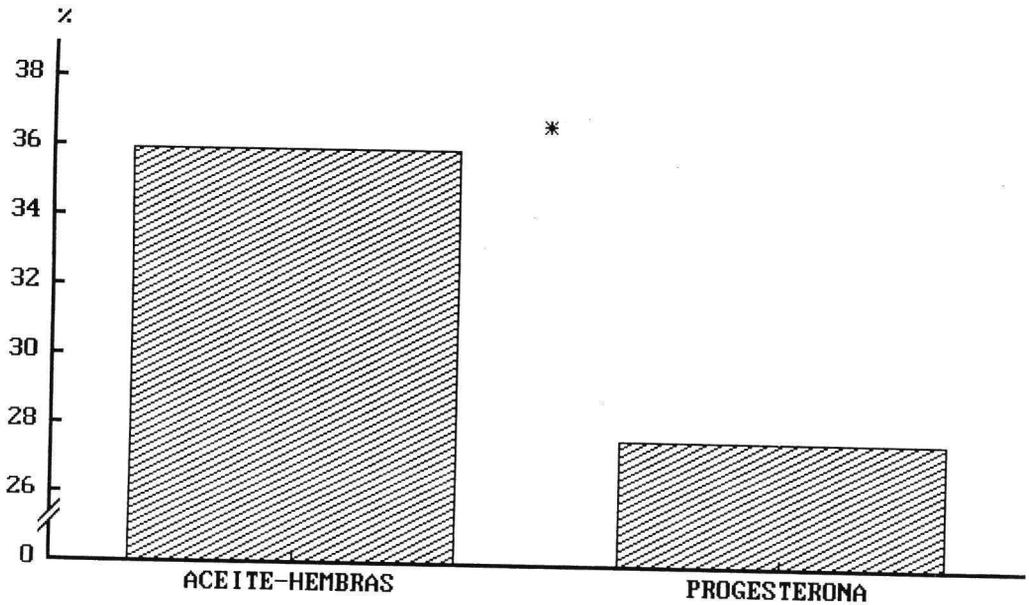


Fig. 10 Media de la potencia relativa de la banda de delta, de los grupos de aceite-hembras y progesterona. Efecto principal.

Efecto de condiciones.

La comparación entre las condiciones mostró que la potencia relativa de las frecuencias correspondientes a theta lento y a theta rápido disminuyen con la inyección de diazepam, en comparación con la línea base (Fig. 11). Las frecuencias correspondientes a alfa, beta1 y beta2, presentan el efecto contrario, es decir, aumenta su potencia relativa con la inyección del diazepam en comparación a la línea base (Fig. 12).

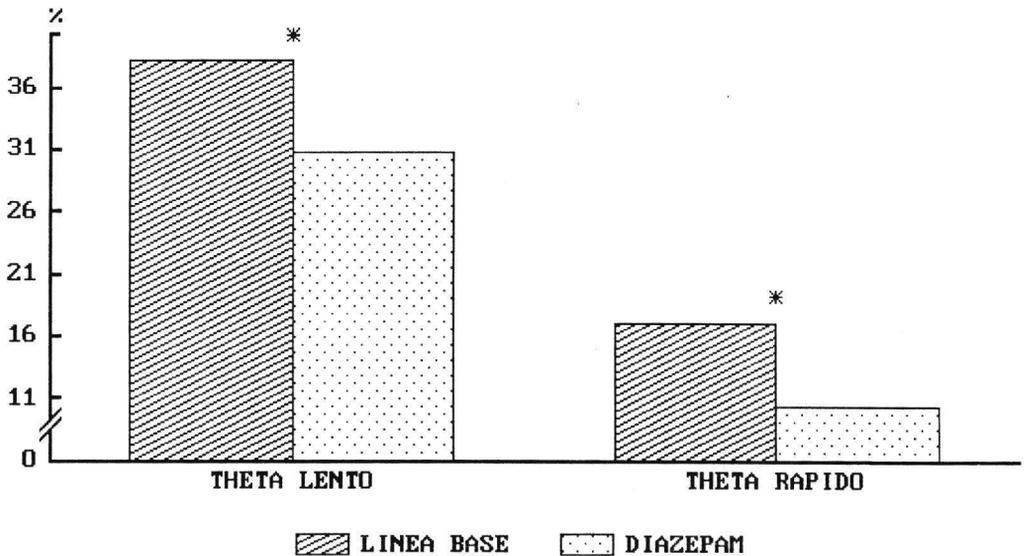


Fig. 11 Media de la potencia relativa de las bandas de theta lento y theta rápido en las condiciones de línea base y diazepam. Efecto principal.

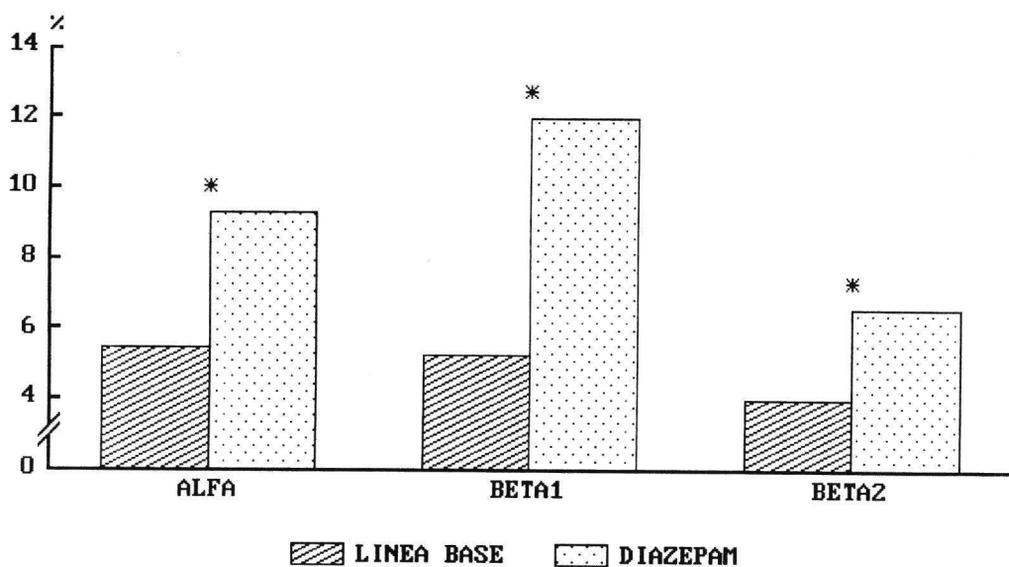


Fig. 12 Media de la potencia relativa de las bandas alfa, beta1 y beta2 en las condiciones de línea base y diazepam. Efecto principal.

Efecto de hemisferios.

El factor hemisferios mostró efecto principal significativo para las frecuencias correspondientes a beta2; la potencia relativa del hemisferio izquierdo es mayor que la del hemisferio derecho (Fig. 13).

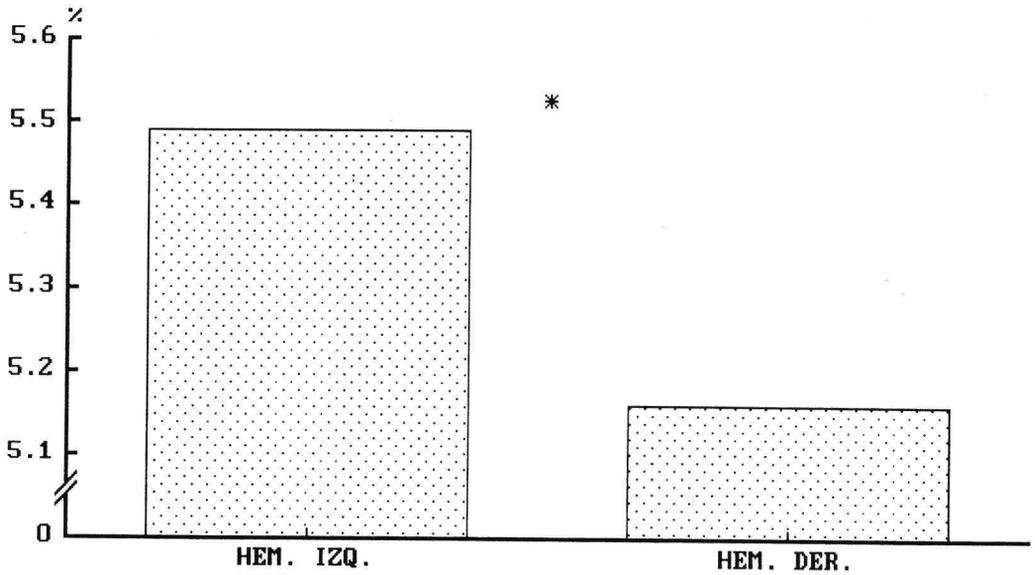


Fig. 13 Media de la potencia relativa de la banda de beta2 en los hemisferios izquierdo (HEM. IZQ.) y derecho (HEM. DER.). Efecto principal.

Interacción grupos por condiciones.

Como ya se mencionó, las frecuencias correspondientes a theta lento, theta rápido, alfa, beta1 y beta2 mostraron interacciones significativas entre grupos y condiciones, las cuales corroboran los resultados obtenidos con la potencia absoluta. No hubo diferencias significativas en la línea base entre ninguno de los grupos para ninguna banda.

CORRELACION INTERPARIETAL

Los resultados de los ANDEVA's mixtos de dos factores, grupos por condiciones (tabla3), mostraron efectos principales significativos para el factor condiciones en todas las bandas, e interacción entre grupos y condiciones para las frecuencias correspondientes a theta rápido, alfa y beta2.

TABLA 3. Valores de probabilidad obtenidos en los ANDEVA's con la correlación interparietal, transformada a puntajes Z de Fisher, de las frecuencias correspondientes a delta, theta lento, theta rápido, alfa, beta1, beta2 y banda total, para los factores: A = Grupos y B = Condiciones.

	GRUPOS	CONDIC.	A x B
GL.	(5, 54)	(2, 108)	(2, 108)
DELTA	0.0924	0.0015	0.5437
THETA L	0.4065	0.0001	0.4209
THETA R	0.4005	0.0001	0.0013
ALFA	0.5154	0.0001	0.0112
BETA1	0.2550	0.0001	0.1392
BETA2	0.1874	0.0001	0.0014
TOTAL	0.3031	0.0001	0.1579

Efecto de condiciones.

El diazepam provocó una disminución de la correlación interparietal en las frecuencias correspondientes a theta lento, theta rápido, alfa, beta1, beta2 y la banda total en comparación con la línea base. Las frecuencias correspondientes a delta muestran el efecto contrario, es decir, aumenta la correlación interparietal con la inyección de diazepam (Fig. 14).

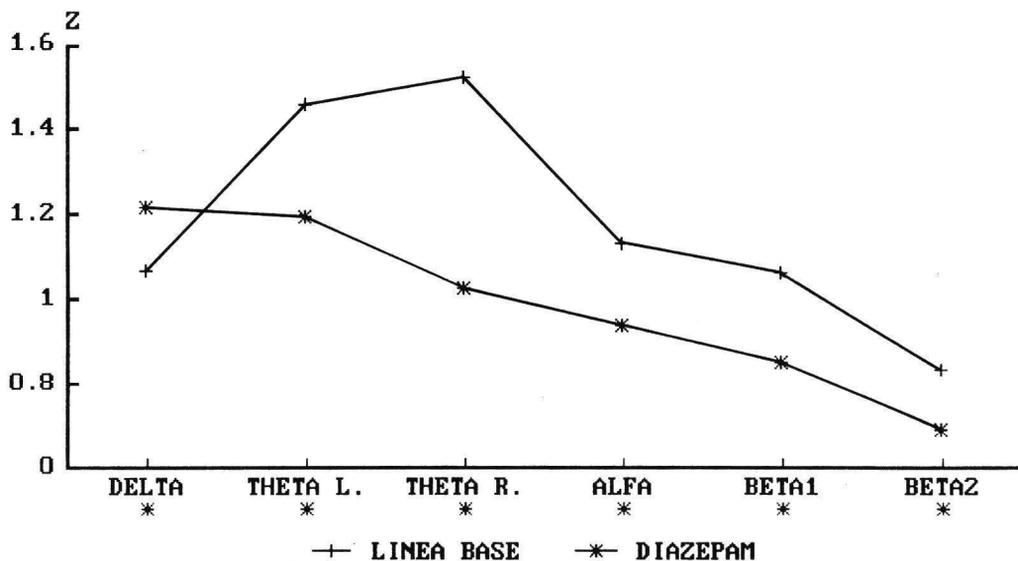


Fig. 14 Media de la correlación interparietal, transformada a puntajes Z de Fisher, en las condiciones de línea base y diazepam. Efecto principal.

Interacción grupos por condiciones.

Se observaron resultados significativos en las interacciones de los grupos con el diazepam para las frecuencias correspondientes a theta rápido, alfa y beta2. En las frecuencias correspondientes a theta rápido se observa una disminución significativa en la correlación interparietal, posterior a la inyección del diazepam, en todos los grupos excepto en el grupo de benzoato de estradiol donde la tendencia es la misma (Fig. 15).

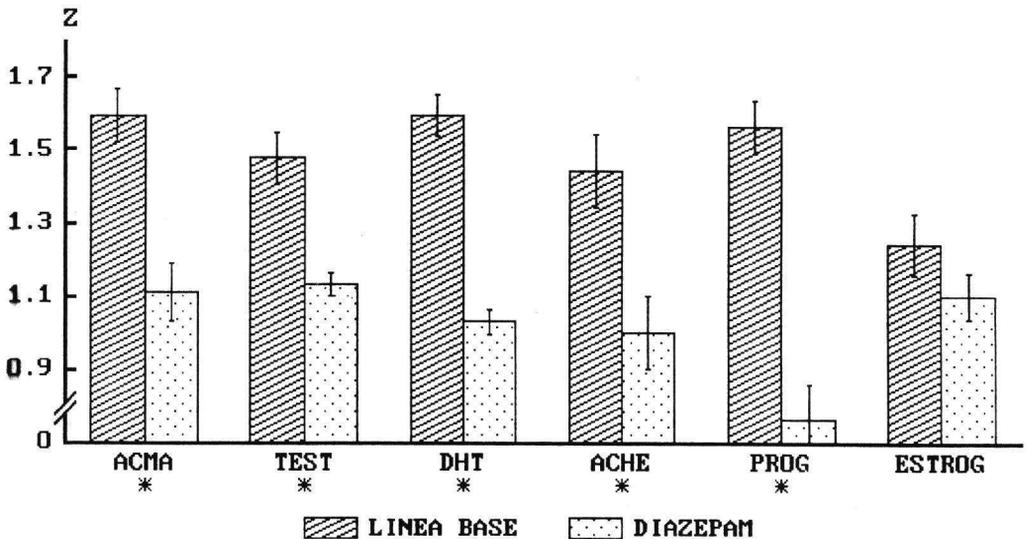


Fig. 15 Media y error estándar de la correlación interparietal, transformada a puntajes Z de Fisher, de la banda theta rápido de los grupos: machos-control (ACMA), machos tratados con propionato de testosterona (TEST), machos tratados con 5 α -dihidrotestosterona (DHT), hembras control (ACHE), hembras tratadas con progesterona (PROG) y hembras tratadas con benzoato de estradiol (ESTROG), en las condiciones de línea base y diazepam.

Para las frecuencias correspondientes a alfa y beta2 sólo se observan diferencias significativas en el grupo tratado con progesterona: la correlación interparietal es menor después de la inyección del diazepam, en comparación a la línea base; en todos los demás grupos se observa la misma tendencia, pero no es significativa (Fig. 16 y 17).

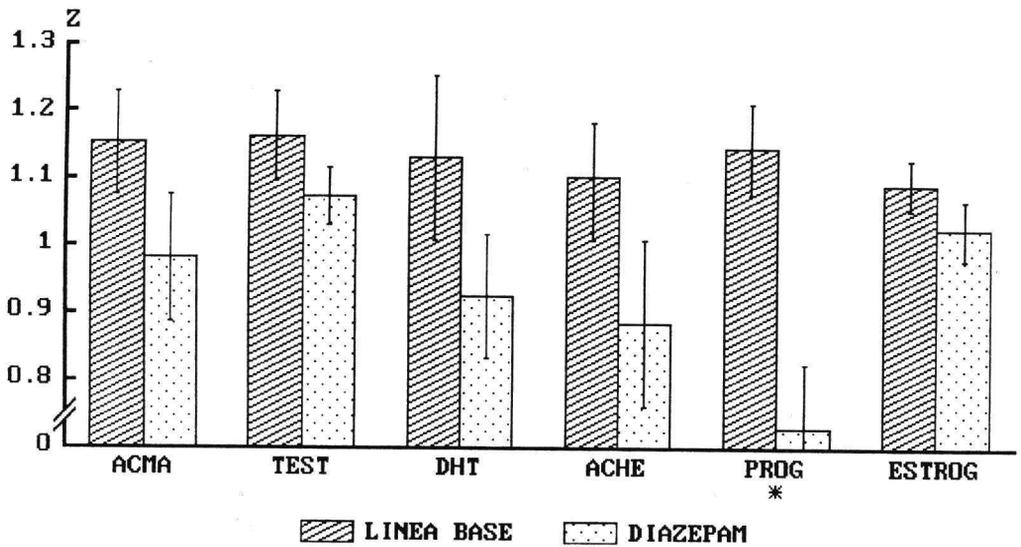


Fig. 16 Media y error estándar de la correlación interparietal, transformada a puntajes Z de Fisher, de la banda alfa de los grupos: machos-control (ACMA), machos tratados con propionato de testosterona (TEST), machos tratados con 5 α -dihidrotestosterona (DHT), hembras control (ACHE), hembras tratadas con progesterona (PROG) y hembras tratadas con benzoato de estradiol (ESTROG), en las condiciones de línea base y diazepam.

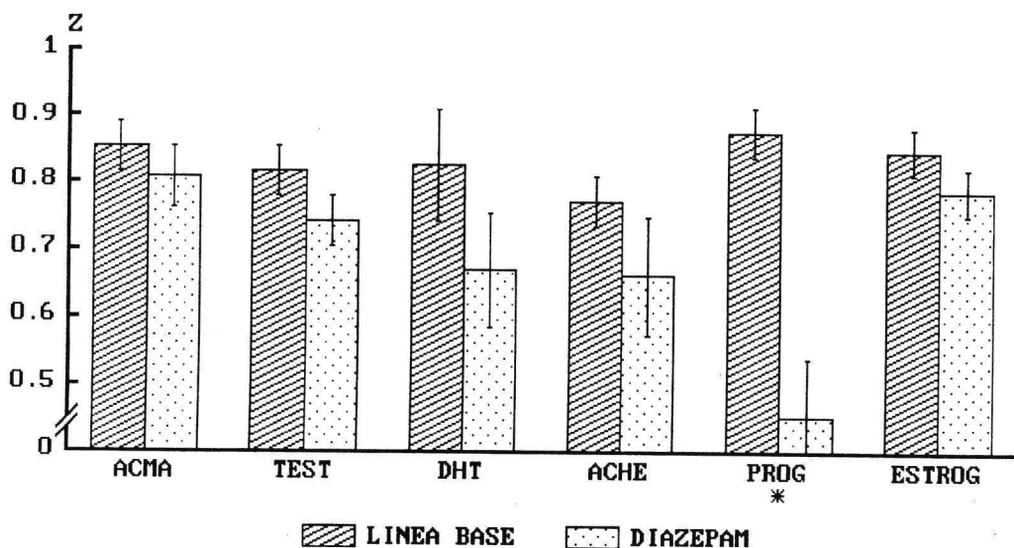


Fig. 17 Media y error estándar de la correlación interparietal, transformada a puntajes Z de Fisher, de la banda beta2 de los grupos: machos-control (ACMA), machos tratados con propionato de testosterona (TEST), machos tratados con 5 α -dihidrotestosterona (DHT), hembras control (ACHE), hembras tratadas con progesterona (PROG) y hembras tratadas con benzoato de estradiol (ESTROG), en las condiciones de línea base y diazepam.

PRUEBA DEL LABERINTO ELEVADO

El ANDEVA mixto de dos factores (grupos por condiciones) mostró diferencias significativas sólo para el factor condiciones ($F(1,24) = 32.55$; $p(F) < 0.00005$). Bajo el efecto del diazepam, todos los grupos pasaron más tiempo en el brazo abierto (Media = 219.5) del laberinto elevado que en el brazo cerrado (Media = 80.5)(Fig. 18).

Con el empleo del vehículo del diazepam se observa el efecto contrario, es decir, todos los grupos de pasaron más tiempo en el brazo cerrado (Media = 188) del laberinto elevado que en el brazo abierto (Media = 112).

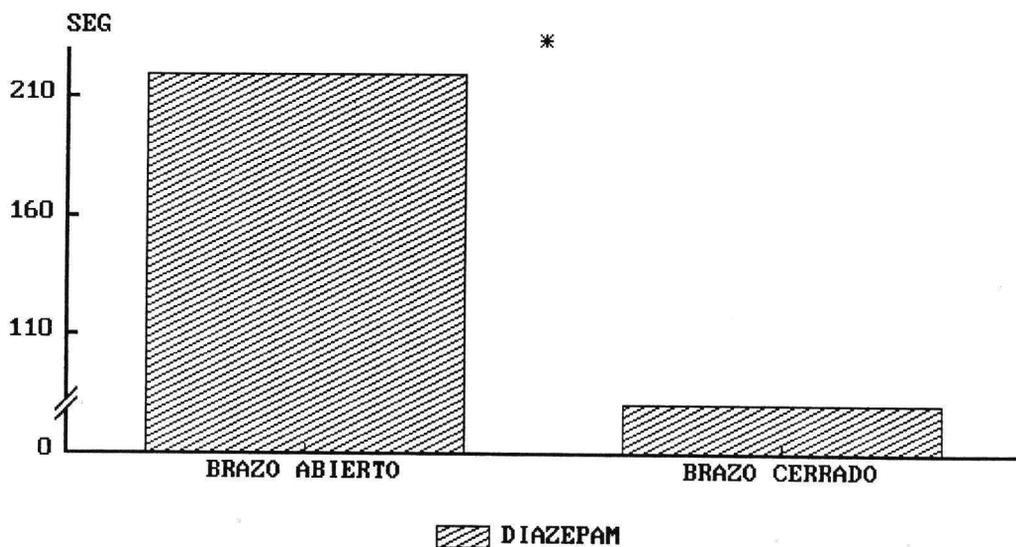


Fig. 18 Promedio del tiempo de permanencia (en segundos) en el brazo abierto y en el brazo cerrado del laberinto elevado en forma de cruz para todos los grupos en la condición diazepam. Efecto principal.

IX. DISCUSION

Esta investigación agrega nueva información acerca de los efectos del diazepam sobre la actividad eléctrica cortical. Además de los cambios observados en el espectro de potencia, similares a los ya descritos en la literatura, el diazepam provocó cambios generales en la correlación interparietal del EEG. Los resultados muestran un patrón de actividad eléctrica cortical con el diazepam, diferente al provocado con la privación de sueño y con el estrés, y confirma la hipótesis planteada de un efecto diferencial del diazepam dependiente del sexo y de los esteroides gonadales.

El acoplamiento interhemisférico de la actividad EEG en regiones parietales fue afectada por el diazepam de dos maneras. La correlación interparietal de la actividad delta aumentó, mientras que disminuyó en el resto de las bandas. Sin embargo, más importante que los efectos generales encontrados con el diazepam, son los resultados de una respuesta diferencial al diazepam en función del sexo y de las hormonas sexuales.

Como propusimos, el diazepam muestra diferentes efectos sobre la actividad electroencefalográfica dependiendo del sexo y de los esteroides sexuales. El grupo de hembras gonadectomizadas sin tratamiento de reemplazo hormonal, fue más sensible al diazepam que el grupo de machos en las mismas condiciones. En los machos gonadectomizados, el diazepam aumentó la potencia absoluta de las frecuencias rápidas alfa, beta1 y beta2 sin afectar la actividad lenta y rápida de theta; en cambio, en las hembras gonadectomizadas el diazepam, además de aumentar la potencia absoluta de las frecuencias rápidas alfa, beta1 y beta2, disminuyó la potencia absoluta de la actividad lenta y rápida de theta. Aunque en ambos grupos aumentó significativamente la potencia absoluta de alfa, beta1 y beta2, este cambio fue menor en las hembras que el observado en los machos.

En razón a que los grupos fueron gonadectomizados después de la pubertad, los efectos diferenciales del diazepam en los machos y en las hembras gonadectomizadas no pueden ser

atribuidos a la acción activadora de las hormonas, y es muy probable que se deba a diferencias establecidas durante la etapa crítica de diferenciación sexual en el periodo perinatal. Se sabe que durante este periodo ocurre una organización diferencial en el Sistema Nervioso Central que hace que cada sexo muestre, posteriormente, diferente susceptibilidad a la acción de las hormonas y de los fármacos.

Estos cambios sobre la potencia absoluta de las bandas, provocados por el diazepam, concuerdan con los observados por Kleinlogel (1990), quien encontró una disminución en la potencia absoluta de las frecuencias comprendidas entre 1 y 10 Hz y un aumento en las frecuencias mayores a 20 Hz con una dosis similar de diazepam (10 mg/Kg). Los resultados, también coinciden con los efectos observados con triazolam, un hipnótico, potente agonista del receptor a benzodiazepinas e inductor de sueño en ratas, que provoca un aumento en la potencia absoluta en el rango inferior de la banda delta (0.5 - 2.5 Hz) y una disminución de la potencia absoluta en el rango superior de esta misma banda (2.6 - 3.5 Hz) y en la banda theta, aunque en estos trabajos no se tomó en cuenta el sexo (Trachsel y cols., 1992).

Delta y las frecuencias rápidas son presumiblemente de origen cortical. Delta refleja procesos de desactivación cortical, mientras que las frecuencias rápidas representan estados de alertamiento (Steriade y cols., 1996). La actividad theta en las ratas, aun cuando se registra sobre la superficie cortical de la corteza parietal, es más probable que tenga su origen en el hipocampo y que se registre en las regiones posteriores de la corteza por conducción en volumen (Winson, 1974; Bland y Whishaw, 1976; Kleinlogel, 1990; Krijzer en Kleinlogel, 1990); esta actividad en la rata acompaña los estados de alertamiento (Sainsbury y Montoya, 1984) y estrés (Iwata y Mikuni, 1980).

Los resultados observados en los machos gonadectomizados indican que el efecto inducido por una dosis ansiolítica de diazepam, se acompañan por un aumento en los procesos de activación cortical (beta), sin afectar la activación de origen hipocámpica (theta). En cambio, los resultados encontrados en las hembras gonadectomizadas indican que los efectos provocados por una dosis de diazepam se acompañan de un aumento en la activación cortical, menor que la observada en los machos, y una disminución en la activación del hipocampo, sin afectar la

desactivación cortical. Si consideramos que el ritmo theta está relacionado con procesos de atención, el efecto del diazepam, sobre este ritmo hipocámpico, en las hembras reflejaría probablemente un descenso en los estados de atención.

El efecto del diazepam sobre la actividad theta no es sorprendente, ya que el hipocampo es una de las estructuras cerebrales con mayor actividad GABA, y los efectos del diazepam sobre esta estructura ya han sido explorados (Harrison y cols., 1987). Las infusiones en diazepam de rebanadas de CA1 del hipocampo, reducen de manera clara la respuesta excitatoria sináptica de células piramidales, generada por estimulación de las colaterales de Schaffer (Weiss y cols., 1995).

El dimorfismo sexual en la respuesta de la corteza y en la actividad del hipocampo al diazepam es congruente con diferencias sexuales previas reportadas para estas estructuras. La potencia relativa de theta es significativamente mayor en los machos que en las hembras intactas, lo que nos indica una mayor activación hipocámpica en los machos (Juárez y cols., 1994).

Diamond y cols. (1981, 1983), encontraron que el hipocampo y la corteza cerebral presentan dominancia diferente en cuanto a su grosor. El macho presenta una dominancia cerebral derecha, mientras que las hembras, a la misma edad, presentan dominancia izquierda; lo mismo sucede en el hipocampo.

El efecto de la experiencia temprana sobre la organización ultraestructural de las neuronas de la corteza y del hipocampo, interactúa con el sexo. Las hembras criadas en ambientes enriquecidos o empobrecidos muestran grandes cambios en el hipocampo (Juraska y cols., 1985), mientras que los machos muestran mayores efectos sobre la corteza occipital (Juraska, 1984).

La masculinización de las características del hipocampo, tanto estructurales como funcionales, depende de los efectos organizadores de la testosterona durante el periodo crítico prenatal de diferenciación sexual del cerebro (Juárez y cols., 1994); por lo tanto, no es sorprendente que las hembras muestren mayor fragilidad que los machos en la actividad theta.

En el grupo tratado con propionato de testosterona, los efectos provocados por el diazepam en la potencia absoluta de las frecuencias correspondientes a alfa, beta1 y beta2 fueron mayores;

el aumento en la potencia absoluta de estas bandas con el diazepam fue más evidente que el observado en el grupo control; este efecto activador es congruente con el efecto organizador de la testosterona, que administrada en el período crítico prenatal provoca un aumento en la potencia absoluta del EEG (Juárez y cols., 1995B).

Los demás efectos del diazepam en los machos no fueron modificados por la introducción de testosterona. Las respuestas similares con o sin andrógenos sugieren que la mayoría de los efectos del diazepam sobre el EEG cortical en los machos depende de una acción organizadora de éstos, la cual, no es modificada por los efectos activadores de la testosterona.

A diferencia de los machos, los efectos del diazepam sobre el EEG en las hembras depende tanto de los efectos organizadores como de los efectos activadores de los esteroides sexuales, ya que la introducción de esteroides femeninos modificó la respuesta del EEG al diazepam en las ratas hembras.

El tratamiento con estrógenos y progesterona, en las hembras gonadectomizadas, modificó la intensidad de la respuesta al diazepam en las frecuencias rápidas. Las hembras gonadectomizadas tratadas con estrógenos o con progesterona, mostraron un aumento en la potencia absoluta de las frecuencias rápidas, después de la administración del diazepam; este efecto fue similar al observado en los machos, aunque en estos últimos es independiente de la condición hormonal. La progesterona y, particularmente, el benzoato de estradiol, parecen potenciar los efectos del diazepam sobre la potencia absoluta de las frecuencias rápidas, ya que el aumento observado es mayor, aunque no significativamente, que en el grupo tratado con aceite. Además, el benzoato de estradiol y la progesterona mostraron respuestas parcialmente diferentes.

El benzoato de estradiol abolió la disminución en la potencia absoluta de las ondas lentas y rápidas de theta y acentuó el aumento observado con el diazepam en las ratas hembras controles en la potencia absoluta de las frecuencias rápidas. Pareciera que el benzoato de estradiol "protege" a las ratas hembras contra los efectos del diazepam sobre la actividad theta, igualándolas a los machos.

La combinación de diazepam con progesterona indujo algunas diferencias comparadas con los

machos, con las hembras controles y con el grupo tratado con benzoato de estradiol. En primer término, el tratamiento con progesterona no modificó los efectos del diazepam sobre la potencia absoluta de las ondas lentas y rápidas de theta que se observa en los grupos de aceite hembras y estrógenos, en los cuales disminuye la potencia absoluta de estas bandas de una manera similar. En segundo término, el diazepam junto con la progesterona provocó una respuesta asimétrica, que se encuentra ausente en los otros grupos; el grupo de progesterona fue el único que mostró asimetría izquierda-derecha con la administración del diazepam, la potencia absoluta fue similar en el parietal izquierdo y en el parietal derecho, durante los días de registro de línea base y de vehículo, en cambio el día de registro de diazepam se observa una disminución significativa en la potencia absoluta de theta lento en el parietal izquierdo, mientras que el aumento en la potencia absoluta de alfa, beta1 y beta2 fue mayor en el parietal derecho, provocando asimetría interparietal, como si el diazepam afectara más al hipocampo izquierdo y a la corteza derecha. Y finalmente, aunque se observó un efecto global del diazepam sobre la correlación interparietal, aumentando la correlación interparietal de la banda delta en todos los grupos y disminuyendo la correlación interparietal de las frecuencias correspondientes a theta lento, theta rápido y beta1 en todos los grupos, el diazepam disminuyó selectivamente la correlación interparietal de alfa y beta2 en las hembras tratadas con progesterona.

El efecto diferencial del diazepam en las hembras tratadas con progesterona no es sorprendente ya que el complejo receptor GABAA/benzodiacepina es modulado por los metabolitos de la progesterona y es consistente con los efectos antinociceptivos (Frye y Duncan, 1994; Kavaliers y Wiebe, 1987), anticonvulsivos (Frye, 1995; Tauboll y Gjerstad, 1993; Melchior y Allen, 1992), hipnóticos y anestésicos (Man Mok y cols., 1992; Gyermek y cols., 1967, 1968) de la progesterona.

Por todo lo anterior, los cambios en la actividad EEG en respuesta al diazepam en las hembras tratadas con progesterona pueden considerarse de mayor intensidad que la respuesta al diazepam mostrada por los machos o por las hembras desprovistas de progesterona o con estrógenos, porque además de la disminución en la potencia absoluta de theta y el aumento en

la potencia absoluta de las frecuencias rápidas, el diazepam indujo en las hembras tratadas con progesterona asimetría y un mayor desacoplamiento interparietal. Los efectos diferenciales del diazepam en las hembras tratadas con progesterona no son inesperados dado que el receptor GABA-benzodiazepina es modulado por los metabolitos de la progesterona (Harrison y cols., 1987; Majeswka y cols., 1986; Picazo y Fernández-Guasti, 1993), y la progesterona es conocida por sus efectos hipnóticos (Lancel y cols., 1996; Heuser y cols., 1967), anestésicos (Selye, 1942) y ansiolíticos (Fernández-Guasti y Picazo, 1992).

La actividad electroencefalográfica posterior a la administración de una dosis de diazepam, es diferente a la observada después de la privación de sueño paradójico, ya que aunque en ambos casos disminuye la correlación; después de la privación de sueño aumenta la potencia de las frecuencias correspondientes al theta lento y con el empleo del ansiolítico, disminuye.

X. CONCLUSIONES

1. Tanto en las hembras como los machos, sin y con reemplazo hormonal, el diazepam provocó un aumento de la potencia absoluta de las frecuencias rápidas (alfa, beta1 y beta2). Este efecto refleja un aumento en los procesos de activación cortical.
2. Tanto en las hembras como en los machos con tratamiento de reemplazo hormonal, el efecto del diazepam sobre la potencia absoluta de las frecuencias rápidas se acentuó; esto es, las hormonas parecen potenciar la acción del diazepam sobre la activación cortical.
3. En las hembras gonadectomizadas sin tratamiento de reemplazo hormonal, además del efecto sobre la potencia absoluta de las frecuencias rápidas, el diazepam disminuyó la potencia absoluta de la actividad lenta y rápida de theta, mientras que en los machos no se observó ningún cambio. Esto puede significar que en las hembras gonadectomizadas sin tratamiento de reemplazo hormonal, además de la activación cortical, el diazepam provoca disminución de la activación del hipocampo.
4. En las hembras gonadectomizadas con tratamiento con benzoato de estradiol, se abolió la disminución en la potencia absoluta de las frecuencias lentas y rápidas de theta y se acentuó el aumento observado en las ratas hembras controles en la potencia absoluta de las frecuencias rápidas, inducido por el diazepam. Tal pareciera que el benzoato de estradiol "protege" a las ratas hembras contra los efectos del diazepam sobre la actividad theta, igualándolas a los machos.
5. La combinación de diazepam y progesterona provocó una respuesta asimétrica: disminución de la potencia absoluta de theta lento en el parietal izquierdo y aumento de la potencia absoluta de alfa, beta1 y beta2 en el parietal derecho, como si el diazepam afectará más al hipocampo izquierdo y a la corteza derecha.
6. La potencia relativa confirma los resultados de la potencia absoluta.
7. Tanto en las hembras como en los machos sin y con reemplazo hormonal, el diazepam provocó aumento de la correlación interparietal de la actividad delta y disminución en las frecuencias de theta lento, theta rápido y beta1.

8. En el grupo de hembras con reemplazo hormonal de progesterona, además de los efectos sobre la correlación interparietal de delta, theta lento, theta rápido y beta1, el diazepam provocó la disminución de la correlación interparietal de alfa y beta2.
9. Del punto 3 podemos observar un efecto organizador de hormonas en machos y hembras y del punto 2 podemos observar un efecto activador de las hormonas en los machos y en las hembras.
10. De los puntos 4, 5 y 8, un efecto activador en hembras.
11. El análisis de la correlación interparietal contribuye con un nuevo conocimiento para conocer el efecto de las benzodiacepinas sobre la actividad cerebral.
12. El registro de la actividad EEG mostró ser una herramienta eficaz para evaluar el efecto combinado de las hormonas sexuales y el diazepam en ratas Wistar hembras y machos.

XI. REFERENCIAS

- Abbot, F.V. y Bonder, M. Pain management the rat. Soc. Neuroscie. Abstracts, 22, (1996), 100, 17.
- Alonso, J., Castellano, A., Alfonso, D. y Rodríguez, M. Sex Differences in behavioral despair: relationships between behavioral despair and open field activity. *Physiol. Behav.* 49 (1991) 69-72.
- Arce, C. Cambios electroencefalográficos relacionados al sexo y a la habilidad espacial. Tesis de Maestría en Psicobiología, (1993) U.N.A.M., México.
- Anderson, E. Sex differences in timidity in normal and gonadectomized rats. *J. Psychol.*, 59 (1941) 139-153.
- Bancroft, J. y Backstrom, T. Premenstrual syndrome review. *Clin. Endocrinol.*, 22 (1985) 313-336.
- Barker, L. y Owen, G. Electrophysiological pharmacology of GABA and diazepam in cultured SNC neurons. En R.W. Olsen and J.C. Venter (Eds.). *Benzodiazepine/GABA receptors and chloride channels: structural and functional properties.* Alan R. Liss, Inc., New York (1986) 135.
- Barret, J. Recent developments in animal models of anxiety and anxiolytic drugs. En Mendlewicz J. y Racagni G. (Eds.). *Target receptors for anxiolytics: from molecular pharmacology to therapeutics.* Int. Acad. Biomed. Drug Res. Basel Karger, 3 (1992) 24-33.
- Beatty, W. y Fessler, G. Ontogeny of sex differences in open-field behavior and sensitivity to electric shock in the rat. *Physiol. Behav.*, 16 (1976) 413-417.
- Besser, R., Hornung, K. y Theisohn, M. EEG changes in patients during the introduction of carbamazepine. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 83 (1992) 19-23.
- Benson, H., Herd, J., Morse, W., y Kelleher, W. Hypotensive effects of chloriazepoxide, amobarbital and chlorpromazine on behavioral induced elevated arterial blood pressure in the squirrel monkey. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 173 (1970) 399-406.
- Beyer, C. y González-Mariscal, G. Effects of progesterone and natural progestins in brain. En Negro-Vilar, A. y Pérez-Palacios, G. (Eds.). *Reproduction, Growth and Development.* Raven Pres, New York, review 71, (1991) 199-208.
- Bland, B. y Wishaw, K. Generators and topography of hippocampal theta (RSA) in the anaesthetized and freely moving rat. *Brain Res.*, 118 (1976) 259-280.
- Blizard, D., Lippman, R. y Chen, J. Sex differences in open-field behavior in the rat: the inductive and activational role of gonadal hormones. *Physiol. Behav.*, 14 (1975) 601-608.
- Broadhurst, L. Determinants of emotionality in the rat. I. Situational factors. *Br. J. Psychol.*, 48 (1957) 1-12.
- Broekkamp, C., Berendsen, H., Jenck, F. y Van Delfi, A. Animal models for anxiety and response to serotonergic drugs. *Psychopat.*, 22 (1989) 2-12.
- Cattaneo, E., Mantero, G. y Maggi, A. Regulation of the gabaergic transmission by estrogens

in the CNS of rat. *Pharmacolog. Resear. Com.*, 19:12 (1987) 971-972.

Christmas, A. y Maxwell, D. A comparison of the effects of some benzodiazepines and other drugs on aggressive and exploratory behavior in mice and rats. *Neuropharmacol.*, (1970) 17-29.

Clarke, W. y Maayani, C. Estrogen effects on 5-HT_{1a} receptors in hippocampal membranes from ovariectomized rats: functional and binding studies. *Brain Res.*, 518 (1990) 287-291.

Claustre, J. Peyrin, L., Fitoussi, R. y Mornex, R. Sex differences in the adrenergic response to hypoglycemic stress in human. *Psychopharmacol.*, 67 (1980) 147-153.

Clemens, L., Gladue, B. y Coniglio, L. Prenatal endogenous androgenic influences on masculine sexual behavior and genital morphology in male and female rats. *Horm. Behav.* 10 (1978) 40-53.

Corsi-Cabrera, M., Herrera, P. y Malvido, M. Correlation between EEG and cognitive abilities: sex differences. *Intern. J. Neurosc.*, 45 (1989) 133-141.

Corsi-Cabrera, M., Juárez, J., Ponce-de-León, M., Ramos, J. y Velázquez, P. EEG activity during estral cycle in the rat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 83 (1992) 265-269.

Corsi-Cabrera, M., Ramos, J., Guevara, M.A. y Arce, C. Gender differences in the EEG during cognitive activity. *Intern. J. Neurosc.*, 72 (1993) 257-264.

Corsi-Cabrera, M., Ponce-de-León, M., Juárez, J. y Ramos, J. Effects of paradoxical sleep deprivation and stress on the waking EEG of the rat. *Physiol. Behav.*, 55 (1994) 1021-1027.

Creutzfeldt, D., Arnold, M., Becker, D., Langstein, S., Tirsch, W., Wilhelm, H. y Wuttke, W. EEG changes during spontaneous and controlled menstrual cycles and their correlation with psychological performance. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 40 (1976) 113-131.

Deakin, J. 5-HT₂ receptors, depression and anxiety. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 29-4 (1988) 819-820.

Del Río-Portilla, I., Ugalde, E., Juárez, J., Roldán, A., Arce, C. y Corsi-Cabrera, M. Postpuberal gonadectomy and hormonal treatment on EEG of rats. *Soc. Neurosci. Abstracts*, 22, (1996) 756.

Diamond, C., Dowling, A. y Johnson, E. Morphologic cerebral cortical asymmetry in male and female rats. *Exp. Neurol.*, 71 (1981) 261-268.

Diamond, C., Johnson, E., Young, D. y Singh, S. Age-related morphologic differences in the rat cerebral cortex and hippocampus: male-female; right-left. *Exp. Neurol.*, 81 (1983) 1-13.

Ellinwood, H., Nikaido, M., Heatherly, G. y Bjornsson, D. Benzodiazepine pharmacodynamics: evidence for biophase rate limiting mechanisms. *Psychopharmacol.*, 91 (1987) 168-174.

Engel, J., Hjorth, S., Svensson, K., Carlson, A. y Liljequist, S. Anticonflict effect of the putative serotonin receptor agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin (8-OH-DPAT). *Eur. J. Pharmacol.* 105 (1984) 365-368.

Farabollini, F., File, S., Johnston, A. y Wilson, C. An analysis of sex differences in the open field and test of exploration and anxiety. *J. Pharmacol.*, 90 (1987) 265-269.

- Fellow, S. y File, S. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 24 (1986) 525-529.
- Fernandez-Guasti, A. y Hong, E. The action of diazepam and serotonergic anxiolytics vary according to the gender and the estrous cycle phase. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 37 (1990) 819-820.
- Fernandez-Guasti, A. y Picazo, O. Changes in burying behavior during the estrous cycle: effect of estrogen and progesterone. *Psychoneuroendocrinol.*, 17 (1992) 681-689.
- Fernandez-Guasti, A. y Picazo, O. Flumazenil blocks the anxiolytic action of allopregnanolone. *Europ. J. Pharmacol.*, 281 (1995) 113-115.
- Flor-Henry, P., Koles, Z. y Reddon, J. Age and sex related EEG configurations in normal subjects. En A. Glass (Ed.). *Individual differences in hemispheric specialization*. New York, Plenum Press (1987) 121-148.
- Frye, C. y Duncan, J. Progesterone metabolites, effective at the GABA_A receptor complex, attenuate pain sensitivity in rats. *Brain Res.*, 643 (1994) 194-203.
- Frye, C. The neurosteroid 3 α ,5 α -THP has antiseizure and possible neuroprotective effects in an animal model of epilepsy. *Brain Res.*, 696 (1995) 113-120.
- Gamallo, A., Alario, P., González-Abad, M. y Villanua, A. Acute noise stress, ACTH administration, and blood pressure alteration. *Physiol. Behav.*, 51 (1992) 1201-1205.
- Golub, S. The magnitude of premenstrual anxiety and depression. *Psychosom. Med.*, 38 (1976) 4-12.
- González-Mariscal, G., Fernández-Gusti, A. y Beyer, C. Anesthetic Pregnanes counteract androgen-induced defeminization. *Neuroendocrinol.*, 34 (1982) 357-362.
- Goodman, L. y Gilman, A. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Buenos Aires, VII Edición, 1988.
- Gray, J. Sex differences in emotional behaviour in mammals including man: endocrine bases *Acta Psychol.*, 35 (1971), 29-46.
- Gray, J. *Precis of the neuropsychology of anxiety: an inquiry into the functions of the septo-hippocampal system*. *Behav. Brain Sci.*, 5 (1982), 469-534.
- Gray, J. y Levine, S. Effect of induced-oestrous on emotional behaviour in selected studies of rats. *Nature*, 201 (1964) 1198-1200.
- Green, D. y Arduini, A. Hippocampal electrical activity in arousal. *J. Neurophysiol.*, 17 (1954) 532-557.
- Greenblatt, J., Divoll, M., Abernethy, R. y Shader I. Benzodiazepine hypnotics: kinetic and therapeutic options. *Sleep*, (1992) 18-27.
- Grindel, M. Optimal level of EEG coherence and its role of the state of human brain functions. *Neurosci. Behav. Physiol.*, 12-3 (1982) 199-206.

Guevara, M. y Corsi-Cabrera, M. EEG coherence or EEG correlation? Intern. J. Psychophysiol., 1996 in press.

Guilford, P. y Fruchter, B. Estadística aplicada a la Psicología y a la Educación. México: McGraw-Hill, (1984), 497 pp.

Gyermek, L. y Gleming, N. Some effects of progesterone and related steroids on the central nervous system. Intern. J. Neuropharmacol., 6 (1967) 191-198.

Gyermek, L., Iriarte, J. y Crabbé, P. Steroids CCCX. Structure-activity relationship of some steroidal hypnotic agents. J. Med. Chem., 11 (1968) 117-125.

Haefely, W. Benzodiazepines. Intern. Anesth. Clin., 26-4 (1988) 262-272.

Haefely, W. Pharmacology of the benzodiazepine receptor. Eur. Arch. Psychiatr. Neurol. Sci., 238 (1989A) 294-301.

Haefely, W. Pharmacology of the allosteric modulation of GABA_A receptors by benzodiazepine receptor ligands. New York, Raven Press, (1989B) 47-69.

Haefely, W., Kulczar, A., Mohler, H., Pieri, L. y Schaffner, R. Possible involvement of GABA in the central actions of the benzodiazepines. Adv. Biochem. Psychopharmacol., 14 (1975) 131-152.

Harmony, T., Genter, G. y Fleming, N. Coincidence correlation coefficient and signal energy ratio of the ongoing EEG activity I. Normative data. Brain Res., 61: (1973) 133-140.

Harrison, N., Majewska, M., Harrington, J. y Barker, J. Structure-activity relationships for steroid interaction with the aminobutyric acid A receptor complex. J. Pharmacol. Exp. Therap., 241-1 (1987) 346-353.

Heuser, G., Ling, M. y Kluver, M. Sleep induction by progesterone in the pre-optic area in cats. Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 22 (1967) 122-127.

Hodges, H., Green, S. y Glenn, B. Evidence that the amygdala is involved in benzodiazepine and serotonergic effects on punished responding but not on discrimination. Psychopharmacol., 92 (1987) 491-504.

Iwata, N. y Mikuni, N. EEG change in the conscious rat during immobility induced by psychological stress. Psychopharmacol., 71 (1980) 117-122.

Jacqmin, P. y Lesne, M. Les benzodiazepines: aspects pharmacodynamiques. J. Pharm. Belg., 40 (1985) 35-54.

Johanson, G., Laakso, M., Peder, M. y Karonen, L. Endocrine patterns before and after examination stress in males and females. Activ. N. Sup., 31-2 (1989).

John, R. Evaluación neurométrica de las disfunciones cognitivas. En T. Harmony y V. Alcaraz (Eds.). Daño cerebral. México: Trillas, (1987), 180-234.

John, O., Richard, S., Walter, N., Susan, D., Michel, T. y Benjamin, H. A chronic stress state in rats: effects of repeated stress on basal corticosterone and behavior. Physiol. Behav., 51 (1992) 689-698.

Johnston, A. y File, S. 5-HT and anxiety: promises and pitfalls. Pharmacol. Biochem.

Behav., 24 (1986) 1467-1470.

Johnston, A. y File, S. Sex differences in animal test of anxiety. *Physiol. Behav.*, 49 (1991) 245-250.

Juárez, J, Corsi-Cabrera, M., Ponce de León M. y Ramos, J. Actividad eléctrica cerebral de ratas machos y hembras controles y tratados prenatalmente con testosterona. *Boletín Méd. Hosp. Inf. de México*, 49 (1992) 134.

Juárez J. Efecto del tratamiento prenatal con andrógenos y antiandrógenos sobre la actividad EEG de ratas machos y hembras. Tesis de Doctorado en Ciencias Biomédicas, (1994) U.N.A.M., México.

Juárez, J. y Corsi-Cabrera, M. Sex differences in interhemispheric correlation and spectral power of EEG activity. *Brain Res. Bull.*, 38 (1995A) 149-151.

Juárez, J., Corsi-Cabrera, M. y Del Río-Portilla, I. Effects of prenatal testosterone treatment on sex differences in the EEG activity of the rat. *Brain Res.*, 694 (1995B) 21-28.

Jung-Testas, I., Baulieu, E. y Robel, P. Neurosteroids: biosynthesis of pregnanolone and progesterone in primary cultures of rat glial cells. *Endocrinol.*, 125:4 (1989) 2083-2091.

Juraska, M. Sex differences in dendritic response to differential experience in the rat visual cortex. *Brain Res.*, 295 (1984) 27-34.

Juraska, M., Fitch, M. Henderson, C. y Rivers, N. Sex differences in the dendritic branching of dentate granule cells following differential experience. *Brain Res.*, 333 (1985) 73-80.

Juraska, M. y Kopicik, R. Sex and environmental influences on the size and ultrastructure of the rat corpus callosum. *Brain Res.*, 450 (1988) 1-8.

Juraska, M., Fitch, M. y Washburne, L. The dendritic morphology of pyramidal neurons in the rat hippocampal CA3 area. II. Effects of gender and the environment. *Brain Res.*, 479 (1989) 115-119.

Kahn, R., van Fraag, H., Weltzler, S., Asnis, G. y Barr, G. Serotonin and anxiety revisited. *Biol. Psychiat.*, 23 (1988) 189-208.

Kavaliers, M. y Wiebe, P. Analgesic effects of progesterone metabolite 3alpha-hidroxy-5alpha-pregnan-20-one, and possible modes of action in mice. *Brain Res.*, 415 (1987) 393-398.

Kawakami, M. y Sawyer, C. Neuroendocrine correlates of changes in brain activity thresholds by sex steroids and pituitary hormones. *Neuroendocrinol.*, 65 (1995) 652-668.

Kennett, G., Marcou, M., Dourish, C. y Curzon, G. Single administration of 5-HT1A agonist decreases 5-HT1A presynaptic, but not postsynaptic receptor-mediated response: relationship to antidepressant-like action. *Eur. J. Pharmacol.*, 138 (1987) 53-60.

Kleinogel, H. Analysis of the vigilance stages in the rat by fast Fourier transformation. *Pharmacoelectroenceph.*, 23 (1990-91) 197-204.

Lader, M. Abuse potential, tolerance and dependence on chronic anxiolytic treatment. En Mendlewicz, J. y Racagni, G. (Eds.). *Target receptors for anxiolytics: from molecular pharmacology to therapeutics.* Int. Acad. Biomed. Drug Res. Basel Karger, 3 (1992) 46-54.

- Lancel, M., Faulhaber, J., Holsboer, F. y Rupprecht, R. The dose-dependent effects of progesterone on sleep and the brain levels of allopregnanolone in rats. *J. Sleep Res.*, 5 (1996) 117.
- Lister, R. Interactions of three benzodiazepine receptor inverse agonists with ethanol in a plus-maze test of anxiety. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 30 (1987) 701-706.
- Logothetis, J. Harner, R., Morell, F. y Torres, F. The role of estrogens in catamenial exacerbation of epilepsy. *Neurol.*, 9 (1959) 352-360.
- MacNiven, E., Catanzaro, D. y Younglai, E. Chronic stress increases estrogen and other steroids in inseminated rats. *Physiol. Behav.*, 52 (1992) 159-162.
- Majewska, M., Harrison, N., Schwartz, H., Barker, J. y Paul, S. Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor. *Science*, 232 (1986) 1004-1007.
- Man Mok, W., Bukusoglu, C. y Krieger, R. Evidence that 3 α -hydroxy-5 α -pregnan-20-one is the metabolite responsible for anesthesia induced by 5 α -pregnadiolone in the mouse. *Neurosc. Lett.*, (1992) 145-148.
- Mark, S., Barbara, A. y Telma, S. Sympathetic nervous system and behavioral responses to stress following exercise training. *Physiol. Behav.*, 51 (1992) 1097-1103.
- Marley, J. y Gallger, W. Chronic diazepam treatment produces regionally specific changes in GABA-stimulated chloride influx. *Europ. J. Pharmacol.*, 159 (1989) 217-223.
- Melchior, L. y Allen, M. Interaction of pregnanolone and pregnenolone sulfate with ethanol and pentobarbital. *Pharmacol. Biochem. Beh.*, 42 (1992) 605-611.
- Mizumori, S., Barnes, C. y McNaughton, B. Behavioral correlates of theta-on and theta-off cells recorded from hippocampal formation of mature young and aged rats. *Brain Res.*, 80 (1990) 365-373.
- Mok, W., Herschkowitz, S. y Krieger, N. Evidence that 3 α -hidroxy-5 α -pregnan-20-one is the metabolite responsible for anesthesia induced by 5 α -pregnadiolone in the mouse. *Neurosc. Letters*, 135 (1992) 145-148.
- Mok, W. y Krieger, N. Evidence that 5 α -pregnan-3 α -ol-20-one is the metabolite responsible for progesterone anesthesia. *Brain Res.*, 533 (1990) 42-45.
- Morales, A. Sustancias endógenas implicadas en la modulación de la ansiedad. *Rev. Psicol. Gral. Aplic.* 45-1 (1992) 35-41.
- Morris, A., DiMascio, A. y Killam, K. (Eds). *Psicofarmacología a los treinta años de progreso*. Espaxs, Barcelona, España, 1982.
- Morrow, A., Devaud, L., Purdy, R. y Paul, S. Neuroactive steroid modulators of the stress response. *Annals New York Academ. Scienc.* (1985) 257-272.
- Myhrer, T. y Groot, D. Imobility-related hippocampal theta activity in rats during reaction to novelty. *Scand. J. Psychol.*, 29 (1988) 214-222.
- Oakley, R. y Tyers, M. 5-HT receptor types and anxiety. En Mendlewicz, J. and Racagni,

- G. (Eds). Target receptors for anxiolytics: from molecular pharmacology to therapeutics. *Int. Acad. Biomed. Drug Res.*, Basel Karger, 3 (1992) 11-23.
- Pellow, S., Chopin, S., File y Briley, M. Validation of open-closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Meth.*, 14 (1985) 149-167.
- Petsche, H. y Stumpf, C. Topographic and toposcopic study of origin and spread of the regular synchronized arousal pattern in the rabbit. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 12 (1960) 589-600.
- Pesold, C. y Treit, D. Excitotoxic lesions of the septum produce anxiolytic effects in the elevated plus-maze and the shock-probe burying test. *Physiol. Behav.*, 52 (1992) 37-47.
- Pesold, C. y Treit, D. The central and basolateral amygdala differentially mediate the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Brain Res.*, 671 (1995) 213-221.
- Pfaff, D. y McEwen, B. Actions of estrogens and progestins on nerve cells. *Science*, 219 (1983) 808-814.
- Phillis, W. y Wu, K. Adenosine and benzodiazepine action. En Usdin, E., Skolnick, P., Tallman, J., Greenblatt, D. y Paul, S. (Eds.). *Pharmacology of benzodiazepines*. McMillan Press, London, (1982) 497-505.
- Picazo, O. y Fernández-Guasti, A. Changes in experimental anxiety during pregnancy and lactation. *Physiol. Behav.*, 54 (1993) 295-299.
- Picazo, O. y Fernández-Guasti, A. Anti-anxiety effects of progesterone and some of its reduced metabolites: an evaluation using the burying behavior test. *Brain Res.*, 680 (1995) 135-141.
- Pinel, J. y Treit, D. Burying as a defensive response in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 92 (1978) 708-712.
- Primus, R. y Kellogg, C. Pubertal-related changes influence the development of environment-related social interaction in the male rat. *Develop. Psychob.*, 22 (1989) 633-643.
- Primus, R. y Kellogg, C. Gonadal hormones during puberty organize environment-related social interaction in the male rat. *Horm. Behav.*, 24 (1990) 311-323.
- Purdy, R., Moore, P., Rao, P., Hagino, N., Yamaguchi, T., Schmidt, P., Rubinow, D., Morrow, A. y Paul, S. Radioimmunoassay of 3 α -hidroxy-5 α -pregnan-20-one in rat and human plasma. *Steroids*, 55 (1990) 290-296.
- Ramírez, D., Komisaruk, B., Whitmoyer, D. y Wawyer, C. Effects of hormones and vaginal stimulation on the EEG and hypothalamic units in rats. *Am. J. Physiol.*, 212 (1967) 1376-1384.
- Ramos, J. El cerebro y la música: Un estudio psicofisiológico. Tesis de Doctorado en Psicología General Experimental, (1994) U.N.A.M., México.
- Randall, L. y Kappel, B. Pharmacology of clordizaepoxide (librium) and analoges. *Biochem. Pharmacol.*, 8 (1961) 15.
- Rebuffé-Scrive, M., Walsh, U.A., McEwen, B. y Rodin, J. Effect of cronic stress and exogenous clucocorticoids on regional fat distribution and metabolism. *Physiol. Behav.*, 52 (1992) 583-590.

Rektor, I., Bryere, P., Silva-Barrat, C. y Menini, C. Stimulus-sensitive myoclonus of the baboon *Papio papio*: pharmacological studies reveal interactions between benzodiazepines and the central cholinergic system. *Exp. Neurol.*, 91 (1986) 13-22.

Robinson, E. Hippocampal rhythmical slow activity (RSA theta); A critical analysis of selected studies and discussion of possible species-differences. *Brain Res.*, 2 (1980) 69-101.

Rodríguez-Sierra, F., Hagley, T. y Hendricks, E. Anxiolytic effects of progesterone are sexually dimorphic. *Life Scie.*, 38 (1986) 1841-1845.

Rozenzweig, M. y Leiman, A. *Psicología Fisiológica*, Edit. Mc Graw Hill, Méx., 1992.

Sainsbury, R. y Montoya, C. The relationship between type2 theta and behavior. *Physiol. Behav.*, 33 (1984) 621-626.

Salin-Pascual, R. Mecanismo de acción de las benzodiazepinas. *Psiqu.*, 2-3 (1986) 142-149.

Scharf, B. y Feil, P. Acute effects of drug administration and withdrawal on the benzodiazepine receptor. *Life Scie.*, 32 (1983) 1771-1777.

Selye, H. Correlation between the chemical structure and the pharmacological actions of steroids. *Endocrinol.*, 30 (1942) 437-453.

Shaw, J. Correlation and coherence analysis of the EEG: A selective tutorial review. *Int. J. Psychophysiol.*, 1 (1984) 255-266.

Skolnick, P., Paul, S. y Barker, J. Pentobarbital potentiates gaba-enhanced [3]-diazepam binding to benzodiazepine receptors. *Europ. J. Pharmacol.*, 65 (1980) 125-127.

Solís-Ortiz, S., Corsi-Cabrera, M., Ramos, J., Arce, C. y Guevara, A. Correlatos electroencefalográficos del ciclo menstrual. *Rev. Cub. Inv. Bioméd.*, 37 (1991) 88.

Solís, S., Corsi-Cabrera, M., Ramos, J., Arce, C. y Guevara, M. La correlación intrahemisférica de la actividad eléctrica cortical y el ciclo menstrual en la mujer. *Bol. Méd. Hosp. Inf. México*, 49 (1992A) 135.

Solís, S. Cambios en la actividad eléctrica cortical (EEG) relacionados con el ciclo menstrual en la mujer. Tesis de Maestría en Psicobiología, (1992B) U.N.A.M., México.

Solís, S., Ramos, J., Arce, C., Guevara, M.A. y Corsi-Cabrera, M. EEG oscillations during menstrual cycle. *Intern. J. Neurosci.*, 76 (1994) 279-292.

Stein, L., Belluzzi, D. y Wise, D. Benzodiazepines: behavioral and neurochemical mechanisms. *Am. J. Psychiatr.*, 134 (1977) 665-669.

Stephens, D., Schneider, H., Kher, W., Jhensen, L., Petersen, E. y Honore, T. Modulation of anxiety by beta-carbolines and other benzodiazepine receptor ligands: Relationship of pharmacological to biochemical measures of efficacy. *Brain Res. Bul.*, 19-3 (1987) 309-318.

Steriade, M., Amzica, F. y Contreras, D. Synchronization of fast (30-40 Hz) spontaneous cortical rhythms during brain activation. *J. Neurosci.*, 16 (1996) 392-417.

Tallman, F. y Gallager, W. The GABAergic system: a locus of benzodiazepine action. *Ann. Rev. Neurosci.*, (1985) 8-21.

- Tauboll, E. y Gjerstad, L. Comparison of 5 α -pregnan-3 α -ol-20-one and phenobarbital on cortical synaptic activation and inhibition studied in vitro. *Epilep.*, 34 (1993) 228-235.
- Teyler, T., Vardaris, R., Lewis, D. y Rawitch, A. Gonadal steroids: effects on excitability of hippocampal pyramidal cells. *Science*, 209 (1980) 1017-1019.
- Trachsel, L., Edgar, D., Seidel, W., Heller, H. y Dement, W. Sleep homeostasis in suprachiasmatic nuclei-lesioned rats: effects of sleep deprivation and triazolam administration. *Brain Res.*, 589 (1992) 253-261.
- Treit, D. Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review. *Neuroscie. Behav. Rev.*, 9 (1985) 203-222.
- Treit, D. y Pesold, C. Septal lesions inhibit fear reactions in two animal models of anxiolytic drug action. *Physiol. Behav.*, 47 (1990) 365-371.
- Trulsson, E., Preussler, W., Howell, A y Frederickson, J. Raphe unit activity in freely moving cats: effects of benzodiazepines. *Neuropharmacol.*, 21 (1982) 1045-1050.
- Tye, N., Iverson, A. y Green, A. The effects of benzodiazepines and serotonergic manipulations on punished responding. *Neuropharmacol.*, 18 (1979) 689-695.
- Ugalde, E., Corsi-Cabrera, M., Juárez, J., Ramos, J. y Arce, C. Waking electroencephalogram activity as a consequence of sleep and total sleep deprivation in the rat. *Sleep*, 17 (1994) 226-230.
- Uriarte, V. *Psicofarmacología*. Edit. Trillas, 2a ed., México, 1987.
- Vanderwolf, H. The electrocorticogram in relation to physiology and behavior: a new analysis. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 82 (1992) 165-175.
- Ward, I. Female sexual behavior in male rats treated prenatally with an anti-androgen. *Physiol. Behav.* 8 (1972) 53-56.
- Weiss, M., Buldakova, S., y Dutova, E. Interaction of the β -carboline harmaline with a GABA-benzodiazepine mechanism: an electrophysiological investigation on rat hippocampal slices. *Brain Res.*, 695 (1995) 105-109.
- Wieland, S., Lan, N., Mirasedeghi, S. y Gee, K. Anxiolytic activity of the progesterone metabolite 5 α -pregnan-3 α -ol-one. *Brain Res.*, 565 (1991) 263-268.
- Wieland, H., Luddens, H. y Seeburg, P. Molecular basis for different sites in aminobutyric acid type A receptors. En Mendlewicz, J. and Racagni, G. (Eds.). *Target receptors for anxiolytics: from molecular pharmacology to therapeutics*. *Int. Acad. Biomed. Drug Res.*, Basel Karger, 3 (1992) 1-10.
- Wilson, M. y Biscardi, R. Effects of gender and gonadectomy on responses to chronic benzodiazepine receptor agonist exposure in rats. *Europ. J. Pharmacol.*, 215 (1992) 99-107.
- Winson, J. Patterns of hippocampal theta rhythm in the freely moving rat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 36 (1974) 291-301.
- Wolley, E., Timiras, S. Krech, D. y Bennett, E. Sex and strain differences in electroshock

convulsions of the rat. *Nature*, 190 (1961) 515-516.

Wolley, E. y Timiras, S. The gonad brain relationship: effects of female sex hormones on electroshock convulsion in the rat. *Endocrinol.*, 70 (1962) 196-209.

Zivkovic, B., Perrault, G. y Sanger, D. Receptor subtype-selective drugs: a new generation of anxiolytics and hipnotics. En Mendlewicz, J. and Racagni, G. (Eds.). *Target receptors for anxiolytics: from molecular pharmacology to therapeutics.* *Int. Acad. Biomed. Drug Res.*, Basel Karger, 3 (1992) 55-73.