



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



“Efecto del ansiolítico buspirona en dos sublíneas de ratas de la cepa Sprague-Dawley que se diferencian en su frecuencia de bostezo espontáneo”

Tesis presentada para obtener el título de
Licenciada en Biología

PRESENTA:

Ibarra Cedillo Itze Gabriela

TUTOR: D. en C. José Ramón Eguibar Cuenca

CO-TUTORA: M. en C. Araceli Ugarte Rojano



Marzo 2021

Índice

Resumen	4
1.- Introducción	6
1.1 Ansiedad	6
1.2 La ansiedad en México	7
1.3. Neuroanatomía de la ansiedad	9
1.3.1 La amígdala	10
1.3.2 La corteza insular	11
1.3.3 El hipocampo.....	12
1.3.4 El hipotálamo.....	12
1.3.5 La corteza prefrontal	13
1.3.6 Los núcleos del rafé	13
1.4. Neuroquímica de la ansiedad	14
1.4.1. El Ácido γ -aminobutírico (GABA).....	14
1.4.2. La serotonina (5-HT).....	17
1.5 La bupiriona	23
1.6 Pruebas de ansiedad	25
1.7 La prueba de coordinación motora	26
2.- Antecedentes	27
2.1 Las sublíneas de alto y bajo bostezo de la sepa Sprague-Dawley.....	27
3.- Justificación	28
4.- Hipótesis	29
5.- Objetivos	29
6.- Metodología	30
6.1 Sujetos de estudio	30
6.2 Evaluación de la frecuencia de bostezo espontaneo.....	30
6.3 Fármacos	31
6.4 ROTA-ROD.....	32
6.5 Laberinto en cruz elevado	33
6.6 Análisis Estadístico.....	35
7.- Resultados	35
7.1 Comportamiento en el laberinto en cruz elevado	35

7.1.1 Número de entradas a los brazos abiertos.....	35
7.1.2 Número de entradas a los brazos cerrados	37
7.1.3 Permanencia en los brazos abiertos	38
7.1.4 Permanencia en los brazos cerrados.....	40
7.1.5 Índice de preferencia por los brazos abiertos	41
7.2 Resultados de la prueba Rota-Rod.....	43
8.- Discusión	44
8.1 ¿La sublínea de bajo bostezo como modelo de ansiedad?.....	44
8.2 El efecto ansiolítico de la buspirona	46
9. Conclusiones	48
10. Bibliografía	48

Resumen

La ansiedad es la anticipación ante un potencial peligro y es importante para la supervivencia de la especie, ya que advierte de un peligro inminente y activa una respuesta de resolución. Sin embargo, cuando esta aumenta de los niveles cotidianos normales se convierte en un problema que puede imposibilitarnos de tareas sencillas o complejas y se convierte en una patología cuando se suscita sin aparente motivo y persiste por días, meses o incluso años. Además, en México, el trastorno de ansiedad generalizada es una de las enfermedades mentales más incapacitantes con 31.5 media anual de días de funcionamiento perdidos al año.

Los fármacos utilizados actualmente para tratar la ansiedad han demostrado ser eficaces, sin embargo, su eficacia viene acompañada de efectos secundarios como sedación, hipnosis, somnolencia, amnesia anterógrada, relajación muscular y pérdida del control motor. Por tal motivo, es necesario el desarrollo de fármacos ansiolíticos con menos efectos secundarios.

La buspirona es un fármaco originalmente desarrollado como antipsicótico, dirigido a los receptores para dopamina D2, sin embargo, posteriormente observaron que actuaba mayoritariamente sobre los receptores 5HT_{1A} de serotonina y que aliviaba los síntomas de ansiedad, y no los síntomas psicóticos. Además, la buspirona ha demostrado tener efectos secundarios leves en comparación con otros ansiolíticos

Las sublíneas de ratas de alto (HY) y bajo bostezo (LY) han mostrado una respuesta ansiosa diferencial, siendo la sublínea LY más ansiosa y las ratas HY más resilientes, proponiéndose como un modelo animal para el estudio de la ansiedad. Por lo que, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto ansiolítico de la buspirona en estas sublíneas, así como su nivel de ansiedad basal utilizando la prueba de laberinto en cruz elevado (LCE). También se evaluó el efecto de la buspirona en la prueba de coordinación motora Rota-Rod.

Los resultados de este estudio mostraron que la sublínea de ratas LY tuvo los niveles basales de ansiedad más altos, en comparación con las ratas Sprague-Dawley. Además, la buspirona a dosis de 0.62, 1.25 y 2.5 mg/Kg no tuvo un efecto

ansiolítico en ratas SD, LY y HY en la prueba de LCE y afectó su coordinación motora en la prueba Rota-Rod.

1.- Introducción

1.1 Ansiedad

La ansiedad es un estado mental que se define como la anticipación ante un potencial peligro y se caracteriza por una sensación subjetiva de miedo, preocupación o inquietud, que se expresa en el aumento de la frecuencia cardiaca, tensión muscular, sudoración y en el estado de alerta, así como en las expresiones faciales, entre otros (Meyer y Quenzer, 2005 a). Evolutivamente es importante para la supervivencia de la especie, ya que advierte al individuo de un peligro inminente y activa una respuesta de resolución (Meyer y Quenzer, 2005 a). Por lo tanto la ansiedad es claramente un estímulo necesario para la realización óptima de muchas de las actividades cotidianas y para la adaptación al entorno.

Puesto que la ansiedad es comúnmente confundida con el miedo, es importante diferenciar ambos términos. Barlow (2004) define al miedo como una respuesta emocional y fisiológica ante una amenaza inmediata y está asociado con una reacción de lucha o huida, ya sea para quedarse a luchar o para escapar del peligro, mientras que la ansiedad se presenta como la anticipación de una preocupación o evento negativo futuro y está más asociada con la tensión muscular y el comportamiento de evitación (Barlow, 2004)

Sin embargo, cuando la ansiedad supera los niveles cotidianos normales, se convierte en un problema que puede imposibilitar la realización de tareas sencillas o complejas y se convierte en una patología cuando se suscita sin aparente motivo y persiste por días, meses o incluso años (Meyer y Quenzer, 2005 a).

Lang (1968) propone la teoría tridimensional de los componentes de la ansiedad, la cual cambió la idea de que la ansiedad es un concepto unitario y propone que por el contrario, se trata de un triple sistema de respuesta, es decir; que la respuesta de ansiedad tiene componentes cognitivos, fisiológicos y motores o conductuales (Lang, 1968).

Así pues, la ansiedad como trastorno mental se expresa de tres formas: Fisiológica; que se observa como tensión muscular, taquicardia, elevada tasa de respiración, mareos, náuseas, sequedad de boca, sudor, temblores, enrojecimiento en la cara, calor, dificultad para dormir, dolores de cabeza, cuello o espalda, fatiga y diarrea. Cognitiva: se refiere a las expectativas negativas y preocupaciones del individuo, las situaciones y las consecuencias potenciales, una alteración de los pensamientos y de las imágenes mentales ante una situación atemorizante. Conductual: se refiere a aspectos como son las expresiones faciales, los patrones de comunicación y un estado de inquietud remanente (Lang, 1968).

La propuesta de Lang sigue siendo válida en la actualidad (Martínez y cols., 2012)

La ansiedad por separación, el mutismo selectivo, el trastorno de pánico (TP), las fobias específicas (FE), la agorafobia, el trastorno de ansiedad social (TAS) y el trastorno de ansiedad generalizada (TAG) se encuentran catalogados como trastornos de ansiedad de acuerdo al manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales versión 5 (DSM-5). El trastorno de estrés post-traumático (TEP) y trastorno obsesivo-compulsivo también se encontraban catalogados como trastornos de ansiedad en la versión anterior del manual (DMS-4).

Adicionalmente, la ansiedad se ha visto relacionada con otros desordenes y más comúnmente con la depresión (Kessler y cols., 2005). Según la Encuesta Nacional de Comorbilidad de Estados Unidos de América, el 58% de los pacientes con depresión sufren algún tipo de ansiedad (Ninan, 1999). En un estudio realizado en España para evaluar la comorbilidad de la depresión mayor con otros trastornos mentales, se encontró que el 55.2% de los pacientes deprimidos presentaban también desorden de ansiedad generalizado y el 33.8% desorden de pánico (Aragónés y cols., 2009).

1.2 La ansiedad en México

En todo el mundo, los desórdenes de ansiedad como objeto de estudio han adquirido importancia en los últimos años debido al ritmo de vida de la sociedad

actual, su prevalencia ha aumentado y agrupan las enfermedades de salud mental con mayor incidencia.

En México las fobias específicas tienen la mayor prevalencia dentro de las enfermedades mentales y el trastorno de ansiedad social se posiciona en el tercer lugar seguido del trastorno de pánico, según la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica 2001-2002, la cual evaluó la prevalencia de 7 enfermedades de salud mental. El trastorno de ansiedad generalizada y el trastorno de estrés post-traumático son dos de las enfermedades mentales más incapacitantes con un promedio de 31.5 y 25.8 días de funcionamiento perdidos al año respectivamente, superadas tan solo por la depresión y estando muy por encima de las 12 enfermedades físicas evaluadas en esta encuesta (Benjet y cols., 2013; ver tabla 1).

Tabla 1. Prevalencia de las condiciones de salud y promedio de días de funcionamiento perdidos en el último año en México.

CONDICIÓN DE SALUD	PREVALENCIA (%)	MEDIA ANUAL DE DÍAS DE FUNCIONAMIENTO PERDIDOS
<i>Depresión</i>	4.0	40.7
<i>Ansiedad generalizada</i>	0.4	31.5
<i>Estrés postraumático (EPT)</i>	0.6	25.8
<i>Insomnio</i>	5.2	21.5
<i>Trastorno de pánico</i>	1.4	18.5
<i>Trastorno bipolar</i>	1.0	18.5
<i>Dolor crónico</i>	13.8	18.2
<i>Enfermedades cardiovasculares</i>	7.2	18.2
<i>Diabetes</i>	3.4	16.5
<i>Artritis</i>	7.5	16.0
<i>Fobia social</i>	2.1	12.7
<i>Enfermedades digestivas</i>	2.1	12.0

Migraña o dolor de cabeza severo	8.6	11.1
Fobia específica	5.4	10.1
Cáncer	0.1	8.9

**Enfermedades de salud mental resaltadas en negritas. Días de funcionamiento perdidos al año: Definidos como el número de días en los 30 días previos a la entrevista, en los que se ha sido totalmente incapaz de realizar sus actividades cotidianas o su trabajo debido a problemas de salud física, de salud mental, nervios, o por uso de alcohol o drogas.*

***Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica 2001-2002 (Modificado de Benjet y cols., 2013).**

1.3. Neuroanatomía de la ansiedad

Son varias las áreas específicas del cerebro que tienen un papel fundamental en la experiencia de las emociones. La localización de estas es el sistema límbico, el cual comprende varias estructuras profundas del cerebro como son la amígdala, el tálamo, el fornix, el cíngulo entre otras, Figura 1 (Purves y cols., 2010 b; Catani y cols., 2013). Además, otras estructuras como los núcleos del rafe, la corteza insular y la corteza prefrontal también se encuentran implicadas en la ansiedad (Nieuwenhuys, 2012; Abela y cols., 2020; Davidson, 2002). Entre las estructuras con una mayor participación en estos desordenes están:

Sistema Límbico

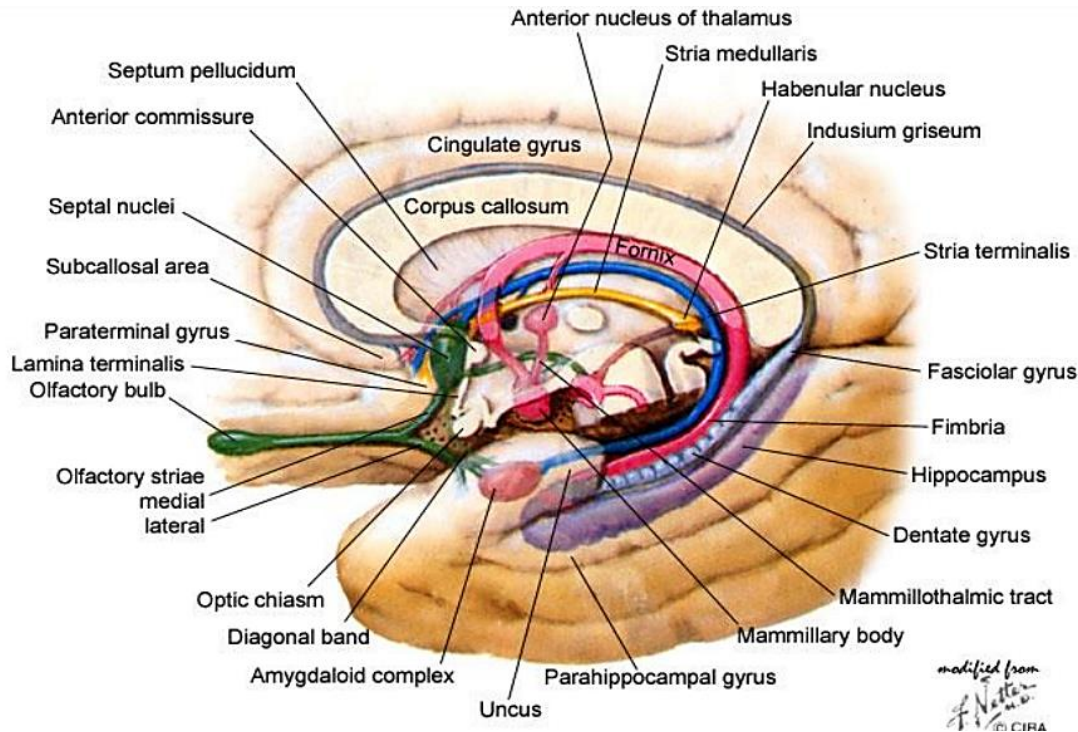


Imagen 1: Estructuras del sistema límbico. (Felten y Shetty, 2010)

1.3.1 La amígdala

La amígdala es un núcleo cerebral que envía proyecciones a otras estructuras cerebrales, como la corteza prefrontal y el sistema hipocampal, regulando así a los sistemas neurohumorales, autonómicos y a los musculo esqueléticos asociados con los mecanismos de respuesta a la ansiedad y el miedo (Davidson, 2002). También tiene una participación fundamental en el aprendizaje emocional, la modulación de la memoria y las contribuciones emocionales al comportamiento social y la toma de decisiones (Salzman y Fusi, 2010; LeDoux, 2009)

La amígdala funciona además como un centro regulador donde se evalúa la información exteroceptiva e interoceptiva, dando lugar a respuestas viscerales y conductuales de alarma (Goddard y Charney, 1997).

En un meta-análisis de neuroimagen funcional donde se compararon los sitios de hiper o hipo-activación de distintas regiones cerebrales en tres trastornos distintos de ansiedad como son: el trastorno de estrés post-traumático, la ansiedad social y fobias específicas. Se encontró como única constante la hipoactivación de la amígdala y de la corteza insular (Etkin y Wager, 2000).

La evidencia clínica, utilizando neuroimagen funcional indica que tanto en humanos, como en animales de experimentación, hay una activación de la amígdala en respuesta a los estímulos aversivos, aunque también en los estímulos agradables (Dolan, 2007; Ball y cols., 2009)

En estudios donde se realizaron microinyecciones de antagonistas para el receptor GABA_A, (metioduro de bicuculina o picrotoxina) directamente en la amígdala basolateral de ratas macho Wistar, se obtuvieron efectos de tipo ansiogénico en el paradigma de interacción social (PIS) y en el paradigma de conflicto (Sanders y Shekhar, 1995). Por el contrario, la inyección de un agonista de GABA_A, como el muscimol, en el núcleo central de la amígdala produjo efectos de tipo ansiolítico en la prueba PIS. Estos resultados sugieren la participación de la amígdala en la ansiedad, y que el GABA endógeno actúa tónicamente sobre los receptores GABA_A en la amígdala basolateral para inhibir las respuestas de ansiedad (Sanders y Shekhar, 1995).

1.3.2 La corteza insular

La corteza insular interviene en la integración de la información proveniente de áreas límbicas y participa en la percepción del significado emocional, también participa en la regulación visceral motora y sensorial, incluida la del

sistema cardiovascular (Penfield, 1938; Openhimer, 1994). Esto apoya la hipótesis de que una mayor activación de la corteza insular anterior durante un ataque de pánico, cambia la interacción neutral predominante de la emoción y el tono cardíaco, lo que resulta en una ansiedad asociada a taquicardia (Nieuwenhuys, 2012). Por el contrario, la disfunción de la corteza insular posterior puede conducir a un desequilibrio visual-somato-sensorial, lo que resulta en despersonalización o agorafobia, que es un tipo de trastorno de ansiedad caracterizado por el miedo a lugares o situaciones que puedan causar miedo, vergüenza o pánico (Singer y cols., 2009).

1.3.3 El hipocampo

Además de su papel en la memoria, el hipocampo también se encuentra involucrado en la regulación de los comportamientos defensivos relacionados con la ansiedad (Maurer y Nadel, 2021). Las lesiones electrolíticas o excitotóxicas del hipocampo en ratas producen comportamientos de tipo ansiolítico en el laberinto en cruz elevado y en pruebas de interacción social (Bannerman, 2002 y 2004; Deacon y Rawlins, 2002).

El sistema hipocampal tiene conexiones con estructuras límbicas y áreas sensoriales corticales, además de una alta densidad de receptores de serotonina tipo 5HT_{1A} y se ha observado que juega un papel importante en la ansiedad tomando en cuenta que los agonistas de estos receptores, como la buspirona, administrados de forma intracerebral logran controlar estos desordenes (Benita, 2017).

1.3.4 El hipotálamo

Se sabe que la estimulación del hipotálamo posterior y de las regiones mesencefálicas adyacentes provoca reacciones de ira o ataque, acompañadas de reacciones de tipo simpático como son la taquicardia, la hipertensión arterial, la hipercapnia e inhibición de la motilidad intestinal

debido a la secreción de noradrenalina, por lo que en algún momento se creyó que el hipotálamo era el responsable de dar inicio a los ataques de ansiedad. Ahora se sabe que el hipotálamo es la estructura responsable de los cambios vegetativos que acompañan a la emoción (Meyer y Quenzer, 2005 a).

1.3.5 La corteza prefrontal

La corteza prefrontal como área de asociación recibe información sensorial recíproca con las estructuras límbicas, por lo que juega un papel importante en la interpretación de los acontecimientos emocionalmente significativos, seleccionando y planeando el comportamiento de respuesta ante una amenaza, así como también monitoreando la efectividad de esas respuestas (Sánchez y Roman, 2004)

1.3.6 Los núcleos del rafe

Los núcleos del rafe están conformados principalmente por neuronas serotoninérgicas, estas estructuras proveen la mayoría de la serotonina del cerebro (Walker, 2021).

Tan solo el núcleo del rafe dorsal (RD) contiene más del 50% de todas las neuronas de 5-HT que se proyectan hacia el cerebro anterior (Bjorklund, 1984), por lo que su participación en la ansiedad esta principalmente ligada a las alteraciones en estos circuitos serotoninérgicos.

Abela y cols. en 2020, mediante estudios de ontogenética en ratones observaron que la activación de neuronas serotoninérgicas eferentes del núcleo del rafe medial inducía rápidamente la expresión de un comportamiento similar a la ansiedad, reflejado una conducta ansiosa aumentada en el laberinto en cruz elevado (Abela y cols., 2020).

También se ha mostrado que el paradigma de shock ineludible en ratas conlleva a un aumento de serotonina extracelular en el núcleo del rafe dorsal y un aumento en los comportamientos relacionados con la ansiedad medidos 24 horas más tarde, este comportamiento está ausente si el RD se lesiona o inhibe durante el estímulo de shock (Maier y cols., 1995).

1.4. Neuroquímica de la ansiedad

Los principales neurotransmisores que se propone modulan las respuestas ansiosas son el ácido γ -aminobutírico (GABA) y la serotonina (5-HT).

1.4.1. El Ácido γ -aminobutírico (GABA)

El GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio del Sistema Nervioso Central (SNC), aproximadamente el 30 % de las sinapsis son de naturaleza GABAérgica y se propone que existen dos tipos de receptores para el GABA, los receptores GABA_A y GABA_B (Meyer y Quenzer, 2005b).

El interés de la psicofarmacología por los receptores **GABA_A** es debido a su participación crucial en la acción de drogas o fármacos con efecto ansiolítico, como los barbitúricos o las benzodiazepinas.

Los **barbitúricos** son el grupo de fármacos sedativo-hipnóticos más antiguos, desarrollados en 1903 y ampliamente utilizados hasta los años 50s del siglo pasado (Durant y cols., 2010). Fueron empleados en el tratamiento de la ansiedad por sus efectos sedantes (Coupey, 1997; Ho y Harris, 1981). Sin embargo; la generación de nuevos ansiolíticos fue necesaria debido a sus efectos secundarios, los cuales incluían pensamiento deteriorado, habla confusa, pérdida de juicio y reflejos lentos. También generaban tolerancia, dependencia y potencial abuso (Coupey, 1997; Durant y cols., 2010; Loscher y Rogawski, 2012).

Los barbitúricos actúan como agonistas completos de GABA_A, reduciendo el potencial de acción postsináptico al permitir la entrada de iones de cloruro (Cl⁻) incluso en ausencia de GABA, lo que hace a este grupo particularmente peligroso, pues a altas dosis (10 a 20 veces la dosis terapéutica normal) conducen a una intoxicación grave, coma y en los peores casos, la muerte debido a un paro respiratorio (Loscher & Rogawski, 2012). Además estos fármacos son peligrosos cuando se combinan con alcohol (Stead y Moffat, 1983). Por todos estos efectos adversos, las benzodiazepinas se introdujeron en 1960 para sustituir en gran medida a los barbitúricos.

Las **benzodiazepinas** desarrolladas en los años de 1950 por la farmacéutica Roche (Shorter, 2005) tienen un sitio de unión a los receptores GABAérgicos distinto al de los barbitúricos, pero al igual que estos incrementan la frecuencia de apertura del canal ionotrópico para la entrada de Cl⁻, hiperpolarizando la neurona, disminuyendo su excitabilidad y finalmente provocando una acción inhibitoria (Reyes-Ticas, 2010). A este grupo de fármacos se les considera como potenciadores de la acción GABAérgica, pues no pueden activar el receptor por sí mismos y el peligro a causa de una sobredosis es menor (Durant y cols., 2010; Meyer y Quenzer, 2005 b; Olkkola y Ahonen, 2008), esto los convierte en una opción más segura en el tratamiento de la ansiedad. Las tres benzodiazepinas más utilizadas son el midazolam, diazepam y lorazepam (Olkkola y Ahonen, 2008).

Las benzodiazepinas tuvieron su mayor éxito en la década de los 70 del siglo pasado por su efecto ansiolítico tanto en modelos animales como en casos clínicos (Olkkola y Ahonen, 2008; Wilson y cols., 2004; Dundee y cols., 1984; Rickels, 1983) sin embargo, debido a efectos indeseados como sedación, hipnosis, somnolencia, amnesia anterógrada, relajación muscular y pérdida del control motor son un tratamiento no óptimo para la ansiedad (Verster, 2002, Uzun y cols., 2010). Además su uso prolongado produce resistencia y adicción (Rodríguez y contreras, 1998). A pesar de ello, aun son un grupo

ampliamente utilizado por su acción rápida a corto plazo (Oikkola y Ahonen, 2008).

Adicionalmente, existe una familia de sustancias conocidas como **neuroesteroides**, que se sintetizan en el cerebro a partir del colesterol y tienen una acción similar a las benzodiazepinas sobre los receptores GABA_A (Baulieu, 1997). La allopregnanolona y la tetrahydrodeoxicorticosterona se encuentran entre los neuroesteroides más estudiados, tienen efectos ansiolíticos, anticonvulsivos y sedantes-hipnóticos similares a los inducidos por otros agonistas del receptor GABA_A (Schüle y cols., 2014; Morrow y cols., 2001). Además, son moduladores alostéricos positivos altamente eficaces que mejoran hasta 10 veces o más las respuestas a bajas concentraciones de GABA, similar a los barbitúricos (Zorumskia, 2019; Gee y cols., 1987). Es importante considerar que para futuras aplicaciones los neuroesteroides pueden incluir potenciales efectos secundarios, como abuso o interacción con otras drogas. En estudios clínicos los neuroesteroides sintéticos han sido bien tolerados, con sedación y mareos siendo los efectos secundarios más prominentes (Hoffmann y cols., 2019; Meltzer-Brody y cols., 2018; Gunduz-Bruce y cols., 2019)

Como se mencionaba anteriormente, otro subtipo de receptor para el ácido γ -aminobutírico es el **GABA_B**.

La información disponible respecto a este receptor es limitada en comparación con lo que se sabe del receptor GABA_A, pero se considera que podría participar en la regulación del comportamiento emocional por su alta expresión en el sistema límbico (McDonald y cols., 2004). Sin embargo, su participación en la regulación de la ansiedad aun no es clara debido a diversos estudios con resultados contradictorios.

Por un lado existe evidencia preclínica que muestra que ratones con deficiencia del receptor GABA_B (específicamente el tipo 1) son más ansiosos comparados con los animales control en diversas pruebas empleadas para evaluar comportamiento tipo ansioso, como la caja luz-oscuridad y la prueba

de escalera, además presentan una respuesta parecida a un ataque de pánico en el laberinto en cero elevado y en estos mismos ratones, el efecto ansiolítico de las benzodiazepinas es reducido (Kumar y cols., 2013; Cryan y Kaupmann, 2005). También se ha observado que moduladores alostéricos positivos para GABA_B como el Baclofen y GS39783 tiene efectos de tipo ansiolítico en modelos animales sometidos a diversos paradigmas de ansiedad (Cryan y Kaupmann, 2005; Adams y Lawrence, 2007)

En contraposición, en trabajos donde se evaluó el efecto del Baclofen y BHF177, no se encontró ninguna sugerencia de que estos fármacos puedan tener un efecto ansiolítico (Li y cols., 2013) y por el contrario, se sugiere que al administrar fármacos antagonistas de GABA_B se puede obtener un efecto ansiolítico (Cryan y Slattery, 2010).

Aun son necesarios más estudios para caracterizar el potencial ansiolítico de los fármacos, ya sea agonistas o antagonistas de GABA_B.

1.4.2. La serotonina (5-HT)

La 5-hidroxitriptamina (5-HT), también conocida como serotonina, es un neurotransmisor perteneciente al grupo de las monoaminas que participa en diversas funciones como la regulación del ritmo cardiaco, temperatura, sueño, apetito, conducta sexual, conducta motora, memoria y el estado de ánimo (Nichols y Nichols, 2008; Berger y cols., 2009; Purves y cols., 2010 b) y la disfunción o anomalías en este sistema se ha relacionado con desordenes psiquiátricos, entre ellos la ansiedad (Purves y cols., 2010 b).

Existe evidencia de que un déficit en la actividad serotoninérgica está relacionada con desórdenes del estado de ánimo. Partiendo de que este neurotransmisor es sintetizado a partir del aminoácido esencial triptófano, se han diseñado diversos protocolos de investigación en los que se interviene en el ciclo de síntesis de la 5- HT, mediante el agotamiento de triptófano, lo cual ha demostrado que conduce a niveles reducidos de serotonina en el cerebro (Biggio y cols., 1974; Moja y cols., 1989)

Siguiendo esta metodología y bajo condiciones de doble ciego en pacientes con trastorno de pánico, Schruers y cols. (2000) encontraron que en un desafío del 35% de dióxido de carbono bajo condiciones de agotamiento de triptófano, los pacientes del grupo de depleción señalaron un aumento significativo de la ansiedad y de los síntomas neurovegetativos en comparación con la condición de placebo (Schruers y cols., 2000).

Bell y cols. en 2002 aplicaron una metodología de privación del triptófano similar y administraron posteriormente flumazemil, por su conocida actividad panicogénica. Encontraron que el agotamiento agudo del triptófano aumentó el informe de síntomas de pánico inducidos en pacientes con trastorno de pánico que anteriormente habían respondido positivamente al tratamiento con inhibidores de la recaptura de serotonina (IRS) (Bell y cols., 2002). Estos hallazgos indican que existe una mayor susceptibilidad a presentar síntomas de ansiedad debido a niveles disminuidos de serotonina.

Contrario a lo anterior, también existe evidencia de un aumento en la actividad serotoninérgica relacionada con los desórdenes de ansiedad. En un estudio más reciente en donde se evaluó la tasa de síntesis de serotonina en pacientes con trastorno de ansiedad social, utilizando imágenes de tomografía por emisión de positrones se encontró que los pacientes con TAS tenían una mayor síntesis de serotonina en regiones estrechamente relacionadas con la ansiedad como la amígdala y los núcleos del rafe. Además se encontró una relación directamente proporcional entre los niveles aumentados de serotonina en la amígdala y la severidad de los síntomas de dicho trastorno, en comparación con los controles. En este mismo estudio se observó un aumento en la disponibilidad del transportador de serotonina en regiones como los núcleos del rafe y la corteza insular. En general se observó un aumento en la función serotoninérgica en pacientes con TAS (Frick y cols., 2015).

A pesar de las discordancias entre ambas propuestas, que posiblemente se deban a diferencias fisiopatológicas, la aplicación de distintas metodología o

la evaluación de distintos núcleos cerebrales, es importante mencionar que la robustez de la primera propuesta es mayor. Sin embargo hasta la fecha no tenemos una teoría absoluta de a qué se deban los desórdenes de ansiedad.

Además de disfunciones en los niveles de serotonina cerebral, otros factores podrían estar implicados en estos desordenes.

En un estudio donde se utilizó tomografía computarizada de emisión monofotónica (TEM) para evaluar el potencial de unión de los transportadores de serotonina (SERT) en pacientes con ataques de pánico (AP) se encontró una reducción en la unión a SERT en los núcleos del rafe, en los lóbulos temporales y en el tálamo en comparación con pacientes sanos y se observó una relación inversamente proporcional entre la reducción de la unión a SERT en los núcleos del rafe y la severidad de los ataques de pánico (Maron y cols., 2004).

Además de la unión a SERT, la expresión de este transportador también se ha estudiado. Johnson y cols. evaluaron la respuesta al pánico en ratas con tres fenotipos distintos para el transportador de serotonina: Expresión completa (+/+), expresión incompleta (+/-) y sin expresión (-/-) y se observó que las ratas SERT -/- y SERT +/- se mostraron más ansiosas para tres distintas pruebas de ansiedad (LCE, PCA y CLO). Además, al ser sometidas a una prueba de inducción de AP por gas hipercapnico (7.5% CO₂) se observó una mayor frecuencia respiratoria y taquipnea, lo que es considerado como un indicador de ataques de pánico en humanos. Estas respuestas se vieron interrumpida por la administración de antagonistas de 5-HT_{1A} en la amígdala basolateral (Johnson y cols., 2019).

Estos hallazgos sugieren que no solo la disponibilidad de la serotonina en el cerebro, sino también las irregularidades a lo largo de toda la vía de señalización serotoninérgica podrían estar relacionadas con la susceptibilidad a distintos tipos de trastornos de ansiedad.

En cuanto a los receptores de serotonina, existen al menos 15 distintos tipos clasificados en 7 familias reconocidas actualmente en el ser humano (Hoyer y cols., 2002; ver imagen 2). Varios de estos receptores han mostrado tener un efecto modulador de la ansiedad, como el receptor 5-HT_{1A} (Lesch, 2008; Nash y cols., 2008), 5-HT_{2c} (Jencka y cols., 1998; Harada y cols., 2006), 5-HT₃ (Olivier, 2000) y 5-HT₆ (Wesołowska, 2010; Partyka y cols., 2016).

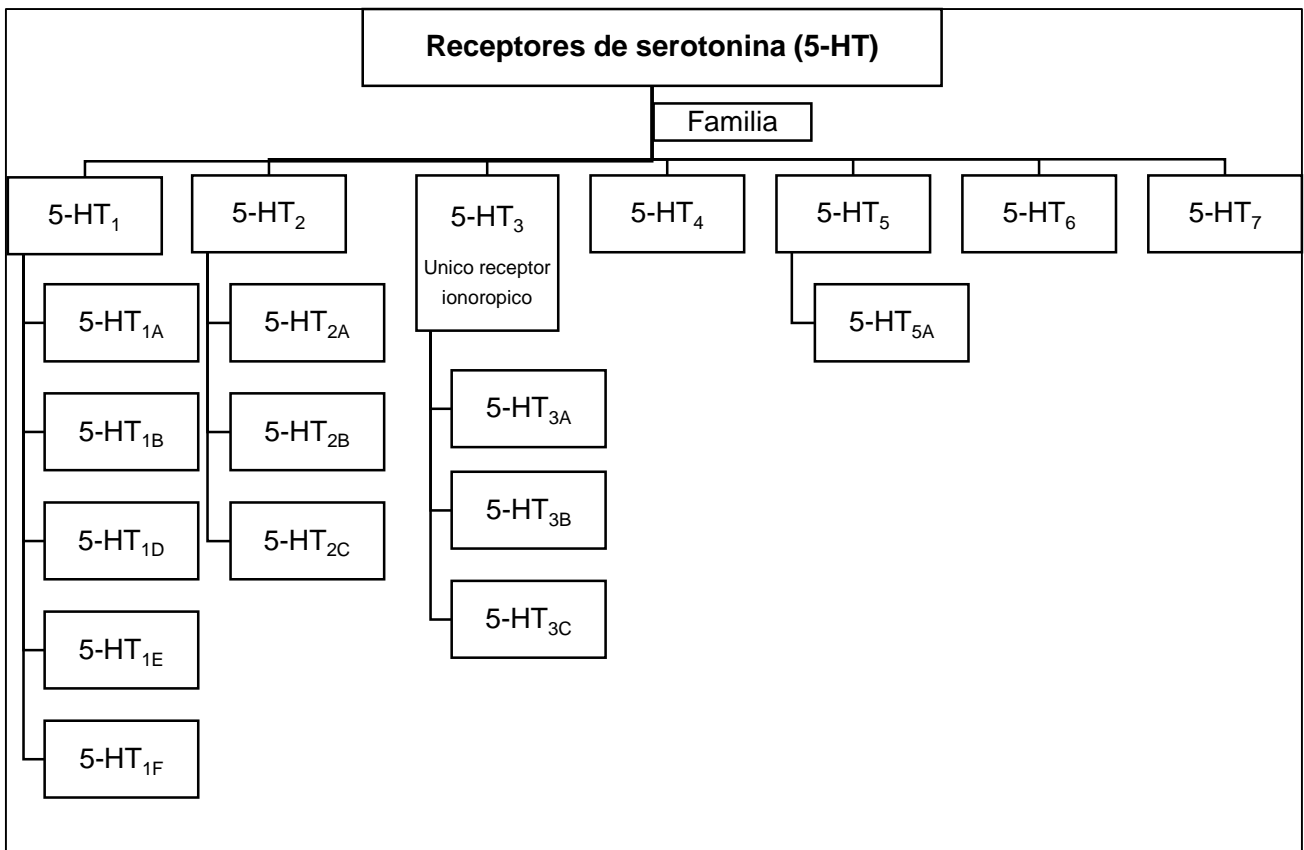


Imagen 1: Clasificación de los receptores de Serotonina (5-HT) presentes en el humano.

A diferencia de otros miembros de la familia y al ser el primer receptor serotoninérgico descrito, existe una amplia gama de información de **5HT_{1A}**, el cual es un receptor de serotonina metabotrópico inhibitorio ampliamente distribuido en el sistema nervioso central. Su principal distribución es en los

núcleos del rafe, donde actúa como autorreceptor somatodendrítico y de donde surgen diversas proyecciones que discurren a través de la vía serotoninérgica ascendente (Berger y cols. 2009; ver imagen 3). Postinápticamente, se encuentran en diversas estructuras del sistema límbico y particularmente en el hipocampo (Hoyer y cols., 2002).

La propuesta de que este receptor está involucrado en el comportamiento de tipo ansioso es soportada por estudios en los que mediante supresión de genes, se desarrollaron ratones knockout para el receptor 5-HT_{1A}. Este modelo animal ha sido estudiado bajo diversas condiciones para evaluar miedo, comportamiento de evitación y respuesta al estrés. Particularmente la ansiedad se evaluó mediante pruebas de laberinto en cruz elevado, el laberinto en cero elevado, campo abierto o caja luz/oscuridad y tanto hembras como machos mostraron en estas pruebas niveles elevados de ansiedad en comparación con los grupos control (Heisler y cols., 1998; Parks y cols., 1998; Lesch, 2008).

En casos clínicos se ha observado un potencial de unión a los receptores 5-HT_{1A} significativamente más bajo en pacientes con trastorno de ansiedad social y trastorno de pánico en comparación con pacientes sanos. Estas deficiencias se han observado en diversas áreas límbicas y paralímbicas como la amígdala, la corteza cingulada anterior, la ínsula y los núcleos del rafe (Lanzenberger y cols., 2007; Nash y cols., 2008).

La relevancia médica de este receptor también se debe a la efectividad de fármacos agonistas del receptor 5-HT_{1A} en el tratamiento de la ansiedad, como la buspirona. De este fármaco se hablara a detalle más adelante.

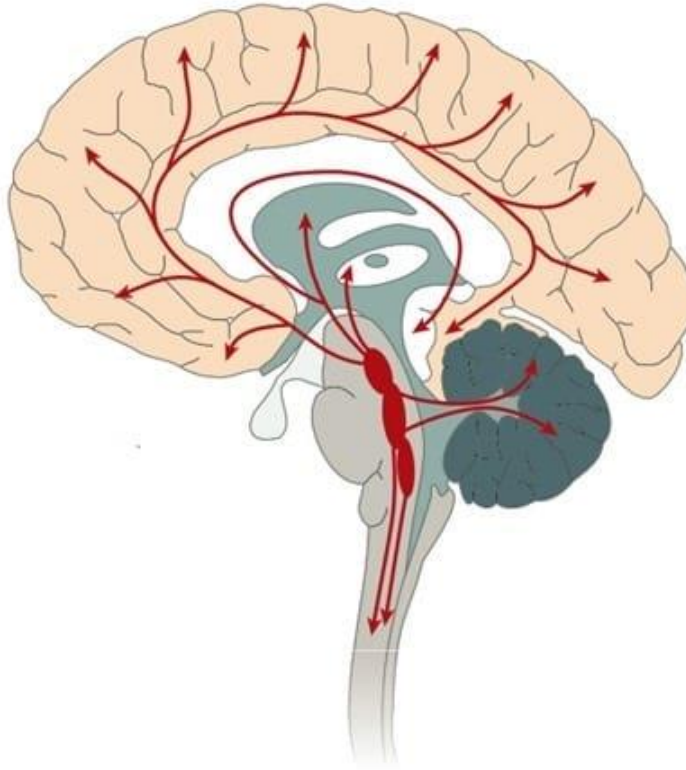


Imagen 3: Ilustración de la vía serotoninérgica ascendente: En el sistema nervioso central, la serotonina se produce casi exclusivamente en neuronas de los núcleos de raphe situados en la línea media del tronco encefálico. Las neuronas de los núcleos del raphe el dorsal y medial, inervan gran parte del SNC a excepción de la médula espinal, que corresponde a la vía serotoninérgica ascendente (Imagen modificada de Berger y cols., 2009).

Otros fármacos que actúan sobre el sistema serotoninérgico (pero no precisamente en el receptor 5-HT_{1A}) y actualmente son un foco de atención en la industria médica, son los Inhibidores Selectivos de la Recaptura de Serotonina (ISRS). Este grupo está representado por diversos fármacos como la fluoxetina, la sertralina, la fluvoxamina y la paroxetina entre otros (Preskorn y cols., 2004).

Los **ISRS**, como su nombre lo dice, actúan principalmente inhibiendo la recaptura de serotonina en la hendidura sináptica (Rodríguez y contreras, 1998) esta inhibición puede ser entre un 60% -80% a la dosis más baja y que

comúnmente es la dosis más eficaz (Masand y Gupta, 1999). De esta manera aumenta la disponibilidad de serotonina y con ello la sinapsis de 5-HT (Hyttel, 1994). Los ISRS han desplazado a otros antidepresivos-ansiolíticos como primera opción de tratamiento debido a su alta eficacia y a la baja agresividad de los efectos secundarios, además de un menor riesgo de sobredosis (Preskorn y cols., 2004)

Por último, los **Inhibidores de la monoamino-oxidasa**, como la fenelzina, la tranilcipromina, la iproniácida y la pargilina son antidepresivos que ejercen también algunas acciones ansiolíticas. Estos compuestos son inhibidores irreversibles de la enzima monoamino-oxidasa, responsable de la degradación de la dopamina, la noradrenalina y la serotonina; es por ello que estos fármacos incrementan los niveles disponibles de estos tres neurotransmisores en la sinapsis, ejerciendo así sus efectos terapéuticos (Nowakowska y Chodera, 1997).

1.5 La buspirona

La buspirona (BUS) es una droga ansiolítica que pertenece al grupo de las azapironas. Se deriva de la clase de compuestos N-[(4-heteroaril-1-piperaziny)alkilo] que se desarrollaron a principios de los años 70's del siglo pasado en los laboratorios de Bristol-Myers (New, 1990). Aunque originalmente fue desarrollado como antipsicótico dirigido a los receptores para dopamina subtipo D2, pronto observaron que aliviaba los síntomas de agresividad y ansiedad, y no los síntomas psicóticos en monos (Tompkins y cols., 1980).

Este efecto ansiolítico de la buspirona tiene una eficacia similar al de las benzodiacepinas sin los efectos colaterales graves de sedación, disfunciones psicomotoras y físicas, dependencia o recaídas por abstinencia (Eison y Temple, 1986; Lader, 1991). Sin embargo tiene efectos adversos como mareo, dolor de cabeza, náuseas y nerviosismo (Loane y Polítis, 2012), los cuales son reportados como efectos secundarios leves. Su mecanismo de acción no se conoce en su totalidad, pero se atribuye principalmente a su actividad en el sistema

serotoninérgico, donde actúa como como agonista completo para los receptores presinápticos 5-HT_{1A} en el núcleo del rafe dorsal. Postinápticamente actúa como un agonista parcial en los receptores 5-HT_{1A} en el hipocampo (Peroutka, 1988). También tiene una afinidad moderada como antagonista para los receptores D2, D3 y D4 de dopamina y agonista parcial de los receptores adrenérgicos alfa-1 (Riblet y cols., 1982).

La bupiriona entusiasmo a los científicos en los primeros estudios donde se evaluó su efecto ansiolítico en casos clínicos con pacientes que presentaban algún tipo de trastorno de ansiedad, pues se observó que tenía una eficacia similar a las benzodiazepinas los sin efectos secundarios graves, aunque el efecto terapéutico se observaba en tratamientos crónicos, dos semanas después de la primera administración (Goldberg, 1979; Rickels y cols., 1983; Jacobson y cols., 1986). Además, mostro ser eficaz en el tratamiento de la ansiedad en diversos estratos de la población, por ejemplo, en pacientes con ansiedad por abstinencia al alcohol (Bruno, 1989; Kranzler, 1994), en personas de la tercera edad (Majercsik y Haller, 2004) o en pacientes con espectro autista (Ceranoglu y cols., 2019).

Los estudios realizados en modelos animales de igual manera encontraron un efecto ansiolítico de la bupiriona bajo distintos protocolos de investigación (Söderpalm y cols., 1993). Por ejemplo, Malikowska-Racia y cols. indujeron estrés prolongado para producir un comportamiento similar al desorden de estrés postraumático en ratones machos adultos, que posteriormente fueron tratados con bupiriona durante 15 días consecutivos y se observó un efecto ansiolítico en el laberinto en cruz elevado a la dosis de 2 mg/Kg (Malikowska-Racia y cols., 2020). En pruebas de ansiedad por abstinencia de etanol, bupiriona tuvo igualmente un efecto ansiolítico en la prueba LCE a una única dosis de 0.65 y 1.25 mg/Kg en ratas long-evans (Lal y cols., 1991).

Sin embargo existen discrepancias, pues también se han observado que la bupiriona puede tener efectos ansiogénicos, aunque que se ha propuesto que no dependen de su afinidad para los receptores serotoninérgicos. Collinsons y Dawson (1997) administraron 0.3, 1.0, 4.0 mg/Kg de bupiriona subcutánea en ratas y

evaluaron su comportamiento en el laberinto en cruz elevado, encontrando una mayor respuesta ansiosa ante esta prueba. Posteriormente se administró el antagonista para los receptores de serotonina tipo 5-HT_{1A}, WAY 100635, a las ratas tratadas con las dosis de 1.0 y 4.0 mg/Kg de buspirona. WAY 100635 no logró revertir ninguno de los efectos de la buspirona en el laberinto en cruz elevado.

Hay varias razones posibles por las que la buspirona podría aparecer inactiva o ansiogénica en la prueba de laberinto en cruz elevado. Se requiere una o dos semanas de tratamiento con buspirona en el hombre antes de que se pueda ver un efecto terapéutico (Goa y Ward 1986), y muchas de las pruebas en animales hasta ahora notificadas sólo han estudiado los efectos del tratamiento agudo. Además, parece ser que existe un rango específico en el que la buspirona muestra efectos terapéuticos. Sin embargo, este fármaco tiene potencial para ser un ansiolítico de primera línea por sus efectos secundarios reducidos además de no presentar adicción ni síndrome de abstinencia (Lader, 1991).

1.6 Pruebas de ansiedad

Existen diversas pruebas para evaluar ansiedad, las cuales se pueden clasificar en modelos de estudio condicionados y modelos de estudio no condicionados (Gómez y cols., 2002). Los modelos condicionados se caracterizan por someter a los individuos a estímulos antagónicos, por ejemplo, por un lado está la necesidad de realizar una conducta que satisfaga alguna necesidad y por otro lado, la posibilidad de recibir un estímulo adverso durante la realización de dicha conducta (Vogel y cols., 1971).

Los modelos no condicionados son aquellos que no requieren de un entrenamiento previo, pues califican la conducta ansiosa innata o valores conductuales basales, por lo que tienen mayor validez neurobiológica (Gomez y cols., 2002). Algunos ejemplos de estas pruebas son la caja luz/oscuridad propuesta originalmente por (Crawley y Goodwin en 1980; Costall y cols., 1989), el campo abierto (Hall, 1934 a,b), la conducta defensiva de enterramiento (Treit y cols., 1993), el modelo de

interacción social (File y Hyde, 1978) y el laberinto en cruz elevado (Handley y Mithani en 1984) o su variante, el laberinto en cero elevado.

El laberinto en cruz elevado fue propuesto por primera vez por Handley y Mithani en 1984 basado en los resultados de Montgomery en 1958 y consta de dos brazos opuestos abiertos y dos cerrados por muros de 40 cm, elevado a de 50 hasta 70 cm del suelo. Esta prueba es utilizada para evaluar la respuesta ansiosa espontánea, debido a la reacción aversiva innata de las ratas a espacios abiertos e iluminados, como se observa incluso, en la prueba de caja luz/oscuridad (Treit y cols., 1993; Costall y cols., 1989). Dicha prueba fue validada por Pellow y cols., en 1985 mediante diversas pruebas farmacológicas y conductuales y es una de las pruebas para medir ansiedad más aceptadas y empleadas (Pellow y cols., en 1985).

Mechiel-Korte y De Boer, (2003) después de una amplia revisión, proponen que para una mayor efectividad predictiva del LCE, se utilice un potenciador del miedo, ya sea intrínseco o extrínseco, tomando el miedo como medida valiosa en la comprensión de los mecanismos neuronales implicados en el estado de ansiedad (Mechiel Korte y De Boer, 2003).

1.7 La prueba de coordinación motora

Dunhamt y Miyas (1957) proponen por primera vez la prueba de Rota-Rod para evaluar la coordinación motora en roedores. Este aparato consta de un rodillo giratorio en el cual se coloca al roedor y se califican el número de caídas. Esta prueba resultó ser suficientemente sensible para detectar disfunciones cerebrales (Lalonde y cols., 1995), por lo que actualmente es ampliamente utilizada para evaluar déficits motores en roedores que son utilizados como modelos animales de enfermedades como el Parkinson, así como para evaluar los efectos adversos de diversas drogas en el SNC (Dunhamt y Miyas, 1957).

2.- Antecedentes

2.1 Las sublíneas de alto y bajo bostezo de la sepa Sprague-Dawley

El interés en la conducta del bostezo y sus mecanismos neurológicos llevo a Urbá-Holmgren y cols., (1990) a desarrollar dos nuevas sublíneas de ratas de la cepa Sprague-Dawley (SD) denominadas de alto bostezo y bajo bostezo (HY y LY respectivamente, por sus siglas en ingles), caracterizadas por tener una frecuencia de bostezos de 22 y 2 por hora en promedio, respectivamente. Estas sublíneas fueron desarrolladas a partir de cruzas endogámicas donde se seleccionaron a las ratas con mayor y menor frecuencia de bostezos. La frecuencia de dicha conducta es mayor en los machos que en las hembras dado que es una característica sexualmente dimórfica (Urbá-Holmgren y cols., 1990).

Otras diferencias conductuales cognitivas altamente estereotipadas han sido identificadas en ambas sublíneas posteriormente.

Moyaho y cols., (1995) identificaron diferencias significativas en el comportamiento de las sublíneas LY y HY en un campo abierto utilizado para evaluar el estrés y la ansiedad. Las ratas HY muestran una mayor distancia recorrida y un mayor número de apoyos y exploraciones verticales en comparación con las ratas LY, lo que se traduce como un estado menos ansioso. Por el contrario, en ratas LY se observó una mayor frecuencia de deposiciones y menos deambulacion, lo que implica un estado ansioso y/o estresado. Por otra parte en la prueba de aseo inducido se observó un mayor número de secuencias de aseo y más largas en ratas LY realizando casi el doble en comparación con las ratas HY (Moyaho y cols. 1995).

En el laberinto en cruz elevado también se encontró que los machos HY tienen una conducta menos ansiosa, pues permanecieron más tiempo en los brazos abiertos y tuvieron un menor número de entradas a los brazos cerrados con un menor tiempo de permanencia en ellos, en comparación con los machos de la sublínea LY (Eguibar, datos no publicados). Y los resultados obtenidos en un estudio más reciente realizado por Díaz (2019), mostraron que en efecto, las ratas LY sometidas

a la caja luz-oscuridad, mostraron un fenotipo más ansioso y las ratas HY un fenotipo resiliente.

Debido a esto se caracterizaron a las ratas LY como más reactivas emocionalmente y se propone la existencia de una correlación inversa entre la frecuencia de bostezo y la reactividad emocional

En otro estudio donde se ha evaluado la conducta en machos de estas dos sublíneas en la prueba de laberinto en cruz elevado, se observó que las ratas HY permanecieron menos tiempo en los brazos abiertos en comparación a la sublínea LY. En este mismo estudio se realizó la prueba de campo abierto, encontrando que las ratas HY pasaron menos tiempo en el cuadrante central, deambularon menos en el centro y pasan más tiempo en las esquinas del campo abierto en comparación a la sublínea LY (Uribe, 2010). Estos resultados no corresponden con lo reportado anteriormente por lo que se cree que pudieron deberse a dificultades metodológicas.

Se sugiere que es posible que la selección llevada a cabo en las ratas HY y LY también separara a aquellos tipos de comportamiento que están asociados con umbrales específicos de excitación relacionados con el estrés

Con base en lo anterior se propone a las ratas LY como un modelo de ansiedad, pero son necesarias pruebas farmacológicas que lo soporten.

3.- Justificación

A pesar de la eficacia de los tratamientos farmacológicos actuales, la serie de efectos secundarios indeseables que presentan, impiden su uso prolongado. Con base a esto es necesario seguir investigando y buscando alternativas terapéuticas éticas y eficientes, ya que los trastornos de ansiedad al cabo del tiempo pueden desembocar en cuadros de depresión mayor, lo que conlleva el riesgo de suicidio (Zarate y cols., 2012).

El agonista parcial serotoninérgico, buspirona, ha demostrado ser efectivo en el tratamiento de la ansiedad con reducidos efectos secundarios. Sin embargo, debido a la variabilidad en la sensibilidad de los receptores serotoninérgicos a éste fármaco es importante seguir investigando su eficacia en distintos modelos animales con distintas características fenotípicas en cuanto a su respuesta al estrés.

Por otro lado los modelos animales de ansiedad son una herramienta importante para el entendimiento de estos trastornos. Las ratas LY se proponen como un modelo de ansiedad con base en pruebas conductuales, sin embargo son necesarias pruebas farmacológicas para continuar con la validación de las ratas LY como un modelo de ansiedad.

4.- Hipótesis

La buspirona mejorará el desempeño de las ratas de alto y bajo bostezo en la prueba del laberinto en cruz elevado.

5.- Objetivos

- 1.- Evaluar los niveles basales de ansiedad en el laberinto en cruz elevado en las ratas HY, LY y SD.
- 2.- Evaluar la conducta tipo ansiosa en las ratas HY y LY en el laberinto en cruz elevado, tras la administración de 3 distintas dosis de buspirona por vía subcutánea.
- 3.- Evaluar los posibles efectores secundarios de la buspirona en la coordinación psicomotora en las ratas HY y LY empleando la prueba de Rota-Rod.

6.- Metodología

6.1 Sujetos de estudio

Se utilizarán ratas macho Sprague-Dawley (SD) y de las sublíneas de alto (HY) y bajo bostezo (LY), las cuales fueron obtenidas del Bioterio de Investigación y mantenidas a partir de las 8 semanas de edad en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Las ratas se mantuvieron con un ciclo de luz-oscuridad 12:12 con encendido de la luz a las 07:00 horas, con temperatura controlada a 22 ± 2 °C, humedad relativa entre 35-45 %, agua purificada (Ciel™, Coca-Cola Co.) y alimento balanceado para roedores (Purina Mills, EUA) *ad libitum*.

Un total de 24 ratas de cada sublínea fueron utilizadas y divididas aleatoriamente en grupos de 6 individuos, a los cuales se les midió bostezo basal para posteriormente ser sometidos a los distintos tratamientos y pruebas conductuales.

Los grupos de ratas LY sometidos a dosis de 1.25 y 0.62 mg/Kg de buspirona, se conformaron de 5 individuos.

6.2 Evaluación de la frecuencia de bostezo espontaneo

El bostezo espontaneo se midió en ratas de 65 ± 3 días de edad. Como fue descrito por Urbá-Holmgren en 1990, las observaciones se realizaron con cada animal colocado en un cristizador (diámetro 200 mm, altura 100 mm), cuyo piso se cubrió con una hoja de papel filtro limpio y la parte superior con una placa de Plexiglás, dejando un segmento de 1 cm de ancho abierto para ventilación. Se colocarán dos espejos a un ángulo de 45° justo detrás de los cristizadores para permitir la observación de las ratas a 360°.

Se contabilizará el número de bostezos durante una hora, desde las 09:00 a las 10:00 horas para minimizar la variación circadiana del comportamiento de bostezo (Anías y cols., 1984). Dos observadores entrenados determinaran el bostezo sentados frente a la mesa en la que se colocarán las ratas.

La respuesta de bostezo se define como una amplia y lenta apertura de la boca, acompañada de una inspiración profunda y termina cuando las ratas cierran la boca con una expiración rápida y regresan a una respiración normal (Eguibar y cols., 2012).

Se excluyeron de la prueba aquellas ratas que mostraron una frecuencia de bostezos fuera de los promedios establecidos anteriormente para cada sublínea.



Imagen 4. Rata Sprague-Dawley durante prueba de bostezo. En la imagen se puede observar un bostezo típico, caracterizado por una apertura amplia y lenta de la boca, acompañada de una inspiración profunda y termina cuando las ratas cierran la boca con una expiración rápida (Imagen tomada de Dorantes, 2019).

6.3 Fármacos

Se utilizó clorhidrato de buspirona (N-[4-[4-(2-pirimidinil)-1-piperazinil] butil]- 8-azaspiro[4.5]decano-7,9-diona clorhidrato) de la marca Tocris® (EUA) disuelto en agua inyectable. Se administraron tres distintas dosis de 0.62, 1.25 y 2.5 mg/Kg por vía subcutánea (S.C.). Las soluciones fueron preparadas inmediatamente antes de la administración y administradas en un volumen de 1.0 mL/Kg 30 minutos antes de las pruebas conductuales (Nishi y cols., 2009; Kumar y cols., 2016; Lim y cols.,

2008). Los grupos control fueron tratados con la misma dosis de solución vehículo por vía S.C.

6.4 ROTA-ROD

Para esta prueba se utilizaron ratas de 75 ± 3 días que fueron sometidas a la prueba de Rota-Rod (modelo 47750 Ugo basile®, Italia; ver imagen 5). Se realizaron dos sesiones de entrenamiento llevadas a cabo entre las 11:00 y 12:00 horas con una diferencia de 48 horas entre cada una. Las pruebas experimentales se realizaron 48 horas después de la última sesión de entrenamiento a la misma hora.

Las sesiones de entrenamiento consistieron en someter a las ratas durante 5 minutos al Rota-Rod a una velocidad constante de 5 revoluciones por minuto (RPM) seguida de un descanso de 3 minutos y otros 5 minutos de habituación, este último a una velocidad ascendente desde 5 hasta 15 RPM. El día del experimento las ratas fueron sometidas al Rota-Rod por un único periodo de 5 minutos a una velocidad ascendente desde 5 hasta 15 RPM.

Todas las pruebas se realizaron siempre en pares de sujetos experimentales, colocando dos ratas al mismo tiempo en el Rota-Rod en espacios alternados para disminuir la respuesta al estrés.

Se evaluaron el número de caídas, así como el número de emisiones de orina y de bolos fecales. Entre cada prueba se limpió el aparato con una solución limpiadora a base de distintos alcoholes.



Imagen 5. Rota-Rod (modelo 47750 Ugo basile®, Italia). Utilizado para evaluar coordinación motora en roedores.

6.5 Laberinto en cruz elevado

Para esta prueba se utilizó un laberinto en forma de cruz elevado (San Diego Instruments Co., EUA; ver imagen 6) el cual cumple con las especificaciones de Pellow y cols. (1985) que consta de dos brazos opuestos abiertos y dos brazos cerrados de 50 cm de largo y 10 cm de ancho. Los brazos cerrados son bordeados por paredes de 50 cm de alto. El laberinto es de color beige neutro y se alza a una altura de 50 cm del suelo.

Las ratas fueron sometidas por una única ocasión a esta prueba, 15 minutos antes de la prueba experimental de Rota-Rod. Los experimentos se realizaron en el cuarto de cuidado bajo condiciones controladas de luz, temperatura y humedad. Para esta prueba, las ratas fueron colocadas individualmente en el centro del laberinto viendo en dirección a un brazo cerrado y se les permito libre exploración por 5 minutos. Todas las pruebas fueron videograbadas con una cámara Sony Handycam HDR-PJ260V y almacenadas en un disco duro interno.

Se calificó el número de entradas a los brazos abiertos, el número de entradas a los brazos cerrados y el tiempo de permanencia tanto en los brazos cerrados como en los brazos abiertos, así como el número de emisiones de orina, bolos fecales y

asomos. También se calculó el índice de preferencia por los brazos abiertos del LCE con la siguiente formula:

$$\text{Índice de preferencia por los brazos abiertos \%} = \frac{t \text{ en los brazos abiertos}}{t \text{ en los brazos abiertos} + t \text{ en los brazos cerrados}} \times 100$$

Se consideró como entrada cuando las 4 extremidades se encontraban dentro de alguno de los brazos. Si alguna rata caía del laberinto se colocaba de nuevo en el punto donde estaba antes de caer y se continuaba hasta que se completara los 5 min de la prueba.

El laberinto en cruz elevado se colocó siempre en la misma dirección y se limpió con solución limpiadora entre cada prueba. El comportamiento de cada sujeto fue analizado empleando el programa The Observer XT v.12.0 (Noldus, Technology Países Bajos) para Windows 10.

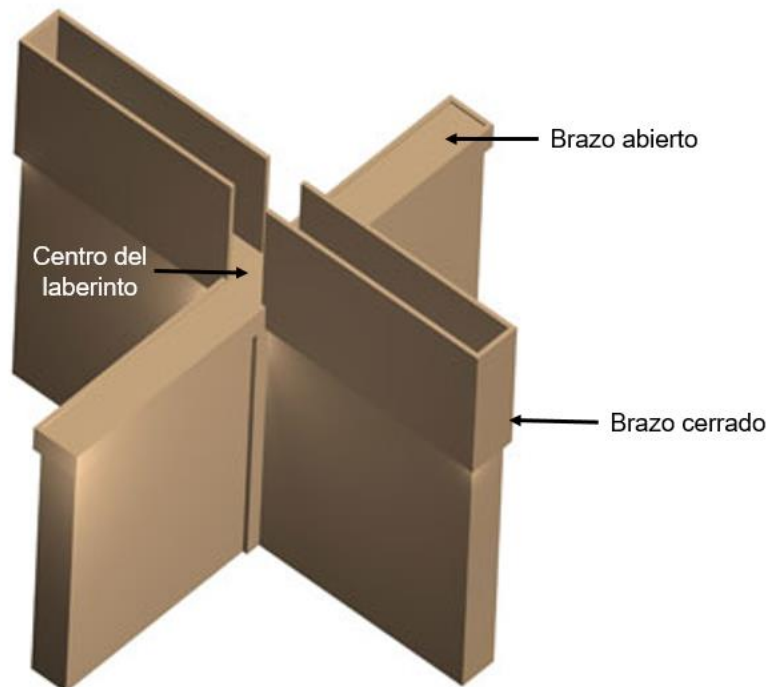


Imagen 6: Laberinto en cruz elevado. Utilizado para medir ansiedad. Se caracteriza por dos brazos cerrados por muros de 50 cm y dos brazos abiertos y se encuentra elevado a 50 cm del suelo.

6.6 Análisis Estadístico

Para analizar los datos obtenidos del laberinto en cruz elevado y el Rota-Rod, se realizaron análisis de varianza de una vía (ANOVA), seguida una prueba post-hoc Tukey para aquellos grupos de datos con una distribución normal. Para los grupos de datos no paramétricos se realizó una prueba de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba post-hoc Tukey. Se consideró que las diferencias eran estadísticamente significativas cuando $P \leq 0.05$. Todas las pruebas estadísticas se realizaron por medio del paquete estadístico Sigma Plot versión 11 para Windows.

7.- Resultados

7.1 Comportamiento en el laberinto en cruz elevado

7.1.1 Número de entradas a los brazos abiertos

La comparación entre el número de entradas a los brazos abiertos (NEBA) en los grupos control, mostró únicamente que las ratas de la sublínea LY tienen un mayor número de entradas a los brazos abiertos en comparación con las ratas de la cepa Sprague-Dawley (ANOVA $F_{(2),(15)} = 6.466$, $p = 0.009$; Tukey $q = 5.08$, $p = 0.007$). A la dosis de 0.62 mg/Kg de buspirona, las ratas LY tuvieron una menor reducción del NEBA, podría decirse que una mejor respuesta al fármaco en comparación con las sublíneas SD y HY (ANOVA $F_{(2),(14)} = 12.206$, $p < 0.001$; Tukey $q = 6.651$, $p = 0.001$ y $q = 5.054$, $p = 0.008$ respectivamente). En las dosis de 1.25 y 2.5 mg/Kg de buspirona no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las sublíneas (Kruskal-Wallis, $p = 0.42$ y $p = 0.94$ respectivamente).

Las ratas SD mostraron diferencias estadísticamente significativas entre aquellas tratadas con dosis de 0.62 y 2.5 mg/Kg de buspirona en comparación con el control (ANOVA $F_{(3),(18)} = 5.584$, $p = 0.007$; Tukey $q = 5.08$, $p = 0.007$; Tukey $q = 4.154$, $p = 0.040$ y $q = 5.397$, $p = 0.006$ respectivamente), siendo este último el que tuvo un mayor número de entradas a los brazos abiertos en todos los casos. Las ratas HY (ANOVA, $F_{(3),(20)} = 36.749$, $p < 0.001$),

y LY (ANOVA, $F_{(3),(20)} = 27.283$, $p < 0.001$), tuvieron los mismos resultados. El grupo control en todos los casos fue quien tuvo el mayor número de entradas a los brazos abiertos en comparación con las tres dosis de buspirona. En la sublínea LY, la dosis de 0.62 mg/Kg fue la que menos redujo las entradas a los brazos abiertos en comparación con las dosis de 1.25 y 2.5 mg/Kg de BUS (Tukey $q = 4.827$, $p = 0.014$ y $q = 6.297$, $p = 0.001$ respectivamente).

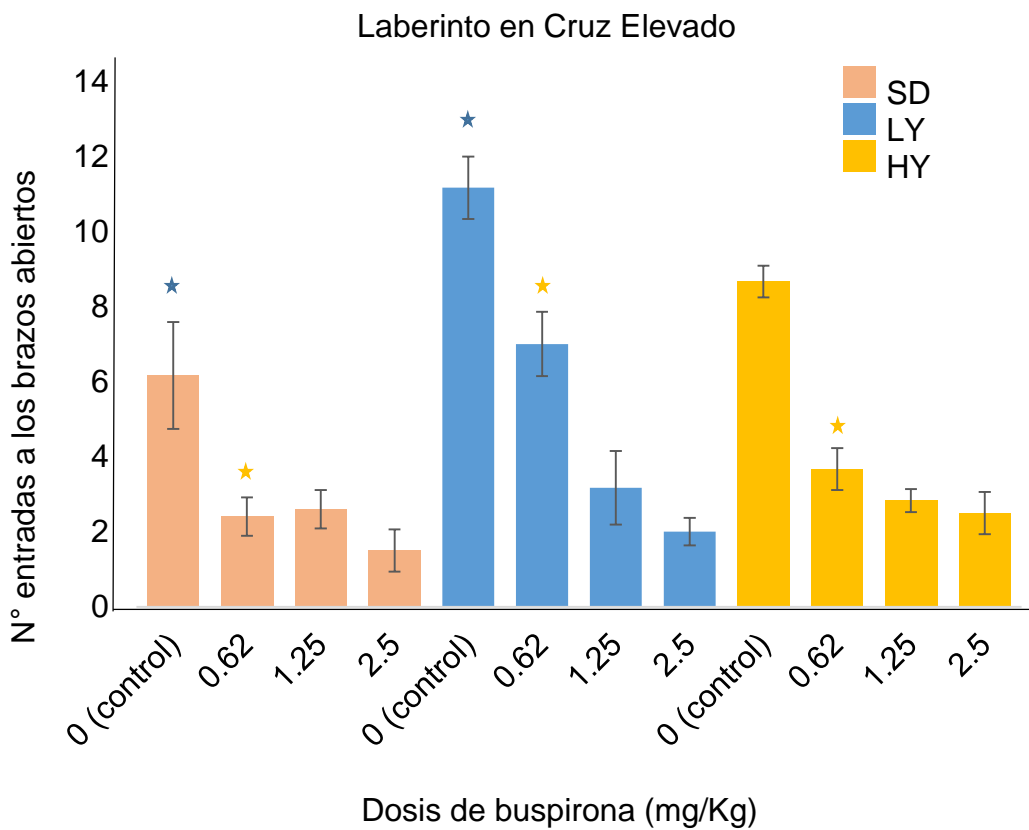


Imagen 8. Histograma del número de entradas a los brazos abiertos de las ratas Sprague-Dawley y de las sublíneas de alto y bajo bostezo tratadas con tres distintas dosis de buspirona. La buspirona redujo de manera dosis dependiente el número de entradas a los brazos abiertos.

7.1.2 Número de entradas a los brazos cerrados

Para el número de entradas a los brazos cerrados, entre individuos de distinta sublínea tratados con la misma dosis, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (ANOVA, $p > 0.05$).

En ratas SD tratadas con distintas dosis de buspirona, se encontraron diferencias estadísticas entre los individuos tratados como controles en comparación con los individuos tratados con 1.25 mg/Kg y 2.5 mg/Kg de buspirona (ANOVA $F_{(3),(18)}=9.421$, $p < 0.001$; Tukey $q=5.215$, $p=0.008$ y $q=7.134$ $p < 0.001$ respectivamente), siendo los controles quienes realizaron mayor número de entradas a los brazos cerrados. La misma situación se observó en las ratas de la sublínea HY control en comparación con 1.25 y 2.5 mg/Kg de BUS (ANOVA $F_{(3),(20)}= 5.383$, $p=0.007$; Tukey $q= 4.472$, $p=0.023$ y $q=4.919$, $p=0.012$ respectivamente). En las ratas de la sublínea LY no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las distintas dosis (Kruskal-Wallis $p=0.069$).

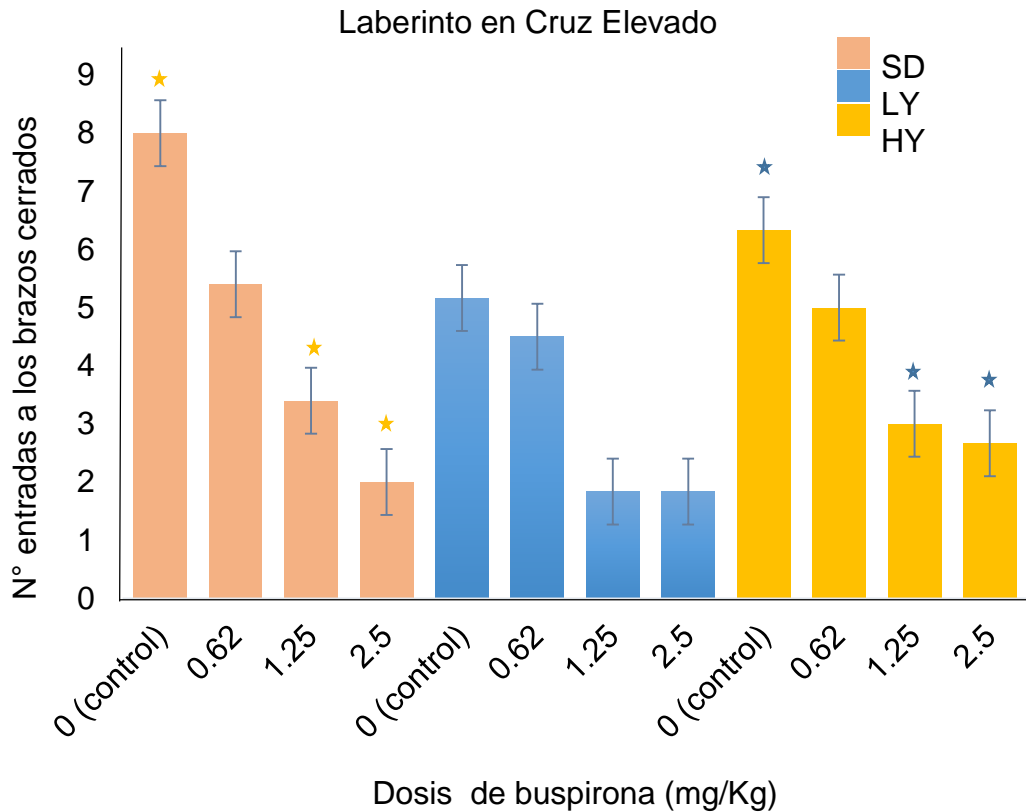


Imagen 9. Histograma del número de entradas a los brazos cerrados de las ratas Sprague-Dawley y de las sublíneas de alto y bajo bostezo tratadas con tres distintas dosis de buspirona. Se observa una tendencia de la buspirona a reducir de manera dosis dependiente el número de entradas a los brazos cerrados.

7.1.3 Permanencia en los brazos abiertos

En grupos de distinta sublínea tratados con la misma dosis solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las ratas SD y LY tratadas como controles (ANOVA $F_{(2),(15)}=4.633$, $P=0.027$; Tukey $q=4.304$, $p=0.021$), siendo las ratas LY las que tuvieron un mayor tiempo de permanencia en los brazos abiertos. En los grupos tratados con 0.62 mg/Kg de BUS, de nuevo las ratas LY permanecieron más tiempo en los brazos abiertos en comparación con las ratas SD (Kruskal-Wallis $H = 11.629$, $gl=2$, $P = 0.003$, Dunnett $p<0.005$). En las ratas tratadas con 1.25 y 2.5 mg/Kg BUS

no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (ANOVA $p=0.722$; Kruskal-Wallis $p=0.059$, respectivamente).

Comparando grupos de la misma sublínea tratadas con distinta dosis de BUS solo se encontraron diferencias estadísticas entre las ratas HY controles en comparación con las ratas HY tratadas con 0.62 y 2.5 mg/Kg de buspirona (Kruskal-Wallis $H = 9.327$, $gl=3$, $P=0.025$; Tukey $q=3.753$, $p<0.05$ y $q=3.637$, $p<0.05$ respectivamente). En las sublíneas SD y LY no se encontraron diferencias estadísticas (ANOVA $p= 0.168$; Kruskal-Wallis $p=0.149$ respectivamente).

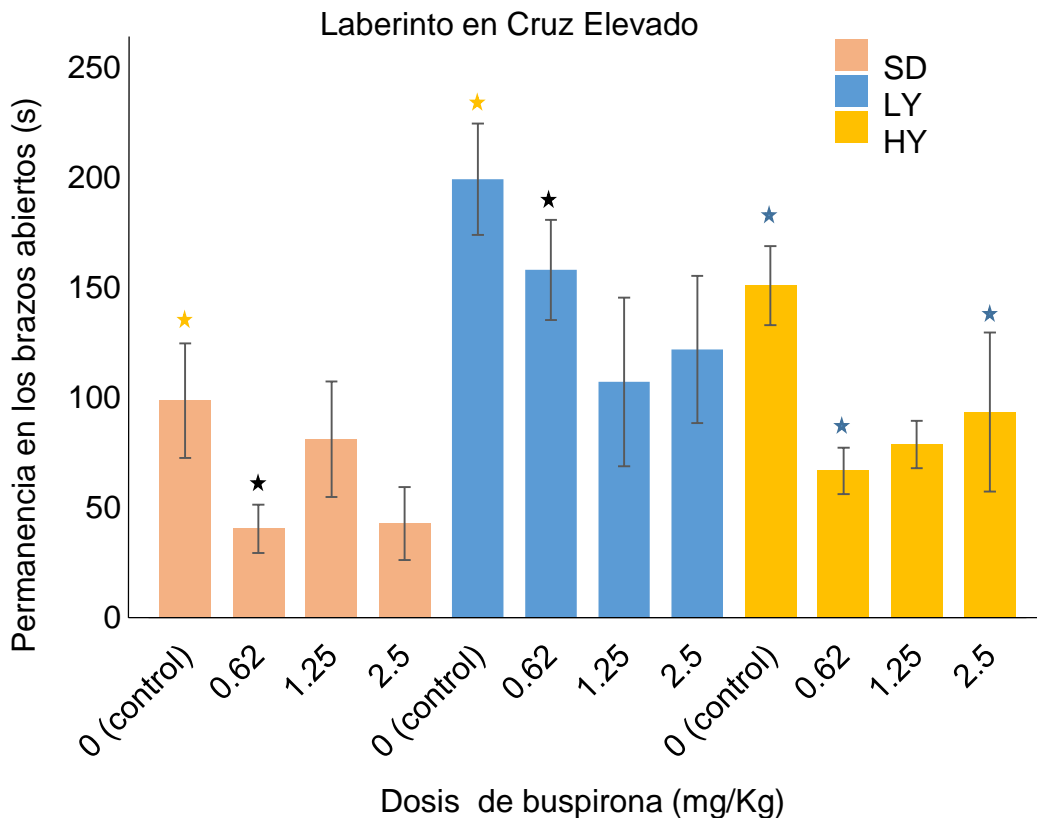


Imagen 10. Histograma del tiempo de permanencia en los brazos abiertos de las ratas Sprague-Dawley y de las sublíneas de alto y bajo bostezo tratadas con tres distintas dosis de buspirona.

7.1.4 Permanencia en los brazos cerrados

Los grupos tratados con bupiriona a las dosis de 1.25 y 2.5 mg/Kg no mostraron diferencias significativas entre sublíneas. En el grupo control nuevamente se encontró una diferencia estadística entre las ratas SD y LY, siendo SD quienes pasaron más tiempo en los brazos cerrados (ANOVA $F_{(2),(15)}=5.177$, $p=0.020$; Tukey $q=4.545$, $p=0.015$). Los individuos tratados con la dosis de 0.62 mg/Kg de bupiriona mostraron diferencias en las ratas LY en comparación con las ratas SD y HY, siendo las ratas LY quienes pasaron menor tiempo en los brazos cerrados (ANOVA $F_{(2),(14)}=15.263$, $p<0.001$; Tukey $q=7.439$, $p<0.001$ y $q=5.647$ y $p=0.004$ respectivamente). En los grupos tratados con 1.25 y 2.5 mg/Kg de BUS no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Kruskal-Wallis $p=0.057$ y $p=0.504$ respectivamente).

En el tiempo de permanencia en los brazos cerrados, evaluado por sublínea, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los grupos SD, LY o HY (ANOVA $p=0.461$, $p=0.23$; Kruskal-Wallis $p=0.053$ respectivamente).

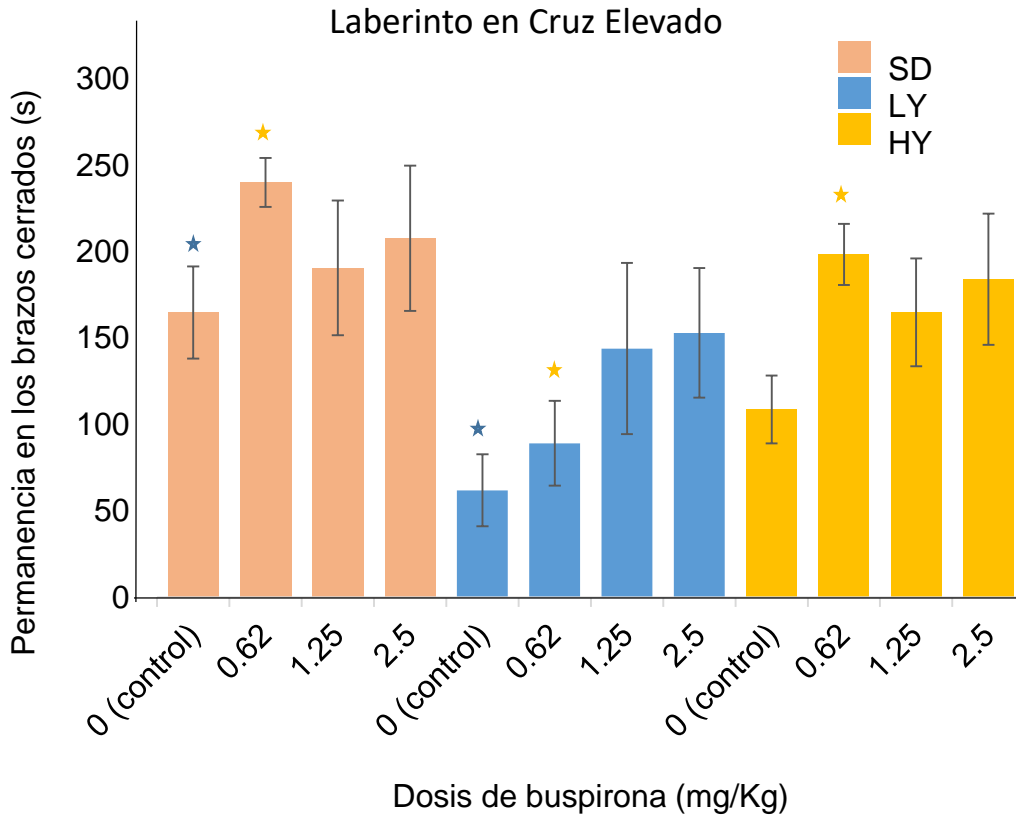


Imagen 11. Histograma del tiempo de permanencia en los brazos cerrados de las ratas Sprague-Dawley y de las sublíneas de alto y bajo bostezo tratadas con tres distintas dosis de buspirona.

7.1.5 Índice de preferencia por los brazos abiertos

Por último, se calculó el índice de preferencia por los brazos abiertos y se observó tanto en el grupo control como en el grupo tratado con 0.62 mg/KG de buspirona, que las ratas LY tienen una mayor preferencia por los brazos abiertos en comparación con las ratas SD (ANOVA $F_{(2),(15)}=5.317$, $p=0.018$; Tukey $q=4.606$, $p=0.014$; Kruskal-Wallis $H=11.119$ $gl=2$, $p=0.004$; Dunnett $p<0.05$ correspondientemente). En los grupos tratados con 1.25 y 2.5 mg/Kg de buspirona, no se observaron diferencias estadísticamente significativas (Kruskal-Wallis $p=0.772$ y $p=0.220$ respectivamente).

En los organismos evaluados por sublínea no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los grupos SD (Kruskal-Wallis $p=0.296$), LY (ANOVA $p=0.288$), o HY (Kruskal-Wallis $p=0.051$).

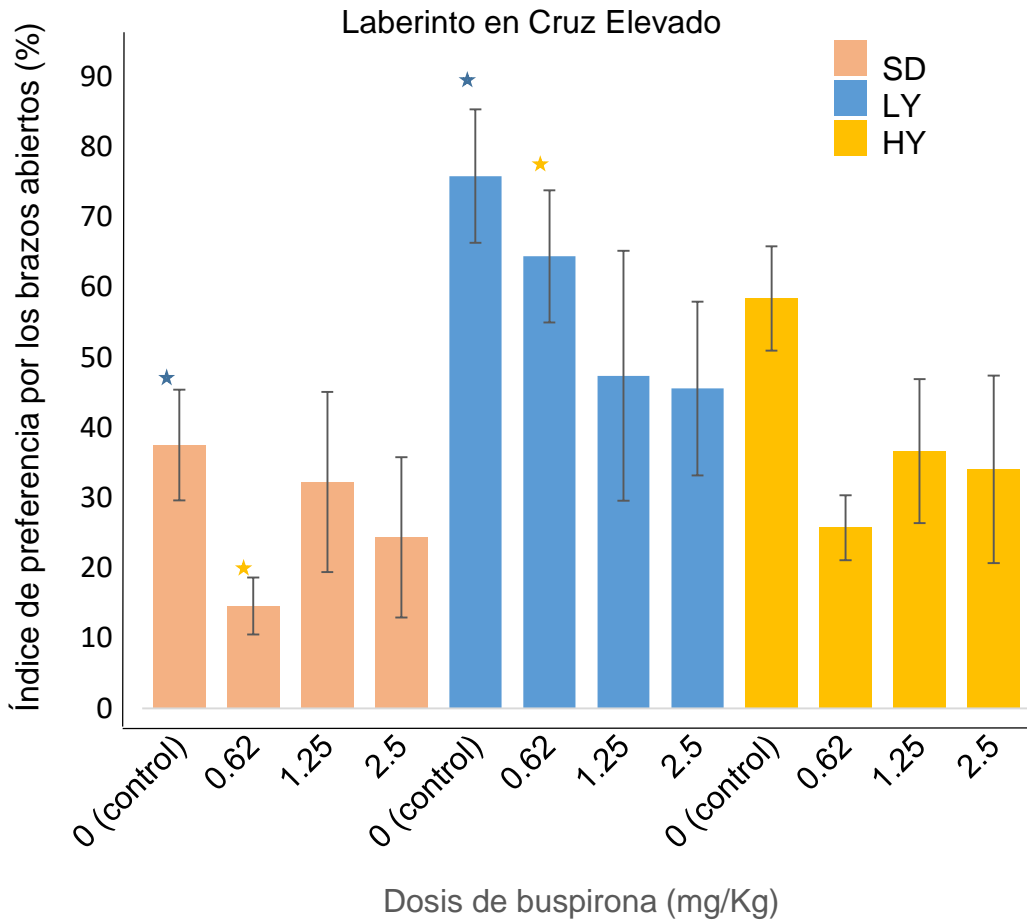
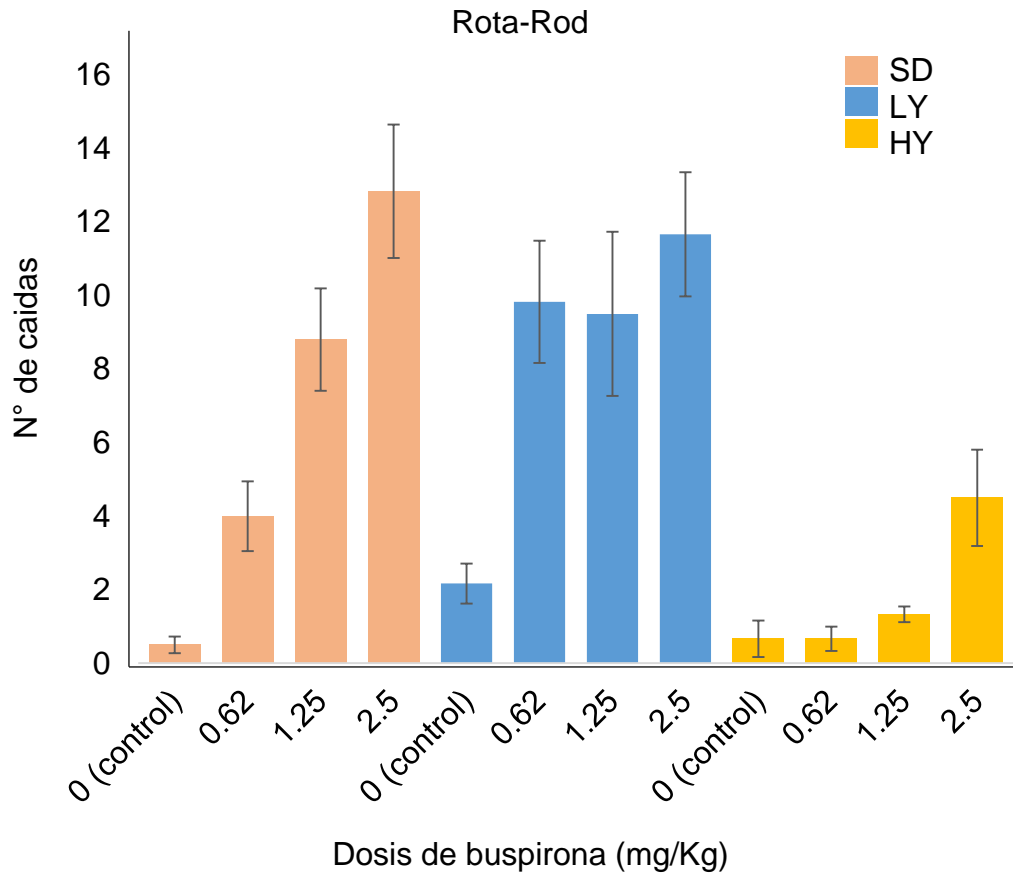


Imagen 12. Histograma del índice de preferencia por los brazos abiertos en las ratas Sprague-Dawley y sublíneas de alto y bajo bostezo tratadas con tres distintas dosis de buspirona. La buspirona disminuyo, aunque no significativamente, el índice de preferencia por los brazos abiertos.

7.2 Resultados de la prueba Rota-Rod

El análisis estadístico mostro que los organismos tratados como control no se diferencian por su desempeño en la prueba de coordinación motora entre sublíneas (Kruskal-Wallis $p=0.034$). Pero a dosis de 0.62 mg/Kg de BUS, las ratas LY tuvieron un aumento significativo en el número de caídas en comparación con las ratas SD y HY (ANOVA $F_{(2),(14)}=17.311$, $p<0.001$; Tukey $q=4.995$, $p=0.009$ y $q= 8.232$, $p<0.001$ respectivamente). A las dosis de 1.25 y 2.5 mg/Kg, las ratas de la sublínea HY tuvieron un menor número de caídas en comparación con las sublíneas SD y LY (Kruskal-Wallis $H = 11.249$ $gl=2$ $p=0.004$; Dunnett $q=2.714$, $p<0.05$; $q=2973$, $p<0.05$ y ANOVA $F_{(2),(15)}=7.776$, $p=0.005$; Tukey $q=5.150$, $p=0.007$; $q=4.429$, $p=0.018$ respectivamente).

Comprando individuos de la misma sublínea, las ratas SD aumentaron el número de caídas significativamente en la dosis de 1.25 y 2.5 mg/Kg en comparación con el grupo control (ANOVA $F_{(3),(18)}=14.794$, $p<0.001$; Tukey $p<0.001$). En las ratas LY, todas las dosis de buspirona aumentaron el número de caídas de forma significativa en comparación con el control (ANOVA $F_{(3),(20)}=9.430$, $p<0.001$; Tukey $p=0.005$). Por último, en las ratas HY, las caídas del Rota-Rod solo aumentaron de manera significativa a la dosis de 2.5 mg/Kg en comparación con el grupo control y la dosis de 0.62 mg/Kg (Kruskal-Wallis $H=11.539$, $gl=3$, $p=0.009$; Tukey $p<0.005$).



8.- Discusión

8.1 ¿La sublínea de bajo bostezo como modelo de ansiedad?

Los espacios abiertos e iluminados resultan aversivos para los roedores, ya que en la naturaleza, esta resulta ser una circunstancia desventajosa para su supervivencia. Partiendo de este concepto, que el laberinto en cruz elevado se considere una prueba confiable para la evaluación de la ansiedad, en donde la permanencia en los brazos abiertos y bien iluminados resulta una situación ansiogénica para las ratas y por el contrario, los brazos cerrados y poco iluminados parecen ser una zona de menor estrés. Además de que existe evidencia científica de la eficacia de esta prueba (Pellow y cols., en 1985).

Ya que se propuso inicialmente a la sublínea de ratas de bajo bostezo como más reactivas emocionalmente (Moyaho y cols. 1995), se esperaba que la sublínea LY tuviera mayores niveles basales de ansiedad en comparación con las ratas HY, sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio mostraron que las ratas LY fueron el grupo menos ansioso, al tener un mayor número de entradas y más tiempo de permanencia en los brazos abiertos, además de un mayor índice de preferencia por los brazos abiertos, todo esto en el grupo control en comparación con la sublínea SD. Aunque no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en la comparación con el grupo HY, se puede observar de igual manera, que las ratas LY entraron y permanecieron más tiempo en los brazos abiertos que la sublínea de alto bostezo (Ver figuras 8, 9 y 12).

La evidencia encontrada en la literatura sustenta la propuesta de las ratas LY como modelo de ansiedad, sin embargo los resultados aquí reportados parecen contradecir esta teoría. Es posible que esto se deba a que el tamaño de la muestra no fue suficientemente significativa para obtener una media confiable, lo que se refleja en un error estándar considerablemente grande en los resultados del tiempo invertido tanto en los brazos abiertos como cerrados. Siendo esta primera, la medida más importante a calificar en el laberinto en cruz elevado, para determinar el nivel de ansiedad.

A pesar de que estos resultados no coinciden con las predicciones, ya otros estudios han reportado datos similares. Uribe en 2010 reportó que las ratas de la sublínea LY mostraron un comportamiento menos ansioso que las ratas HY en la prueba de laberinto en cruz elevado, al permanecer 2.9 veces más tiempo en los brazos abiertos que las ratas de la sublínea HY (Uribe, 2010).

Adicionalmente, en este estudio no solo se comparó a las sublíneas LY y HY, sino que también a la sepa original Sprague-Dawley, quienes fueron las que tuvieron un menor índice de preferencia por los brazos abiertos y menor tiempo de permanencia en ellos, siendo caracterizadas como el modelo animal más ansioso en este estudio.

8.2 El efecto ansiolítico de la buspirona

La buspirona como fármaco para el tratamiento de la ansiedad, tiene el potencial de mejorar la calidad de vida de los pacientes al tratar este tipo de desórdenes sin los efectos secundarios graves de los ansiolíticos que actualmente se encuentran en el mercado, sin embargo seguimos en el proceso de encontrar la dosis efectiva e identificar el estrato de la población que pueda ser apto para recibir este tratamiento.

Para este fin, se seleccionaron 3 dosis de buspirona con base en la literatura, que pudieran ser efectivas para disminuir el comportamiento ansioso en tres sublíneas de ratas. Sin embargo se encontró que en todos los casos, la buspirona aumentó la conducta de tipo ansiosa.

Los resultados mostraron que el número de entradas a los brazos abiertos disminuyó significativamente y de manera dosis dependiente en todos los grupos, siendo que a la dosis más grande (2.5 mg/Kg), el número de entradas a los brazos abierto había disminuido a una tercera parte en comparación con el grupo control. Las ratas LY tratada con dosis de 0.62 mg/Kg de buspirona fueron las menos afectada por el fármaco en el número de entradas a los brazos abiertos, en comparación con las ratas SD y HY tratadas con la misma dosis, pero de igual manera hubo una disminución de esta conducta.

El tiempo de permanencia en los brazos abiertos también se vio levemente disminuido, aunque no se puede observar una tendencia clara. Estadísticamente, esta disminución solo fue significativa entre las ratas HY control en comparación con las ratas HY tratadas con 0.62 y 2.5 mg/Kg de buspirona.

El número de entradas a los brazos cerrados también se vio significativamente disminuido por la administración de buspirona a las dosis de 1.25 y 2.5 mg/Kg en las ratas SD y HY. Nuevamente, el análisis estadístico no mostró valores significativos para los otros grupos, pero se puede ver una clara disminución en el número de entradas a los brazos cerrados por la administración de buspirona. Es posible que este parámetro por si solo sea difícil de interpretar. Pero tomando en cuenta que el tiempo de permanencia en los brazos cerrados no se vio modificado

significativamente y que en la prueba de coordinación motora, las ratas SD tuvieron mayor número de caídas a estas dosis, podría ser que la buspirona no afectara la preferencia por los brazos cerrados, pero si la actividad locomotora de las ratas.

Dado que el principal factor a considerar en la prueba de laberinto en cruz elevado es el tiempo de permanencia en los brazos abiertos, es posible que los datos obtenidos no parezcan tener la suficiente robustez para inferir que la buspirona aumentó el estado ansioso de las ratas. Sin embargo, está claro que al menos en estas sublíneas HY y LY y en la sepa Sprague-Dawley, a dosis de 0.62, 1.25 y 2.5 mg/Km, la buspirona no tuvo ningún efecto ansiolítico.

Los fármacos ISRS, tienen su principal mecanismo de acción al aumentar la actividad serotoninérgica (Rodríguez y contreras, 1998). Por el contrario, el receptor 5-HT_{1A} ha sido caracterizado como un receptor de serotonina inhibitorio que, al ser activado reduce la descarga de las neuronas de serotonina (Peroutka, 1988).

Aunque el mecanismo de acción de la buspirona aún no se conoce en su totalidad, se ha propuesto que su efecto terapéutico sea debido a que, al disminuir la disponibilidad de serotonina en la sinapsis, como mecanismo de compensación, se comiencen a sobre expresar otros receptores de 5-HT post-sinápticos en distintas regiones cerebrales. El efecto ansiolítico se observaría entonces, gracias al aumento de la comunicación serotoninérgica por estos receptores sobre-expresados.

Aunque la administración de agonistas para el receptor 5-HT_{1A} a dosis agudas en muchos casos ayuda a comprender la función basal de estos receptores, para el fin de este estudio, la dosis aguda de buspirona no pareció tener el efecto deseado. Por lo que se propone estudiar el efecto de la buspirona en estas sublíneas de ratas pero bajo tratamiento crónico.

Respecto al desempeño de los organismos en la prueba Rota-Rod, se observó que la coordinación motriz de las ratas SD y LY se vio afectadas por la buspirona, a pesar de este efecto, las ratas LY mostraron un aumento en la actividad locomotora en EPM, lo que apoya un poco más que estas sublíneas fueran consideradas menos

ansiosas. Las ratas HY parecen no ser susceptibles a este efecto secundario de la buspirona, debido posiblemente a que la selección artificial de las dos sublíneas

9. Conclusiones

- La sublínea de ratas LY, mostró los niveles basales de ansiedad más altos en esta prueba, en comparación con la sublínea HY y las ratas Sprague-Dawley.
- La buspirona a dosis de 0.62, 1.25 y 2.5 mg/Kg no tiene un efecto ansiolítico en ratas SD, LY y HY.
- La buspirona afectó la coordinación motriz de las ratas SD, LY y HY.

10. Bibliografía

- Abela, A. R., Browne, C. J., Sargin, D., Prevot, T. D., Ji, X. D., Li, Z., . . . Fletcher, P. J. (2020). Median raphe serotonin neurons promote anxiety-like behavior via inputs to the dorsal hippocampus. *Neuropharmacology*, 168, 107985. doi:10.1016/j.neuropharm.2020.107985
- Adams, C. L., & Lawrence, A. J. (2007). CGP7930: A positive allosteric modulator of THE GABABRECEPTOR. *CNS Drug Reviews*, 13(3), 308-316. doi:10.1111/j.1527-3458.2007.00021.x
- Anías, J., Holmgren, H., Hrbá-holmgren, R. & Eguíbar, J. R. (1984) Circadian variation of yawning behavior. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 44(4), 179-186.
- Aragonès, E., Lluís Piñol, J., & Labad, A. (2009). Comorbilidad de la DEPRESIÓN MAYOR Con OTROS trastornos mentales Comunes EN PACIENTES de Atención primaria. *Atención Primaria*, 41(10), 545-551. doi:10.1016/j.aprim.2008.11.011
- Baulieu, E. E. (1997) Neuroesteroides: del sistema nervioso, por el sistema nervioso, para el sistema nervioso. *Progresos recientes en la investigación hormonal*. ; 52: 1-32.
- Ball, T., Derix, J., Wentlandt, J., Wieckhorst, B., Speck, O., Schulze-Bonhage, A., & Mutschler, I. (2009). Anatomical specificity of functional amygdala imaging of

responses to stimuli with positive and negative emotional valence. *Journal of Neuroscience Methods*, 180(1), 57-70. doi:10.1016/j.jneumeth.2009.02.022

- Bell, C., Forshall, S., Adrover, M., Nash, J., Hood, S., Argyropoulos, S., Rich, A., Nutt, D. J. (2002). Does 5-ht restrain panic? A tryptophan depletion study in panic disorder patients recovered on paroxetine. *Journal of psychopharmacology (oxford, england)* 16, pp.5-14
- Bannerman, D. M., Deacon, R. M., Offen, S., Friswell, J., Grubb, M., & Rawlins, J. N. (2002). Double dissociation of function within the hippocampus: Spatial memory and hyponeophagia. *Behavioral Neuroscience*, 116(5), 884-901. doi:10.1037/0735-7044.116.5.884
- Bannerman, D., Rawlins, J., McHugh, S., Deacon, R., Yee, B., Bast, T., . . . Feldon, J. (2004). Regional dissociations within the hippocampus—memory and anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 28(3), 273-283. doi:10.1016/j.neubiorev.2004.03.004
- Barlow, D. H. (2004). *Anxiety and its disorders: The nature and treatment of anxiety and panic*. New York, NY: Guilford Press.
- Benjet, C., Casanova, L., Borges, G., & Medina-Mora, M. E. (2013). Impacto de LOS TRASTORNOS Psiquiátricos COMUNES y LAS condiciones Crónicas físicas en el individuo y la sociedad. *Salud Pública De México*, 55(3), 248. doi:10.21149/spm.v55i3.7207
- Benita, I. (2017). Generalidades de la neurobiología de la ansiedad. *Revista electrónica de psicología Iztacala*. Vol. 20, pp. 239-251.
- Berger, M., Gray, J. A., & Roth, B. L. (2009). The expanded biology of serotonin. *Annual Review of Medicine*, 60(1), 355-366. doi:10.1146/annurev.med.60.042307.110802
- Biggio, G., Fadda, F., Fanni, P., Tagliamonte, A., & Gessa, G. L. (1974). Rapid depletion of SERUM Tryptophan, brain Tryptophan, serotonin AND 5-HYDROXYINDOLEACETIC acid by A tryptophan-free diet. *Life Sciences*, 14(7), 1321-1329. doi:10.1016/0024-3205(74)90440-8
- Björklund, A., Hökfelt, T., & Kuhar, M. J. (1984). Classical transmitters and transmitter receptors in the CNS. In *Classical transmitters and transmitter receptors in the CNS* (pp. 68-125). Amsterdam, Amsterdam: Elsevier.
- Bruno, F. (1989). Buspirone in the treatment of Alcoholic Patients. *Psychopathology*, 22(1), 49-59. doi:10.1159/000284626

- Catani, M., Dell'Acqua, F., & Thiebaut de Schotten, M. (2013). A revised limbic system model for memory, emotion and behaviour. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(8), 1724-1737. doi:10.1016/j.neubiorev.2013.07.001
- Ceranoglu, T. A., Wozniak, J., Fried, R., Galdo, M., Hoskova, B., DeLeon Fong, M., . . . Joshi, G. (2019). A retrospective chart review of buspirone for the treatment of anxiety in psychiatrically referred youth with high-functioning autism spectrum disorder. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*, 29(1), 28-33. doi:10.1089/cap.2018.0021
- Collinson, N., & Dawson, G. R. (1997). On the elevated Plus-maze THE anxiolytic-like effects of The 5-HT 1A Agonist, 8-OH-DPAT, but not the anxiogenic-like effects of The 5-HT 1a partial agonist, buspirone, are blocked by The 5-HT 1a Antagonist, Way 100635. *deacoPsychopharmacology*, 132(1), 35-43. doi:10.1007/s002130050317
- Costall, B., Jones, B., Kelly, M., Naylor, R., & Tomkins, D. (1989). Exploration of mice in a black and white test box: Validation as a model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 32(3), 777-785. doi:10.1016/0091-3057(89)90033-6
- Coupey, S. M. (1997). Barbiturates. *Pediatrics in Review*, 18(8), 260-265. doi:10.1542/pir.18-8-260
- Cryan, J. F., & Kaupmann, K. (2005). Don't worry 'B' happy!: A role for GABAB receptors in anxiety and depression. *Trends in Pharmacological Sciences*, 26(1), 36-43. doi:10.1016/j.tips.2004.11.004
- Davidson, R. J. (2002). Anxiety and affective style: Role of prefrontal cortex and amygdala. *Biological Psychiatry*, 51(1), 68-80. doi:10.1016/s0006-3223(01)01328-2
- Deacon, R. M., Bannerman, D. M., & Rawlins, J. N. (2002). Anxiolytic effects of cytotoxic hippocampal lesions in rats. *Behavioral Neuroscience*, 116(3), 494-497. doi:10.1037/0735-7044.116.3.494
- Dolan, R. (2007). The human amygdala and orbital prefrontal cortex in behavioural regulation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 362(1481), 787-799. doi:10.1098/rstb.2007.2088
- Dundee, J., Halliday, N., Harper, K., & Brogden, R. (1984). Midazolam a review of ITS pharmacological properties and therapeutic use. *Drugs*, 28(6), 519-543. doi:10.2165/00003495-198428060-00002
- Dunham, N., & Miya, T. (1957). A note on a simple apparatus for detecting Neurological deficit in rats and Mice**college of Pharmacy, University of Nebraska,

Lincoln 8. Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific Ed.), 46(3), 208-209. doi:10.1002/jps.3030460322

- Durant, C., Christmas, D. & Nutt, D. (2010). The pharmacology of anxiety. En behavioral neurobiology of anxiety and its treatment, Springerlink, pp. 303-330.
- Eguibar, J. R., Del Carmen Cortes, M., Lara-Lozano, M., & Mendiola, D. M. (2012). Dopaminergic D2-like AGONISTS produce yawning in the Myelin Mutant taiep and Sprague–dawley rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 102(1), 118-123. doi:10.1016/j.pbb.2012.03.020
- Eison, A. S., & Temple, D. L. (1986). Buspirone: Review of its pharmacology and current perspectives on its mechanism of action. The American Journal of Medicine, 80(3), 1-9. doi:10.1016/0002-9343(86)90325-6
- Etkin, A., & Wager, T. D. (2007). Functional neuroimaging of anxiety: A meta-analysis of emotional processing in ptsd, social anxiety disorder, and specific phobia. American Journal of Psychiatry, 164(10), 1476-1488. doi:10.1176/appi.ajp.2007.07030504
- Felten, D. L. & Shetty, A. N. (2010). Netter, Atlas de Neurociencias. España: Elsevier.
- File, S. E., & Hyde, J. (1978). Can social interaction be used to measure anxiety? British Journal of Pharmacology, 62(1), 19-24. doi:10.1111/j.1476-5381.1978.tb07001.x
- Frick, A., Åhs, F., Engman, J., Jonasson, M., Alaie, I., Björkstrand, J., . . . Furmark, T. (2015). Serotonin synthesis and Reuptake in social anxiety disorder. JAMA Psychiatry, 72(8), 794. doi:10.1001/jamapsychiatry.2015.0125
- Goldberg, H. L. (1979). The comparative efficacy of buspirone and diazepam in the treatment of anxiety. American Journal of Psychiatry, 136(9), 1184-1187. doi:10.1176/ajp.136.9.1184
- Goddard, A. & Charney, D. (1997). Toward an integrated neurobiology of panic disorder. J. clin. Psychiatry; vol. 58: pp.4-11
- Gómez, C., Saldívar, J. A., Rodríguez, R. (2002). Modelos animales para el estudio de la ansiedad: una aproximación crítica. Salud mental, 25(1),14-24. Issn: 0185-3325.
- Gunduz-Bruce, H., Silber, C., Kaul, I., Rothschild, A. J., Riesenber, R., Sankoh, A. J., . . . Kanes, S. J. (2019). Trial of sage-217 in patients with major depressive

disorder. *New England Journal of Medicine*, 381(10), 903-911.

doi:10.1056/nejmoa1815981

- Hall, C. S. (1934). Drive and emotionality: Factors associated with adjustment in the rat. *Journal of Comparative Psychology*, 17(1), 89-108. doi:10.1037/h0073676
- Hall, C. S. (1934). Emotional behavior in the RAT. I. defecation and urination as measures of individual differences IN EMOTIONALITY. *Journal of Comparative Psychology*, 18(3), 385-403. doi:10.1037/h0071444
- Handley, S. I. & Mithani, S. (1984) Effects on punished responding of drugs acting at a-adrenoceptors, *Br. J. Pharmacy.*, vol.82: p.341.
- Harada, K., Aota, M., Inoue, T., Matsuda, R., Mihara, T., Yamaji, T., . . . Matsuoka, N. (2006). Anxiolytic activity of a novel potent serotonin 5-HT_{2C} receptor antagonist fr260010: A comparison with diazepam and buspirone. *European Journal of Pharmacology*, 553(1-3), 171-184. doi:10.1016/j.ejphar.2006.09.042
- Heisler, L. K., Chu, H., Brennan, T. J., Danao, J. A., Bajwa, P., Parsons, L. H., & Tecott, L. H. (1998). Elevated anxiety AND antidepressant-like responses in SEROTONIN 5-HT_{1A} RECEPTOR mutant mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(25), 15049-15054. doi:10.1073/pnas.95.25.15049
- Ho, I. K., & Harris, R. A. (1981). Mechanism of action of barbiturates. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 21(1), 83-111. doi:10.1146/annurev.pa.21.040181.000503
- Hoffmann, E., Nomikos, G. G., Kaul, I., Raines, S., Wald, J., Bullock, A., . . . Colquhoun, H. (2019). SAGE-217, a Novel GABAA Receptor positive Allosteric modulator: CLINICAL pharmacology AND TOLERABILITY in Randomized Phase I Dose-Finding Studies. *Clinical Pharmacokinetics*, 59(1), 111-120. doi:10.1007/s40262-019-00801-0
- Hoyer, D., Hannon, J. P., & Martin, G. R. (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 71(4), 533-554. doi:10.1016/s0091-3057(01)00746-8
- Hyttel, J. (1994). Pharmacological characterization of selective serotonin reuptake inhibitors (ssris). *International Clinical Psychopharmacology*, 9, 19-26. doi:10.1097/00004850-199403001-00004
- Jacobson, A. F., Dominguez, R. A., Goldstein, B. J., & Steinbook, R. M. (1986). Comparison of buspirone and diazepam in generalized anxiety disorder. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 6(1), 46. doi:10.1097/00004714-198602000-00013

- Jenck, F., Moreau, J., Berendsen, H. H., Boes, M., Broekkamp, C. L., Martin, J. R., . . . Van Delft, A. M. (1998). Antiaversive effects of 5ht2c receptor agonists and fluoxetine in a model of panic-like anxiety in rats. *European Neuropsychopharmacology*, 8(3), 161-168. doi:10.1016/s0924-977x(97)00055-2
- Johnson, P. L., Molosh, A. I., Federici, L. M., Bernabe, C., Haggerty, D., Fitz, S. D., . . . Shekhar, A. (2019). Assessment of fear and anxiety associated behaviors, physiology and neural circuits in rats with reduced serotonin transporter (sert) levels. *Translational Psychiatry*, 9(1). doi:10.1038/s41398-019-0368-y
- Kessler, R. C., Chiu, W. T., Demler, O., & Walters, E. E. (2005). Prevalence, severity, and comorbidity of 12-Month DSM-IV disorders in the National Comorbidity survey replication. *Archives of General Psychiatry*, 62(6), 617. doi:10.1001/archpsyc.62.6.617
- Kranzler, H. R. (1994). Buspirone treatment of anxious alcoholics. *Archives of General Psychiatry*, 51(9), 720. doi:10.1001/archpsyc.1994.03950090052008
- Kumar, J. R., Rajkumar, R., Lee, L. C., & Dawe, G. S. (2016). Nucleus incertus contributes to an anxiogenic effect of buspirone in rats: Involvement of 5-ht1a receptors. *Neuropharmacology*, 110, 1-14. doi:10.1016/j.neuropharm.2016.07.019
- Kumar, K., Sharma, S., Kumar, P., & Deshmukh, R. (2013). Therapeutic potential Of GABAB Receptor ligands in drug addiction, anxiety, depression and other CNS disorders. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 110, 174-184. doi:10.1016/j.pbb.2013.07.003
- Lader, M. (1991). Can buspirone induce rebound, dependence or abuse? *British Journal of Psychiatry*, 159(S12), 45-51. doi:10.1192/s0007125000296244
- Lal, H., Prather, P. L., & Rezazadeh, S. M. (1991). Anxiogenic behavior in rats during acute and protracted ethanol withdrawal: Reversal by buspirone. *Alcohol*, 8(6), 467-471. doi:10.1016/s0741-8329(91)90153-n
- Lalonde, R., Bensoula, A., & Filali, M. (1995). Rotorod sensorimotor learning in cerebellar mutant mice. *Neuroscience Research*, 22(4), 423-426. doi:10.1016/0168-0102(95)00916-h
- Lang, P. J. (1968). Fear reduction and fear behavior: Problems in treating a construct. *Research in Psychotherapy.*, 90-102. doi:10.1037/10546-004
- Lanzenberger, R. R., Mitterhauser, M., Spindelegger, C., Wadsak, W., Klein, N., Mien, L., . . . Tauscher, J. (2007). Reduced serotonin-1a receptor binding in social

anxiety disorder. *Biological Psychiatry*, 61(9), 1081-1089.

doi:10.1016/j.biopsych.2006.05.022

- LeDoux, J. E. (2009). Emotion circuits in the brain. *FOCUS*, 7(2), 274-274.
doi:10.1176/foc.7.2.foc274
- Lesch, K. (2008). Serotonergic gene inactivation in mice: Models for anxiety and aggression? *Novartis Foundation Symposia*, 111-146.
doi:10.1002/0470010703.ch9
- Li, X., Risbrough, V. B., Cates-Gatto, C., Kaczanowska, K., Finn, M., Roberts, A. J., & Markou, A. (2013). Comparison of the effects of the GABAB receptor positive modulator BHF177 and the GABAB receptor AGONIST BACLOFEN on Anxiety-like BEHAVIOR, learning, and memory in mice. *Neuropharmacology*, 70, 156-167.
doi:10.1016/j.neuropharm.2013.01.018
- Lim, L., Temel, Y., Visser-Vandewalle, V., Steinbusch, H., Schruers, K., Hameleers, R., Blokland, A. (2011). Effect of Buspirone on the Behavioral regulation of rats in low versus high anxiety conditions. *Arzneimittelforschung*, 58(06), 269-276. doi:10.1055/s-0031-1296506
- Loane, C., & Politis, M. (2012). Buspirone: What is it all about? *Brain Research*, 1461, 111-118. doi:10.1016/j.brainres.2012.04.032
- Löscher, W., & Rogawski, M. A. (2012). How theories evolved concerning the mechanism of action of barbiturates. *Epilepsia*, 53, 12-25. doi:10.1111/epi.12025
- Maier, S. F., Grahn, R. E., & Watkins, L. R. (1995). 8-OH-DPAT Microinjected in the region of the dorsal RAPHE nucleus blocks and reverses the enhancement of fear conditioning and interference with escape produced by exposure to inescapable shock. *Behavioral Neuroscience*, 109(3), 404-412. doi:10.1037/0735-7044.109.3.404
- Majercsik, E., & Haller, J. (2004). Interactions between anxiety, social support, health status and buspirone efficacy in elderly patients. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 28(7), 1161-1169.
doi:10.1016/j.pnpbp.2004.06.007
- Malikowska-Racia, N., Popik, P., & Sałat, K. (2020). Behavioral effects of buspirone in a mouse model of posttraumatic stress disorder. *Behavioural Brain Research*, 381, 112380. doi:10.1016/j.bbr.2019.112380

- Martínez-monteagudo, C. Cándido J., Cano-vindel, A., & García-fernández, J. M. () Estado actual de la investigación sobre la teoría tridimensional de la ansiedad de lang .
- Maron, E., Kuikka, J. T., Shlik, J., Vasar, V., Vanninen, E., & Tiihonen, J. (2004). Reduced brain serotonin transporter binding in patients with panic disorder. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 132(2), 173-181. doi:10.1016/j.psychresns.2003.10.004
- Masand, P. S., & Gupta, S. (1999). Selective serotonin-reuptake inhibitors: An update. *Harvard Review of Psychiatry*, 7(2), 69-84. doi:10.3109/hrp.7.2.69
- Maurer, A. P., & Nadel, L. (2021). The continuity of context: A role for the hippocampus. *Trends in Cognitive Sciences*, 25(3), 187-199. doi:10.1016/j.tics.2020.12.007
- McDonald, A. J., Mascagni, F., & Muller, J. F. (2004). Immunocytochemical localization of gababr1 receptor subunits in the basolateral amygdala. *Brain Research*, 1018(2), 147-158. doi:10.1016/j.brainres.2004.05.053
- Mechiel Korte, S., & De Boer, S. F. (2003). A robust animal model of state anxiety: Fear-potentiated behaviour in the elevated plus-maze. *European Journal of Pharmacology*, 463(1-3), 163-175. doi:10.1016/s0014-2999(03)01279-2
- Meltzer-Brody, S., Colquhoun, H., Riesenber, R., Epperson, C. N., Deligiannidis, K. M., Rubinow, D. R., . . . Kanes, S. (2018). Brexanolone injection In Post-partum Depression: TWO MULTICENTRE, double-blind, randomised, PLACEBO-CONTROLLED, Phase 3 trials. *The Lancet*, 392(10152), 1058-1070. doi:10.1016/s0140-6736(18)31551-4
- Meyer, J. S. & Quenzer, L. F. (2005a) Anxiety disorders. En *Psychopharmacology Drugs, The brain, and behavior* (411-438). U.s.a.: Sinauer Associates.
- Meyer, J. S. & Quenzer, I. F. (2005 b). Glutamate and gaba . En *Psychopharmacology drugs, the brain, and behavior*. Pp. 163-185. U.s.a.: Sinauer Ssociates.
- Moja, E. A., Cipolla, P., Castoldi, D., & Tofanetti, O. (1989). Dose-response decrease in plasma tryptophan and in brain tryptophan and serotonin after tryptophan-free amino acid mixtures in rats. *Life Sciences*, 44(14), 971-976. doi:10.1016/0024-3205(89)90497-9

- Montgomery, K. C. (1955). The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory drive. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 48(4), 254-260. doi:10.1037/h0043788
- Morrow, A., VanDoren, M. J., Penland, S. N., & Matthews, D. B. (2001). The role of gabaergic Neuroactive steroids in ethanol action, tolerance and dependence. *Brain Research Reviews*, 37(1-3), 98-109. doi:10.1016/s0165-0173(01)00127-8
- Nash, J. R., Sargent, P. A., Rabiner, E. A., Hood, S. D., Argyropoulos, S. V., Potokar, J. P., . . . Nutt, D. J. (2008). Serotonin 5-HT_{1A} receptor binding in people with panic DISORDER: Positron emission Tomography study. *British Journal of Psychiatry*, 193(3), 229-234. doi:10.1192/bjp.bp.107.041186
- New, J. S. (1990). The discovery and development of buspirone: A new approach to the treatment of anxiety. *Medicinal Research Reviews*, 10(3), 283-326. doi:10.1002/med.2610100302
- Nichols, D. E., & Nichols, C. D. (2008). Serotonin receptors. *Chemical Reviews*, 108(5), 1614-1641. doi:10.1021/cr078224o
- Nieuwenhuys, R. (2012). The insular cortex. *Evolution of the Primate Brain*, 123-163. doi:10.1016/b978-0-444-53860-4.00007-6
- Ninan, P. T. (1999). The functional anatomy, neurochemistry, and pharmacology of anxiety. *Clin. Psychiatry*, 60 (suppl. 22), pp.12-17.
- Nishi, K., Kanemaru, K., Hasegawa, S., Watanabe, A., & Diksic, M. (2009). Both acute and Chronic buspirone treatments have different effects on regional 5-HT synthesis IN Flinders Sensitive Line rats (a rat model of depression) than in control rats. *Neurochemistry International*, 54(3-4), 205-214. doi:10.1016/j.neuint.2008.10.010
- Nowakowska E. & Chodera, A. (1997) Inhibitory monoamine oxidases of the new generation. *Pol merkuriusz*.
- Olivier, B. (2000). 5-Ht₃ receptor antagonists and anxiety; a preclinical and clinical review. *European Neuropsychopharmacology*, 10(2), 77-95. doi:10.1016/s0924-977x(99)00065-6
- Olkkola, K. T., & Ahonen, J. (2008). Midazolam and other benzodiazepines. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 335-360. doi:10.1007/978-3-540-74806-9_16

- Parks, C. L., Robinson, P. S., Sibille, E., Shenk, T., & Toth, M. (1998). Increased anxiety of mice lacking the serotonin_{1A} receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(18), 10734-10739. doi:10.1073/pnas.95.18.10734
- Partyka, A., Wasik, A., Jastrzębska-Więsek, M., Mierzejewski, P., Bieńkowski, P., Kołaczkowski, M., & Wesołowska, A. (2016). ADN-1184, a Monoaminergic ligand with 5-HT_{6/7} receptor Antagonist action, exhibits activity in animal models of anxiety. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 389(6), 593-602. doi:10.1007/s00210-016-1229-3
- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M. (1985). Validation of open : Closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 14(3), 149-167. doi:10.1016/0165-0270(85)90031-7
- PENFIELD, W. (1938). The cerebral cortex in man. *Archives of Neurology & Psychiatry*, 40(3), 417. doi:10.1001/archneurpsyc.1938.02270090011001
- Peroutka, S. J. (1988). 5-Hydroxytryptamine receptor subtypes: Molecular, biochemical and physiological characterization. *Trends in Neurosciences*, 11(11), 496-500. doi:10.1016/0166-2236(88)90011-2
- Preskorn, S. H., Ross, R., & Stanga, C. Y. (2004). Selective serotonin reuptake inhibitors. *Antidepressants: Past, Present and Future*, 241-262. doi:10.1007/978-3-642-18500-7_9
- Purves, D., Augustine, G., Fitzpatrick, D., Hall, W., Lamantia, A., Mcnamara, J. & Williams, S. (2010 a). Neurotransmisores y sus receptores. En *neurociencia*, pp. 141-167. Panamericana.
- Purves, D., Augustine, G., Fitzpatrick, D., Hall, W., Lamantia, A., Mcnamara, J. & Williams, S. . (2010 b). La emociones. En *Neurociencia*. pp. 761-787. Panamericana.
- Reyes-Ticas, J. A. (2010). *Trastornos de ansiedad guía práctica para diagnóstico y tratamiento*.
- Riblet, L., Eison, A., Eison, M., Taylor, D., Temple, D., & Van der Maelen, C. (1984). Neuropharmacology of buspirone. *Psychopathology*, 17(3), 69-78. doi:10.1159/000284133
- Rickels, K. (1983). Long-term diazepam therapy and clinical outcome. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 250(6), 767. doi:10.1001/jama.1983.03340060045024

- Rodríguez-landa, J. F. & Contreras, C. M. (1998). Algunos datos recientes sobre la fisiopatología de los trastornos por ansiedad.. *Revista biomedica*, 9, pp. 181-191.
- Salzman, C. D., & Fusi, S. (2010). Emotion, cognition, and mental state representation in amygdala and prefrontal cortex. *Annual Review of Neuroscience*, 33(1), 173-202. doi:10.1146/annurev.neuro.051508.135256
- Sanders, S., & Shekhar, A. (1995). Regulation of anxiety by gabaa receptors in the rat amygdala. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 52(4), 701-706. doi:10.1016/0091-3057(95)00153-n
- Schruers, K., Klaassen, T., Pols, H., Overbeek, T., Deutz, N. E., & Griez, E. (2000). Effects of tryptophan depletion on carbon dioxide provoked panic in panic disorder patients. *Psychiatry Research*, 93(3), 179-187. doi:10.1016/s0165-1781(00)00117-7
- Schüle, C., Nothdurfter, C., & Rupprecht, R. (2014). The role of allopregnanolone in depression and anxiety. *Progress in Neurobiology*, 113, 79-87. doi:10.1016/j.pneurobio.2013.09.003
- Singer, T., Critchley, H. D., & Preuschoff, K. (2009). A common role of insula in feelings, empathy and uncertainty. *Trends in Cognitive Sciences*, 13(8), 334-340. doi:10.1016/j.tics.2009.05.001
- Stead, A., & Moffat, A. (1983). Quantification of the interaction between barbiturates and alcohol and interpretation of fatal blood concentrations. *Human Toxicology*, 2(1), 05-14. doi:10.1177/096032718300200101
- Shorter, E. (2005). *A historical dictionary of psychiatry*. Nueva tork: Oxford University Press.
- Söderpalm, B., Lundin, B., & Hjorth, S. (1993). Sustained 5-hydroxytryptamine release-inhibitory and anxiolytic-like action of the partial 5-ht1a receptor agonist, buspirone, after prolonged chronic administration. *European Journal of Pharmacology*, 239(1-3), 69-73. doi:10.1016/0014-2999(93)90977-p
- Tompkins, E., Clemento, A. J., Taylor, D. P. & Perhach, J. L. (1980) Inhibition of aggressive behavior in rhesus monkeys by buspirone. *Res. Commun. Pschol. Psychiatry. Behave.* 5 337-352.
- Treit, D., Menard, J., & Royan, C. (1993). Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 44(2), 463-469. doi:10.1016/0091-3057(93)90492-c

- Urbá-Holmgren, R., Trucios, N., Holmgren, B., Eguibar, J., Gavito, A., Cruz, G., & Santos, A. (1990). Genotypic dependency of Spontaneous yawning frequency in the rat. *Behavioural Brain Research*, 40(1), 29-35. doi:10.1016/0166-4328(90)90039-h
- Uribe, C.A. (2010). Determinación de las respuestas conductuales ante situaciones de estrés en ratas de alto bostezo y bajo bostezo de la línea Sprague-Dawley. Tesis de Maestría en Ciencias Fisiológicas, Instituto de Fisiología en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, pp.137.
- Uzun, S., Kozumplik, O., Jakovljević, M. & Sedić, B. (2010). Side effects of treatment with benzodiazepines. *Psychiatria Danubina*, vol.22, pp 90–93.
- Verster, J. (2002). Effects of Alprazolam on driving ability, Memory functioning and PSYCHOMOTOR performance a randomized, placebo-controlled study. *Neuropsychopharmacology*, 27(2), 260-269. doi:10.1016/s0893-133x(02)00310-x
- Vogel, J. R., Beer, B., & Clody, D. E. (1971). A simple and reliable conflict procedure for testing anti-anxiety agents. *Psychopharmacologia*, 21(1), 1-7. doi:10.1007/bf00403989
- Walker, E. P. & Tadi, P. (2021) Neuroanatomy, nucleus raphe.: Treasure island publishing; 2021 jan-. Pmid: 31335079.
- Wesolowska, A. (2010). Potential role of the 5-ht6 receptor in depression and anxiety: An overview of preclinical data. *Pharmacological Reports*, 62(4), 564-577. doi:10.1016/s1734-1140(10)70315-7
- Wilson, M. A., Burghardt, P. R., Ford, K. A., Wilkinson, M. B., & Primeaux, S. D. (2004). Anxiolytic effects of diazepam and ethanol in two Behavioral models: Comparison of males and females. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 78(3), 445-458. doi:10.1016/j.pbb.2004.04.017
- Zarate, T., Alfonso, C., Mendoza, G., & Delia, A. (2012). Los genes, el sistema SEROTONINERGICO y la conducta suicida. Retrieved March 11, 2021, from https://www.researchgate.net/publication/277265353_Los_Genes_el_sistema_serotoninergico_y_la_conducta_suicida
- Zorumski, C. F., Paul, S. M., Covey, D. F., & Mennerick, S. (2019). Neurosteroids as novel antidepressants And ANXIOLYTICS: Gaba-a receptors and beyond. *Neurobiology of Stress*, 11, 100196. doi:10.1016/j.ynstr.2019.100196