

Caracterización del receptor benzodiazepínico periférico en tejidos de rata y humanos

Antoni Camins Espuny

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE BARCELONA

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA Y QUIMICA TERAPEUTICA

UNIDAD DE FARMACOLOGIA Y FARMACOGNOSIA

**"CARACTERIZACION DEL RECEPTOR BENZODIACEPINICO
PERIFERICO EN TEJIDOS DE RATA Y HUMANOS"**

Tesis que presenta Don Antoni Camins Espuny
dirigida por el Dr. Jorge Camarasa García y la
Dra. Elena Escubedo Rafa, para la obtención del
Grado de Doctor en Farmacia.

Barcelona Junio de 1992.

III.- DISCUSSION

DISCUSION

El método utilizado para llevar a cabo los ensayos de unión nos ha permitido obtener una unión específica superior al 90% en tejido de rata, tanto para el [^3H]-Ro 5-4864 y para el [^3H]-PK 11195. En cambio, en tejido humano, la unión específica del [^3H]-PK 11195 se ha mantenido superior al 90% mientras que la unión específica del [^3H]-Ro 5-4864 ha sido del 70%. Este descenso no se debe a un problema del método utilizado sino a que este radioligando deja de ser útil para el estudio de la población de receptores benzodiazepínicos periféricos cuando nos apartamos de los roedores tal como se discutirá más adelante.

Los estudios de saturación han demostrado la presencia de una elevada proporción de receptores benzodiazepínicos periféricos para el [^3H]-Ro 5-4864 en la fracción mitocondrial de conducto deferente, próstata y vesícula seminal de rata presentando, así mismo una elevada afinidad dentro de un rango nanomolar. El [^3H]-PK 11195 presenta una mayor afinidad que el [^3H]-Ro 5-4864 en tejido de próstata de rata, aunque es del mismo orden nanomolar.

La diferencia más patente entre ambos radioligandos se encuentra al realizar estudios en la fracción mitocondrial de adenoma de próstata humana, donde el [^3H]-PK 11195 presenta una afinidad de orden nanomolar mientras que el [^3H]-Ro 5-4864 presenta una afinidad diez veces menor. Cabe destacar, a pesar de la distinta afinidad que presentan los dos radioligandos, que ambos se unen a la misma población de receptores. Además en el estudio que hemos realizado, la población de receptores benzodiazepínicos periféricos en tejido mitocondrial humano es muy superior al encontrado en tejido mitocondrial de rata.

Debido a la menor afinidad que presenta el [^3H]-Ro 5-4864 en tejido mitocondrial humano nuestros estudios demuestran, al igual que los realizados por Gavish y col. 1987 (que realizó un estudio comparativo entre ambos radioligandos) que el [^3H]-PK 11195 es el mejor radioligando para hacer

estudios en especies distintas a los roedores, incluido el hombre.

Los coeficientes de Hill obtenidos en todos los casos, demuestran la existencia de una sola población de receptores para cada radioligando, tanto en tejido de rata como en tejido humano y la ausencia de cooperatividad. Estos resultados están en contradicción con la hipótesis propuesta por Awad y Gavish (1987) sobre la presencia de dos lugares de unión para el [^3H]-Ro 5-4864 en algunos tejidos de rata.

Los ensayos de unión realizados variando la temperatura, demuestran que la unión específica del [^3H]-Ro 5-4864 varía en función de la misma, disminuyendo dicha unión de manera proporcional al aumentar la temperatura. En cambio, la unión específica del [^3H]-PK 11195 no se modifica de manera significativa con el incremento de la temperatura. Estos resultados coinciden con los estudios llevados a cabo por Le Fur y col. (1983) en los cuales se proponen que el [^3H]-PK 11195 sería un antagonista del receptor benzodiazepínico periférico debido a que su unión a este receptor no está influenciada por cambios en la temperatura de ensayo pero va acompañada de una variación de la entropía. La unión del [^3H]-Ro 5-4864 se ve afectada por las variaciones de temperatura y, por lo tanto, de una variación de la entalpía.

Se ha demostrado una relación entre la unión específica del [^3H]-PK 11195 y del [^3H]-Ro 5-4864 con el incremento de la concentración proteica en tejido de rata, lo cual demuestra que el receptor benzodiazepínico periférico, como era de esperar, tiene una naturaleza proteica.

Respecto a los ensayos cinéticos realizados en tejido de rata tanto para el [^3H]-Ro 5-4864 y el [^3H]-PK 11195, los resultados obtenidos en los estudios de asociación muestran en todos los casos una representación de tipo monoexponencial. Ello confirma, la existencia de una sola clase de lugares de unión para los dos radioligandos.

Estos estudios nos han permitido poner de manifiesto que la unión de

ambos radioligandos con el receptor en tejido mitocondrial de rata se alcanza a los 40 min. y se mantiene estable como mínimo durante 2h.

La representación logarítmica obtenida a partir de los valores de la cinética de disociación son perfectamente lineales para los dos radioligandos. Estos resultados concuerdan con una cinética de primer orden y por lo tanto en la disociación de un solo tipo del complejo radioligando-receptor, lo cual nos vuelve a evidenciar la presencia de una única clase de lugares de unión para ambos radioligandos. El hecho de que la representación logarítmica no presente ninguna curvatura, descarta no tan sólo la existencia de distintos lugares de unión sino fenómenos de cooperatividad ya sea positiva o negativa.

Respecto al [^3H]-Ro 5-4864, su cinética de disociación se ha llevado a cabo con una $t_{1/2}$ de 23.1 min. en conducto deferente, 27.73 en próstata y de 33 min. en vesícula seminal de rata.

El [^3H]-PK 11195 presenta una $t_{1/2}$ de disociación de 135 min. en la preparación mitocondrial de próstata de rata. Ello indica que se disocia mucho más lentamente el complejo formado por el receptor-PK 11195 que el complejo formado por el receptor-Ro 5-4864. Así pues, el [^3H]-PK 11195 presenta una unión de tipo pseudoirreversible ya que para disociarlo completamente de su receptor son necesarias 7 horas.

De forma análoga el [^3H]-Ro 5-4864 tarda 45 min. en alcanzar el equilibrio termodinámico en fracción mitocondrial humana. En cambio, con el [^3H]-PK 11195 el equilibrio se alcanza a las dos horas. Al igual que en los estudios realizados en tejido de rata la cinética de asociación es de tipo monoexponencial.

Los estudios cinéticos de disociación en próstata humana, al igual que los realizados en tejido de rata muestran una marcada diferencia respecto a la $t_{1/2}$, ya que mientras la vida media de disociación del [^3H]-Ro 5-4864 es de 28 min. la vida media del [^3H]-PK 11195 es de 108 min. .

La K_D obtenida en los estudios cinéticos en preparación mitocondrial humana, corrobora junto a la obtenida por los estudios de saturación, que el [^3H]-PK 11195 presenta una elevada afinidad por el receptor benzodiazepínico periférico humano.

Una vez demostrada la presencia de receptores periféricos benzodiazepínicos periféricos se ha procedido a confirmar que estos lugares de unión son distintos al receptor benzodiazepínico central. Para ello se han realizado estudios de competición con [^3H]-Ro 5-4864 y [^3H]-PK 11195 utilizando benzodiazepinas que presentan una elevada afinidad por el receptor benzodiazepínico central, como es el caso del clonazepam, y benzodiazepinas con elevada afinidad por el receptor benzodiazepínico periférico. El diazepam, fármaco utilizado ampliamente en clínica por sus acciones ansiolíticas, anticonvulsivantes y relajantes musculares, desplaza la unión del [^3H]-Ro 5-4864 con una afinidad mucho menor. El clonazepam prácticamente no desplaza la unión del [^3H]-Ro 5-4864 del receptor benzodiazepínico periférico. El orden de afinidad obtenido es pues el siguiente:

PK 11195 > Ro 5-4864 > diazepam >> clonazepam

Queda demostrado pues, que el receptor que estamos estudiando en tejido de rata, presenta un orden de afinidad que sería inverso al que presentaría el receptor benzodiazepínico central con lo cual, el estudio de competición nos confirma que el receptor que estamos estudiando es el receptor benzodiazepínico periférico. De forma análoga, los estudios de competición realizados en tejido de próstata de rata con [^3H]-PK 11195 confirman los resultados obtenidos con [^3H]-Ro 5-4864 y el orden de afinidad que presentan los compuestos benzodiazepínicos es el mismo.

Al realizar estudios de competición en tejido prostático humano utilizando [^3H]-Ro 5-4864 como radioligando con Ro 5-4864, se corrobora la baja afinidad que presenta esta benzodiazepina para este receptor en tejido humano, ya que

la K_i obtenida (254.00 nM) no fue significativamente distinta de la K_D calculada a partir de los estudios de saturación.

Los desplazamientos realizados en este caso han demostrado que el diazepam no es capaz de unirse con alta afinidad al receptor, como lo demuestra el valor de la CI_{50} , que ha sido de 3049.73 nM.

En la misma preparación, el Ro 5-4864 desplaza de modo competitivo el [3H]-PK 11195 unido, por lo que se confirma que el [3H]-PK 11195 y [3H]-Ro 5-4864 marcan una misma población de receptores aunque con distinta afinidad. El diazepam también presenta una afinidad de orden micromolar y el clonazepam prácticamente no desplaza al [3H]-PK 11195 de sus lugares de unión. Se establece pues un orden de afinidad en tejido humano que viene dado por:

PK 11195 > PK 14105 >> Ro 5-4864 > Diazepam >> Clonazepam

Se ha postulado que la protoporfirina IX podría ser el ligando endógeno del receptor benzodiazepínico periférico (Verma y col., 1987). En nuestros estudios realizados en próstata de rata y vesícula seminal, este compuesto sólo desplaza a concentraciones de orden micromolar la unión del [3H]-Ro 5-4864.

La unión del [3H]-PK 11195 no se ve prácticamente afectada por la protoporfirina IX ni en tejidos de rata ni en humanos. Este resultado concuerda con los obtenidos en glioblastoma humano. Con lo cual ponemos en entredicho, al menos por los resultados obtenidos en nuestros estudios, el papel de la protoporfirina IX como ligando endógeno del receptor benzodiazepínico periférico.

Verma y Snyder (1989) proponen, que el lugar de unión de las benzodiazepinas a nivel periférico podría ser el canal aniónico voltaje-dependiente situado

a nivel mitocondrial. En nuestros estudios realizados en conducto deferente de rata la N,N'-diclohexilcarbodiimida (DCCC), compuesto que se une específicamente a este canal, no desplaza la unión del [³H]-Ro 5-4864 a sus lugares de unión. Con lo cual se demuestra que el lugar de unión de las benzodiazepinas a nivel periférico no está relacionado con el canal aniónico voltaje-dependiente.

Cantor y col. (1984) pusieron de manifiesto una interacción competitiva entre las dihidropiridinas (a concentraciones micromolares) y los lugares de unión "no neuronales" de las benzodiazepinas. Doble y col. (1985) sugiere que los receptores benzodiazepínicos periféricos y los receptores dihidropiridínicos son moléculas separadas que estarían solapadas en el mismo compartimiento membranal a nivel de corazón de rata. En nuestros estudios realizados en tejido de rata con [³H]-PK 11195, el nitrendipino interactúa a concentraciones de orden micromolar con el receptor benzodiazepínico periférico. De forma análoga, los estudios realizados en adenoma de próstata humana con dicha isoquinoleína, confirman la relación existente a nivel mitocondrial entre las dihidropiridinas y las benzodiazepinas periféricas. Nuestros resultados confirman, la relación existente entre el receptor benzodiazepínico periférico y el receptor a dihidropiridinas descrito por Zerning y col. (1988) de baja afinidad y alta capacidad, a nivel mitocondrial.

La implicación del receptor benzodiazepínico periférico en algún proceso metabólico parece cobrar especial interés en los últimos años, sobre todo a nivel de la esteroidogénesis. Por ello, se ha llevado a cabo estudios de desplazamiento con ciproterona y flutamida, antiandrógenos utilizados en patologías prostáticas. En rata, a pesar de que el perfil de la curva de desplazamiento con ciproterona permite suponer un comportamiento de tipo competitivo para este fármaco, no se ha calculado el valor de la pendiente dado que no se ha conseguido un 100% de desplazamiento debido a su baja hidrosolubilidad. Aunque la flutamida presenta una baja afinidad por el receptor benzodiazepínico periférico de rata (CI₅₀ de orden micromolar), el perfil del desplazamiento y el valor de la pendiente son indicativos de un proceso de tipo competitivo (Camins y col. 1992). En la mitocondria, el colesterol sufre la rotura de la cadena lateral y se

transforma en pregnenolona que a su vez es el precursor de la testosterona. Esta reacción, limitante y dependiente del AMP_c, parece ser potenciada por las benzodiazepinas periféricas (Krueger, 1990). Tanto la testosterona como su metabolito dihidrotestosterona (DHT) interactúan con el receptor de la testosterona: La reducción de la testosterona se lleva a cabo en la próstata, vesícula seminal y la piel.

Tanto la ciproterona como la flutamida compiten por la testosterona y la DHT a nivel de los lugares de unión específicos de la hormona. Así pues, los dos fármacos interactúan con un receptor que reconoce el núcleo esteroídico y también el receptor benzodiazepínico periférico, al que también se le pretende tal función. Es pues, este resultado una forma más de corroborar el papel del receptor benzodiazepínico periférico en el control de la síntesis de derivados esteroídicos en rata. Sin embargo ello no tiene lugar en humanos.

Estudios realizados en conducto deferente (Escubedo y col. 1992), próstata y vesícula seminal de rata (Camins y col, 1992) demuestran una interacción entre el carrier ADP/ATP y el receptor benzodiazepínico periférico. Carboxiatractilósido y atractilósido, dos compuestos que se unen específicamente a dicho carrier desplazan con alta afinidad (CI₅₀ dentro de un orden nanomolar) la unión del [³H]-Ro 5-4864 aunque de manera no competitiva. En cambio, el atractilósido sólo desplaza a concentraciones de orden micromolar la unión del [³H]-PK 11195 en próstata de rata. Ello permite suponer que la ocupación del carrier ADP/ATP modula la unión de las benzodiazepinas al receptor benzodiazepínico periférico o en su defecto, que el carboxiatractilósido y atractilósido son ligandos poco específicos de dicho carrier, y que reconocen también el receptor benzodiazepínico periférico, pero selectivamente el lugar del Ro 5-4864. El hecho de que los dos ligandos del receptor benzodiazepínico periférico se vean afectados con distinta afinidad por parte del atractilósido y del α,β -metilen-ATP (análogo estable del ADP) sugiere que los dos radioligandos se unen posiblemente a lugares distintos del receptor tal como proponen Skowronski y col. (1987).

También se realizó un estudio a nivel de tejido humano para comprobar

si el receptor benzodiazepínico periférico está modulado por el carrier ADP/ATP. Ni atractilósido, ni el α,β -metilen-ATP desplazan la unión del [^3H]-PK 11195. Este resultado confirma que el receptor benzodiazepínico periférico en la especie humana presenta una configuración distinta que en roedores. El receptor benzodiazepínico periférico humano prefiere estructuras isoquinoleínicas (PK 11195), y pierde el posible solapamiento con el carrier ADP/ATP que parece existir en rata.

En trabajos previos realizados en órgano aislado, nuestro equipo de investigación, había demostrado una interacción entre las benzodiazepinas periféricas y el sistema de transporte de la adenosina en conducto deferente de rata (Escubedo y col. 1991). Esta interacción se lleva a cabo a concentraciones micromolares. Por ello para comprobar si existe una relación entre el receptor benzodiazepínico periférico y el sistema de transporte de la adenosina a nivel molecular hemos realizado una serie de desplazamientos con sustancias específicas de este sistema de transporte. En conducto deferente de rata el 2-hidroxi-5-nitrobencil-6-tioguanosina (HNBTG) desplaza la unión específica del [^3H]-Ro 5-4864 a unas concentraciones dentro del rango nanomolar ($\text{CI}_{50} = 185$ nM). Así mismo, en próstata de rata, la nitrobenciltioinosina (un marcador específico del carrier de la adenosina) desplaza a concentraciones micromolares la unión del [^3H]-PK 11195. En adenoma de próstata humana, también encontramos una interacción a nivel micromolar entre el [^3H]-PK 11195 y el marcador del carrier de la adenosina. Nos encontramos al igual que con el carrier ADP/ATP que o bien existe un sistema de uptake de adenosina en mitocondria de rata, o bien los ligandos de este sistema de uptake reconocen el receptor benzodiazepínico periférico, de manera más específica el lugar del Ro 5-4864.

Por otra parte Benavides y col. (1988) han puesto de manifiesto la utilidad de los ligandos específicos del receptor benzodiazepínico periférico para la visualización de la topografía del daño cerebral. Este uso se extiende a nivel de enfermedades como la de Alzheimer, Parkinson y meningiomas. En todos los casos se observa un incremento de la densidad de receptores benzodiazepínicos

periféricos relacionado con la extensión de la lesión cerebral. Black y col. (1989) sugiere que estos receptores pueden ser útiles como marcadores tumorales del sistema nervioso central en el hombre.

En 1990, Katz y col. encontraron un incremento en la densidad de receptores benzodiazepínicos periféricos en las membranas de pacientes con adenocarcinoma de colon y una disminución en la densidad de dichos receptores en células de carcinoma renales humano.

Los resultados que hemos obtenido comparando tejido prostático de individuos sanos y de pacientes que presentaban una hiperplasia nodular prostática utilizando [³H]-PK 11195, muestran que no existe una diferencia significativa en la densidad de receptores en ambos tejidos (Escubedo y col. 1992). La B_{max} obtenida con próstata normal ha sido de 12.155 fmols/mg de proteína frente a una B_{max} de 13.924 obtenida en pacientes con hiperplasia nodular. Así mismo, no se observa una variación significativa en la afinidad del [³H]-PK 11195 en ambos casos ya que las K_D obtenidas han sido de 14.6 en tejido sano y de 12 en tejido hiperplásico. Estos resultados ponen de manifiesto la necesidad de reconsiderar el papel del receptor benzodiazepínico como marcador de enfermedades hiperplásicas, centrándose en un papel como marcadores gliales a nivel del sistema nervioso central.

El papel que desempeña el receptor benzodiazepínico mitocondrial en el transporte de colesterol en su paso de la membrana externa a la membrana interna mitocondrial (Papadopoulos y col 1990) y tras nuestros estudios de competición realizados en tejido de rata y humano con compuestos que actúan a nivel del transporte de la adenosina e inhibidores del carrier ADP/ATP, nos pareció correcto formular una posible hipótesis sobre el papel de este receptor, no sólo en el transporte de nucleósidos.

Se ha llevado a cabo un estudio en tejido de rata utilizando [³H]-adenosina a nivel de caracterizar la presencia de un transportador de este nucleósido a nivel de membrana mitocondrial. Hasta el momento, no se ha

descrito en la bibliografía consultada ninguna referencia sobre la existencia de un carrier de adenosina a ese nivel. Se ha comprobado que a los 5 min. es el tiempo en el cual el transporte de adenosina es máximo. Los estudios de saturación realizados muestran la presencia de dos sistemas de transporte de la adenosina uno de alta afinidad $K_m = 6 \times 10^{-7}$ y uno de baja afinidad $K_m = 26.05 \times 10^{-6}$. La existencia de estos dos sistemas podría explicarse por la presencia de enzimas a nivel mitocondrial que provocaran la formación de metabolitos de la adenosina, los cuales presentan una menor afinidad por este sistema de transporte.

Una vez comprobada la existencia de un sistema de transporte de la adenosina a nivel mitocondrial se ha realizado unas experiencias de inhibición del uptake de la adenosina con toda una serie de compuestos que presentan una elevada afinidad por el receptor benzodiazepínico periférico. Todos los compuestos utilizados inhiben el uptake de la adenosina a concentraciones dentro de un rango micromolar, de este modo el PK 11195 presenta una $CI_{50} = 42.07 \times 10^{-6}$, el AHN 086 (ligando que se une irreversiblemente al receptor benzodiazepínico periférico) presenta una $CI_{50} = 32.47 \times 10^{-6}$, la CI_{50} del Ro 5-4864 fue de 20.6×10^{-6} mientras que la del diazepam fue de 34.26×10^{-6} . Por otra parte el clonazepam no presenta ningún efecto a nivel de bloquear el transporte de adenosina a nivel mitocondrial. Estos resultados nos permiten concluir que la acción de las benzodiazepinas periféricas sobre el transporte de la adenosina no se realizaría a través del receptor benzodiazepínico periférico propiamente dicho. Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con los descritos por Gorman y col. 1989, sobre la inhibición del crecimiento celular por parte de las benzodiazepinas a nivel periférico y sobre la inhibición del uptake de timidina. Los resultados propuestos por estos autores indican que el NBTI no inhibe el crecimiento celular con lo cual se formula la hipótesis que el uptake de la adenosina no juega un papel importante a nivel del crecimiento celular. Lo que parece claro tras nuestros resultados es que las benzodiazepinas a nivel periférico interactúan con un sistema de transporte de nucleósidos y que esta interacción no sería a través del receptor benzodiazepínico de alta afinidad.

Por último, parece ser que en rata las benzodiazepinas periféricas interactúan con los distintos sistemas de transporte a través de la membrana mitocondrial, como el transporte de protoporfirina IX (Snyder y col. 1987), la entrada, distribución y disposición del colesterol, el transporte de adenosina y existen indicios que apuntan también hacia el intercambio de ADP/ATP.

IV.- CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1.- Se ha identificado la existencia de receptores benzodiazepínicos en conducto deferente, vesícula seminal y próstata de rata utilizando [³H]-Ro 5-4864. Con [³H]-PK 11195 se ha estudiado la presencia de receptores benzodiazepínicos en próstata de rata. Ambos compuestos presentan una sólo clase de lugares de unión lo cual viene determinado por los coeficientes de Hill obtenidos a partir de los estudios de saturación.

2.- Los estudios cinéticos realizados en tejidos de rata confirman la elevada afinidad que presentan los dos radioligandos por el receptor benzodiazepínico periférico. Respecto a la cinética de disociación, el [³H]-PK 11195 parece mostrar un carácter pseudoirreversible debido a su elevada vida media de disociación.

3.- Los estudios de competición realizados en fracción mitocondrial de rata confirman la baja afinidad que presentan para este receptor las típicas benzodiazepinas con acción central.

4.- Se ha demostrado que en rata la unión del [³H]-Ro 5-4864 es afectada de manera no competitiva por ligandos específicos del carrier ADP/ATP. La unión del [³H]-PK 11195 sólo se ve afectada por concentraciones micromolares de estos compuestos, lo cual indica que posiblemente estos dos radioligandos se unen a lugares distintos del mismo receptor.

5.- Se ha demostrado una interacción directa antiandrógeno-receptor benzodiazepínico periférico en rata pero sólo cuando el compuesto presenta una estructura no esteroídica.

6.- Los estudios realizados en próstata humana muestran la existencia del receptor benzodiazepínico periférico para el que el [³H]-PK 11195 presenta una elevada afinidad muy superior a la que presenta el [³H]-Ro 5-4864.

7.- La población de receptores benzodiazepínicos periféricos en próstata humana es el doble que en rata.

8.- En la hiperplasia nodular de próstata no se modifica la población de receptores benzodiazepínicos periféricos respecto a muestras control.

9.- La protoporfirina IX presenta una afinidad muy baja para el receptor benzodiazepínico periférico en roedores. En estudios realizados en próstata humana este compuesto no es capaz de desplazar la unión del [^3H]-PK 11195. Por lo tanto no parece ser el supuesto ligando endógeno del receptor benzodiazepínico periférico.

10.- Las dihidropiridinas interactúan, tanto en rata como en humanos de modo competitivo con el sitio de unión del [^3H]-PK11195.

11.- Se ha puesto de manifiesto una relación entre el receptor benzodiazepínico periférico y compuestos que presentan una elevada afinidad por el sistema de transporte de la adenosina tanto en rata como en tejido humano.

12.- Se ha descrito por primera vez la presencia de un transportador para la adenosina a nivel de la membrana mitocondrial.

13.- Las benzodiazepinas periféricas interactúan con el transportador de adenosina mitocondrial a concentraciones micromolares.

V.-BIBLIOGRAFIA

Alho,H,Frémeau,RT,Tiedge,H,Wilcox,J,Bovolín,P,Brosius,J,Roberts,JL,Costa,,
1988

Diazepam binding inhibitor gene expression: Location in brain and peripheral
tissues of rat.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA,85,7018-7022.

Amiri,Z,Weizman,R,Katz,Y,Burstein,O,Edoute,Y,Lochner,A,Gavish,M,1991

Testosterone and cyproterone acetate modulate peripheral but not central
benzodiazepine receptors in rats.

Brain Res.,553,155-158.

Amsterdam,A,Sun Suh,B,1991

An inducible functional peripheral benzodiazepine receptor in mitochondria of
steroidogenic granulosa cells.

Endocrinology,129,503-510.

Anholt,RRH,Snyder,S,1985

Peripheral-type benzodiazepine receptors: autoradiographic localization in whole
body sections of neonatal rats.

J. Pharmacol. Exp. Ther.,233,517-526.

Anholt,RRH,1986

Mitochondrial benzodiazepine receptors as potential modulators of intermediary
metabolism.

Trends Pharmacol. Sci.,6,506-511.

Anholt,RRH,Souza,EB,Kuhar,MJ,Snyder,SH,1985.

Depletion of peripheral-type benzodiazepine receptors after hypophysectomy in
rat adrenal gland and testis.

Eur. J. Pharmacol.,110,41-46.

Anholt,R,Aebi,U,Pedersen,PL,Snyder,SH,1986b.

Solubilization and reassembly of the mitochondrial benzodiazepine receptor.
Biochemistry.,25,2120-2125.

Ansseau,M,Frenckell,R,Cerfontaine,JL,Papart,P,1991.

Pilot study of PK 11195 a selective ligand for the peripheral-type benzodiazepine receptor binding sites in patients with anxious or depressive symptomatology.
Pharmacopsychiatry,24,8-12.

Antkiewicz-Michaluk,L,Mukhin,AG,Guidotti,A,Krueger,KE,1988

Purification and characterization of a protein with peripheral-type benzodiazepine binding sites.

J. Biol. Chem.,263,17317-17321.

Awad,M,Gavish,M,1987

Binding of [³H]Ro 5-4864 and [³H] PK 11195 to cerebral cortex and peripheral tissues of various species: species differences and heterogeneity in peripheral benzodiazepine binding sites.

J. Neurochem.,49,1407-1414.

Awad,M,Gavish,M,1988

Differential effect of detergents on [³H]-Ro 5-4864 and [³H]-PK 11195 binding to peripheral-type benzodiazepine binding sites.

Life Sci.,43,167-175.

Awad,M,Gavish,M,1989

Solubilization of peripheral-type benzodiazepine binding sites from cat cerebral cortex.

J. Neurochem.,52,1880-1885.

Awad,M,Gavish,M,1989

Heterogeneity between rat and calf peripheral-type benzodiazepine binding-sites: differential sensitivity to triton X-100.

J. Receptor Res.,9,369-384.

Awad,M,Gavish,M,1989

Species differences and heterogeneity of solubilized peripheral type benzodiazepine binding sites.

Biochem. Pharmacol.,38,3843-3849.

Awad,M,Gavish,M,1991

Peripheral-type benzodiazepine receptors in human cerebral cortex, kidney and colon.

Life Sci.,49,1155-1161.

Bar-Ami,S,Fares,F,Gavish,M,1989

Effect of hypophysectomy and hormone treatment on the induction of peripheral-type benzodiazepine binding sites in female rat genital axis.

Horm. Metabol. Res.,21,106-107.

Barnea,ER,Fares,F,Gavish,M,1989

Modulatory action of benzodiazepines on human term placental steroidogenesis in vitro.

Mol. Cell. Endocrinol.,64,155-159.

Basile,A,Ostrowski,NL,Skolnick,P,1986

Aldosterone-reversible decrease in the density of renal peripheral benzodiazepine receptors in the rat after adrenalectomy.

J. Pharmacol. Exp. Ther.,240,1006-1013.

Bean,BP,1989

Classes of calcium channels in vertebrate cells.

Ann. Rev. Physiol.,51,367-384.

Beaumont,K,Cheung,A,Geller,M,Fanestil,D,1983

Inhibitors of peripheral-type benzodiazepine receptors present in human urine and plasma ultrafiltrates.

Life Sci.,33,1375-1384.

Beaumont,K,Moberly,JB,Fanestil,D,1984

Peripheral-type benzodiazepine binding sites in a renal epithelial cell line (MDCK).

Eur. J. Pharmacol.,103,185-188.

Beaumont,K,Skowronski,R,Vaughn,D,Fanestil,D,1988.

Interactions of lipids with peripheral-type benzodiazepine receptors.

Biochem. Pharmacol.,37,1009-1014.

Benavides,J,Begassat,F,Phan,T,Tur,C,Uzan,A,Renault,C,Dubroeuq,MC,
Gueremy,C, Le Fur,G,1984

Histidine modification with diethylpyrocarbonate induces a decrease in the binding of an antagonist PK 11195 but not an agonist Ro 5-4864 of the peripheral benzodiazepine receptors.

Life Sci.,35,1249-1256.

Benavides,J,Bourdiol,F,Dubois,A,Scatton,B,1991

Regional pattern of increased omega 3 (peripheral type benzodiazepine) binding site densities in rat brain induced by systemic injection of kainic acid.

Neurosci. Lett.,125,219-222.

Benavides,J,Capdeville,C,Dauphin,F,Dubois,A,Duverger,D,Fage,D,Gotti,B,
Mackenzie,ET,Scatton,B,1990

The quantification of brain lesions with an omega 3 site ligand: a critical analysis of animal models of cerebral ischaemia and neurodegeneration.

Brain Res.,522,275-289.

Benavides,J,Cornu,P,Dennis,T,Dubois,A,Hauw,JJ,Mackenzie,ET,Sazdovitch,

V,Scatton,B,1988

Imaging of human brain lesions with an omega 3 site radioligand.

Ann. Neurol.,24,708-712.

Benavides,J,Dubois,A,Dennis,T,Hamel,E,Scatton,B,1989

Omega 3 (Peripheral type benzodiazepine binding) site distribution in rat immune system: an autoradiographic study with the photoaffinity ligand [³H]-PK 14105.

J. Pharmacol. Exp. Ther.,249,333-339.

Benavides,J,Fage,D,Carter,C,Scatton,B,1987

Peripheral type benzodiazepine binding sites are a sensitive indirect index of neuronal damage.

Brain Res.,421,167-172.

Bender,AS,Wu,PH,Phillis,JW,1980

The characterization of [³H]-adenosine uptake into rat cerebral cortical synaptosomes.

J.Neurochem.,35,629-640.

Bender,AS,Wu,PH,Phillis,JW,1981

The rapid uptake and release of [³H]-adenosine by rat cerebral cortical synaptosomes.

J. Neurochem.,36,651,660,

Besman,MJ,Yanagibashi,K,Lee,TD,Kawamura,M,Hall,PF,Shively,JE,1989

Identification of des(gly-Ile)-enzopine as an effector of corticotropin dependent adrenal steroidogenesis: stimulation of cholesterol delivery is mediated by the peripheral benzodiazepine receptor.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA,86,4897-4901.

Bidder,M,Ratzoni,G,Weizman,A,Blumensohn,R,Norymberg,M,Tyano,S,

Gavish,M,1990

Platelet benzodiazepine binding in Alzheimer's disease.

Biol. Psychiat.,28,641-643.

Black,KL,Ikezaki,K,Santori,E,Becker,DP,Vinters,H,1990

Specific high-affinity binding of peripheral benzodiazepine receptor ligands to brain tumors in rat and man.

Cancer,65,93-97.

Black,KL,Kiyonobu,MD,Toga,AW,1989

Imaging of brain tumors using peripheral benzodiazepine receptors ligand.

J. Neurosurg.,71,113-118.

Bolger,G,Mezey,E,Cott,J,Weissman,EA,Paul,SM,1984

Differential regulation of central and peripheral benzodiazepine binding sites in the rat olfactory bulb.

Eur. J. Pharmacol.,105,143-148.

Bolger,G,Weissman,B,Lueddens,H,Basile,A,Mantione,C,Barret,J,Witkin,J,Paul,S,Skolnick,P,1985

Late evolutionary appearance of peripheral-type binding sites for benzodiazepines.

Brain Res.,338,366-370.

Borea,PA,Caparrotta,L,Biasi,M,Fassina,G,Froldi,G,Pandolfo,L,Ragazzi,E,1989
Effect of selective agonist and antagonist on atrial adenosine receptors and their interaction with BAYK 8644 and Nitrendipine.

Br.J.Pharmacol.,96,372-378.

Bourdiol,F,Toulmond,S,Serrano,A,Benavides,J,Scatton,B,1991

Increase in omega 3 (peripheral type benzodiazepine) binding sites in the rat cortex and striatum after local injection of interleukin-1 tumour necrosis

factor- α and lipopolysaccharide.

Brain Res.,543,194-200.

Bradford,MM,1976

A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.

Anal. Biochem.,72,248-254.

Broaddus,W,Bennett,J,1990

Peripheral type benzodiazepine receptors in human glioblastomas: pharmacologic characterization and photoaffinity labeling of ligand recognition site.

Brain Res.,518,199-208.

Brush,KL,Perez,M,Hawkes,MJ,Pratt,DR,Hamilton,SL,1987

Low affinity binding sites for 1,4-dihydropyridines in mitochondria and guinea pig ventricular membranes.

Biochem. Pharmacol.,36,4153-4161.

Butterworth,RF,Tonon,MC,Desy,L,Giguere,JF,Vaudry,H,Pelletier,G,1991

Increased brain content of the endogenous benzodiazepine receptor ligand octadecaneuropeptide (ODN) following portacaval anastomosis in the rat.

Peptides,12,119-125.

Calogero,AE,Kamilaris,TC,Johson,EO,Gold,PW,Chrousos,GP,1990

Peripheral benzodiazepine receptor ligands stimulate prolactin release in the rat.

J. Neuroendocrinol.,2,745-750.

Camins, A, Sureda F.X., Camarasa, J., Escubedo, E. 1992

Specific binding sites for [3 H]-Ro 5-4864 in rat prostate and seminal vesicle

Gen. Pharmacol. En prensa.

Canonaco,M,Valenti,A,Tavolaro,R,Bettini,E,Maggi,A,1989

Differential modulation of [³H]-flunitrazepam binding sites in female rat brain by sex steroid hormones.

Eur. J. Pharmacol.,170,95-99.

Charbonneau,P,Syrota,A,Crouzel,C,Valois,JM,Prenent,C,Crouzel,M,1986

Peripheral type benzodiazepine receptors in the living heart characterized by positron emission tomography.

Circulation,73,476-483.

Cox,DA,Ellinor,PT,Kirley,TL,Matlib,MA,1991

Identification of a 17-kDa protein associated with the peripheral type benzodiazepine receptor in vascular and other smooth muscle types

J. Pharmacol. Exp. Ther.,258,702-709.

Csaba,G,Fulop,AK,Inczefi-Gonda,,1988

Presence of benzodiazepine binding sites and amplification thereof imprinting in tetrahymena.

Experientia,45,96-98.

Cuparencu,B,Horak,J,Marmo,E,De Santis,D,Lampa,E,Lo Sasso,C,F. Rossi,F,1991

The influence of the peripheral-type benzodiazepine receptor antagonist PK 11195 on blood glucose and serum lipid levels in rats.Interactions with diazepam.

Curr. Ther. Res.,49,409-414.

Cuparencu,B,Trif,I,Horak,J,Cucuianu,M,Balazs,L,Sasso,C,Matera,MG,Loffred a,A,Marmo,E,1989

Inhibition of platelet aggregation by some benzodiazepines.

Curr.Ther.Res,45,198-204.

Cymerman,U,Pazos,,Palacios,JM,1986

Evidence for species differences in peripheral benzodiazepine receptors: an autoradiographic study.

Neurosci. Lett.,66,153-158.

Czajkowski,C,Farb,DH,1989

Identification of an intracellular pool of gamma aminobutyric acidA/benzodiazepine receptors en route to the cell surface of brain neurons in culture.

Mol. Pharmacol.,35,183-188.

Dar,D,Wweizman,A,Karp,L,Grinshpoon,A,Bidder,M,Kotler,S,Bleich,A,Gavish,M,1990

Platelet peripheral benzodiazepine receptors in repeated stress

Life Sci.,48,341-346.

Das,S,Sikpi,M,Skolnick,P,1987

Characterization of [³H-Ro 5-4864 binding to peripheral benzodiazepine receptors in guinea pig alveolar type II cells.

Biochem. Pharmacol.,36,2221-2224.

Davies,LP,Cook,AF,Poonian,M,Taylor,KM,1980

Displacement of [³H]-diazepam binding in rat brain by dipyridamole and by 1-methylisoguanosine, a marine natural product with muscle relaxant activity.

Life Sci.,26,1089-1095.

Davies,P,Huston,V,1981

Peripheral benzodiazepine binding sites in heart and their interaction with dipyridamole.

Eur. J. Pharmacol.,73,209-211.

Deckert,J,Marangos,PJ,1986

Hormonal interactions with benzodiazepine binding sites in vitro.
Life. Sci.,39,675-683.

De Lorenzo,RJ,Burdette,S,Holderness,J,1981
Benzodiazepine inhibition of the calcium-calmodulin protein kinase system in
brain membrane.
Science,213,546-548.

Devaud,LL,Murray,TF,1988
Involvement of peripheral-type benzodiazepine receptors in the proconvulsant
actions of pyrethroid insecticides.
J. Pharmacol. Exp. Ther.,247,14-22.

Diorio,DL,Welner,SA,Tulandi,T,Lal,S,Suranyi-Cadotte,BE,1990
Effect of increasing estradiol levels on platelet peripheral benzodiazepine
binding sites in women undergoing human menopausal gonadotropin treatment.
Neuropsychobiology,23,169-172.

Diorio,D,Welner,S,Butterworth,RF,Meaney,MJ,Suranyi-Cadotte,B,1991
Peripheral benzodiazepine binding sites in Alzheimer's disease frontal and
temporal cortex.
Neurobiol. Aging,12,255-258.

Drugan,RC,Basile,AS,Crawley,JN,Paul,SM,Skolnick,P,1988
Characterization of stress-induced alterations in [³H]-Ro 5-4864 binding to
peripheral benzodiazepine receptors in rat heart and kidney.
Pharmacol. Biochem. Behav.,30,1015-1020.

Drugan,RC,Holmes,PV,Stringer,AP,1991
Sexual dimorphism of stress induced changes in renal peripheral
benzodiazepines receptors in rat.
Neuropharmacology,30,413-416.

Drummer,HL,Woolley,DE,1991

Toxicokinetics of Ro 5-4864 lindane and picrotoxin compared
Pharmacol. Biochem. Behav.,38,235-242.

Dubois,A,Benavides,J,Peny,B,Duverger,D,Fage,D,Gotti,B,Mackenzie,E,Scatto
n,B,1988

Imaging of primary and remote ischaemic and excytotoxic brain lesions. An
autoradiographic study of peripheral type benzodiazepine binding site in rat and
cat.

Brain Res.,445,77-90.

Dunwiddie,TV,1985

The physiological role of adenosine in the central nervous system.
Int. Rev. Neurobiol.,27,63-139.

Duval,JL,Post,RM,Marangos,PJ,1989

Pyruvate dehydrogenase interactions with peripheral-type benzodiazepine
receptors.

J. Neurochem,52,110-116.

Erme,P,Chiesi,M,Longoni,S,Fulbright,J,Hermsmeyer,K,1989

Relaxation of rat vascular by peripheral benzodiazepine modulators.
J. Clin. Invest.,84,493-498.

Escubedo,E,Camins,A,Talaverón,C,Camarasa,J,1992

Characterization of [³H]-Ro 5-4864 binding sites in rat vas deferens.
J. Neurochem.,58,39-45.

Escubedo, E., Camarasa, J., Pallás,M., Adzet,T., 1991

Peipheral benzodiazepines potentiate the effect of adenosine in rat vas deferens.
J. Pharm. Pharmacol., 43, 49-50.

Eshleman,AJ,Murray,TF,1989

Differential binding properties of the peripheral type benzodiazepine ligands [³H]-PK 11195 and [³H]-Ro 5-4864 in trout and mouse brain membranes.

J. Neurochem.,53,494-502.

Fares,F,Barami,S,Haj-yehia,Y,Gavish,M,1989

Hormonal regulation of peripheral benzodiazepine binding sites in female rat adrenal gland and kidney.

J. Recept. Res.,9,143-157.

Fares,F,Gavish,M,1986

Characterization of peripheral benzodiazepine binding sites in human term placenta.

Biochem. Pharmacol.,35,227-230.

Fares,F,Weizman,A,Zlotogorski,D,Gavish,M,1987

Ontogenic development of peripheral benzodiazepine binding sites in rat brain, heart, and lung.

Brain Res.,408,381-384.

Ferrarese,C,Appollonio,I,Frigo,M,Gaini,SM,Piolti,R,Frattola,L,1989

Benzodiazepine receptors and diazepam-binding inhibitor in human cerebral tumors.

Ann.Neurol.,26,564-568.

Ferrarese,C,Appollonio,I,Frigo,M,Perego,M,Pierpaoli,C,Trabucchi,M,Frattola,L,1990

Characterization of peripheral benzodiazepine receptors in human blood mononuclear cells.

Neuropharmacology,29,375-378.

Ferrarese,FC,Appollonio,I,Frigo,M,Perego,M,Piolti,R,Trabucchi,M,Frattola,L,1

990

Decreased density of benzodiazepine receptors in lymphocytes of anxious patients: reversal after chronic diazepam treatment.

Acta Psychiat. Scand.,82,169-173.

Ferry,A,Jaillon,P,Lecoq,B,Jozefczak,C,1989

Pharmacokinetics and effects on exercise heart rate of PK 11195 (52028RP),an antagonist of peripheral benzodiazepine receptors, in healthy volunteers.

Fund. Clin. Pharmacol.,3,383-392.

French,JF,Rapoport,RM,Matlib,MA,1989

Possible mechanism of benzodiazepine induced relaxation of vascular smooth muscle.

J. Cardiovasc. Pharmacol.,14,405-411.

Gavish,M,Awad,M,1987

Binding of [³H]-Ro 5-4864 and [³H]-PK 11195 to cerebral cortex and peripheral tissues of various species: species differences and heterogeneity in peripheral benzodiazepine binding sites.

J. Neurochem.,49,1407-1414.

Gavish,M,Weizman,A,Karp,L,Tyano,S,Tanne,Z,1986

Decreased peripheral benzodiazepine binding sites in platelets of neuroleptic treated schyzophrenics.

Eur. J. Pharmacol.,121,275-279.

Gerrish,KE,Putnam,CW,Laird,HE,1990

Prolactin-stimulated mitogenesis in the NB2 rat lymphoma cell: lack of protoporphyrin IX effects.

Life Sci.,47,1647-1653.

Gorman,AM,O'Beirne,GB,Regan,CM,Williams,DC,1989

Antiproliferative action of benzodiazepine in cultured brain cells is not mediated through the peripheral-type benzodiazepine acceptor.

J. Neurochem.,53,849-855.

Griffith,JA,Woolley,DE,1989

Central and peripheral benzodiazepines and kinetics of lindane-induced toxicity. Pharmacol. Biochem. Behav.,32,367-376.

Grupp,IL,French,JF,Matlib,MA,1987

Benzodiazepine Ro 5-4864 increases coronary flow. Eur. J. Pharmacol.,143,143-147.

Guidotti,A,Forchetti,CM,Corda,MG,Konkel,D,Bennett,CD,Costa,E,1983

Isolation, characterization, and purification to homogeneity of an endogenous polypeptide with agonistic action on benzodiazepine receptors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA,80,3531-3535.

Hammond,J,Jarvis,SM,Paterson,ARP,Clanachan,AS,1983

Benzodiazepine inhibition of nucleoside transport in human erythrocytes. Biochem. Pharmacol.,32,1229-1235.

Hammond,JR,Paterson,ARP,Clanachan,AS,1981

Benzodiazepine inhibition of site-specific binding of nitrobenzylthioinosine, an inhibitor of adenosine transport. Life Sci.,29,2207-2214.

Haumont,LM,Horak,J,Sebestova,L,Masek,K,1988

In vivo immunomodulating activity of PK 11195, a structurally unrelated ligand for peripheral benzodiazepine binding sites. The possible involvement of central nervous system receptors. Int.J.Immunother.,IV(2),125-129.

Havoundjian,H,Cohen,RM,Paul,SM,Skolnick,P,1986

Differential sensitivity of central and peripheral type benzodiazepine receptors to phospholipase A₂.

J. Neurochem.,46,804-811.

Hevia,A,Serrano,JS,Fernandez-Alonso,A,Castillo,JR,1987

Efectos del diazepam y Ro 5-4864 sobre la agregación plaquetaria en un modelo de ansiedad animal.

Rev. Farmacol. Clin. Exp.,4,353-357.

Holck,M,Osterrieder,W,1985

The peripheral high affinity benzodiazepine binding site is not coupled to the cardiac calcium channel.

Eur. J. Pharmacol.,118,293-301.

Hulligan,JP,Spector,S,Taniguchi,T,Wang,JKT,1983

The binding of [³H]-diazepam to guinea-pig ileal longitudinal muscle and the in vitro inhibition of contraction by benzodiazepines.

Br.J.Pharmacol.,78,321-327.

Hu,PS,Lindgren,E,Jacobson,KA,Fredholm,BB,1987

Interaction of dihydropyridine calcium channel agonists and antagonists with adenosine receptors.

Pharmacol. Toxicol.,61,121-125.

Ikezaki,K,Black,K,1989

Stimulation of cell growth and DNA synthesis by peripheral benzodiazepines.

Cancer Lett.,49,115-120.

Ikezaki,K,Black,K,Toga,AW,Santori,EM,Becker,DP,Smith,ML,1990

Imaging peripheral benzodiazepine receptors in brain tumors in rats: in vitro binding characteristics.

J. Cer. Blood Flow Metab.,10,580-587.

Johansson,O,Hilliges,M,Ostenson,C,Sandberg,E,Efendic,S,Mutt,V,1991
Immunohistochemical localization of porcine diazepam-binding inhibitor (DBI)
to rat endocrine pancreas.
Cell Tissue Res.,263,395-398.

Karaki,H,Weiss,GB,1988
Calcium release in smooth muscle.
Life Sci.,42,111-122.

Katz,Y,Eitan,A,Amiri,Z,Gavish,M,1988
Dramatic increase in peripheral benzodiazepine binding sites in human colonic
adenocarcinoma as compared to normal colon.
Eur.J.Pharmacol.,148,483-484.

Katz,Y,Eitan,A,Gavish,M,1990
Increase in peripheral benzodiazepine binding sites in colonic adenocarcinoma
Oncology,47,139-142.

Katz,Y,Weizman,A,Gavish,M,1989
Ligands specific to peripheral benzodiazepine receptors for treatment of
porphyrias.
Lancet,29,932-933.

Kazanietz,MG,Elgoyhen,AB,1990
Relaxant effect of benzodiazepines on uterine rings isolated from estrogen
treated rats
Eur. J. Pharmacol.,185,231-234.

Klingenberg,M,Appel,M,1980
Is there a common binding center in the ADP,ATP carrier for substrate and

inhibitors?

FEBS Lett.,119,195-199.

Klingenberg,M,Appel,M,Oelrichs,PB,1985

Wedeloside,a powerful inhibitor and ligand of the mitochondrial ADP/ATP carrier.

FEBS Lett.,189,245-249.

Klingenberg,M,Grebe,K,Scherer,B,1974

The binding of atractylate and carboxy-atractylate to mitochondria.

Eur.J.Biochem.,52,351-363.

Klingenberg,M,Heldt,HW,1982

The ADP/ATP translocation in mitochondria and its role in intracellular compartmentation.

Eur.J.Biochem,192,101-122.

Knudsen,J,1990

Acyl-CoA-binding protein (ACBP) and its relation to fatty acid-binding protein (FABP): an overview.

Mol. Cell Biochem.,98,217-223.

Krueger,KE,1991

Peripheral-type benzodiazepine receptors: a second site of action for benzodiazepines.

Neuropsychopharmacology,4,237-244.

Krueger,KE,Papadopoulos,V,1990

Peripheral-type benzodiazepine receptors mediate translocation of cholesterol from outer to inner mitochondrial membranes in adrenocortical cells.

J. Biol. Chem.,265,15015-15022.

Laird,HE,Gerrish,KE,Duerson,KC,Putnam,CW,Russell,DH,1989

Peripheral benzodiazepine binding sites in Nb 2 mode lymphoma cells: effects on prolactin-stimulated proliferation and ornithine decarboxylase activity.

Eur. J. Pharmacol.,171,25-35.

Langer,SZ,Arbilla,S,1988

Imidazopyridines a tool for the characterization of benzodiazepine receptors: a proposal for a pharmacological classification as omega receptor subtypes.

Pharmacol. Biochem. Behav.,29,763-766.

Larcher,JC,Vayssiere,JL,Marquer,FJ,Cordeau,LR,Keane,PE,Bachy,A,Gros,F,Croizat,BP,1989

Effects of peripheral benzodiazepines upon the O₂ consumption of neuroblastoma cells.

Eur.J.Pharmacol.147,145-150.

Le Fur,G,Guilloux,F,Rufat,P,Benavides,J,Uzan,A,Renault,C,Dubroeuq,MC,Gueremy,C,1983

Peripheral benzodiazepine binding sites: effect of PK11195.

Life Sci,32,1849-1856.

Le Fur,G,Vaucher,N,Perrier,M,Flamier,A,Benavides,J,Renault,C,Dubroeuq,M,Guérémy,C,Uzan,A,1983

Differentiation between two ligands for peripheral benzodiazepine binding sites [³H]-Ro 5-4864 and [³H]-PK 11195, by thermodynamic studies.

Life. Sci.,33,449-457.

Le Fur,G,Uzan,A,Renault,C,Gueremy,C,Bénavidès,J,Dubroeuq,MC,1986

Stereoselective inhibition of the binding of [³H]-PK 11195 to peripheral type benzodiazepine binding sites by a quinolinepropanamide derivative.

Eur.J.Pharmacol.,128,269-272.

Long,C,Stone,TW,1986

The effects of adenosine on receptor sensitivity in the rat vas deferens.

Eur.J.Pharmacol.,132,11-19.

Lukeman,D,Fanestil,D,1987

Interactions of diuretics with the peripheral-type benzodiazepine receptor in the rat kidney.

J. Pharmacol. Exp. Ther.,241,950-955.

Marano,G,Massotti,M,Spagnolo,A,Carpi,A,1990

Enhancement of pharmacologically induced bronchoconstriction by Ro 5-4864.

Eur.J.Pharmacol.,179,237-240.

Martini,C,Giannaccini,G,Lucacchini,A,1983

Solubilization of rat kidney benzodiazepine binding sites.

Biochem. Biophys. Acta,728,289-292.

Massotti,M,Mele,L,De Luca,C,1990

Involvement of the "peripheral" benzodiazepine receptor type (w3) in the tolerance to the electroencephalographic effects of benzodiazepines in rats: comparison of diazepam and clonazepam.

Pharmacol.Biochem.Behav.,35,933-936.

Matthew,E,Laskin,JD,Zimmerman,EA,Weinstein,IB,Hsu,KC,Engelhardt,DL,
1981

Benzodiazepine have high-affinity binding sites and induce melanogenesis in B16/C3 melanoma cells.

Proc.Natl. Acad. Sci. USA,78,3935-3939.

Mccabe,R,Schoenheimer,J,Skolnick,P,Newman,AH,Rice,K,Reig,JA,Klein,D,1989

[³H]-AHN 086 acylates peripheral benzodiazepines receptors in the rat pineal

gland.

FEBS. Lett.,244,263,267,

Mendoza,A,1989

Diazepam enhances the inhibitory action of adenosine on transmission at the frog neuromuscular junction.

Eur.J.Pharmacol.,164,347-354.

Mestre,M,Carriot,T,Neliat,G,Uzan,A,Renault,C,Dubroeuq,MC,Gueremy,C,Doble,A,Le Fur,G,1986

PK 11195 an antagonist of peripheral type benzodiazepine receptors, modulates BAYK 8644 sensitive but not 225 β -or H2-receptor sensitive voltage operated calcium channels in the guinea pig heart.

Life Sci.,39,329-339.

Mestre,M,Boquetard,G,Uzan,A,Gueremy,C,Renault,C,Dubroeuq,MC, Le Fur,G,1985

PK 11195 an antagonist of peripheral benzodiazepine receptors reduces ventricular arrhythmias during myocardial ischaemia and reperfusion in the dog.

Eur.J. Pharmacol.,112,257-260.

Mhatre,M,Ticku,MK,1989

Chronic ethanol treatment selectively increases the binding of inverse agonists for benzodiazepine binding sites in cultured spinal cord neurons.

J. Pharmacol. Exp. Ther.,251,164-168.

Mihara,S,Fujimoto,M,1989

High-Affinity binding sites for PK 11195, but not for Ro 5-4864, in porcine aortic smooth muscle.

Life Sci,44,1713-1720.

Mihara,S,Sakata,T,Fujimoto,M,1990

Interaction of lipocortin I with peripheral-type benzodiazepine binding sites
Eur. J. Pharmacol.,189,233-236.

Miller,L,Paritz,A,Greenblatt,D,Theoharides,T,1988

High-affinity benzodiazepine binding sites on rat peritoneal mast cells and RBL-1 cells: binding characteristics and effects on granule secretion.
Pharmacology,36,52-60.

Miyata,M,Mocchetti,I,Ferrarese,C,Guidotti,A,Costa,E,1987

Protracted treatment with diazepam increases the turnover of putative endogenous ligands for the benzodiazepine / β -carboline recognition site.
Proc. Natl. Acad. Sci.USA,84,1444-1448.

Mizoule,J,Gauthier,A,Uzan,A,Renault,C,Dubroeuq,MC,Gu  r  my,C,Le Fur,,1985

Opposite effects of two ligands for peripheral type benzodiazepine binding sites PK 11195 and Ro 5-4864 in a conflict situation in the rat.
Life Sci.,36,1059-1068.

Moreno-Sanchez,R,Bravo,C,Gutierrez,J,Newman,AH,Chiang,PK,1991

Release of Ca from heart and kidney mitochondria by peripheral-type benzodiazepine receptor ligands.
Int. J. Biochem.,23,207-213.

Mukhin,AG,Papadopoulos,V,Costa,E,Kreuger,KE,1989

Mitochondrial benzodiazepine receptors regulate steroid biosynthesis.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA,86,9813-9816.

Mukhin,AG,Zhong,P,Krueger,KE,1990

Cofraction of the 17kD PK 14105 binding site protein with solubilized peripheral-type benzodiazepine binding sites.
Biochem. Pharmacol.,40,983-989.

Muson,PJ,Rodbard,D,1980

LIGAND: a versatile computerized approach characterization of ligand-binding systems.

Anal. Biochem.,107,220-239.

Myers,R,Manjil,LG,Cullen,BM,Price,GW,Franckwiak,RSJ,Cremer,JE,1991

Macrophage and astrocyte populations in relation to [³H]-PK 11195 binding in rat cerebral cortex following a local ischaemic lesion.

J. Cer. Blood Flow. Metab.,11,314-322.

Newman,AH,1990

Irreversible ligands for drug receptor characterization.

Ann. Rep. Med. Chem.,25,271-280.

Nielsen,M,Witt,MR,Thogersen,H,1988

[³H]-diazepam specific binding to rat cortex in vitro is enhanced by oleic, arachidonic and docosahexenoic acid isolated from pig brain.

Eur.J.Pharmacol.,146,349-353.

Olson,J,Junck,L,Young,A,Mancini,W,1988

Isoquinoline and peripheral type benzodiazepine binding in gliomas. implications for diagnostic imaging.

Cancer Res.,48,5837-5841.

Palmieri,F,De Pinto,V,1989

Purification and properties of the voltage-dependent anion channel of the outer mitochondrial membrane.

J.bioenerg.biomemb.,21,417-425.

Papadopoulos,V,Berkovich,A,Krueger,E,Costa,E,Guidotti,A,1991

Diazepam binding inhibitor and its processing products stimulate mitochondrial steroid biosynthesis via an interaction with mitochondrial benzodiazepine

receptors.

Endocrinology,129,1481-1488.

Papadopoulos,V,Mukhin,AG,Costa,E,Krueger,KE,1990

The peripheral-type benzodiazepine receptor is functionally linked to Leydig cell steroidogenesis.

J. Biol. Chem.,265,3772-3779.

Papadopoulos,V,Nowzari,FB,Kreuger,K,1991

Hormone stimulated steroidogenesis is coupled to mitochondrial benzodiazepine receptors.

J. Biol. Chem.,266,3682-3687.

Pappata,S,Cornu,P,Samson,Y,Prenant,C,Benavides,J,Scatton,B,Crouzel,C,Hauw,JJ,Syrota,A,1991

PET study of carbon 11 PK 11195 binding to peripheral benzodiazepine sites in glioblastoma: a case report.

J.Nucl. Med.,32,1608-1610.

Parola,AL,Laird,HE,1990

The bovine peripheral-type benzodiazepine receptor: a receptor with low affinity for benzodiazepines.

Life. Sci.,48,757-764.

Parola,AL,Mackenzie,NE,Laird,HE,1990

Photochemical derivatization of agarose: synthesis of an affinity agarose using a photoaffinity ligand specific for the peripheral-Type benzodiazepine receptor
Anal. Biochem.,189,107-114.

Parola,A,Stump,DG,Pepperl,DJ,Krueger,DJ,Regan,JW,Laird,HE,1991

Cloning and expression of a pharmacologically unique bovine peripheral-type benzodiazepine receptor isoquinoline binding protein.

J. Biol. Chem.,266,14082-14087.

Pazos,A,Cymerman,U,Probst,A,Palacios,JM,1986

Peripheral benzodiazepine binding sites in human brain and kidney:
autoradiographic studies.

Neurosci. Lett.,66,147-152.

Pellow,S,File,SE,1984

Behavioural actions of Ro 5-4864: A peripheral-type benzodiazepine?

Life Sci.,35,229-240.

Phillis,JW,Swanson,TH,Barraco,RA,1984

Interactions between adenosine and nifedipine in the rat cerebral cortex

Neurochem. Int.,6,693-699.

Price,GW,Ahier,RG,Hume,SP,Myers,R,Manjil,L,Crener,JE,Lutrhra,SK,Pascali
,C,Pike,V,Frackowiak,RSJ,1990

In vivo binding to peripheral benzodiazepine binding sites in lesioned rat brain:
comparison between [³H]-PK 11195 and [¹⁸F]-PK 14105 as markers of neuronal
damage.

J. Neurochem,55,175-185.

Raeburn,D,Miller,L,Summer,W,1987

Peripheral benzodiazepine receptor and airway smooth muscle relaxation.

J. Pharmacol. Exp. Ther.,245,557-562.

Ramagopal,MV,Mustafa,SJ,1988

Effect of adenosine and its analogues on calcium influx in coronary artery.

Am.Physiol.Soc.,255,H1492-H1498.

Rheaume,E,Tonon,MC,Smih,F,Simard,J,Desy,L,Vaudry,H,Pelletier,G,1990

Localization of the endogenous benzodiazepine ligand octadecaneuropeptide in

rat testis.

Endocrinology,127,1986-1994.

Richards,J,Mohler,H,Haefely,W,1982

Benzodiazepine binding sites: receptors or acceptors?

Trends Pharmacol. Sci.,3,233-235.

Riond,J,Mattei,M,Kaghad,M,Dumont,X,Guillemont,J,LeFur,G,Caput,D,Ferrara,P,1991

Molecular cloning and chromosomal localization of human peripheral type benzodiazepine receptor.

Eur. J. Biochem,195,305-311.

Riond,J,Vita,N,Le Fur,G,Ferrara,P,1989

Characterization of a peripheral-type benzodiazepine binding site in the mitochondrial of chinese hamster ovary cells.

FEBS. Lett.,245,238-244.

Ritta,N,Campos,MB,Calandra,RS,1986

Effect of gaba and benzodiazepines on testicular androgen production.

Life Sci.,40,791-798.

Ruff,MR,Pert,CB,Weber,RJ,Wahl,LM,Wahl,SM,Paul,SM,1985

Benzodiazepine receptor-mediated chemotaxis of human monocytes.

Science,229,1281-1283.

Ruiz,F,Hernandez,J,Ribeiro,JA,1988

Theophylline antagonizes the effect of diazepam on ventricular automaticity.

Eur. J. Pharmacol.,155,205-209.

Ruth,P,Flockerzi,V,Nettelblatt,EV,Oeken,J,Hofmann,F,1985

Characterization of the binding sites for nimodipine and(-)-desmethoxyverapamil

in bovine cardiac sarcolemma.

Eur. J. Biochem.,150,313-322.

Saano,V,Rago,L,Raty,M,1989

Peripheral benzodiazepine binding sites.

Pharmacol. Ther.,41,503-514.

Sadzot,B,Frost,JJ,1990

Benzodiazepine Receptors.

Neuroreceptors,8,109-127.

Sarter,M,Schneider,HH,1988

High density of benzodiazepine binding sites in the substantia innominata of the rat.

Pharmacol. Biochem. Behav.,30,679-682.

Scatton,B,Benavides,J,Dubois,A,Bourdiol,F,1990

Proliferation of omega 3 binding sites in the immune organs and leg infiltrate of rats with adjuvant induced arthritis.

Int. J. Tissue. Reac.,12,15-20.

Schlumpf,M,Parmar,R,Ramseier,HR,Lichtensteiger,W,1990

Prenatal benzodiazepine immunosuppression: Possible involvement of peripheral benzodiazepine site.

Dev. Pharmacol. Ther.,15,178-185.

Schoemaker,H,Bliss,M,Yamamura,H,1981

Specific high-affinity saturable binding [³H]-Ro 5-4864 to benzodiazepine binding sites in the rat cerebral cortex.

Eur. J. Pharmacol.,71,173-175.

Schoemaker,H,Boles,R,Horst,W,Yamahura,H,1983

Specific high-affinity binding sites for [³H]-Ro 5-4864 in rat brain and kidney.
J. Pharmacol. Exp. Ther.,225,61-69.

Schoemaker,H,Morelli,M,Deshmukh,P,Yamamura,HI,1982
[³H]-Ro 5-4864 benzodiazepine binding in the kainate lesioned striatum and
Huntington's diseased basal ganglia.
Brain Res.,248,396-401.

Shin-ichi,M,Tsuneaki,S,Masafumi,F,1990
Interaction of lipocortin I with peripheral-type benzodiazepine binding sites.
Eur. J. Pharmacol.,189,233-236.

Shoyab,M,Gentry,LE,Marquardt,H,Todaro,GJ,1986
Isolation and characterization of a putative endogenous benzodiazepineoid
(Endozepine) from bovine and human brain.
J. Biol. Chem.,261,11968-11973.

Singh,P,Ojha,TN,Sharma,RC,1990
Quantitative structure-activity relationship study on some ligands acting as
inhibitors of benzodiazepine-receptor binding.
Res.Commun.Chem.Pathol.Pharmacol.,67,151-154.

Skolnick,P,Paul,SM,1988
The benzodiazepine/gaba receptor chloride channel complex.
ISI Atlas of Sci:Pharmacology,19,22-30.

Skowronski,R,Fanestil,DD,Beamont,K,1988
Photoaffinity labeling of peripheral-type benzodiazepine receptors in rat kidney
mitochondria with [³H]-PK 14105.
Eur. J. Pharmacol.,148,187-193.

Slobodyansky,E,Guidotti,A,Wambebe,C,Berkovich,A,Costa,E,1989

Isolation and characterization of a rat brain triakontatetrapeptide, a postranslational product of diazepam binding inhibitor: specific action at the Ro 5-4864 recognition site.

J. Neurochem.,53,1276-1284.

Snyder,SH,Verma,A,Trifiletti,R,1987

The peripheral type benzodiazepine receptor: a protein of mitochondrial outer membranes utilizing porphyrins as endogenous ligands.

FASEB J.,1,282-288.

Speth,RC,Wastek,GJ,Yamamura,HI,1979

Benzodiazepine receptors: temperature dependence of [³H]-flunitrazepam binding.

Life Sci.,24,351-358.

Stepien,H,Kunert-radek,J,Stanisz,A,Zerek-Melen,G,Pawikowski,M,1991

Inhibitory effect of porphyrins on the proliferation of mouse spleen lymphocytes in vitro.

Biochem. Biophys. Res. Commun.,174,313-322.

Suranyi-cadotte,B,Lal,S,Nair,N,Lafaille,F,Quirion,R,1987

Coexistence of central and peripheral benzodiazepine binding sites in the human pineal gland.

Life Sci.,40,1537-1543.

Syapin,PJ,Alkana,RL,1988

Chronic ethanol exposure increases peripheral-type benzodiazepine receptors in brain.

Eur. J. Pharmacol.,147,101,109,

Tacconi,M,Salmona,M,1988

Differential effects of benzodiazepines on phospholipid methylation in

hippocampus and cerebellum of rats.

Life Sci. 525-531

Taft,W,DeLorenzo,R,1984

Micromolar-affinity benzodiazepine receptors regulate voltage-sensitive calcium channels in nerve terminal preparations.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA,81,3118-3122.

Taniguchi,T,Wang,J,Spector,S,1980

Properties of [³H]-diazepam binding to rat peritoneal mast cells.

Life. Sci.,27,171-178.

Tong,Y,Rhéaume,E,Simard,J,Pelletier,G,1991

Localization of peripheral benzodiazepine binding sites and diazepam binding inhibitor (DBI) mRNA in mammary glands and dimethylbenz(α)anthracene. (DMBA)-induced mammary tumors in the rat.

Reg. Pep.,33,263-273.

Tonon,MC,Désy,L,Nicolas,P,Vaudry,H,Pelletier,G,1990

Immunocytochemical localization of the endogenous benzodiazepine ligand octadecaneuropeptide (ODN) in the rat brain.

Neuropeptides,15,17-24.

Triggle,DJ,Langs,DA,Janis,RA,1989

Ca channel ligands: structure function relationships of the 1,4-dihydropyridines.

Med. Res. Rev.,9,123-180.

Triggle,DJ,Rampe,D,1989

1,4-dihydropyridine activators and antagonists: structural and functional distinctions.

Trends Pharmacol. Sci.,10,507-511.

Verma,A,Nye,JS,Snyder,SH,1987

Porphyrins are endogenous ligands for the mitochondrial (peripheral-type) benzodiazepine receptor.

Proc.Natl. Acad. Sci. USA.,84,2256-2260.

Verma,A,Snyder,S,1989

Peripheral type benzodiazepine receptors.

Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.,29,307-322.

Wang,JKT,Taniguchi,T,Spector,S,1984

Structural requirements for the binding of benzodiazepines to their peripheral-type sites.

Mol. Pharmacol.,25,349-351.

Watjen,F,Baker,R,Herbert,R,1989

Novel benzodiazepine receptor partial agonist: Oxadiazolyimidazobenzodiazepines

Am. Chem. Soc.,32,2282-2291.

Weissman,BA,Cott,J,Jackson,JA,Bolger,GT,Weber,KH,Horst,WD,Paul,SM,Skolnick,P,1985

Peripheral-type Binding sites for benzodiazepines in brain: Relationship to the Convulsant actions of Ro 5-4864.

J. Neurochem.,44,1494-1499.

Weis,SRB,Post,RM,1991

Contingent tolerance to carbamazepine: a peripheral-type benzodiazepine mechanism.

Eur. J. Pharmacol.,193,159-163.

Weizman,R,Gavish,M,1989

Chronic diazepam treatment induces an increase in peripheral benzodiazepine binding sites.

Clin. Neuropharmacol.,12,346-351.

Wu,PH,Phillis,JW,1984

Uptake by central nervous tissues as a mechanism for the regulation of extracellular adenosine concentrations.

Neurochem. Int.,6,613-632.

Zernig,G,Glossmann,H,1988

A novel 1,4-dihydropyridine-binding site on mitochondrial membranes from guinea-pig heart, liver and kidney.

Biochem. J.,253,49-58.

Zernig,G,Moshammer,T,Graziadei,I,Glossmann,H,1988

The mitochondrial high-capacity low-affinity [³H]-nitrendipine binding site is regulated by nucleotides.

Eur.J.Pharmacol.,157,67-73.

Zivin,JA,Waud,DR,1986

Analysis of one-component saturable systems such as ligand binding, enzyme kinetic uptake and transport data.

J. Pharmacol. Meth.,16,1-22.