

JUAN RAMÓN TORRECILLA GARCÍA-RIPOLL

EFECTOS DEL CLORHIDRATO DE TIAPRIDA SOBRE EL METABOLISMO OXIDATIVO DE CEREBRO DE RATA “IN VITRO”

TESIS DOCTORAL

UPV/EHU

[2011]

DIRECTORES: ENRIQUE ECHEVARRÍA ORELLA
ERNESTO FERNÁNDEZ DEL BUSTO



Esta obra está bajo una [Licencia Atribución-NoComercial-CompartirIgual 3.0 Unported](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/)

1. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN

1. INTRODUCCION Y JUSTIFICACION

A partir de 1976 se inicia en nuestro laboratorio una variante de la línea de investigación que desde 1970, se ocupa de estudiar el efecto de fármacos psicotrpicos sobre el metabolismo oxidativo de tejido cerebral de rata "in vitro".

La nueva línea de trabajo se interesa por el efecto de los fármacos psicoanalépticos, habiéndose estudiado las siguientes sustancias: Iproniacida, Pargilina, Tranilcipromina (González, 1976), Anfetamina (González y col.,1977, 1978, 1979, 1980, 1982), Dibencepina (Velasco y col.,1977), Maprotilina (González y col.,1978), Mianserina, Viloxacina, (Dueñas y col.,1983), Doxepina (García y col.,1985), Amoxapina (Velasco y col.,1985; 1989).

Los fármacos con actividad estimulante del Sistema Nervioso Central suelen incrementar el consumo de oxígeno de tejido cerebral de rata "in vitro", aunque no siempre se puede establecer correlación positiva significativa entre ambos fenómenos. Por otra parte, muchos fármacos estimulantes del Sistema Nervioso Central interfieren con el metabolismo de los neurotransmisores cerebrales y, en particular, con el de las catecolaminas, hasta el punto de haberse propuesto que estas modificaciones jugasen un papel importante en la acción psicotrpic (Scanberg y col.,1967).

En el presente trabajo se va a estudiar el efecto del clorhidrato de tiaprida (derivado benzamídico con efecto neuroléptico atípico) sobre el metabolismo oxidativo de cerebro de rata "in vitro".

Un antecedente inmediato de este estudio es el trabajo titulado de investigación presentado por Juan Carlos Rodríguez-Mayo en 2001 y pendiente de publicación, que analizó la interacción entre dopamina y algunos neurolépticos típicos y atípicos (haloperidol, tiotixeno, loxapina, clozapina, clotiapina y droperidol) sobre el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro".

El consumo de oxígeno (QO₂) se determina en cortes, homogeneizados y mitocondrias de cerebro de rata "in vitro" mediante la técnica manométrica directa de Warburg (Umbreit y col.,1972). Se emplearán cortes, homogeneizados y mitocondrias. La utilización de homogeneizados tiene como finalidad determinar el papel que desempeña la membrana celular intacta. Los cortes de cerebro de rata se incuban en solución de Krebs-Ringer fosfato pH 7.4 con glucosa 10 mM, Krebs con potasio 105 mM con o sin calcio y Krebs en el que se ha sustituido el cloruro de sodio por cloruro de colina.

El homogeneizado al 10 por ciento se incuba con piruvato, malato, iones magnesio, adenosin trifosfato (ATP) en sacarosa 0.15 M.

En este trabajo también se estudian las interacciones de tiaprida sobre las modificaciones del metabolismo oxidativo cerebral inducidas "in vitro" por dopamina, histamina y serotonina.

Teniendo en cuenta que la glucosa es el principal sustrato del tejido cerebral se ha procedido al estudio de las modificaciones que en su consumo pudiera inducir el clorhidrato de tiaprida, empleando el método específico de la glucosa-oxidasa (Sols. y de la Fuente, 1957).

También se estudia el efecto del clorhidrato de tiaprida sobre la fosforilación oxidativa mitocondrial de cerebro de rata "in vitro" empleando el proceder de Brody y Bain (1952) modificado por Kadembach y Lührs (1961).

La actividad ATPasa sodio-potasio dependiente y magnesio dependiente no sensible a ouabaína se determina mediante el proceder de Wu y Phillis (1979-1981).

Los resultados se expresan mediante tablas como valores medios \pm el error estándar de la media; el contraste estadístico se realiza mediante un t-test para datos no apareados.

El desarrollo de esta Tesis Doctoral es como sigue:

1. Breve introducción sobre la farmacología sistemática del clorhidrato de tiaprida.
2. Objetivos.
3. Material y métodos.
4. Resultados y discusión.
5. Conclusiones.
6. Resumen.
7. Bibliografía ordenada alfabéticamente.

Valladolid a veinte de Junio de 2009

Fdº Juan Ramón Torrecilla García-Ripoll

2. ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA: FARMACOLOGIA
SISTEMATICA DEL CLORHIDRATO DE TIAPRIDA

RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL: DISTRIBUCIÓN, CLASIFICACIÓN Y MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN

La dopamina se encuentra en el sistema nervioso central localizada en el cuerpo estriado, sistema límbico, hipotálamo, etc. Se conocen las siguientes vías dopaminérgicas: el sistema nigroestriatal relacionado con la función motora extrapiramidal es el más importante cuantitativamente, se origina en la parte compacta de la sustancia negra (región A9) e inerva el neostriado (caudado y putamen), el 80 por ciento de la dopamina cerebral se encuentra en el estriado; el sistema mesocortical se origina en neuronas mediales de la sustancia negra inervando de forma difusa el córtex límbico (lóbulo prefrontal, medial, cíngulo y áreas entorrinales), el sistema mesolímbico se origina en el tegmento ventral (áreas A8 y A10) e inerva estructuras límbicas (septo, tubérculo olfatorio, nucleus accumbens, amígdala y córtex piriforme) e interviene en los procesos mentales; el sistema tuberoinfundibular relacionado con la regulación hipotálamo hipofisaria y vías dopaminérgicas cortas y ultracortas como la vía incertohipotálamica que conecta el hipotálamo dorsal y posterior con los núcleos laterales septales, hay pequeñas vías en el núcleo motor dorsal del vago, núcleo del tracto solitario, retina y sustancia gris periacueductal. Se detecta su presencia por bioensayos, espectrofotofluorimetría, fluorescencia histoquímica, inmunocitoquímica, etc. Y puede localizarse intracelularmente por microscopía electrónica y autorradiografía. La técnica de tomografía por emisión de positrones proporciona finalmente la posibilidad de analizar "in vivo" el estado de determinados neurotransmisores en el ser humano. En cuanto a los receptores de las técnicas de fijación de ligandos marcados han permitido detectar y cuantificar los lugares de reconocimiento; la técnica ha mejorado notablemente al desarrollar los métodos autorradiográficos "in vitro", que permiten una mejor visualización y la cuantificación mediante aplicación de sistemas de computarización.

BIOSÍNTESIS

La biosíntesis de la dopamina se realiza a partir del aminoácido tirosina, siendo común con la de la noradrenalina de la que es un precursor. La dopamina se incorpora a la vesícula sináptica donde es retenida. Este proceso de incorporación a la vesícula es bloqueado por la reserpina y la tetrabenacina, fármacos que también producen depleción del contenido de noradrenalina y serotonina en la terminación nerviosa.

ALMACENAMIENTO

Al igual que la noradrenalina, la dopamina se almacena dentro de las vesículas sinápticas, donde está protegida de la deaminación intraneuronal, se supone que al igual que ocurre con la noradrenalina existen varios tipos de depósitos. La reserpina y la tetrabenacina interfieren con el almacenamiento de la dopamina. En el sistema dopaminérgico se presenta el fenómeno de cotransmisión, por ejemplo la colecistoquinina o colecistocinina y la neurotensina aparecen como cotransmisores en las neuronas dopaminérgicas del sistema mesolímbico y del nucleus arcuatus respectivamente.

LIBERACIÓN

La dopamina se libera por un proceso de exocitosis calcio dependiente. La anfetamina y la amantadina favorecen la liberación de dopamina. La liberación de dopamina es inhibida por el ácido gamma aminobutírico (GABA), encefalinas y endorfinas.

RECEPTORES DOPAMINERGICOS CLASICOS

Según Ketabian y Calne existirían dos tipos de receptores: Receptores D1 y D2. Los receptores D1 se relacionan con una adenilciclase sensible a dopamina y su activación se acompaña de un incremento en la síntesis de 3'-5' AMP cíclico. Los representantes de este tipo de receptores más caracterizados mediante estudios experimentales se encuentran en las células aisladas de paratiroides bovina y su estímulo ocasiona liberación de parathormona. Los receptores D2 inhiben la adenil ciclase o bien están asociados con mecanismos de transducción diferentes, como inhibición de la hidrólisis de fosfatidil inositol, inhibición de canales de calcio o activación de canales de potasio y se sitúan al nivel de las células de la adenohipófisis. Su activación produce entre otros efectos inhibición de la secreción de prolactina.

Existen además algunas diferencias farmacológicas entre ambos tipos de receptores, que pueden ser útiles para diferenciarlos. Por ejemplo la dopamina, la apomorfina y sobre todo los alcaloides del cornezuelo de centeno (10 veces más potentes que la dopamina) se comportan como agonistas muy selectivos de los receptores D2, siendo activos en concentraciones de rango nanomolar, mientras que la afinidad en los receptores D1 es mucho menor para la dopamina (en el rango micromolar), la apomorfina se comporta como agonista parcial y la bromocriptina con el antagonista de los receptores D1.

Los neurolépticos clásicos o típicos (clorpromacina o haloperidol entre otros) se comportan como antagonistas de la dopamina en ambos tipos de receptores ya que en administración aguda provocan un fuerte incremento del turnover o velocidad de recambio de la dopamina a nivel presináptico que se manifiesta en un aumento de la velocidad de síntesis de la dopamina y mayor formación de sus metabolitos, aunque tras la administración crónica aparece tolerancia a este efecto, pero se presenta un fenómeno de hipersensibilidad ocasionado por un aumento en el número de receptores D2 postsinápticos, que no es perceptible por la acción bloqueante del neuroléptico, pero esta hipersensibilidad dopaminérgica puede explicar el fenómeno de discinesia tardía que tiene lugar tras la administración continuada de neurolépticos. Se han hallado algunos fármacos que bloquean más selectivamente los receptores del tipo α D2, como sulpirida, metoclopramida, molindona y probablemente tiaprida.

En cuanto a la significación fisiológica y las implicaciones fisiopatológicas de la existencia de los distintos tipos de receptores dopaminérgicos, la especulación es mucho mayor: los receptores D1 se han puesto en relación con la vasodilatación renal producida por la dopamina, mientras que los receptores D2 serían los mediadores de los conocidos efectos de la bromocriptina: inhibición de la liberación de prolactina o reducción de la secreción de hormona del crecimiento por adenomas de hipófisis. Según otras hipótesis, serían también estos receptores D2 los implicados en las alteraciones bioquímicas de la esquizofrenia o de la enfermedad de Parkinson. Al nivel de los ganglios basales los receptores del tipo

D2 parecen predominar entre los autorreceptores presinápticos regulando por ejemplo la liberación de dopamina por la vía nigroestriatal o de ácido glutámico en la vía corticoestriatal.

Por otra parte la existencia en el sistema nervioso central de dos tipos de receptores dopaminérgicos funcionalmente distintos, puede ayudar a comprender los efectos tóxicos de algunos fármacos. El caso más discutido en la actualidad es la aparición de una discinesia tardía producida por los neurolépticos antagonistas de la dopamina, que resulta ser clínicamente muy similar a la discinesia que puede aparecer en el curso del tratamiento prolongado de la enfermedad de Parkinson con L-dopa, y que por tanto tendrían una patogenia diametralmente opuesta.

NUEVOS RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS

A los tradicionales receptores dopaminérgicos D1 y D2 hay que añadir los recién caracterizados muy D3, D4 y D5, pero que se han aislado y categorizado por lo menos cinco genes que codifican subtipos de receptores de dopamina como de los tipos D1 o D2, según sus secuencias de nucleótidos y el margen farmacológico de las proteínas expresadas. Los receptores del tipo D1 incluyen al D1 y al D5, en tanto que los receptores del tipo D2 incluyen las dos isoformas del D2 (diferentes en la longitud de su tercera asa citoplásmica), D2 corta designada (D2s) y el D4. Hay variaciones regionales en su localización, diferencias en su actividad eléctrica espontánea, diferente afinidad por agonistas y antagonistas, circuitos reguladores excitadores e inhibidores multisinápticos dopaminérgicos y no dopaminérgicos y mecanismos de cotransmisión, todo lo cual hace que sea difícil la interpretación de los resultados. Los neurolépticos o antipsicóticos clásicos (clorpromacina, haloperidol, etc.) se caracterizan por ser antagonistas competitivos de los receptores dopaminérgicos, aunque también actúan sobre receptores de otros neurotransmisores (adrenérgicos, muscarínicos, serotoninérgicos, sigma, ect.). El bloqueo diferencial de los receptores D2, D3 y D4 podría ser la causa del perfil específico de algunos antipsicóticos. Así la clozapina debería su perfil de neuroléptico atípico a su clara preferencia por los receptores D4 del córtex pre frontal. En resumen los neurolépticos actúan bloqueando los receptores D2 y sus dos isoformas D3 y D4. Estos subtipos difieren en su localización cerebral, pero el D2, con su amplia distribución, sería el responsable tanto del efecto antipsicótico como de los efectos neurológicos o endocrinos de la mayoría de los neurolépticos disponibles hasta ahora. El bloqueo selectivo de los receptores dopaminérgicos D3 produciría una disminución de la actividad dopamínica sólo en algunas áreas del sistema límbico, lo que podría ser beneficioso para los componentes emocionales y cognitivos de la esquizofrenia. Por otra parte, como en el estriado y la hipófisis estos receptores son poco abundantes, los antagonistas específicos carecerían de efectos extrapiramidales y endocrinos. El caso de los D4 es menos claro, ya que a pesar de que algunos antipsicóticos atípicos como la clozapina y la olanzapina se fijan preferentemente a estos receptores, se desconoce exactamente su distribución y significado fisiopatológico.

INACTIVACIÓN DEL NEUROTRANSMISOR

Al igual que en el caso de la noradrenalina, existen dos mecanismos fundamentales de inactivación: a) uno fisiológico o de incorporación a la terminación nerviosa por

un mecanismo de transporte activo que requiere energía. La anfetamina, cocaína, nomifensina, amineptina, bupropión y benzotropina bloquean la terminación nerviosa. b) inactivación enzimática que puede ser intra o extra neuronal. La enzima catecol - O - metiltransferasa (COMT) inactiva a la dopamina por metilación en uno de los hidroxilos fenólicos en la vecindad del receptor. La monoaminoxidasa (MAO) se encuentra en la membrana externa de las mitocondrias, inactiva a la dopamina libre en el citoplasma formándose el ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) que al ser atacado por la catecol - O - metiltransferasa origina el ácido homovanílico (HVA), metabolito final de la dopamina.

FUNCIONES DE LA DOPAMINA EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Se conoce muy bien la importancia de la dopamina en el sistema nervioso central, así por ejemplo: la vía nigroestriatal está relacionada con el control del movimiento, degenera en la enfermedad de Parkinson por lo que en su tratamiento se emplean agonistas dopaminérgicos. Muchos bloquean desde receptores dopaminérgicos se comportan como anti psicóticos por lo que se especula con que en la esquizofrenia pudiera haber una hiperfunción de las vías mesolímbica, mesocortical o de ambas; en el apartado de receptores dopaminérgicos se ha discutido ampliamente el mecanismo de acción de los neurolepticos típicos o clásicos y de los neurolepticos atípicos. Los mecanismos dopaminérgicos (presumiblemente mediados por estas mismas vías) parecen estar implicados en los fenómenos de auto estimulación intracraneal en los cuales el animal de experimentación presiona espontáneamente una palanca que desencadena estímulos eléctricos a través de un electrodo que le ha sido colocado en determinadas zonas del cerebro (zonas de autoestimulación) que están relacionadas con inervación dopaminérgica (si bien la noradrenalina también ha sido implicada en este tipo de fenómenos). Parece ser que un mecanismo similar podría participar en el mecanismo por el que determinados fármacos son adictógenos: algunos fármacos que producen dependencia son claramente dopaminomiméticos (cocaína y anfetamina) y otros que no lo son directamente, como los propios opiáceos, perdieran serlo indirectamente. A partir del trabajo de Kuschinsky "¿está mediatizada la dependencia física de opioides por mecanismos dopaminérgicos en el estriado?" Publicado en 1981 en Trends Pharmacological Sciences, la comunidad científica internacional interesada en el estudio de los procesos adictivos empezó no sin cierta sorpresa y escepticismo inicial, a contemplar al sistema de neurotransmisión dopaminérgico como el eslabón clave en la génesis y mantenimiento de los cuadros de dependencia de sustancias químicas. Muchos años después, la relevancia del sistema de neurotransmisión dopaminérgica en los trastornos por abuso y dependencia de drogas ha podido ser bien establecida a partir de los resultados obtenidos en cuatro líneas de investigación:

1. La progresiva identificación del sistema de neurotransmisión dopaminérgica como el principal sustrato neuroquímico de los circuitos cerebrales específicos que mediatizan la recompensa.
2. La constatación de que la mayoría de las sustancias psicoactivas poseen propiedades de reforzador positivo, determinantes en el consumo patológico, que están mediatizadas por los circuitos cerebrales de recompensa.
3. El hallazgo de que todas las sustancias objeto de abuso y dependencia tienen un doble efecto sobre el sistema dopaminérgico: en administración aguda facilitan la

transmisión dopaminérgica y en administración crónica supersensibilizan los receptores dopaminérgicos de las áreas mesoestriatales.

4. La descripción de que la participación de otros sistemas de neurotransmisión (opioide, glutamatérgico, serotoninérgico, noradrenérgico y gabaérgico) en las propiedades gratificantes de las sustancias objeto de abuso y dependencia, presenta en común la interacción con el sistema dopaminérgico en las áreas cerebrales implicadas en los procesos de recompensa. La vía tuberoinfundibular es importante pues controla la secreción de diversas hormonas hipofisarias especialmente de prolactina la cual inhibe de forma tónica y de hormona de crecimiento la cual (aunque no en todas las circunstancias) estimula. La dopamina, catecolaminas con efecto beta adrenérgicos y la serotonina son neurotransmisores hipotalámicos con acción inhibitoria sobre la ingesta. El lugar más sensible a la acción de la dopamina parece ser la región lateral perifornical del hipotálamo, donde ejerce una acción consistente en interrumpir la ingestión de comida; por el contrario el bloqueo de receptores dopaminérgicos a este nivel estimula la ingestión de comida y origina aumento de peso. Cabe citar también, que la dopamina está relacionada con el control central del vómito actuando a través de receptores situados en la "zona gatillo quimiorreceptora" en la vecindad del suelo del cuarto ventrículo, aunque la procedencia (neuronal o no) de la dopamina que actúa sobre ellos no es bien conocida. En todo caso bastantes fármacos bloqueantes de receptores dopaminérgicos (ortopramidas, domperidona, etc) son antieméticos eficaces. La dopamina incrementa el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro" por estimular la actividad ATPasa de membrana sodio potasio dependiente. Este incremento del consumo de oxígeno cerebral inducido por la dopamina es abolido por numerosas sustancias(ouabaína, fenoxibenzamina, oxprenolol, pimocida, tiaprida, clozapina, clotiapina, lozapina, tiotixeno y algunos fármacos antidepresivos). Se ha tratado de relacionar la actividad ATPasa de membrana sodio potasio dependiente con el receptor alfa adrenérgico, y se ha demostrado una potente inhibición del actividad de esta enzima, "in vitro" e "in vivo" para bloqueantes de adrenoreceptores alfa como la fenoxibenzamina. Sin embargo hoy día se admite un mecanismo no especificó para explicar la acción de los fármacos adrenérgicos sobre la actividad ATPasa de membrana sodio potasio dependiente.

2. FARMACOLOGIA SISTEMATICA DEL CLORHIDRATO DE TIAPRIDA

El clorhidrato de tiaprida es un neuroléptico atípico perteneciente al grupo de las benzamidas u ortopramidas del que también forman parte otras sustancias como la sulpirida y la sultoprida. La tiaprida se comporta como neuroléptico de baja potencia antipsicótica, acción sedante y escasos efectos no deseados. Se utiliza preferentemente en la privación alcohólica, también como antiemético y en discinesias.

2.1. Origen y Química

La tiaprida es un fármaco de origen sintético. Químicamente es la N-(2-(Dietilaminoetil)-2-metoxi-5-(metilsulfonil) benzamida. Su fórmula empírica es

$C_{15}H_{24}N_2O_4S$ (Figura 1) con un peso molecular de 328.43. Se presenta al estado de clorhidrato siendo su peso molecular de 364.9. Se presenta en forma de polvo blanco, cristalino, muy soluble en agua, soluble en metanol, una solución al 5% en agua tiene un pH comprendido entre 4 y 6. Su fórmula desarrollada se presenta en la figura 1.

2.2. Farmacocinética

La tiaprida se absorbe rápidamente tras su administración por vía oral y la concentración plasmática máxima se consigue después de 1 a 2 horas, siendo su biodisponibilidad oral del 75%; administrada por vía intramuscular alcanza el acmé plasmático al cabo de 30 minutos. No se une apenas a las proteínas plasmáticas. Se metaboliza en el hígado en escasa proporción. Se ha descrito una semivida de eliminación plasmática de 3 a 4 horas. Basándose en los estudios de laboratorio se cree que se distribuye en la leche materna. (Roos, 1986).

2.3. Farmacodinamia

La tiaprida al igual que la sulpirida es un antipsicótico atípico que bloquea especialmente receptores dopaminérgicos D_2 y D_3 con escasa afinidad por los receptores D_1 y D_4 , histaminoceptores H_1 , adrenoceptores α_1 y α_2 y triptaminérgicos (Scatton y col.,2001; George y col.,1998; Lucht y col.,2001; Cohen y col.,1998). La tiaprida posee ligera actividad antiemética, sedante y bloqueante de adrenoceptores alfa. Su actividad anticolinérgica es prácticamente nula. Estimula la producción de prolactina.

La tiaprida es poco cataleptígena (Matsui y col.,1998; Navarro y col.,1998; Cavas y Navarro, 2002). Al igual que otros neurolépticos atípicos, la tiaprida disminuye la agresividad en roedores (Navarro y Manzanque, 1997).

2.4. Efectos no deseados. Toxicidad

La tiaprida puede producir muy frecuentemente: somnolencia, sedación; frecuentemente: sequedad de boca, visión borrosa, retención urinaria, estreñimiento; ocasionalmente: galactorrea, amenorrea, ginecomastia, mastalgia, incremento o disminución de la libido, hipotensión ortostática, taquicardia, bradicardia, arritmias, colapso, ictericia colostática, eosinofilia, leucopenia transitoria, foto dermatitis, urticaria, erupciones, angioedema, insomnio, mareos e íleo paralítico y muy raramente: síntomas extrapiramidales (parkinsonismo, acatisia y distonía (Arai, 2000), agranulocitosis, síndrome neuroléptico maligno, retinopatía pigmentaria y convulsiones.

Con tiapridal, igual que ocurre con otros neurolépticos atípicos como el sertindol, se ha descrito alargamiento QT y torsades de pointes ((Iglesias y col.,2000).

2.5. Contraindicaciones. Precauciones e Interacciones

La tiaprida no debe administrarse en sujetos alérgicos a las benzamidas ni en el feocromocitoma. Conviene tomar precauciones en la epilepsia, insuficiencia hepática, enfermedad de Parkinson, trastornos cardiovasculares (fenómeno de torsades de pointes), tomando tiaprida no se aconseja conducir ni manejar maquinaria peligrosa. No emplear en embarazo y lactancia. Entre sus interacciones conviene destacar que potencia los efectos del etanol y otros depresores del Sistema Nervioso Central, antagoniza los efectos antiparkinsonianos de la levodopa e incrementa los niveles plasmáticos de prolactina.

2.6. Aplicaciones terapéuticas

La tiaprida es un derivado de la benzamida con propiedades generales similares a las de la sulpirida. Se emplea fundamentalmente en la deprivación alcohólica (Swift, 1999; Dose y Lange, 2000): una de las primeras revisiones mostró que el empleo de la tiaprida en el síndrome de abstinencia aguda al alcohol estaba probablemente limitado por el hecho de que los pacientes con riesgo de sufrir reacciones graves requerían también un tratamiento para el control de las alucinaciones y las convulsiones. Después de la deshabitación, la tiaprida parece aliviar ligeramente la ansiedad, mejora el síndrome de abstinencia y la conducta del alcohólico y facilita la reintegración en la sociedad. Sigue siendo útil su uso con carbamazepina. También se emplea en neurosis de ansiedad, en los tics nerviosos, corea de Huntington, discinesias y otros movimientos anormales, síndrome de Gilles de la Tourette, náuseas y vómitos (Gutzman, 1997; Roos, 1982; Deroover, 1984; Peters y Faulds, 1994, Shaw, 1994; Jiménez y García, 2001; Franz y col.,2001; Robert y Allain, 2001; Heun y col.,2001; Robertson y Stern, 2000; Dose y lange, 2000; Toren y col.,1998). La tiaprida se utiliza en la agitación y agresividad de ancianos con déficit cognitivo (Allain y col.,2000; Patat y col.,1999; Roger y col.,1998; Tsolaku, 2001). En el tratamiento de la discinesia tardía inducida por los antipsicóticos, la mejoría que produce el uso de la tiaprida, al igual que con el resto de antipsicóticos, puede ser sólo breve.

2.7. Preparados. Vías de administración. Posología

La tiaprida se administra habitualmente en forma de hidrocloreuro en el tratamiento de trastornos del comportamiento y para tratar las discinesias. Las dosis se expresan referidas a la tiaprida base; 222,2 mg de hidrocloreuro de tiaprida equivalen aproximadamente a 200 mg de tiaprida. Se administran dosis de 200 a 400 mg al día por vía oral, aunque se han utilizado dosis diarias mayores, especialmente para el tratamiento de las discinesias. El hidrocloreuro de tiaprida se ha administrado también por vía intramuscular o intravenosa.

El clorhidrato de tiaprida se presenta en comprimidos de 100 mg, en solución conteniendo 12 mg/ml y en inyectables de 100 mg/2ml.

La posología habitual para un adulto es de 50-100 mg cada 8 horas por vía oral pudiendo incrementarse hasta una dosis máxima de 200 mg cada 6 horas (800 mg/día).

FIGURA 1

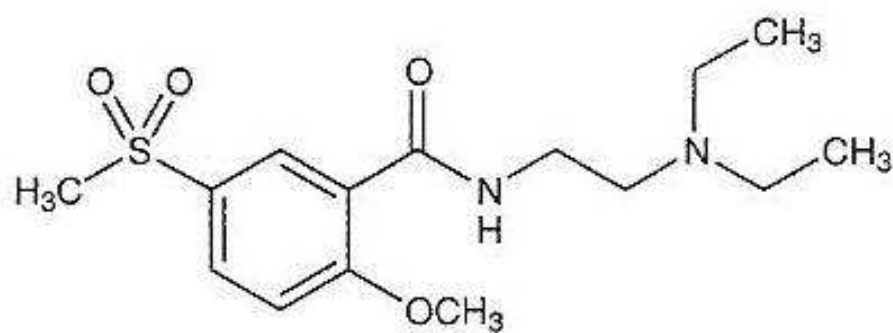


Figura 1: Estructura química de la tiaprida.

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

Siguiendo la línea de nuestro Departamento , el presente estudio pretende completar el perfil farmacodinámico del clorhidrato de tiaprida, derivado benzamídico con efecto neuroléptico atípico investigando sus efectos sobre el metabolismo oxidativo cerebral (consumo de oxígeno, consumo de glucosa, fosforilación oxidativa mitocondrial y actividad ATPasa cerebral) y su interacción con dopamina, histamina y serotonina en cortes de cerebro de rata "in vitro".

Se tratará de establecer el tipo de antagonismo existente entre tiaprida y dopamina sobre el consumo de oxígeno cerebral y determinar parámetros cuantitativos si es posible. La actividad antagonista de tiaprida será medida calculando la concentración inhibitoria₅₀ y su logaritmo cambiado de signo el pD'_2 .

El consumo de oxígeno se determina en cortes, homogeneizados y mitocondrias de cerebro de rata, con objeto de establecer el papel de la membrana celular. Se determina también el consumo de oxígeno ligado a la actividad ATPasa de membrana sodio-potasio dependiente de acuerdo con el proceder de Gubitza y col.,(1977), la actividad ATPasa, la fosforilación oxidativa mitocondrial y el consumo de glucosa.

Los resultados obtenidos se compararán con los proporcionados por la sulpirida, análogo estructural benzamídico estudiado previamente en nuestro Laboratorio junto con los resultados obtenidos con neurolépticos típicos y atípicos también estudiados en nuestro Laboratorio.

4. MATERIAL Y METODOS

4. MATERIAL Y METODOS

4.1. Determinación del Consumo de Oxígeno (QO₂)

Para esta determinación se ha recurrido a la técnica manométrica (Umbreit y col.,1972), utilizando un aparato de Warburg Braun modelo circular a 37° C con oscilación constante de 100/minuto, realizando las lecturas por el método directo, cada 15 minutos durante una hora. En el pocillo central de cada frasquito de Warburg se añadieron 0.2 ml de hidróxido sódico al 40 por ciento para absorber el dióxido de carbono desprendido y para aumentar la superficie de absorción se introdujo un papel de filtro plegado. La cantidad de líquido en el frasquito fue de 2.5 ml que junto con el volumen de hidróxido sódico añadido hace un volumen total de 2.7 ml. (figura 2).

Cada manómetro corresponde a los dos frasquitos de un número de cada una de las series (cada uno de los frasquitos fue calibrado con el manómetro correspondiente), las constantes se relacionan a continuación.

Número	Serie A	Serie B
1	1.7484	1.8588
2	1.0556	1.0889
3	1.8718	1.8440
4	1.0449	1.8469
5	1.8018	1.6477
6	1.7710	1.7394
7	1.7652	1.7644
8	1.7580	1.6909
9	1.8194	0.9876
10	1.7103	1.8193
11	1.8151	1.1215
12	1.3622	1.8897
13	1.8638	1.6959
14	1.1202	1.1028

Por esta constante resultante de la calibración, se multiplicó cada una de las lecturas, una vez restadas de la lectura inicial y realizada la corrección del manómetro utilizado como termobarómetro, de lo que resulta el consumo de oxígeno expresado en microlitros/100 mg de tejido fresco. En ocasiones se puede expresar en microlitros/100 mg de proteína o en microátomos/100 mg de proteína.

En todas las experiencias se pusieron 14 manómetros con los frasquitos correspondientes y el tejido a estudiar, un manómetro solo con el medio de incubación para recoger las variaciones de presión y temperatura que modifican la columna barométrica (termobarómetro).

Tras un periodo de calentamiento de 10 minutos para que el contenido del frasquito tome la temperatura del baño, se pone a 150 la columna de la rama del manómetro que comunica con el frasquito, realizándose las lecturas posteriores cada 15 minutos.

Se ha utilizado el líquido manométrico de Brodie; la fase gaseosa ha sido aire y

oxígeno.

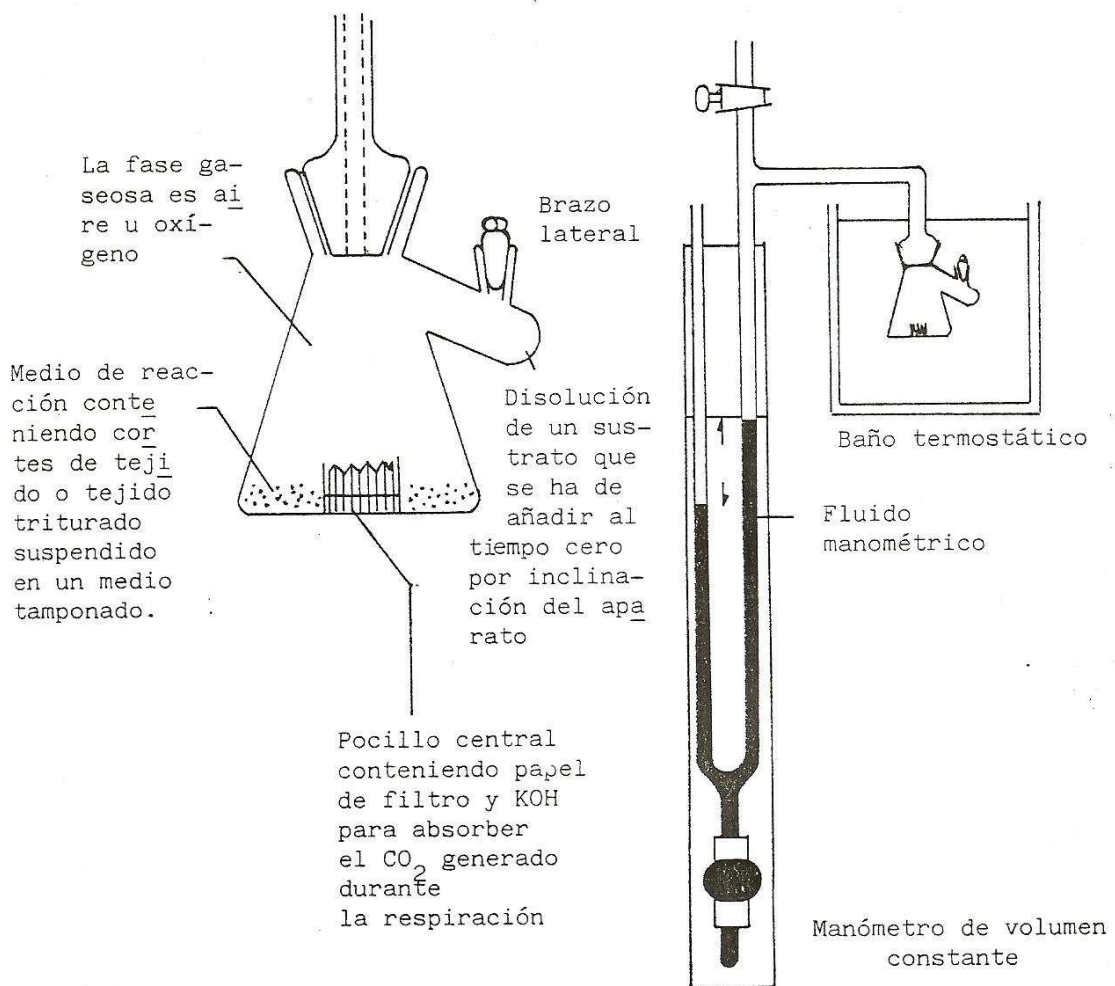


Figura 2. Aparato de Warburg

4.1.1. Homogeneizado de cerebro de rata

Se han utilizado cerebros procedentes de ratas machos, de 150-200 gramos de peso, muertas por decapitación; se han homogeneizado con un aparato de Potter-Elvehjen a 2-4°C, utilizando como medio de suspensión sacarosa 0.25 M tamponada con buffer de fosfatos 0.1 M pH 7.4 (Romo y col., 1969).

Se ha determinado el consumo de oxígeno de homogeneizados añadiendo diversos sustratos (piruvato y malato) y cofactores (iones magnesio y ATP). Cuando se emplearon homogeneizados con sustratos y adición de cofactores, las concentraciones finales de los distintos reactivos en los frasquitos del Warburg fueron las siguientes:

Sacarosa.....	0.1500 M
Buffer de fosfatos pH 7.4.....	0.0120 M
Malato sódico.....	0.0020 M
Piruvato sódico.....	0.0020 M
Cloruro de magnesio.....	0.0048 M
ATP sódico.....	0.0012 M

Las concentraciones de fármaco estudiadas, se exponen en el capítulo de resultados y se expresa el consumo en microlitros/100 mg de tejido fresco.

4.1.2. Cortes de cerebro de rata

Los cortes se han obtenido utilizando la técnica de McIlwain & Buddle (1955), eliminando los núcleos basales y la sustancia blanca. El peso de los cortes osciló entre 80-120 mg.

Se ha empleado como medio de incubación la solución de Krebs-Ringer fosfato pH 7.4 con glucosa 10 mM.

Los fármacos y sus concentraciones finales aparecen en el capítulo de resultados.

4.2. DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ATPasa

4.2.1. Determinación del consumo de oxígeno correspondiente actividad ATPasa (Na,K) dependiente en cortes de cerebro de rata "in vitro".

El consumo de oxígeno se determina por el método manométrico directo (ya descrito) en cortes de cerebro de rata incubados en :

A) Krebs-Ringer fosfato conteniendo: NaCl, 131.8 mM; KCl, 105.4 mM; MgSO₄, 1.3 mM; Buffer de fosfato sódico pH 7.4, 20 mM y glucosa 12.8 mM concentraciones finales.

B) Krebs-Ringer fosfato sin sodio con las mismas concentraciones finales, sustituyendo el cloruro de sodio por cloruro de colina y el buffer de fosfato sódico por buffer de fosfato potásico.

El consumo de oxígeno se expresa en microlitros/100 mg/60 minutos en ambos medios y se calcula la diferencia entre ellos, medio A con sodio y potasio y medio B sin sodio que representa el consumo de oxígeno correspondiente a la actividad ATPasa (Na,K) de membrana (Gubitz y col., 1977).

4.2.2. Determinación de la actividad ATPasa (Na,K) dependiente en homogeneizado de corteza cerebral de rata "in vitro" (Phillis y Wu, 1979).

El homogeneizado de corteza cerebral se realiza en un aparato de Potter-Elvehjen a 0-4° C con 50 volúmenes de agua destilada, tamponada a pH = 7.5 dando 10 golpes en 10 minutos a mil revoluciones por minuto.

En cada uno de los tubos de incubación se dispone 50 microlitros de homogeneizado (1 mg de tejido). Se preparan dos series de tubos: serie A para determinar la actividad ATPasa total y serie B para determinar la actividad ATPasa no sensible a ouabaína. En los tubos de la serie A, el medio de incubación contiene (concentraciones finales): Tris HCl, 75 mM; NaCl, 100 mM; KCl, 5 mM; MgCl, 5 mM. En la serie B el medio de incubación contiene (concentraciones finales): Tris HCl, 150 mM; MgCl, 5 mM; ouabaína 1 mM. El volumen final de ambas series es de 1 ml. Los fármacos se añaden a las concentraciones adecuadas en el medio de incubación como se indica en el capítulo de resultados.

La incubación se realiza a 37°C con agitación constante; existe un periodo de preincubación de 10 minutos, al cabo de los cuales se añade el sustrato (ATP sódico) a una concentración final de 4 mM. La reacción se detiene al cabo de 10 minutos por adición de 1 ml de ácido tricloroacético al 12 por ciento helado en un baño de hielo.

En experimentos previos se comprobó la linealidad de la reacción en los primeros quince minutos de incubación.

La actividad ATPasa en los tubos se estima a partir de la concentración de fosfato inorgánico en el sobrenadante que se mide por el método colorimétrico de Fiske y Subbarow (1925), expresándose en micromol/hora/mg de proteína.

La estimación de la actividad ATPasa (Na,K) dependiente se obtiene de la diferencia entre actividad ATPasa total y la actividad ATPasa no sensible a ouabaína.

4.3. FOSFORILACION OXIDATIVA MITOCONDRIAL

La obtención de mitocondrias se realizó de acuerdo con la técnica de Umbreit y col. (1972) y Kadembach y Lührs (1961) empleando como medio de suspensión sacarosa 0.25 M conteniendo EDTA sal disódica 1 mM.

La fosforilación oxidativa se determinó de acuerdo con la técnica de Brody y Bain (1952), incubando durante 30 minutos en fase aire.

Las concentraciones finales de los distintos reactivos en los frasquitos de Warburg fueron las siguientes:

Buffer de fosfatos.....	0.016	M
Piruvato sódico.....	0.006	M
Malato sódico.....	0.006	M
Buffer de tricina.....	0.012	M
Fluoruro sódico.....	0.012	M
ATP sódico.....	0.0024	M
Sulfato magnésico.....	0.0004	M
Sacarosa.....	0.05	M
Hexoquinasa.....	0.02	mg
Glucosa.....	0.02	M
Citocromo C.....	1.2×10^{-5}	M

El consumo de fosfato inorgánico se determinó al cabo de 30 minutos mediante el método de Fiske-Subbarow (1925).

La cantidad de proteínas que se pone en cada frasquito se determina por medio de la reacción del biuret (Gornall y Bardawill, 1949).

El consumo de oxígeno se determina mediante técnica manométrica.

Los resultados se expresan así:

- El consumo de oxígeno en microátomos/100 mg de proteína
- El consumo de fósforo en micromoles/100 mg de proteína.

Se determina la relación P:O (cociente de micromoles de fosfato inorgánico esterificado entre microátomos de oxígeno consumido).

4.4. DETERMINACION DEL CONSUMO DE GLUCOSA

El consumo de glucosa se determinó por el método de la glucosa-oxidasa (Sols. y de la Fuente, 1957), basado en la oxidación de la glucosa a delta gluconolactona; se desprende peróxido de hidrógeno que al reaccionar con un colorante, forma un compuesto inestable de color verde con una banda de absorción máxima entre 510 y 550 nanómetros.

Se determinó la concentración de la glucosa en el medio de incubación al principio y al final de la misma expresándose el resultado en mg/100 mg de tejido fresco/hora.

4.5. FARMACOS UTILIZADOS

Los fármacos empleados han sido: malato sódico (Merck), piruvato sódico (Merck), ATP sódico (Sigma), clorhidrato de tiaprida (Sanofi Synthelabo), histamina diclorhidrato (Merck), ouabaína octahidrato (Sigma), clorhidrato de dopamina (Sigma), clorhidrato de 5-hidroxitriptamina (Sigma).

4.6. CONTRASTE ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS

Se ha realizado un análisis de significación de promedios en todos los tiempos de la totalidad de las concentraciones empleando la t de Student comparando testigos y experimentales (Lamotte, 1965; Fisher y Yates, 1963; Snedecor, 1964; Cardús, 1972) con valores medios \pm E.S.M. (error estándar de la media) se han confeccionado las tablas y la representación gráfica.

Las fórmulas utilizadas en los diversos cálculos han sido las siguientes:

1ª Media aritmética $\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$, siendo “ $\sum x$ ” la suma de los valores y “n” el número de datos de la población o muestra.

2ª Desviación estándar (s)

$$s = \sqrt{\frac{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n - 1}}$$

siendo “ $\sum x^2$ ” la suma de los cuadrados de cada uno de los valores; “ $\sum x$ ”, la suma de los valores; “ \bar{x} ” la media aritmética y “n” el número de datos.

3ª Error estándar de la media (E.S.M.) = s / \sqrt{n}

4ª Diferencia de medias (d) = $\bar{x}_1 - \bar{x}_2$

5ª Error estándar de la diferencia de medias (s_d)

$$s_d = s_c \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}$$

siendo “ s_c ” la desviación estándar común a las dos muestras:

$$s_c = \sqrt{\frac{(\sum x_1^2 - \frac{(\sum x_1)^2}{n_1}) + (\sum x_2^2 - \frac{(\sum x_2)^2}{n_2})}{n_1 + n_2 - 2}}$$

6ª t de student

$$t = d / s_d$$

Los valores límites de t se leen en la tabla correspondiente para unos grados de libertad = $n_1 + n_2 - 2$, obteniéndose unos valores con una significación del 95 ó 99 por ciento.

El cálculo de la Dosis eficaz₅₀ (DE₅₀) Molar y de la Concentración inhibitoria₅₀ (CI₅₀) Molar con su correspondiente intervalo de confianza al 95% se calculará de acuerdo con el proceder de Litchfield y Wilcoxon (1949).

4.7. ELABORACION DE LA BIBLIOGRAFIA

Las referencias bibliográficas que aparecen en el texto se citan mediante el sistema nombre - año, también llamado sistema de Harvard (Day, 1990; Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, 1991). El apartado de BIBLIOGRAFIA recoge una relación de referencias completas ordenadas alfabéticamente.

Para completar y actualizar las referencias, se ha realizado una búsqueda bibliográfica automatizada en la base de datos MEDLIN CD-ROM (1985-2004) con el descriptor TIAPRIDE.

4.8. SOPORTE INFORMATICO

La redacción y composición del texto se ha realizado con el programa de tratamiento de textos LOTUS-AMIPRO, con licencia de propietario.

El cálculo de los parámetros estadísticos se ha realizado con la hoja de cálculo QUATRO-PRO, con licencia de propietario.

La representación gráfica de los resultados se ha obtenido con el programa SIGMAPLOT 4.02, con licencia de usuario.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5. RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación se exponen los resultados de los experimentos por medio de tablas y gráficas. En cada una de ellas se indica la concentración de fármaco empleada, el número de experimentos realizados y los valores medios \pm E.S.M. (error estándar de la media) a los 15, 30, 45 y 60 minutos de incubación; se expresa la significación estadística de los valores obtenidos con el tratamiento de los distintos fármacos comparando con los valores controles. En los experimentos de estimación directa de la actividad ATPasa en preparaciones de corteza cerebral de rata los valores se expresan en micromoles de fosfato inorgánico liberado/hora/mg de proteína. En el encabezamiento de cada tabla se indica el fármaco empleado, el tipo de preparación y el medio de incubación.

5.1. EFECTO DE LA COMPOSICION IONICA DEL MEDIO DE INCUBACION SOBRE EL CONSUMO DE OXIGENO y GLUCOSA DE CEREBRO DE RATA "IN VITRO"

En la Tabla I se presenta el efecto de la variación de la composición iónica del medio de incubación sobre el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro". El incremento de la concentración de potasio hasta 105 mM, o la sustracción de calcio del medio, así como la combinación de las dos posibilidades anteriores incrementa significativamente el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata; sin embargo, cuando en un medio con exceso de potasio, carente de calcio se sustituye el cloruro de sodio por cloruro de colina, no se observan diferencias significativas de consumo de oxígeno en relación con los valores controles incubados en Krebs-Ringer fosfato con glucosa 10 mM.

En la Tabla II se presenta una curva dosis-efecto que relaciona la concentración de potasio en el medio de incubación con el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro", observándose que a partir de una concentración de potasio 20 mM se incrementa significativamente el consumo de oxígeno de la preparación. En la figura 3 se representa gráficamente esta curva dosis-efecto, siendo la dosis eficaz₅₀ (DE₅₀) 37.5 mM.

En la Tabla III se observa el efecto de ouabaína sobre el consumo de oxígeno de cortes de cortes de cerebro de rata incubados en Krebs-Ringer fosfato con potasio 5 mM y glucosa 10 mM, comprobándose que este inhibidor de la actividad ATPasa de membrana sodio-potasio dependiente no modifica significativamente el consumo de oxígeno cerebral; sin embargo, cuando el medio de incubación contiene potasio 105 mM la ouabaína a la concentración de 10^{-4} M inhibe significativamente el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro" (Tabla IV).

TABLA I

EFFECTO DE LA COMPOSICIÓN IÓNICA DEL MEDIO DE INCUBACIÓN SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO (QO₂) DE CORTES DE CEREBRO DE RATA "IN VITRO".

MEDIO DE INCUBACIÓN	Nº DE CORTES	QO ₂ EN µl/100 mg. DE TEJIDO FRESCO (*)			
		15 MIN	30 MIN	45 MIN	60 MIN
Krebs normal	11	39,0 ± 2,4	73,5 ± 39	111,6 ± 4,7	147,1 ± 7,3
Krebs K ⁺ 105 mM	11	53,7 ± 2,5 (a)	111,5 ± 3,9 (a)	162,0 ± 4,5 (a)	215,2 ± 5,3 (a)
Krebs sin calcio	12	48,0 ± 4,5 (b)	91,2 ± 3,8 (b)	127,4 ± 11,6 (b)	178,9 ± 7,6 (b)
Krebs K ⁺ 105 mM sin calcio	12	66,3 ± 3,6 (a)	131,4 ± 7,7 (a)	210,0 ± 17,7 (a)	257,9 ± 22,7 (a)
Krebs K ⁺ 105 mM sin sodio	10	36,8 ± 5,4	83,1 ± 5,4	120,5 ± 10,7	155,2 ± 12,3

(*) Valores medios ± E.S.M.

(a) P < 0,01; (b) P < 0,05

TABLA II

EFFECTO DEL POTASIO SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO (QO₂) DE CORTES DE CEREBRO DE RATA "IN VITRO". (El medio de incubación es solución de Krebs–Ringer fosfato pH 7,4 con glucosa 10 mM y concentraciones variables de potasio).

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO	Nº DE CORTES	QO ₂ EN µl / 100 MG. DE TEJIDO FRESCO (*)			
		15 MIN	30 MIN	45 MIN	60 MIN
K ⁺ 5 mM	10	32,8 ± 2,4	71,0 ± 3,8	107,8 ± 5,6	144,6 ± 8,9
K ⁺ 10 mM	12	36,9 ± 2,9	78,9 ± 4,5	119,0 ± 5,1	156,9 ± 7,0
K ⁺ 20 mM	13	37,9 ± 2,3	85,0 ± 3,5 (a)	131,0 ± 4,7 (b)	172,3 ± 6,1 (a)
K ⁺ 50 mM	11	43,7 ± 3,6 (a)	98,7 ± 7,6 (b)	146,4 ± 10,8 (b)	207,2 ± 14,8 (b)
K ⁺ 100 mM	10	50,3 ± 2,9 (b)	116,3 ± 5,0 (b)	169,7 ± 7,1 (b)	225,1 ± 11,6 (b)

(*) Valores medios ± E.S.M. La Dosis Eficaz₅₀ (DE₅₀) es 37,5 mM

(a) P < 0.05; (b) P < 0,01

FIGURA 3. Curva dosis efecto al ión potasio (DE_{50})=37,5 mM

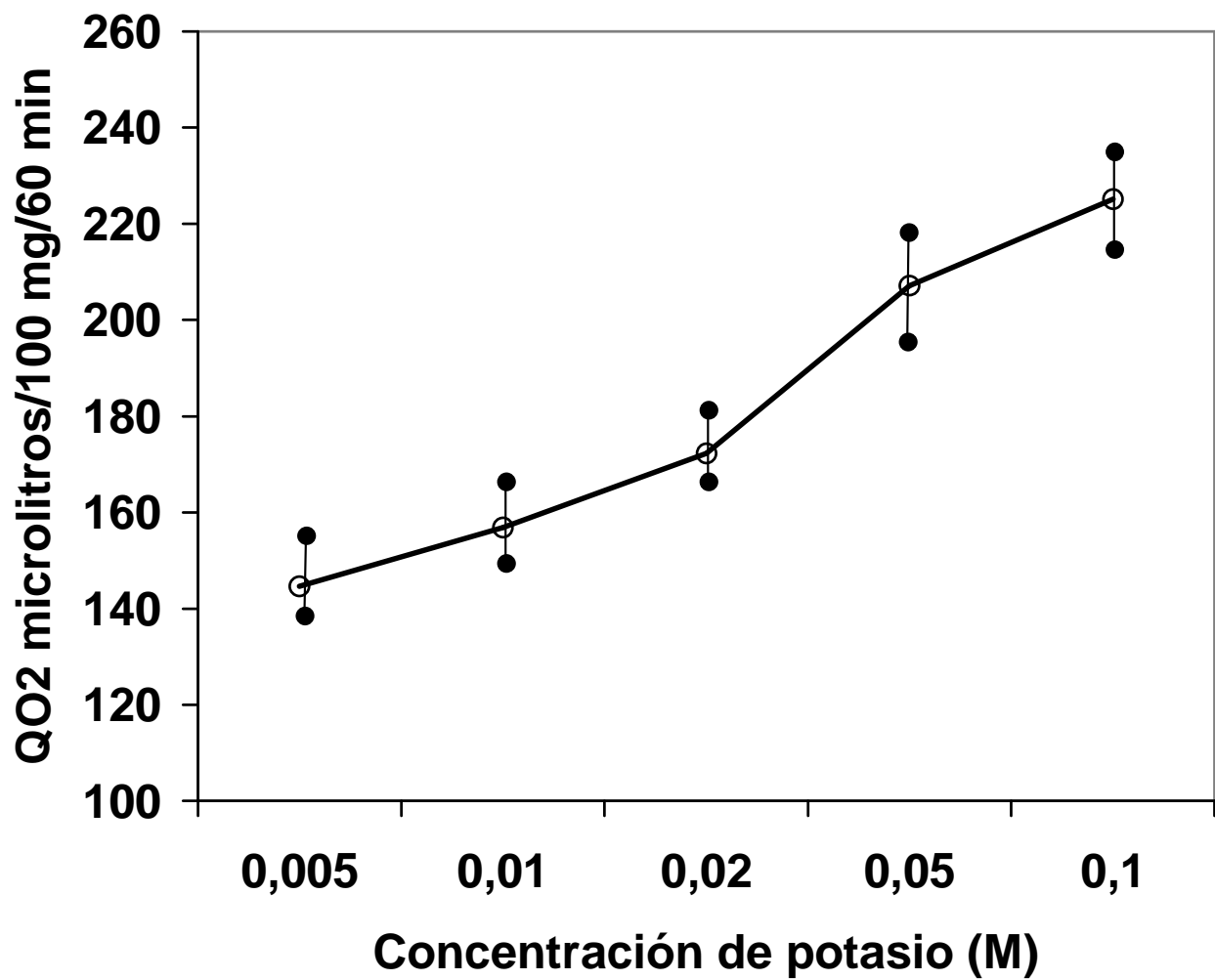


TABLA III

EFECTO DE OUABAÍNA SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO (QO₂) DE

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO (Molar)	Nº DE CORTES	QO ₂ EN µl / 100 MG. DE TEJIDO FRESCO (*)			
		15 MIN	30 MIN	45 MIN	60 MIN
Control	9	31,44 ± 5,79	83,91 ± 8,45	134,01 ± 13,81	184,50 ± 19,39
10 ⁻⁴ M	9	37,88 ± 8,44 (a)	88,85 ± 11,04	133,39 ± 11,93	177,52 ± 14,90

CORTES DE CEREBRO DE RATA "IN VITRO". (El medio de incubación es solución de Krebs-Ringer fosfato a pH=7,4).

(*) Valores medios ± E. S. M.

(a) P > 0,05 en todos los casos.

TABLA IV

EFFECTO DE OUABAÍNA SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO (QO₂) DE CORTES DE CEREBRO DE RATA "IN VITRO" ESTIMULADO POR POTASIO 10 mM. (El medio de incubación es solución de Krebs-Ringer fosfato a Ph=7,4 con K⁺ 100 mM).

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO (Molar)	Nº DE CORTES	QO ₂ EN µl / 100 MG. DE TEJIDO FRESCO (*)			
		15 MIN	30 MIN	45 MIN	60 MIN
Control	10	68,66 ± 3,28	132,66 ± 4,55	195,91 ± 5,86	255,13 ± 7,67
10 ⁻⁴ M	13	56,76 ± 4,60	114,44 ± 6,41 (a)	170,37 ± 8,42 (a)	221,85 ± 9,90 (a)

(*) Valores medios ± E.S.M.

(a) P < 0,05

Los resultados obtenidos en cortes de cerebro de rata incubados en Krebs-Ringer fosfato con glucosa 10 mM utilizando oxígeno como fase gaseosa proporcionan unos valores de consumo de oxígeno homogéneos y concordantes con los descritos en la literatura en situaciones experimentales similares (Skolnik y col.,1966). Los consumos de oxígeno son superiores a los descritos utilizando aire como fase gaseosa en el mismo medio de incubación (Velasco y col.,1972; Arévalo y col.,1970). Cuando en la solución de Krebs-Ringer fosfato con glucosa 10 mM se sustituye el cloruro de sodio por cloruro de colina disminuye significativamente el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro" (Hertz y Schou, 1962), ya que la ausencia de sodio anula la actividad ATPasa de membrana sodio-potasio dependiente.

En cortes de cerebro de rata, la adición de un exceso de potasio al medio de incubación incrementa el consumo de oxígeno; este efecto es específico y no se debe a la hipertonia de la solución; confirmando los resultados de Ashford y Dixon (1935); Dikens y Greville (1935); Tamarit y Méndez (1963); Tamarit (1959) y Velasco y González (1978). La ausencia de calcio en el medio de incubación conduce a resultados similares que concuerdan con los hallazgos de Buchel (1953). Estos incrementos de consumo de oxígeno cerebral obtenidos por cambios en la composición iónica del medio de incubación, denominados estimulación catiónica, se atribuyeron inicialmente a un desacoplamiento de la fosforilación oxidativa mitocondrial (Rossiter, 1957; Ghosh y Quastel, 1954; Bassi y Bernelli-Zazzera, 1960); posteriormente, gracias a los trabajos de Hertz y Schou (1962) el incremento de consumo de oxígeno inducido por el exceso de potasio o el déficit de calcio se supuso debido a un incremento de la actividad de la enzima ATPasa de membrana sodio-potasio dependiente, siendo este efecto abolido por la ouabaína, conocido inhibidor de dicha enzima (Nakazawa y Quastel, 1968; Gubitz y col., 1977). El ion calcio es un conocido inhibidor de la actividad de membrana sodio-potasio dependiente (Hertz y Schou, 1962) Whittam y Blond (1964), Tobin y col. (1973), y Gubitz y col. (1973) han estimado que aproximadamente el 40 por ciento de la respiración cerebral está asociado a la actividad ATPasa de membrana sodio-potasio dependiente y que esta actividad puede estimarse muy exactamente determinando la diferencia entre la respiración de cortes de cerebro incubados en un medio carente en calcio con un alto contenido en potasio (105 mM) y un medio carente de sodio con un contenido en potasio normal o elevado (Gubitz y col.,1977; Akera y col., 1979; Quastel, 1975).

En esta situación experimental, el efecto de los fármacos inhibidores de la actividad ATPasa de membrana sodio-potasio dependiente es muy evidente, deprimen el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata incubados en un medio carente en calcio con un alto contenido en potasio y no modifican dicho consumo cuando en este medio de incubación se sustituye el cloruro de sodio por cloruro de colina (Dueñas, 1981; García Roldán, 1981; Velasco y González, 1982) y estos resultados se correlacionan estrictamente con las estimaciones de la actividad ATPasa de membrana sodio-potasio dependiente determinada en preparaciones de homogenizado de corteza cerebral de rata mediante el proceder de Wu y Phillis (1979, 1981).

Cuando se trabaja con homogeneizados se pueden realizar dos tipos de experimentos:

1. Determinación del consumo de oxígeno de homogeneizados de cerebro incubados en sacarosa 0.25 M tamponada a pH 7.4 para evitar aglutinaciones de mitocondrias (Umbreit y col.,1972).

2. Determinación del consumo de oxígeno de homogeneizados de cerebro de rata incubados en sacarosa tamponada a pH 7.4 con sustratos y cofactores.

En ambos tipos de experimentos la fase gaseosa ha sido siempre aire, ya que como demostró Mardomingo en su Tesis Doctoral en 1974, los consumos de oxígeno de homogeneizados empleando oxígeno como fase gaseosa son menores que los obtenidos empleando aire como fase gaseosa, siendo difícil explicar el por qué. La adición de sustratos y cofactores incrementa de forma considerable el consumo de oxígeno de homogeneizados confirmando estos resultados los obtenidos por Velasco y González en 1978, por ello basados en esta experiencia previa del Laboratorio, en nuestra Tesis Doctoral se han realizado únicamente experimentos de homogeneizados añadiendo al medio de incubación sustratos y cofactores.

5.2. EFECTO DEL CLORHIDRATO DE TIAPRIDA SOBRE EL CONSUMO DE OXIGENO, GLUCOSA Y ACTIVIDAD ATPasa Y FOSFORILACION OXIDATIVA DE TEJIDO CEREBRAL DE RATA "IN VITRO"

El clorhidrato de tiaprida a las concentraciones de 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} M disminuye significativamente el consumo de oxígeno de homogeneizados de cerebro de rata incubados en sacarosa con sustrato y cofactores (Tabla V). Este fármaco a ninguna de las concentraciones ensayadas modifica significativamente el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata incubados en solución de Krebs-Ringer fosfato pH 7.4 con glucosa 10mM (Tabla VI). El clorhidrato de tiaprida a las concentraciones ensayadas no modifica el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata incubados en solución de Krebs-Ringer fosfato pH 7.4 con glucosa 10 mM, potasio 105 mM y carente en calcio (Tabla VII), en este medio de incubación la actividad ATPasa de membrana sodio-potasio dependiente está estimulada al máximo, el clorhidrato de tiaprida tampoco modifica el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro" incubados en solución de Krebs-Ringer fosfato pH 7.4 con glucosa 10 mM en el que se ha sustituido el cloruro de sodio por cloruro de colina (Tabla VIII), en este medio carente en sodio la actividad ATPasa de membrana sodio-potasio dependiente está abolida. El clorhidrato de tiaprida a ninguna de las concentraciones ensayadas modifica la actividad ATPasa de membrana sodio-potasio dependiente, ni la actividad ATPasa no sensible a ouabaína (Figura 4).

El comportamiento del clorhidrato de tiaprida sobre el consumo de oxígeno de cortes y homogeneizados de cerebro de rata "in vitro" es muy semejante al de la sulpirida que también pertenece al grupo de las benzamidas u ortopramidas y que fue estudiada por Velasco y col en 1973. El efecto del clorhidrato de tiaprida también es semejante al de otros neurolépticos típicos como el haloperidol o la pipotiaccina estudiados por Velasco y col.,1973 y Mardomingo y col.,1976 respectivamente y también es similar al de algunos neurolépticos atípicos como la clozapina (Saiz y col.,1980).

La relación P:O en mitocondrias de cerebro de rata no es modificada por el clorhidrato de tiaprida a ninguna de las concentraciones ensayadas (figura 5), lo que indica que este fármaco no desacopla la fosforilación oxidativa mitocondrial, a diferencia de los neurolépticos fenotiazínicos y dibenzooxacepínicos como la loxapina que sí lo hacen (Dawkins y col.,1959, Velasco y col.,1985).

La dopamina a las concentraciones de 10^{-7} y 10^{-6} M incrementa significativamente el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata incubados en solución de Krebs-Ringer fosfato normal (Tabla IX). El clorhidrato de tiaprida a la concentración de 10^{-6} M a la que no modifica el consumo de oxígeno y glucosa de cortes de cerebro de rata antagoniza este efecto de dopamina (Tabla X y figura 6) comportándose igual que otros neurolépticos típicos y atípicos estudiados previamente en nuestro laboratorio (Sánchez y col.,1979 y 1980; García Roldán y col., 1983; Velasco y col.,1985). La dosis eficaz₅₀ (DE₅₀) (M) es 1.99×10^{-8} (M) con un intervalo de confianza del 95% comprendida entre $1.32-2.62 \times 10^{-8}$ (M). Los resultados obtenidos con tiaprida no han permitido calcular la Concentración Inhibitoria₅₀ (M), pero la representación gráfica sugiere que el antagonismo dopamina-tiaprida sobre el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro" es de tipo no competitivo (González y col, 1980; Rodríguez-Mayo, 2001).

El incremento de consumo de oxígeno inducido por la dopamina parece deberse a una activación de la actividad ATPasa de membrana sodio-potasio dependiente, ya que es abolido por la ouabaína (Sánchez y col.,1980; Harris y Sthal, 1978; Hexum, 1978).

El diclorhidrato de histamina a la concentración de 10^{-7} y 10^{-8} M incrementa significativamente el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro" a los treinta minutos de incubación (Tabla XI), este efecto se mantiene en presencia de clorhidrato de tiaprida a la concentración de 10^{-6} M (Tabla XII).

El clorhidrato de serotonina a ninguna de las concentraciones ensayadas modifica significativamente el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro". Este fenómeno se repite cuando el medio de incubación contiene clorhidrato de tiaprida a la concentración de 10^{-6} M (Tabla XIV).

Las interacciones de histamina, serotonina y fármacos psicotrópicos sobre el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro" han sido analizadas por Velasco y col. (1992) y son bastante inespecíficas.

El clorhidrato de tiaprida a ninguna de las concentraciones ensayadas modifica significativamente el consumo de glucosa de cortes de cerebro de rata "in vitro" incubados en solución de Krebs-Ringer fosfato normal (Tabla XV) o en solución de Krebs-Ringer fosfato conteniendo potasio 105 mM. (Tabla XVI). Estos resultados son concordantes con los obtenidos en nuestro laboratorio con otros fármacos psicotrópicos (Velasco y col.,1972, 1973, 1977, 1978; Velasco, 1995; Dueñas y col.,1983, 1985; García Roldán y col., 1983).

TABLA V

EFFECTO DE TIAPRIDA SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO (QO₂) DE HOMOGENEIZADOS DE CEREBRO DE RATA "IN VITRO". El medio de incubación es sacarosa 0,25 M a pH 7,4 con sustratos y cofactores.

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO	Nº DE FRASCOS	QO ₂ EN µl / 100 MG. DE TEJIDO FRESCO (*)			
		15 MIN	30 MIN	45 MIN	60 MIN
CONTROL	10	122,6 ± 5,5	200,3 ± 7,3	252,5 ± 8,1	294,9 ± 8,3
10⁻³ M	10	99,6 ± 6,9 (a)	164,2 ± 8,8 (b)	214,2 ± 9,7 (b)	252,1 ± 9,6 (b)
10⁻⁴ M	10	97,8 ± 5,3 (a)	168,2 ± 5,2 (b)	217,7 ± 6,7 (b)	259,1 ± 6,3 (b)
10⁻⁵ M	10	94,4 ± 9,2 (b)	165,2 ± 9,1 (b)	214,1 ± 9,8 (a)	262,1 ± 9,9 (a)
10⁻⁶ M	10	115,1 ± 9,2	187,7 ± 9,3	240,8 ± 9,9	286,1 ± 9,6

(*) Valores medios ± E.S.M.

(a) P < 0.05; (b) P < 0,01

TABLA VI

EFFECTO DE TIAPRIDA SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO (QO₂) DE CORTES DE CEREBRO DE RATA "IN VITRO". El medio de incubación es solución de Krebs-Ringer fosfato a pH 7,4 con glucosa 10 mM.

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO	Nº DE CORTES	QO ₂ EN µl / 100 MG. DE TEJIDO FRESCO (*)			
		15 MIN	30 MIN	45 MIN	60 MIN
CONTROL	10	34,0 ± 1,6	70,0 ± 2,7	107,2 ± 3,5	147,9 ± 4,5
10 ⁻³ M	11	31,3 ± 2,5	69,7 ± 4,6	108,6 ± 6,4	144,7 ± 8,3
10 ⁻⁴ M	12	38,6 ± 4,4	73,2 ± 4,1	109,8 ± 3,8	148,3 ± 4,6
10 ⁻⁵ M	14	34,0 ± 1,6	69,9 ± 2,8	105,6 ± 3,4	146,0 ± 4,3
10 ⁻⁶ M	13	36,0 ± 2,9	73,8 ± 4,5	112,3 ± 6,2	157,1 ± 7,9
10 ⁻⁷ M	13	35,5 ± 3,7	75,0 ± 6,2	113,3 ± 8,4	155,0 ± 11,0

(*) Media ± E.S.M.

P mayor de 0,05 en todos los casos.

TABLA VII

EFFECTO DE TIAPRIDA SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO (QO₂) DE CORTES DE CEREBRO DE RATA "IN VITRO". El medio de incubación es solución de Krebs-Ringer fosfato a pH 7,4 con potasio 105 mM, carente de calcio.

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO	Nº DE CORTES	QO ₂ EN µl / 100 MG. DE TEJIDO FRESCO (*)			
		15 MIN	30 MIN	45 MIN	60 MIN
CONTROL	10	38,3 ± 1,6	88,4 ± 2,6	137,9 ± 3,8	187,7 ± 5,6
10 ⁻⁴ M	11	39,3 ± 2,7	82,8 ± 3,8	123,5 ± 5,9	184,9 ± 7,5
10 ⁻⁵ M	10	41,3 ± 2,1	87,6 ± 2,9	132,2 ± 3,9	178,2 ± 5,7
10 ⁻⁶ M	10	43,7 ± 2,7	93,5 ± 5,0	144,0 ± 7,7	193,5 ± 10,3
10 ⁻⁷ M	10	38,1 ± 15,0	85,3 ± 8,4	131,4 ± 13,6	174,2 ± 17,4

(*) Valores medios ± E.S.M.

P mayor de 0,05 en todos los casos.

TABLA VIII

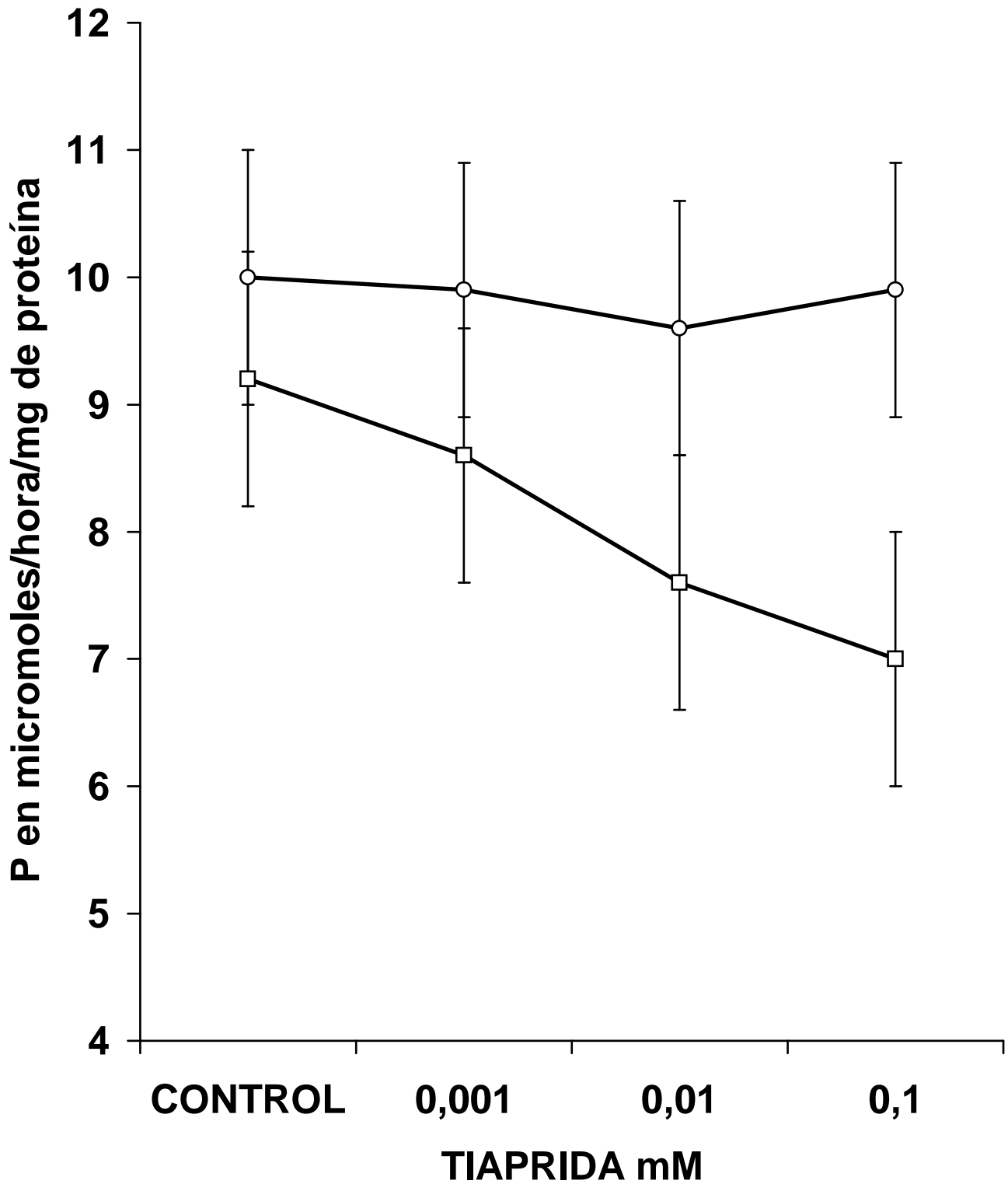
EFFECTO DE TIAPRIDA SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO (QO₂) DE CORTES DE CEREBRO DE RATA. El medio de incubación es solución de Krebs-Ringer fosfato a pH 7,4 en el que se ha sustituido el cloruro de sodio por cloruro de colina.

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO	Nº DE CORTES	QO ₂ EN µl / 100 MG. DE TEJIDO FRESCO (*)			
		15 MIN	30 MIN	45 MIN	60 MIN
CONTROL	10	29,0 ± 1,6	61,5 ± 1,8	96,8 ± 2,6	124,6 ± 3,7
10 ⁻⁴ M	10	35,7 ± 3,4 (a)	70,9 ± 5,6	105,4 ± 7,0	138,4 ± 7,7
10 ⁻⁵ M	10	34,9 ± 2,2	68,4 ± 2,9	101,3 ± 3,8	132,3 ± 4,9
10 ⁻⁶ M	11	35,4 ± 1,1	70,0 ± 2,6	102,2 ± 4,0	132,0 ± 4,8
10 ⁻⁷ M	11	30,3 ± 1,4	65,0 ± 4,0	90,2 ± 4,5	118,8 ± 5,3

(*) Valores medios ± E.S.M.

(a) P mayor de 0,05 en todos los casos.

FIGURA 4



Efecto de tiaprida sobre la actividad ATPasa de homogeneizado de corteza cerebral de rata "in vitro". (o)ATPasa Na-K; () ATPasa no sensible a ouabaína. ($P > 0,05$ en todos los casos).

FIGURA 5

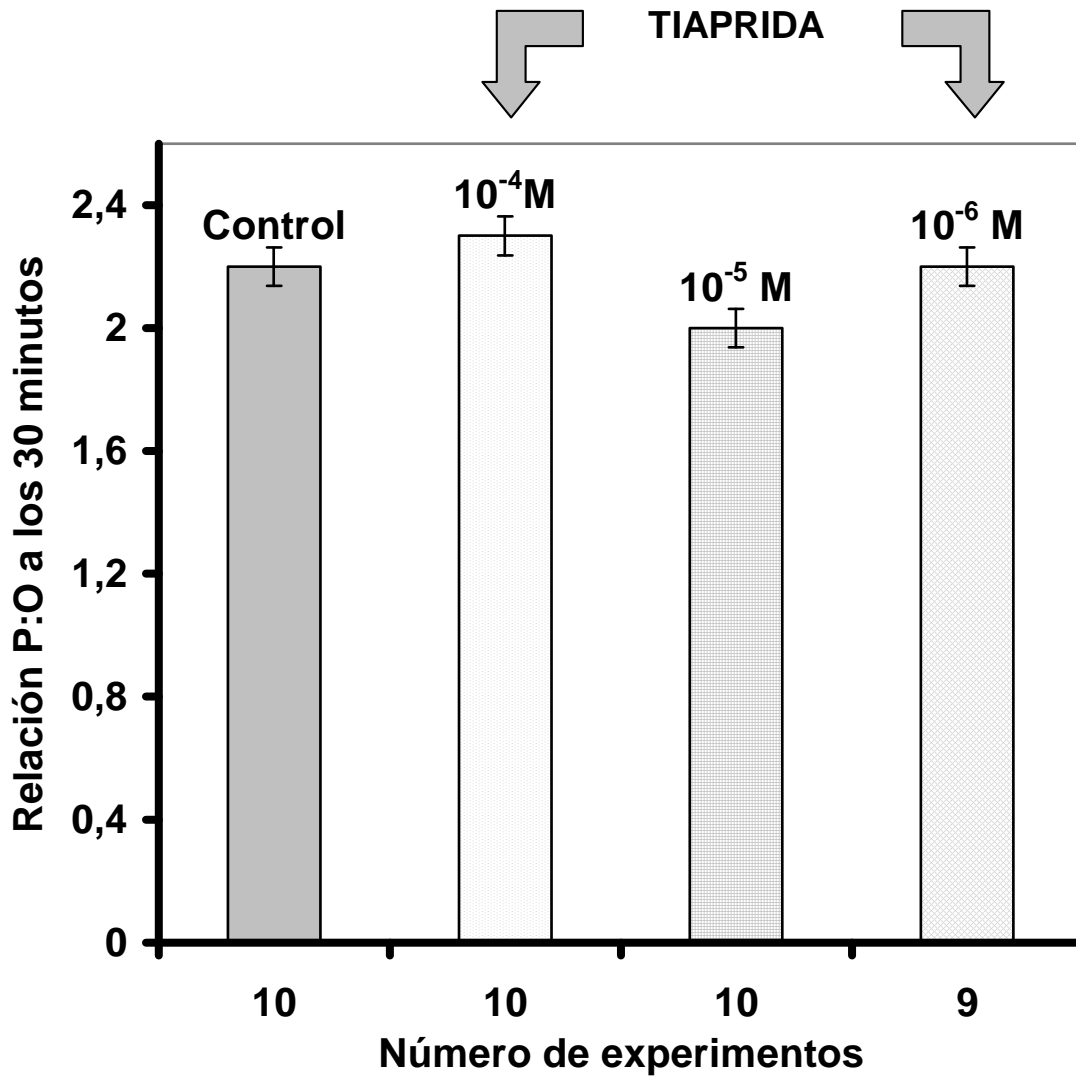


FIGURA 5.- Efecto de tiaprida sobre la relación P/O en mitocondrias de cerebro de rata "in vitro". El medio de incubación contiene: sacarosa 0.05 M; ATP sódico 0.006 M; malato sódico 0.006 M; piruvato sódico 0.006 M; tampón de tricina 0.012 M; tampón de fosfatos 0.016 M; sulfato de magnesio 0.004 M; fluoruro de sodio 0.012 M; glucosa 0.02 M; Citocromo C 1.2×10^{-5} M y 0.2 mg de hexoquinasa. 0.5 ml de preparación de mitocondrias contenían aproximadamente 40 mg de proteínas totales. El pocillo central del frasco de Warburg contenía 0.2 ml de NaOH 10 M. La fase gaseosa es aire y la temperatura de 30°C. El volumen final de cada frasco es de 2.7 ml. ($P > 0.05$ en todos los casos).

TABLA IX

EFFECTO DE DOPAMINA SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO (QO₂) DE CORTES DE CEREBRO DE RATA "IN VITRO". El medio de incubación es solución de Krebs-Ringer fosfato a pH 7,4.

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO	Nº DE CORTES	QO ₂ EN µl / 100 MG. DE TEJIDO FRESCO (*)			
		15 MIN	30 MIN	45 MIN	60 MIN
CONTROL	13	62,93 ± 4,19	101,03 ± 6,96	139,44 ± 7,94	178,98 ± 9,96
10⁻⁵ M	10	60,15 ± 3,12	96,80 ± 7,30	142,98 ± 5,70	182,75 ± 7,08
10⁻⁶ M	11	84,77 ± 7,08 (P < 0,02)	132,16 ± 9,64 (P < 0,02)	175,78 ± 10,62 (P < 0,02)	215,88 ± 11,73 (P < 0,05)
10⁻⁷ M	11	85,27 ± 8,56 (P < 0,05)	130,58 ± 7,33 (P < 0,01)	175,21 ± 8,07 (P < 0,01)	221,73 ± 8,59 (P < 0,01)
10⁻⁸ M	11	68,82 ± 5,27	115,10 ± 5,27	157,96 ± 9,57	198,92 ± 11,55

(*) Valores medios ± E.S.M.

P mayor de 0,05 en todos los casos no señalados.

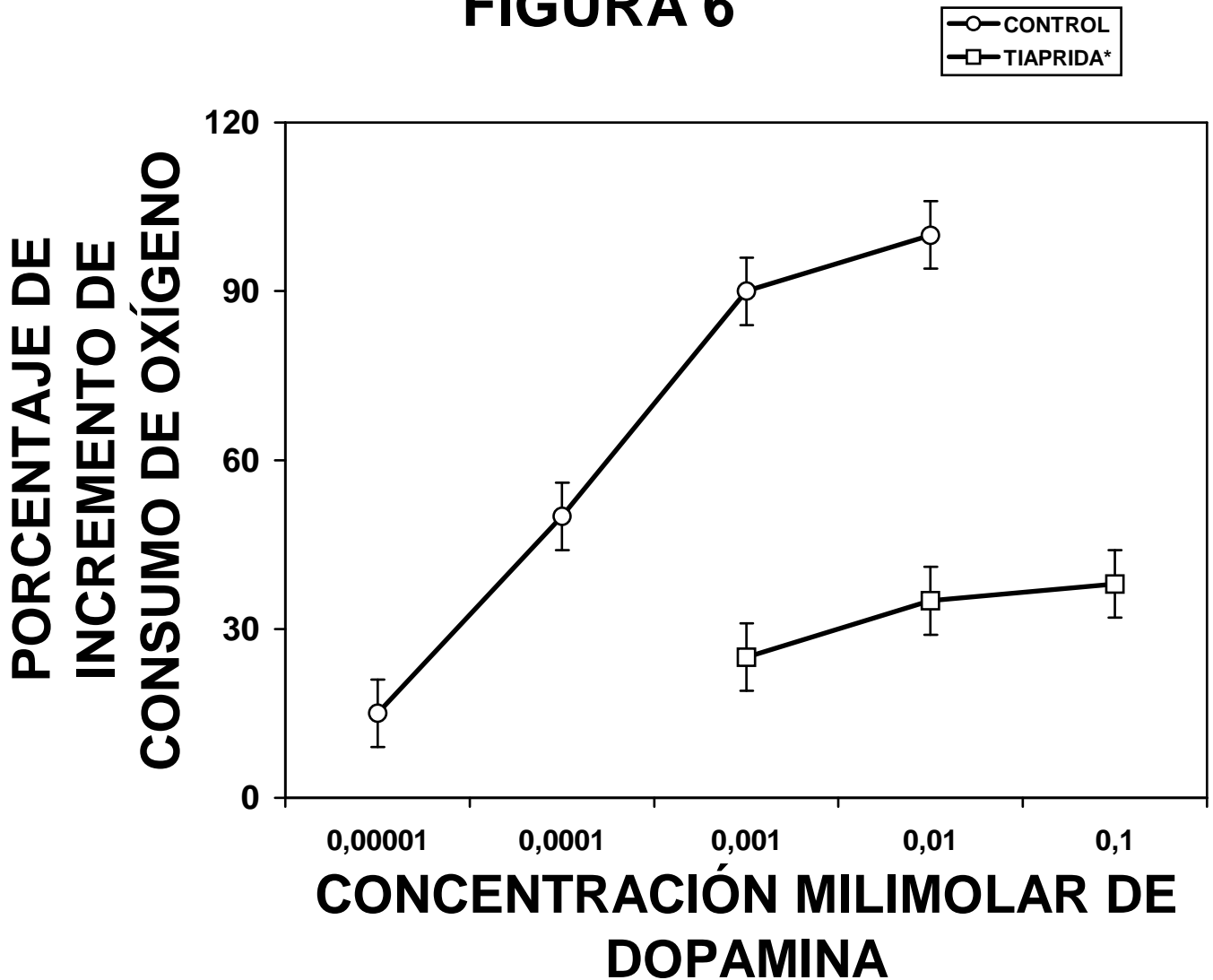
TABLA X

EFFECTO DE DOPAMINA SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO (QO₂) DE CORTES DE CEREBRO DE RATA EN PRESENCIA DE TIAPRIDA 10⁻⁶ M. El medio de incubación es solución de Krebs-Ringer fosfato a pH 7,4.

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO	Nº DE CORTES	QO ₂ EN µl / 100 MG. DE TEJIDO FRESCO (*)			
		15 MIN	30 MIN	45 MIN	60 MIN
CONTROL	10	35,9 ± 2,9	73,9 ± 3,5	105,5 ± 4,7	139,5 ± 7,7
10⁻⁵ M	10	36,9 ± 1,9 (a)	76,3 ± 2,7	115,4 ± 3,8	151,6 ± 5,1
10⁻⁶ M	10	38,1 ± 2,1	76,1 ± 3,7	112,5 ± 4,7	147,0 ± 6,3
10⁻⁷ M	9	36,9 ± 2,1	77,4 ± 5,0	116,4 ± 7,8	150,7 ± 10,7

(*) Valores medios ± E.S.M.

(a) P mayor de 0,05 en todos los casos.

FIGURA 6

Curva dosis-efecto que relaciona la concentración milimolar de dopamina con el porcentaje de incremento de consumo de oxígeno en cortes de cerebro de rata "in vitro" en ausencia y en presencia de clorhidrato de tiaprida a la concentración de 10^{-6} M (* $P < 0,01$).

TABLA XI

EFFECTO DE HISTAMINA SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO (QO₂) DE CORTES DE CEREBRO DE RATA "IN VITRO". El medio de incubación es solución de Krebs-Ringer fosfato a pH 7,4.

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO	Nº DE CORTES	QO ₂ EN µl / 100 MG. DE TEJIDO FRESCO (*)			
		15 MIN	30 MIN	45 MIN	60 MIN
CONTROL	9	31,1 ± 3,5	73,3 ± 2,3	112,5 ± 2,9	156,3 ± 4,2
10 ⁻⁵ M	9	34,5 ± 5,1	79,8 ± 5,1	116,9 ± 7,8	159,3 ± 8,1
10 ⁻⁶ M	8	35,1 ± 3,0	80,2 ± 3,1	116,1 ± 4,7	163,1 ± 7,3
10 ⁻⁷ M	9	35,6 ± 5,3	86,0 ± 5,1 (a)	121,7 ± 8,6	165,4 ± 10,8
10 ⁻⁸ M	8	41,9 ± 3,5 (a)	80,9 ± 6,1	119,7 ± 8,5	164,4 ± 9,4
10 ⁻⁹ M	9	32,0 ± 4,7	79,4 ± 7,3	111,7 ± 5,9	160,8 ± 5,4

(*) Valores medios ± E.S.M.

P < de 0,05.

TABLA XII

EFEECTO DE CLORHIDRATO DE HISTAMINA SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO (QO_2) DE CORTES DE CEREBRO DE RATA EN PRESENCIA DE TIAPRIDA 10^{-6} M. El medio de incubación es solución de Krebs-Ringer fosfato a Ph 7,4.

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO	Nº DE CORTES	QO ₂ EN μ l / 100 MG. DE TEJIDO FRESCO (*)			
		15 MIN	30 MIN	45 MIN	60 MIN
CONTROL	9	34,6 \pm 1,6	75,0 \pm 3,5	113,4 \pm 6,2	159,0 \pm 7,6
10 ⁻⁵ M	10	41,4 \pm 6,1	81,9 \pm 11,0	121,3 \pm 13,9	163,6 \pm 17,5
10 ⁻⁶ M	10	31,6 \pm 2,5	68,5 \pm 3,7	107,8 \pm 5,7	151,5 \pm 7,6
10 ⁻⁷ M	9	44,1 \pm 2,3 (a)	87,9 \pm 4,2 (b)	130,8 \pm 6,0	178,1 \pm 8,0

(*) Valores medios \pm E.S.M.

(a) P < 0,01 (b) P < 0.05.

TABLA XIII

EFEECTO DE SEROTONINA SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO (QO₂) DE CORTES DE CEREBRO DE RATA "IN VITRO". El medio de incubación es solución de Krebs-Ringer fosfato a pH 7,4.

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO	Nº DE CORTES	QO ₂ EN µl / 100 MG. DE TEJIDO FRESCO (*)			
		15 MIN	30 MIN	45 MIN	60 MIN
CONTROL	a, s6,3 ±	56,3 ± 2,45	103,9 ± 3,7	148,0 ± 5,0	195,9 ± 6,0
10⁻⁵ M	10	49,8 ± 1,7	94,8 ± 2,5	145,6 ± 2,7	191,9 ± 4,1
10⁻⁶ M	11	50,5 ± 1,7	99,4 ± 4,4	137,9 ± 3,1	185,5 ± 5,24
10⁻⁷ M	11	49,3 ± 3,3	96,1 ± 2,4	143,5 ± 3,1	189,8 ± 4,2
10⁻⁸ M	11	49,8 ± 1,5	94,9 ± 2,6	144,5 ± 2,9	188,4 ± 3,6
10⁻⁹ M	11	45,2 ± 2,9	92,3 ± 3,8	141,4 ± 3,9	184,5 ± 3,7

(*) Valores medios ± E.S.M.

No se observan diferencias estadísticas con los controles.

TABLA XIV

EFFECTO DE CLORHIDRATO DE SEROTONINA SOBRE EL CONSUMO DE OXÍGENO (QO_2) DE CORTES DE CEREBRO DE RATA EN PRESENCIA DE TIAPRIDA 10^{-6} M. El medio de incubación es solución de Krebs-Ringer fosfato a pH 7,4 con glucosa 10 mM.

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO	Nº DE CORTES	QO ₂ EN μ l / 100 MG. DE TEJIDO FRESCO (*)			
		15 MIN	30 MIN	45 MIN	60 MIN
CONTROL	7	43,0 \pm 2,4	82,9 \pm 3,6	129,2 \pm 6,9	171,3 \pm 8,6
10^{-5} M	7	37,1 \pm 3,5 (a)	80,0 \pm 6,6	121,6 \pm 8,9	161,7 \pm 12,1
10^{-6} M	7	37,6 \pm 3,5	86,0 \pm 5,6	135,3 \pm 8,9	179,2 \pm 10,8
10^{-7} M	7	38,6 \pm 2,4	76,1 \pm 3,8	121,3 \pm 6,1	160,3 \pm 7,3

(*) Valores medios \pm E.S.M.

(a) P > 0.05 en todos los casos.

TABLA XV

EFEECTO DE TIAPRIDA SOBRE EL CONSUMO DE GLUCOSA DE CORTES DE CEREBRO DE RATA INCUBADOS EN KREBS-RINGER FOSFATO CON GLUCOSA 10 mM.

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO	Nº DE CORTES	Consumo de glucosa en mg/100 mg de tejido fresco / hora (valores medios \pm E.S.M.)
CONTROL	12	0,69 \pm 0,07
10 ⁻³ M	11	0,50 \pm 0,09 (a)
10 ⁻⁴ M	13	0,53 \pm 0,06
10 ⁻⁵ M	12	0,65 \pm 0,06
10 ⁻⁶ M	13	0,53 \pm 0,06
10 ⁻⁷ M	12	0,62 \pm 0,12

(a) P mayor de 0,05 en todos los casos.

TABLA XVI

EFEECTO DE TIAPRIDA SOBRE EL CONSUMO DE GLUCOSA DE CORTES DE CEREBRO DE RATA INCUBADOS EN KREBS-RINGER FOSFATO CON K^+ 105 mM y GLUCOSA 10 mM.

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO	Nº DE CORTES	Consumo de glucosa en mg/100 mg de tejido fresco / hora (valores medios \pm E.S.M.)
CONTROL	10	0,94 \pm 0,06
10^{-3} M	10	0,80 \pm 0,09 (a)
10^{-4} M	10	0,86 \pm 0,09
10^{-5} M	10	1,02 \pm 0,12
10^{-6} M	10	1,03 \pm 0,11

(a) P mayor de 0,05 en todos los casos.

6. CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1ª.- El clorhidrato de tiaprida a las concentraciones de 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} M disminuye significativamente el consumo de oxígeno de homogeneizados de cerebro de rata "in vitro" incubados en sacarosa tamponada a pH 7.4 con sustratos y cofactores, lo que parece sugerir que este fármaco no desacopla la fosforilación oxidativa mitocondrial, ya que no disminuye la relación P:O en mitocondrias de cerebro de rata "in vitro".

2ª.- El clorhidrato de tiaprida a ninguna de las concentraciones ensayadas modifica significativamente el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro" incubados en solución de Krebs-Ringer fosfato pH 7.4 con glucosa 10 mM.

3ª.- El clorhidrato de tiaprida a las concentraciones ensayadas no modifica el consumo de oxígeno ligado a la actividad ATPasa de membrana sodio-potasio dependiente en cortes de cerebro de rata "in vitro"; tampoco modifica la actividad ATPasa de membrana sodio-potasio dependiente ni la actividad ATPasa no sensible a ouabaína en homogeneizados de corteza cerebral de rata "in vitro".

4ª.- El clorhidrato de tiaprida a las concentraciones ensayadas no modifica significativamente el consumo de glucosa de cortes de cerebro de rata incubados en solución de Krebs-Ringer fosfato pH 7.4 y glucosa 10 mM conteniendo potasio 5 ó 105 mM.

5ª.- El clorhidrato de tiaprida a la concentración de 10^{-6} M antagoniza el incremento de consumo de oxígeno inducido por la dopamina en cortes de cerebro de rata "in vitro" incubados en solución de Krebs-Ringer fosfato pH 7.4 con glucosa 10 mM, siendo este antagonismo de tipo no competitivo.

6ª.-El clorhidrato de tiaprida a la concentración de 10^{-6} M no modifica los efectos de histamina y de serotonina sobre el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata "in vitro" incubados en Krebs-Ringer fosfato pH 7.4 con glucosa 10mM.

7. RESUMEN

7. RESUMEN

El clorhidrato de tiaprida es una benzamida u ortopramida con efecto neuroléptico atípico. En el presente trabajo se estudia el efecto del clorhidrato de tiaprida sobre el consumo de oxígeno, glucosa, fosforilación oxidativa mitocondrial, actividad ATPasa y la interacción con diversos neurotransmisores en preparaciones de cortes de corteza de rata "in vitro".

En relación con el MATERIAL Y METODOS, se determinó el consumo de oxígeno en cortes, homogeneizados y mitocondrias de cerebro de rata "in vitro" mediante técnica manométrica. La actividad ATPasa se determinó estimando el fosfato inorgánico liberado a partir del adenosín-trifosfato (ATP) en ausencia y en presencia de ouabaína. Se determinó el consumo de glucosa mediante el proceder de la glucosa-oxidasa y también se estudió la fosforilación oxidativa mitocondrial. Para el estudio de las interacciones con los neurotransmisores se recurrió a los cortes de corteza cerebral de rata "in vitro". Se determinó el valor de la Concentración Inhibitoria₅₀ cuando el antagonismo era de tipo no competitivo.

El clorhidrato de tiaprida a las concentraciones de 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} M disminuye el consumo de oxígeno de homogeneizados de cerebro de rata "in vitro", no desacopla la fosforilación oxidativa mitocondrial, no modifica el consumo de oxígeno y de glucosa de cortes de cerebro de rata "in vitro" incubados en solución de Krebs-Ringer fosfato normal, no inhibe la actividad ATPasa de membrana sodio-potasio dependiente, ni la actividad ATPasa no sensible a ouabaína.

El clorhidrato de tiaprida a la concentración de 10^{-6} M antagoniza el incremento de consumo de oxígeno inducido por la dopamina en cortes de cerebro de rata "in vitro" incubados en solución de Krebs-Ringer fosfato pH 7.4 con glucosa 10 mM, siendo este antagonismo de tipo no competitivo. El clorhidrato de tiaprida no modifica los efectos de histamina y serotonina sobre el consumo de oxígeno de cortes de cerebro de rata.

8. BIBLIOGRAFÍA

8. BIBLIOGRAFIA

ABREU, B.E., LIDDLE, G.W., BURKS, A.L., SUTHERLAND, V., ELLIOT, H.W., SIMON, A. and MARGOLIS, L.: Influence of amphetamine sulfate on cerebral metabolism and blood flow in man. *J. Amer. Pharm. Ass.*, 38: 186, 1.949

ADAM-VIZI, V. and SEREGL A.: Receptor independent stimulatory effect of noradrenaline on Na, K-ATPase in rat brain homogenate. *Biochem. Pharmac.*, 31: 2231, 1.982

AKERA, T., GUBITZ, R.E., BRODY, T.M. and TOBIN, T.: Effects of monovalent cations on (Na-K)-ATPase in rat brain slices. *Eur. J. Pharmacol.*, 55: 281, 1.979

ALEXANDER, S.P.H., PETERS, J.A.: 1997 Receptor and ion channel nomenclature supplement, *Trends in Pharmacological Sciences*, 1997

ALLAIN, H., DAUTZENBERG, P.H., MAURER, K. et al.: Double blind study of tiapride versus haloperidol and placebo in agitation and aggressiveness in elderly patients with cognitive impairment, *Psychopharmacology (Berl.)*, 148 (84): 361, 2000

ALVAREZ, F.J.: Efecto de Etomidato sobre el metabolismo oxidativo de diversos tejidos de rata "in vitro". Tesis Doctoral, Facultad de Medicina de Valladolid. 1.982

ALVAREZ, F.J., CARVAJAL, A., DUEÑAS, A., GONZALEZ, J.L. y VELASCO, A.: Análisis comparativo de trazodone e imipramina frente a acetilcolina y estímulo eléctrico en ileon aislado de cobaya. *Arch. de Farmacol. y Toxicol.*, 9: 263, 1.983

de ANDRES-TRELLES, F.: Medicamentos empleados en el tratamiento de las psicosis. En *Farmacología y su proyección a la Clínica*, 14^a ed., Ed. Oteo, Madrid, 431, 1.979

de ANDRES-TRELLES, F.: Fármacos usados en la esquizofrenia y otras psicosis. Neurolépticos o antipsicóticos. En Velasco A., Lorenzo P., Serrano J.S., De Andrés-Trelles F., Velázquez Farmacología. Interamericana/McGraw Hill., 294, 1993

ARAI, M.: Parkinsonism onset in a patient concurrently using tiapride and donepezil, *Intern. Med.*, 39 (10): 863, 2000

AREVALO, L.M., VELASCO, A., RODRIGUEZ, L.P. Y ARMIJO, M.: Efectos de l-glutamina, piridoxal y GABA sobre glicolisis y respiración cerebral. *Arch. Ins. Farm. Exp. (Medicina)*, 22: 47, 1.970

ASHFORD, C.A. and DIXON, K.C.: Influence of excessive potassium on the brain respiration. *Biochem. J.*, 29: 157, 1.935

ASKARI, A. and RAO, S.N.: Drugs affecting sodium transport in human erythrocyte ghosts. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 172: 211, 1.970

AXELROD, J.: Pre and Postsynaptic Regulation of catecholamine neurotransmitters, in "Neurotransmitters", Advances in Pharmacology and Therapeutics, Proceeding of the 7th International Congress of Pharmacology, Paris (1.979) vol. 2 pp 249, Pergamon Press, Oxford, 1.979

AWARD A.G., VORUGANTI L.N.P., HESLEGRAVE R.J. The aims of antipsychotic medication: what are they and are they being achieved?. CNS drugs, 4:8, 1995

BALDESSARINI R.J., TARAZI F.I. Drugs and the treatment of the psychiatric disorders. En Goodman and Gilman's: The pharmacological basis of therapeutic. 10^a Ed. New York. Mc Graw Hill., 485, 2001

BASSI, M. and BERNELLI-ZAZZERA, A.: Effects of Potassium ions in brain Respiration and aminoacids incorporation into Brain Proteins "in vitro". Experientia, 16: 430, 1.960

BERNTMAN, L., CARLSSON, C., HAGERDAL, M. and SIESJO, B.K.: Circulatory and metabolic effects on the brain induced amphetamine sulphate. Acta Physiol. Scand., 102: 310, 1.969

BIANCHI, C.P.: Cell Calcium, Butterworth, London, 1.968

BOGDANSKI, D.F. and BRODIE, B.B.: The effects of inorganic ions on the storage and uptake of H³ Norepinephrine by rat heart slices. J. Pharmacol. Exp. Ther., 165: 181, 1.969

BRODY, T.M. and BAIN, J.A.: Barbiturates and Oxydative Phosphorylation, J. Pharmacol. Exp. Ther. 110: 148, 1.954

BRODY, T.M.: The uncoupling of phosphorylation oxydative as Mechanism of Drug Action, Pharmacol. Rev., 7: 335, 1.955

BOUCHEL, L.: Influence of calcium on brain respiration. Anesth Analg., 10: 1, 1.953

CARDUS, D.: Matemáticas para médicos y biólogos. Editorial Vicens Vives. Barcelona, 1.972

CARLSSON, C., HAGERDAL, M. and SIESJO, B.K.: Influence of amphetamine sulphate on cerebral Blood flow and Metabolism. Acta physiol. Scand., 94, 128, 1.975

CARVAJAL A., MARTÍN ARIAS L.H.. Antipsychotic drugs. En J.K. Aronson (Ed.). Side effects of drugs. Anual 25, Amsterdam. Elsevier 2002.

CAVAS, M., NAVARRO, J.F.: Coadministration of L-NOARG and tiapride: effects of catalepsy in male mice, Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry, 26 (1): 69, 2002

CHOWDBURY, A.K., ROGERS, H., SKINNER, A., SPECTOR, R.G. and WATTS, D.C.: The influence of psychotropic drugs on aldolase, mitochondrial malic

dehydrogenase and Mg Na-K adenosine triphosphatase. *Brit. J. Pharmacol.*, 37: 459, 1.969

CLOUINARD G., JONES B., REMINGTON G., BLOOM D., ADDINGTON D., McEWAN G.W., LABELLE A., BEAUCLAIR L., ARNOTT W.A. A canadian multicente placebo controlled study of fixed doses of risperidone and haloperidol in the treatment of chronic schizophrenic patients. *J Clin Psychofarmacology*, 13: 25, 1993

COFFEY I. Options of the treatment of negative symptoms of schizophrenic. *CNS drugs*, 1: 107, 1994

COHEN, C., PERRAULT, G., SANGER, D.J.: Preferential involvement of D3 versus D2 dopamine receptors in the effects of dopamine receptor ligands on oral ethanol self-administration in rats, *Psychopharmacology (Berl.)*, 140 (4): 478, 1998

COMITE INTERNACIONAL DE EDITORES DE REVISTAS MEDICAS: Requisitos de uniformidad para manuscritos presentados en revistas biomédicas. *Med. Clin. (Barc.)*, 97: 181, 1.991

CONN, E.E. y STUMPF, P.K.: *Bioquímica fundamental*. Editorial Limusa, Méjico, 1.976

COOPER, J.R., BLOOM. F.E., ROTH, R.H.: *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*, 7th Edition, Oxford University Press, Oxford, 1996

CSERNANSKY J.G. (Ed.). *Antipsychotics*. Berlin, Springer, 1996

DAVIS J.M., MELATON M., WATANABE M.D. Depot antipsychotic drugs: place in therapy. *Drugs*, 47: 741, 1994

DAVIS K.L., CHARNEY D., COYLE J.T., NEMEROFF C. (Ed). *Neuropsychofarmacology: the fifth generation of progress*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2002.

DAVIS, P.W. and BRODY, T.M.: Inhibition of Na-K activated adenosine triphosphatase activity in rat brain by substituted phenothiazines. *Biochem. Pharmac.*, 15: 703, 1.968

DAWKINS, M.J.R, JUDAH, J.D. and REES, K.R.: The mechanism of action of chlorpromazine. *Biochem. J.*, 73: 16, 1.959

DAY, R.A.: *Cómo escribir y publicar trabajos científicos*, Washington: Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica nº 526. 1.990

DEMAIRE, D., CARPENTIER, M.C., EUDIER, F.: Essai ambulatoire du tirapridal après sevrage alcoolique hospitalier. *Semaine des Hôpitaux de Paris*, 62: 3109, 1986

DEROOVER, J.: Tiapride versus placebo: a double-blind comparative study in the management of Huntington's corea. *Curr. Med. Res. Opin.*, 9: 329, 1984

DESAIAH, D. and HO, I.K.: Kinetics of catecholamine sensitive Na- K ATPase activity in mouse brain synaptosomes. *Biochem. Pharmac.*, 26, 2929, 1.977

DICKENS, C. and GREVILLE, G.D.: Effect of potassium ions on Oxygen uptake by rat tissue "in vitro". *Biochem. J.*, 29: 1168, 1.935

DOSE, M., LANGE, H.W.: The benzamide tiapride: treatment of extrapyramidal motor and other clinical syndromes, *Pharmacopsychiatry*, 33 (1): 19, 2000

DUEÑAS, A.: Efecto de los clorhidratos de mianserina y viloxacina sobre la actividad oxidativa de cerebro de rata "in vitro". Tesis Doctoral. Facultad de Medicina de Valladolid. 1.981

DUNCAN, C.J.: Properties of the Ca-ATPase activity of mammalian synaptic membrana preparations. *J. Neurochem.*, 27: 1277, 1.976

ERECINSKA, M., WILSON, D.F. (Editors): Inhibitors of Mitochondrial Function. *International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics*, Section 107, Pergamon Press, Oxford, 1.981

ESCORIAL, C.: Efecto de algunos agonistas alfa y dopaminérgicos sobre la actividad oxidativa de cerebro de rata "in vitro". Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Valladolid. 1.981. Resumen publicado en *Arch Fac. Med. Madrid*, 40: 8, 1.981

ESCORIAL, C., GONZALEZ ,J.L.,MARAÑÓN, A. y VELASCO,A.: Efecto de algunos agonistas alta y dopaminérgicos sobre la actividad oxidativa de cerebro de rata "in vitro". *Arch. de Farmacol. y Toxicol.*, 8: 123, 1982.

ESTLER, C.J.: Effect of amphetamine other psychoestimulants on brain Metabolism. In "Advances in Psychopharmacology and Chemotherapy", 13: 305, Academic Press, New York, 1.975

FISHER, R.A. y YATES, F.: *Tablas Estadísticas para investigadores*. Editorial Aguilar, 3ª Edición, Madrid, 1.953

FISKE, C.H. and SUBBAROW, J.: The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66: 375, 1.925

FISKE, C.H. and SUBBAROW, J.: Estimation of Phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 81: 629, 1.929

FLEISCHHACKER W.W. New drugs for the treatmen of schizofrenic patients. *Acta Psychiatr Scand*, 91 (Supl 338): 24, 1995

FRANZ, M., DLABAL, H., KUNZ, S., et al.: Treatment of alcohol withdrawal: Tiapride and carmamazepine versus clomethiazole. A pilot study, *Eur. Arch. Psychiatry Clin. neurosci.*, 251 (4): 185, 2001

GARCIA DE JALON, P.D., RABADAN, F., SAIZ, L, GONZALEZ, J.L, HIDALGO, A. y VELASCO, A.: Efecto de 5-hidroxitriptófano y sus derivados alfa-cetoglutarato y l-glutamato sobre el consumo de oxígeno y glucosa de tejido cerebral de rata "in vitro". Arch de Farmacol. y Toxicol., 3: 51. 1.977

GARCIA, J.L.: Estudio comparativo del efecto de clotiapina y doxepina sobre el metabolismo oxidativo y actividad ATPasa de cerebro de rata "in vitro". Tesis Doctoral, Facultad de Medicina de Valladolid, 1.981

GARCIA RIVERA C. Nuevos antipsicóticos atípicos. Masson. Barcelona. 1996

GEORGE, S.E., BUNGAY, P.J., NAYLOR, L.H.: Functional analysis of the D2L dopamine receptor expressed in a cAMP responsive luciferase reporter cell line, Biochem. Pharmacol.,56 (1): 25, 1998

GHOSH, J.J. and QUASTEL, J.H.: Narcotics and brain respiration. Nature, 174: 28, 1.954

GILBERT, J.C., ALLEN, J.M., TOWNSEND, B.G. and WYLLIE, M.G.: Drugs affecting the central nervous system: effects of pemoline and tricyclic antidepressants on nerve terminal adenosine triphosphatase activities and neurotransmitter release. Neuropharmacol., 17: 419, 1.978

GINGRICH, J.A. and CARON, M.G.: Recent advances in the molecular biology of Dopamine receptors. Annu. Rev. Neurosci., 16: 213, 1.993

GIRAUD, F., CLARET, M., BRUCKDORFER, KR y CHAILLEY, B.: The effects of membrane lipid order and cholesterol on the internal and external cationic sites of the Na-K pump in erythrocytes. Biochim. Biophys. Acta, 647: 249, 1.981

GUTZMANN, H.: Measuring the efficacy of psychopharmacological treatment of psychomotoric restlessness in dementia: Clinical evaluation of tiapride. Pharmacopsychiatry, 30: 6, 1997

GLYNN, I.M.: The action of cardiac glycosides on ion movements. Pharmacol. Rev., 16: 381, 1.964

GONZALEZ, J.L.: Efecto de los inhibidores de monoamino-oxidasa sobre consumo de oxígeno, glucosa y fosforilización oxidativa de tejido cerebral de rata "in vitro". Arch Fac. Med. Madrid, 30: 251, 1.976

GONZALEZ-CALVO, V.: Efecto de clorhidrato de trazodone sobre la actividad oxidativa de cerebro de rata "in vitro". Tesis Doctoral, Facultad de Medicina de Valladolid, 1.982

GONZALEZ, J.L., SANCHEZ, A., SAIZ, J. Y VELASCO, A.: Efecto de anfetamina y tiramina sobre el metabolismo oxidativo de cerebro de rata "in vitro". Arch. de Farmacol. y Toxicol., 5: 284, 1.979

GONZALEZ, J.L., SANCHEZ, A., SAIZ, J. and VELASCO, A.: Effect of Amphetamine and dopamine on oxygen uptake of rat brain slices "in vitro". *il Farmaco Ed. sci.*, 35: 868, 1.980

GONZALEZ, J.L., SAIZ, I. y VELASCO, A.: Efecto del sulfato de d-l anfetamina sobre consumo de oxígeno, glucosa y fosforilación de cerebro de rata "in vitro". *Arch de Farmacol. y Toxicol.*, 3: 177, 1.977

GONZALEZ, J.L., SAIZ, I., and VELASCO, A.: Effect of maprotiline hydrochloride on oxygen and glucose uptake and on oxidative phosphorylation of rat brain "in vitro". *il Farmaco Ed. Prat.*, 33: 183. 1.978

GONZALEZ, J.L., SAIZ, I. and VELASCO, A.: Interaction reserpine amphetamine (AMPH) on the oxygen uptake of rat brain "in vitro": its modification by cationic stimulation. *Proc. 7th Int. Congr. Pharmac. Abstr.*, 1.958, Pergamon Press London, 1.978

GONZALEZ, J.L., SAIZ, J., SANCHEZ, A., y VELASCO, A.: Efecto de la nomifensina sobre el metabolismo oxidativo de cerebro de rata "in vitro". *Arch de Neurobiol.*, 44: 109. 1.981

GONZALEZ, J.L., y VELASCO, A.: Efecto de d-anfetamina y clonidina sobre actividad adenosintrifosfatasa y consumo de oxígeno asociado en cerebro de rata "in vitro". *Arch de Farmacol. y Toxicol.*, 8: 13, 1.982

GOSH, J.J. and QUASTEL, J.H.: Narcotics and Brain respiration. *Nature (Lond)*, 174: 28, 1.954

GUAL, A., MONRAS, M., Ortega, L.L.: Eficacia de tiapride en el mantenimiento de la abstinencia en alcohólicos desintoxicados. Resultados de un ensayo clínico frente a placebo. *Adicciones*, 14: 321, 2002

GUBITZ, RH., AKERA, T. and BRODY, T.M.: Control of brain slices respiration by (Na-K) activated adenosine triphosphatase and the effects of enzyme inhibitors. *Biochim. Biophys. Acta*, 459: 263, 1.977

GUTZMAN, H.: Measuring the efficacy of psychopharmacological treatment of psychomotoric restlessness in dementia: clinical evaluation of tiapride. *Pharmacopsychiatry*, 30: 6, 1997

HARRIS, W. S., SCHOENFELD, C.D., BROOKS, RH. and WEISSLER, A.M.: Receptor mechanism for the metabolic and circulatory action for epinephrine in man. *J. Clin. Invest.*, 44: 1058, 1.965

HARRIS, W.S. and STAHL, W.L.: Interactions of adrenergic compounds with brain membrana constituens. *Biochem. Pharmacol.*, 27: 2015, 1.978

HESKETH, J.E., GLEN, A.J.M. y READING, H.W.: Membrane ATPase activities in

depressive illness. *J. Neurochem.*, 28: 1401. 1.977

HEUN, R., ROSLER, M., ALLAIN, H.: Tiapride in gerontopsychiatry, *Eur. Psychiatry*, 16 (suppl. 1): 3s, 2001

HEXUM, T.D.: The effect of catecholamines on transport (Na, K) adenosine triphosphatase. *Biochem. Pharmacol.*, 26: 1221, 1.977

HEXUM, T.D.: The effect of catecholamines on transport (Na, K) adenosine triphosphatase II. *Biochem. Pharmacol.*, 27: 2109. 1.977

HIMS-HAGEN, J.: Sympathetic regulation of Metabolism. *Pharmacol. Rev.*, 19: 376, 1.967

HIMS-HAGEN, J.: Effects of catecholamines on Metabolism. In "Catecholamines". *Handbook of Experimental Pharmacology*. 33: 363, 1.972

HINKLE, P.C. y McCARTY, RE.: ¿Cómo fabrican ATP las células?. *Investigación y Ciencia* 20: 58, 1.978

HOKIN-NEAVERSON, M., SPIEGEL, D.A. and LEWIS, W.C.: Deficiency of erythrocyte sodium pump activity in bipolar manic-depressive psychosis. *Life Sci.*, 15: 1739. 1.976

HOLGADO PEREZ, E.R: Efecto de Loxapina y Amoxapina sobre el metabolismo oxidativo y la actividad ATPasa de cerebro, hígado y riñón de rata "in vitro". Tesis Doctoral, Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid. 1.983

IGLESIAS, E., ESTEBAN, E., ZABALA, S., GASCON, A.: Tiapride-induced torsade de pointes, *Am. J. Med.*, 109 (6): 509, 2000

JESTE D.V., CALIGURI M.P., PAULSEN J.S., HESTON R.K., LACRO J.O., HARRIS M.J., BAILEY A., FELL R.L., McADAMS L.A. Risk of tardive dyskinesia in older patients: a prospective longitudinal study of 266 outpatients. *Arch Gen Psychiatry*, 52:756, 1995

JIMENEZ. F.J., GARCIA, P.J.: Pharmacological options for the treatment of Tourette's disorder, *Drugs*, 61 (15): 2207, 2001

JOLLEY A.G., HIRSCH S.R. Continuous versus intermittent neuroleptics therapy in schizofhrenia. *Drug Saf*, 8: 331, 1993

KADENBARCH, B. and LUHRS, W.: Effects of 7-Chloro-2 methylamino-5 phenyl-3H-1, 4, benzodiazepin-4 oxide on mitochondria from rat liver and brain. *Nature*, 192: 174, 1.961

KANDEL, E.R., SCHWARTZ, J.H. and JESSELL, T.M.: Principles of Neural science, Elsevier, New York, 1991

KEBABIAN, J.W. and CALNE, D.B.: Multiple receptors for dopamine. *Nature*. 227: 93, 1.979

LADER M. Psychiatric disorders. En Speight TM, HolfordNHG (eds.). *Avery's Drug Treatment*. Adis, 1395, 1997

LAMOTTE, M: *Estadística Biológica* Toray Masson, Barcelona, 1.965

LEHNINGER, A.L.: *Biochemistry*. Worth Publishers, Inc. New York, 1.970

LEHNINGER, A.L., NELSON, D.L. y COK, M.M.: *Principios de Bioquímica*. 2^a Edición, Ediciones Omega S.A. Barcelona, 1.993

LEHNINGER, A.L.: *Bioenergética*. Fondo Educativo Interamericano, S.A. Bogotá, 1.975

LEPOLA, U., KOKKO, S., NUUTILA, J., GORDIN, A.: Tiapride and chlordiazepoxide in acute alcohol withdrawal. A controlled clinical trial. *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.*, 5: 321, 1984

LIPTON S.A., ROSENBERG P.A. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *New Engl J Med*, 330:613, 1994

LITCHFIELD, J.T., WILCOXON, F.A.: A simplified method of evaluating dose-effect experiments, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*,96: 99, 1949

LORENZO-VELAZQUEZ, B. y VELASCO, A.: Mecanismo de acción de los fármacos depresores del sistema nervioso central, en *Libro Homenaje al Prof Vara López*, Ed. Sever Cuesta, Valladolid, 453, 1975

LUCHT, M.J., KUEHN, K.U., SCHROEDER, W., et al.: Influence of dopamine D2 receptor (DRD2) exon 8 genotype on efficacy of tiapride and clinical outcome of alcohol withdrawal, *Pharmacogenetics*, 11 (8): 645, 2001

MacCULLOCH, J. and HARPER, M.: Cerebral circulatory and metabolic changes following amphetamine administration. *Brain Reserch*, 121: 196, 1.977

MARDOMINGO, M.J.: Efecto de Pipotiazina y sus ésteres sobre el consumo de oxígeno y glucosa de cerebro de rata "in vitro". Tesis Doctoral Facultad de Medicina Universidad Complutense, Madrid 1974

MARDOMINGO, M.J., RABADAN, F. and VELASCO, A.: Effect of pipotiazine and its palmitic and undecilenic esters on oxygen and glucosa consumption in brain tissue of rat "in vitro". *Arch de Farmacol. y Toxicol.*, 2: 55, 1.976

MARTIN, W.R (Editor): *Drug Addiction, Hand. Exp. Pharm*, 45, 1.977

MARTINEZ RODRIGUEZ, J.M.: Aportación a la Farmacología del Tiotixeno. Tesis Doctoral, Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid, 1.983

MATSUI, A., MATSUO, H., TAKANAGA, H., et al.: Prediction of catalepsies induced amiodarone, aprindine, and procaine: similarity in conformation of diethylaminoethyl side chain, *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 287 (2): 725, 1998

McILWAIN, H. and BACHELARD, H.S.: *Biochemistry and the central nervous system*. Churchill-Livingstone, London, 1.972

McILWAIN, H. and BUDDLE, A.H.: *Techniques in tissue metabolism: A mechanical Chopper*. *Biochem. J.*, 53: 412, 1.953

MEDZIHRADKSY, F. and NANDHASRI, P.S.: Effect of some analgesic and antidepressants on the (Na-K)-adenosine triphosphatase, from cortices of brain and kidney. *Biochem. Pharmacol.*, 21: 2103. 1.972

MENDELS, J. and FRAZER, A.: Lithium distribution in depressed patients: implications for an alteration in cell membrane function in depression, in *Psychobiology of depression*, Ed. J. Mendels, Raven Press, pp. 101, New York 1.975

MURPHY, D.J., SHAW, G.K., CLARKE, I.: Tiapride and chlormethiazole in alcohol withdrawal: a double blind trial. *Alcohol and Alcoholism*, 16: 227, 1983

NAHORSKI, RR and ROGERS, K J.: The role of catecholamines in the action of amphetamine and L-DOPA on cerebral energy metabolism. *Neuropharmacology*, 14: 283, 1975.

NAKAZAWA, S. and QUASTEL, J.H.: Effects of inorganic salts and of ouabain on some metabolic responses of rat cerebral cortex slices to cationic and electrical stimulations. *Can. J. Biochem.*, 46: 355, 1.968

NAVARRO, J.F., MANZANEQUE, J.M.: Acute and subchronic effects of tiapride on isolation-induced aggression in male mice, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 58 (1): 255, 1997

NAVARRO, J.F., PEDRAZA, C., MARTN, M., et al.: Tiapride-induced catalepsy is potentiated by gamma-hydroxybutyric acid administration, *Progr. Psychoneuropharmacol. Biol. Psychiatry*, 22 (5): 835, 1998

NAYLOR, G.S.: Attempt to demonstrate an in vivo effect of mianserin hydrochloride on erythrocyte Na-K ATPase activity and cyclic AMP concentration. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 5: Suppl. 1, 55, 1.978

O'DOWN, B.F.: Structures of dopamine receptors. *J. Neurochem.*, 60: 804, 1.993

PALATINI, P.: Mechanism of inhibition of sodium and potassium dependent adenosine triphosphatase by tricyclic antipsychotics. *Mol. Pharmacol.*, 13: 216, 1.977

PATAT, A., ALBERINI, H., BONHOMME, D., et al.: Effect of tiapride on electroencephalograms and cognitive functions in the elderly, *Int. Clin.*

Psychopharmacol., 14 (4): 199, 1999

PETERS, D.H., FAULDS, D.: Tiapride: a review of its pharmacology and therapeutic potential in the management of alcohol dependence syndrome, *Drugs*, 47: 1010, 1994

PHILLIS, J.W. and WU, P.H.: Failure of vanadate contamination in ATP to account for noradrenaline stimulation of NA-K ATPase in rat brain homogenates, *J. Pharm. Pharmacol.*, 31: 556, 1979

PHILLIS, J.W. and WU, P.H.: The role of ATPases in neurochemical transmission, *Advances in Pharmacological Research and Practice*. Vol. II. Ed E.S. Vizi, Pergamon Press Oxford, pág 247, 1980

PLOTKINE, M., BOULOU, R, GUENEAU, G., HUIDOBRO, H. y ROSSIGNOL, P.: Acción de diversos agonistas dopaminérgicos sobre el pO₂ cerebral del cortex cerebral. *Arch de Farmacol. y Toxicol.*, 4: 69, 1.978

POST, R.L.: *Regulatory Functions of Biological membranes* (J. Jarnefelt, Editor), Elsevier Amsterdam, pp 163, 1968

de POVER, A. et GODFRAIND, T.: Propiedades Bioquímicas et farmacológicas de la Na-K ATP ase. En *Mises au point de vue pharmacologique 2^a serie*. Masson et Cie, pág 147, París, 1.979,

QUASTEL, J.H.: Metabolic effects of some psychopharmacological agent in brain "in vitro". en *Principies of Psychopharmacology*. Ed. by Clark W.G. and Giudice J., Academic Press, pág 141, New York, 1.970,

QUASTEL, J.H.: Effects of drugs on energy metabolism of the brain and on cerebral transport, en *Handbook of Psychopharmacology Vol. 5*, Ed. L.L. Iversen., S.D. Iversen and S.H. Snyder, Plenum Press, pág.1, New York 1.975,;

RANGARAJ, N. and KALANT, H.: Effects of ethanol withdrawal, stress and amphetamine on rat brain Na-K ATPase. *Biochem. Pharmacol.*, 27: 1139, 1.978

ROBERT, P.H., ALLAIN, H.: Clinical management of agitation in the elderly with tiapride, *Eur. Psychiatry*, 16 (suppl. 1): 42s, 2001

ROBERTSON, M.M., STERN, J.S.: Gilles de la Tourette syndrome: symptomatic treatment based in evidence, *Eur. Child Adolesc. Psychiatry*, 9 (suppl. 1):160, 2000

ROBINSON, G.A., BUTCHER KW., YE, I. and MORGAN, E.W.: The effect of epinephrine on adenosin 3'-5' phosphate levels on isolated perfused rat heart. *Molec. Pharmacol.*, 1: 168, 1.965

ROBINSON, G.A., BUTCHER, RW. and SUTHERLAND, E.W.: Adenylcyclase as an adrenergic receptor. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 139: 703, 1.967

RODRIGUEZ-MAYO, J.C.: Análisis de la interacción dopamina-neurolépticos sobre el

consumo de oxígeno de cerebro de rata "in vitro". Trabajo tutelado de investigación defendido en el Programa de Doctorado de farmacología en Julio de 2001

ROGER, M., GERARD, D., LEGER, J.M.: Value the tiapride for agitation in the elderly. Review of published studies, *Encephale*, 24 (85): 462, 1998

ROMO, E., VELASCO, A. HERREROS, B. y VAZQUEZ DE PRADA, J.: Efecto de un derivado metilhidrazínico sobre la respiración celular. *R esp. Fisiol.*, 25: 61, 1.969

ROMO, E., VELASCO, A. y VAZQUEZ DE PRADA, J.: Efecto del tromexano sobre la respiración celular y consumo de glucosa. *R esp. Fisiol.*, 25: 175, 1.969

ROOS, R.A.C.: Pharmacokinetic of tiapride in patients with tardive dyskinesia and Huntington's disease, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 31: 191, 1986

ROOS, R.A.C.: Tiapride in the treatment of Huntington's corea, *Acta Neurol. Sacnd.*, 65: 45, 1982

ROSSITER, R: *Metabolims of the nervous system*. Edited by J. Richter, Pergamon Press, pp. 355, 1957

ROUFOGALIS, B.D. and BELLEAU, B.: Inhibition of sodium-potassium activated brain adenosine triphosphatase (Na-K ATPase) by adrenergic blocking alkylating agents, *Life Sci.*, 8: 911. 1.969

ROUFOGALLIS, B.D.: Comparative studies on membrana actions of depressant drugs: The role of lipophillity in inhibition of brain sodium and potassium stimulated ATPase. *J. Neurochem.*, 24: 51, 1.975

RUBIO, A.M^a, GARCIA J.L., GONZALEZ, J.L. y VELASCO, A.: Efecto del cardiazol y algunos fármacos antiepilépticos sobre la actividad ATPasa y consumo de oxígeno asociado en cerebro de rata "in vitro". *Revista de Toxicología* 4: 45, 1.987

RUTLEDGE, Ch.D.: Effect of Metabolic inhibitors and Ouabain on Amphetamin and potassium-induces release of Biogenic aminas from isolated brain tissue. *Biochem. Pharmacol.*, 27: 511, 1.978

RYBAKOWSKI, J., POTOK, E. and STRZYZEWSKI, W.: Erythrocyte membrane adenosine triphosphatase activities in patients with endogenous depression and healthy subjects, *Eur. J. Clin. Invest.*, 11: 6, 1.981

SAIZ, I.: Efecto del clorhidrato de pentazocina sobre el consumo de oxígeno y glucosa de cerebro de rata "in vitro". Tesina de grado de Licenciado, Facultad de Farmacia Universidad Complutense, Madrid, 1.975

SAIZ, I.: Efecto del clorhidrato de Dextropropoxifeno sobre el consumo de oxígeno, glucosa y fosforilación oxidativa de cerebro e hígado de rata "in vitro". Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense, Madrid 1.976

SAIZ, J., SAIZ, I., SANCHEZ, A., GONZALEZ, J.L. and VELASCO, A.: Effect of clozapin on the oxygen, glucosa uptake and oxidative phosphorylation of rat brain "in vitro". *il Farmaco Ed Sci.*, 35: 691. 1.980

SAIZ, J., SANCHEZ, A., GONZALEZ, J.L. y VELASCO, A.: Efecto de pimozide sobre el consumo de oxígeno y glucosa de cerebro de rata "in vitro". *Arch de Farmacol. y Toxicol.*, 5: 133. 1.979

SANCHEZ, A.: Efecto de agonistas alfa y beta adrenérgicos sobre el metabolismo Oxidativo cerebral de rata "in vitro". *Arch. Fac. Med. Madrid*, 36: 32. 1.979

SANCHEZ, A., SAIZ, J., GONZALEZ, J.L. y VELASCO A.: Efecto de algunos fármacos simpaticomiméticos de acción directa sobre metabolismo oxidativo de cerebro de rata "in vitro". *Arch de Farmacol. y Toxicol.*, 5: 287, 1.979.

SANCHEZ, A., SAIZ, J., GONZALEZ, J.L. y VELASCO, A.: Efecto de agonistas alfa y beta adrenérgicos sobre el consumo de oxígeno de cerebro de rata "in vitro". *Arch. de Farmacol. y Toxicol.*, 7: 253. 1.981.

SANCHEZ, M^a. J.: Efecto de anfetamina sobre el Metabolismo oxidativo de cerebro e hígado de rata "in vitro". Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia, Madrid, 1.981

SAWAS, A.H. y GILBERT, J.C.: The effects of dopamine agonists and antagonists on Na-K ATPase and Mg ATPase activities of synaptosomes. *Biochem. Pharmacol.*, 31: 1531, 1.982

SCANBERG, S.M., SCHILKRAUT, LI. and KOPIN, O.J.: The effects of psychoactive drugs on norepinephrine metabolism in brain. *Biochem. Pharmacol.*, 16: 393, 1967

SCANBERG, S.M., SCHILKRAUT, LL, and KOPIN, LJ.: The effects of psychoactive drugs on norepinephrine H³ metabolism in brain. *Biochem. Pharmacol.*, 16, 393, 1967

SCATTON, B., ZIVKOVIC, B. and DEDEK, J.: Antidopaminergic properties of yohimbine. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 215: 494, 1.980

SCATTON, B., COHEN, C., PERRAULT, G., et al.: The preclinical pharmacological profile of tiapride, *Eur. Psychiatry*, 16 (suppl. 1): 29s, 2001

SCHWART, D.: *Statistique Biologique*. Flammarion, Paris, 1.961

SCHWARTZ, A., LINDENMAYER, G.E. and ALLEN, J.C.: The sodium-potassium adenosine triphosphatase; pharmacological, physiological and biochemical aspects. *Pharmacol. Rev.*, 27: 1, 1.975

SCHWARTZ. J.C.: Histamine as a neurotransmitter in brain, *Life Sci.*, 17: 503, 1975

SCHWARTZ, J.C., BARBIN, G., et al.: Metabolism and functions of Histamine in the Brain, *Current developments in Psychopharmacology*, 5: 173, 1979

SCHWARTZ, J.C., ARRANG, J.M., GARBARG, M., et al.: Histaminergic transmission in the mammalian Brain. *Physiol. Rev.*, 71: 1, 1991

SCHWARTZ, J.C., ARRANG, J.M., GARBARG, M., TRAIFFORT, E.: Histamine, in "Psychopharmacology. The 4th Generation of Progress", Bloom F.E. and Kupfer, D.J. (Editors), 397, Raven Press, New York, 1995

SEABROOK, G. et al: Dopamine receptors. *Br. J. Pharmacol.*, III: 391, 1.994

SEEMAN, P.: The membrane action of anesthetic and tranquilizers. *Pharmacol. Rev.*, 24, 583, 1.972

SEEMAN, P., SATIMAR, A., LEE, T. and CHAUWONG, M.: The membrane actions of tranquilizers in tardive dyskinesia. En Phenothiazines and structurally related drugs. Edited by J.S. Forrest C.S. Carrand, W: Usdin Raven Press, pág.1, New York, 1.974

SEEMAN, P. and LEE, T.: Antipsychotic drugs, direct correlation between clinical potency and presynaptic action on dopamine neurons. *Science*, 188: 1217, 1975

SHENKIN, H.A.: Effects of various drugs upon cerebral circulation and metabolism in man. *J. Appl. Physiol.* 124: 465, 1.951

SHAW, G.K., MAJUNDAR, S.K., WALLER, S., MacGARVIE, J., DUNN, G.: Tiapride in long term management of alcoholics of anxious or depressive temperament. *Br. J. Psychiatry*, 150: 164, 1987

SHAW, G.K.: Tiapride in the prevention of relapse in recently detoxified alcoholics, *Br. J. Psychiatry*, 165: 515, 1994

SHIH, J.C., CHEN, S., KEVIN, J., GALLAGER, T.K.: Molecular Biology of Serotonin Receptors: A Basis for Understanding and Addressing Brain Function, in "Psychopharmacology. The 4th Generation of Progress", Bloom, F.E. and Kupfer, D.J. (Editors): 407, Raven Press, New York, 1995

SIBLEY, D.R, MONSANA, F.J.: Molecular biology of dopamine receptors. *Trends. Pharmacol. Sci* 13: 61, 1.992

SKOLNIK, K., TAKACS, L. and SZENDE, E.: "In vitro" oxygen consumption of slices from kidney, brain cortex and liver in hypoxia. *Nature (Lond.)*, 209: 2020, 1.966

SKOU, J.C.: Enzymatic basis for active transport of Na and K across cell membrana, *Physiol. Rev.* 45: 596. 1.965

SLATER, E.C.: Uncouplers and inhibitors of oxidative phosphorylation en Metabolic inhibitors. Ed. RM. Hochster y J.H. Quastel, Vol II, Academic Press, pág 503, New York 1.963

SNEDECOR, G.W.: Métodos Estadísticos. C.E.C.S.A. Méjico D.F., 1.964

SPIRES, D.D. and WEINER, M.W.: Use of an uncoupling agent to distinguish between direct stimulation of metabolism and direct stimulation of transport: investigation of antidiuretic hormone and aldosterone. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 214: 507, 1.980

STARKE, K. And ALTMAN, KP.: Inhibition of adrenergic neurotransmission by clonidine: an action on prejunctional alpha receptors. *Neuropharmacology*, 12: 339, 1.973

STRANGE, P.: New insights into dopamine receptors in the central nervous system. *Neurochem. Int.*, 22: 223, 1.993

SUTHERLAND, E.W. and RALL, T.W.: The relation of adenosine 3'-5' phosphate and phosphorylase to the actions of catecholamines and other hormones. *Pharmacol. Rev.*, 12: 265, 1.960

SWIFT, R.M.: Medications and alcohol craving, *Alcohol Res. Health*, 23 (3): 207, 1999

TAKEMORI, A.E.: Cellular adaptation to morphine in rats. *Science*, 133: 1018, 1.961

TAKEMORI, A.E.: Studies on the cellular adaptation to morphine and its reversal by nalorphine in central cortical slices of rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 135: 89, 1.962

TALLARIDA, R.J. and JACOB, L.Y.: *The dose-response relation in Pharmacology*, Springer Verlag, New York, Heidelberg, 1.979

TALLARIDA, R.J. and MURRAY, R.B.: *Manual of Pharmacological calculations with Computer programs*. Springer Verlag, New York, Heidelberg, Berlin, 1.981

TALLARIDA, R.J., RAFIA, R.B. and MCGONIGLE, P.: *Principles in General Pharmacology*, Springer Verlag, New York, Heidelberg, Berlin, 1.988

TAMARIT, J.: Acción del K sobre la respiración de cortes de cerebro. *Actas de la V Reunión Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas*, pág 303, 1959

TAMARIT, J. Y SANZ, G.: *El método estadístico en Biología*. Espasa Calpe, S.A., Madrid, 1.942

TAMARIT, J. Y MENDEZ, J.: Acción de la imipramina sobre la respiración de cortes de cerebro. *Anales del Instituto de Farmacología Española*, II: 215. 1.963

TOBIN, T., AKERA, T., BASKIN, S.J., BRODY, T.M.: Calcium ion and sodium and potassium dependent adenosine triphosphatase: its mechanism of inhibition and identification of the E₁P intermediate. *Mol. Pharmacol.*, 9: 336, 1.973

TOBIN, T. and AKERA, T.: Interaction of ouabain and cassaine with Na-K ATPase and its relationships to inotropic actions, in *Drug action at the Molecular level*. Edited by Roberts, G.C.L. p. 213, MacMillan Press Ltd London, 1.977

TOREN, P., LAOR, N., WEIZMAN, A.: Use of atypical neuroleptics in the child and adolescent Psychiatry, J. Clin. Psychiatry, 59 (12): 644, 1998

TORRALBA, J.R: Efecto de Carbamacepina, Sultiamo y Cocaína sobre la actividad oxidativa de cerebro de rata "in vitro". Tesis Doctoral, Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid, 1.984

TSOLAKI, M.: Evaluation of tiapride in agited elderly outpatients: a open study, Human Psychopharmacol.,16 (5): 417, 2001

TRENDS IN PHARMACOLOGICAL SCIENCES: 1.996 Receptor and ion channel nomenclatura supplement, Elsevier-Science L. T.D. Oxford, 1.996

TYLOR, P.M.: Oxygen consumption in new born rat. J. Physiol. (Lond.), 154: 153, 1.972

UMBREIT, W.W., BURRIS, RM. and STAUFFER, J.F.: Manometric and Biochemical Techniques. Burgess Publishing Co. 5th Edition, Minneapolis, 1.972

USDIN, E. and BUNNEY, Jr. W.W.: Pre and Postsynaptic Receptors. Marcel Dekker, Inc. N.Y., 1.975

VELASCO, A.: Recientes avances en Psicofarmacología, Clínica (Revista de la Academia de Alumnos Internos). Epoca V (2): pp. 55, 1.990

VELASCO, A.: Mecanismo de acción de los fármacos psicotrópicos. Discurso de ingreso leído en la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid el 17 de Noviembre de 1.995

VELASCO, A.: Mecanismo de acción de los fármacos antiepilépticos, Anales de la Real Academia Nacional de Medicina, 113: 743, 1.996

VELASCO, A. y ALVAREZ, F.J.: Compendio de Psiconeurofarmacología. Ediciones Diaz de Santos. Madrid, 1.988

VELASCO, A., AREVALO, J.M. y ARMIJO, M.: Effects of Meclocualone on the oxygen and glucosa uptake by rat brain tissue "in vitro". Experientia, 28: 934, 1.972

VELASCO, A., AREVALO, J.M., SAN MARTIN, J. y ARMIJO, M.: Efecto de algunos psicofármacos sobre el consumo de oxígeno y glucosa de cerebro de rata "in vitro". R esp. Fisiol., 29: 47, 1.973

VELASCO, A. y DUEÑAS, A.: Efecto de algunos fármacos antidepresivos sobre el consumo de oxígeno y actividad ATP asa de cerebro de rata "in vitro". Anales de la Real Academia Nacional de Medicina 97: 503, 1.982

VELASCO,A., DUEÑAS, A. and MOLINA, A.: Effects of Dimetylsulfoxide on the Oxidative Metabolism of certain tissues of rat "in vitro" Meth. and Find. Exp. Clin. Pharmacol., 13 (7): 471, 1.991

VELASCO, A., DUEÑAS, A. and GARCIA, J. L.: Effects of several Neuroleptics, Antidepressants and Monoamine Uptake Blockers on ATPase Activity and Related Oxygen Uptake in Rat Brain "in vitro" Meth. and Find. Exp. Clin. Pharmacol., 11(12): 737, 1.989

VELASCO, A., DUEÑAS, A., TORRALBA, J.R y GARCIA, J.L.: Efecto de Carbamacepina, sultiamo y etanol sobre el metabolismo oxidativo de cerebro de rata "in vitro" Rev. Esp. de Epilepsia, 3: 192, 1.988

VELASCO, A., GARCIA, J.L.:Efecto de algunos fármacos psicotrópicos sobre la actividad ATPasa y el consumo de oxígeno asociado en cerebro de rata "in vitro" Anales de la Real Academia Nacional de Medicina, 103: 15, 1986

VELASCO, A., GARCIA, J.L. y MULAS, M. L.: Efecto agudo y crónico de etanol sobre la actividad ATPasa y consumo de oxígeno asociado en cerebro de rata adulta y neonata, Rev. Esp. Drogodep., 14: 105, 1.989

VELASCO, A. y GONZALEZ, J.L.: Fármacos psicotrópicos y metabolismo oxidativo cerebral, Anales de la Real Academia Nacional de Medicina 94: 241, 1.977

VELASCO,A.y GONZALEZ,J.L.: Efecto de la composición del medio de incubación sobre el metabolismo celular de rata "in vitro". Anales de la Real Academia Nacionalde Medicina, 95: 641. 1.978

VELASCO,A.y GONZALEZ,J.L.: Efecto de algunos fármacos psicotrópicos sobre la actividad oxidativa cerebral. Anales de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid, 18: 207, 1.980

VELASCO,A.y GONZALEZ,J.L.: Mecanismo de acción de los neurolépticos tricíclicos, en Introducción a la Psicofarmacología, Ed. Sandoz S.A.E., pág 35, Barcelona 1.981.

VELASCO,A.y GONZALEZ,J.L.: Efecto del clorhidrato de anfetamina sobre el metabolismo oxidativo de cerebro de rata "in vitro". Número extraordinario de Anales de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid con motivo del año conmemorativo del 250 aniversario de su fundación, pp. 135, 1.981

VELASCO, A.y GONZALEZ,J.L.: Compendio de Psicofarmacología en Psiquiatría. Castilla, C. (Director), Tomo II, 2^a Edición. Pags. 435, Alianza Editorial, Madrid, 1.992

VELASCO,A.,GONZALEZ-CALVO,V.,ALVAREZ,F.J., DUEÑAS, A.,GARCIA, J.L.: Effects of trazodone on oxidative metabolism of rat brain "in vitro". R esp. Fisiol., 41: 201, 1.985

VELASCO,A., HOLGADO,E.R, GARCIA,J.L. and DUEÑAS,A.: Effect of Loxapine and amoxapine on oxidative metabolism of rat brain "in vitro". Arch de Farmacol. y Toxicol., 11: 117, 1.985

VELASCO,A., PEREZ,R, GONZALEZ,J.L., SAIZ,I. and MORENO,A.: Effect of

dibenzepine hydrochloride on the oxygen, glucosa uptake and oxidative phosphorylation of rat brain tissue "in vitro", *il Farmaco Ed. Sci.*, 32: 672, 1.977

VELASCO, A., SAIZ, J., GONZALEZ, J.L., JAUREGUI, F. y VELARDE, R: Efecto de algunos anestésicos y analgésicos narcóticos sobre el consumo de oxígeno, glucosa y fosforilación oxidativa de cerebro de rata "in vitro". *Arch Fac. Med. Madrid*, 31: 227, 1.977

VELASCO, A., VELARDE, R y JAUREGUI, F. de: Efecto de Althesin sobre el consumo de oxígeno y glucosa de cerebro de rata "in vitro". *Rev. Esp. Neurol.*, 7 (10): 536, 1.992

VELASCO, A. y TORRALBA, J.R: Efecto de los clorhidrato de morfina y de cocaína sobre el metabolismo oxidativo y la actividad ATPasa de cerebro de rata "in vitro". *Actas VIII Jornadas Toxicológicas Españolas*, pp. 401, 1.991

VELASCO, A., DUEÑAS, A. y HOLGADO, E.R.: Efecto de loxapina y amoxapina sobre el metabolismo oxidativo y actividad ATPasa de riñón de rata "in vitro". *Rev. Toxicol.*, 8: 89, 1.991

VELASCO, A., DUEÑAS, A., ARRANZ, M^a.T. y PEREZ-ACCINO, C.M^a.: Efecto de histamina, serotonina y antagonistas sobre el consumo de oxígeno de cerebro de rata "in vitro". *Rev. Esp. Neurol.*, 7: 225, 1.992

WASHINGTON, F.D. y MURPHY, J.V.: Ca uptake by rat kidney mitochondria and its dependence on respiration and phosphorylation. *J. Biol. Chem.*, 237: 2670. 1.962

WEATHERALL, M.: Drugs and excitable cell membranas. En *Recent Advances in Pharmacology*. Robson, J.M. and Stacey, RS. (Eds.), 4th Edition, Churchill, pág.1, London, 1.968

WERSTIUK, E.S., RATHBONE, M.P., GROF, P., CLARK, N. and DAIGLE, L.: Membrane transport abnormalities in affective disorders, en *Recent Advances in Canadian Neuropsychopharmacology*, Ed. P. Grof y B. Saxena; S. Karger, Basel, pág.,182, 1.980

WHITTAM, R: The asymmetrical stimulation of a membrana ATPase in relation to active cation transport. *Biochem. J.*, 84: 110, 1.962

WHITTAM, R and BLOND, D.H.: Respiratory Control by an adenosine triphosphatase involved in active transport in brain cortex. *Biochem. J.*, 92: 174, 1.964

WILDBRANDT, W.: Active transport. In *Physiological and Pharmacological Biochemistry*, vol. 12, Butterworth and Col. Ltd. , pág 1, London, 1.975

WU, P.H. and PHILLIS, J.W.: Methergoline antagonism of 5 hydroxytryptamine-induced activation of rat cerebral cortical Na- K ATPase. *J. Pharm. Pharmacol.*, 31: 780, 1.979

WU, P.H. and PHILLIS, J.W.: Effect of noradrenaline on Na-K transport in rat cerebral cortical slices. *Europ. J. Pharmacol.*, 69: 529, 1.981