

Papel de los antagonistas del factor activador de las plaquetas (PAF) en la nefrotoxicidad inducida por la ciclosporina en ratas

J. Egido, F. Mampaso *, M. J. Rodríguez, J. C. Martínez *, A. Mendiluce, P. Hernando y L. Hernando

Servicio de Nefrología, Fundación Jiménez Díaz (Universidad Autónoma y Centro Asociado al CSIC).

* Departamento de Anatomía Patológica. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

RESUMEN

Los mecanismos de la nefrotoxicidad de la ciclosporina no son bien conocidos. Puesto que el factor activador de las plaquetas (PAF) es capaz de producir vasoconstricción y disminuir el filtrado glomerular, en este trabajo hemos examinado el efecto de antagonistas específicos del PAF como el BN 52063 en un modelo agudo de nefrotoxicidad. Ratas Sprague-Dawley tratadas con ciclosporina (50 mg/kg/día) durante quince días presentaron nefrotoxicidad significativa con aumento de la creatinina sérica. El examen morfológico mostró un aumento de las células intersticiales en la corteza y la médula externa con lesiones exudativas en las arteriolas preglomerulares. El infiltrado intersticial estaba formado principalmente por células la^+ , macrófagos y linfocitos T. Las ratas tratadas con BN 52063 presentaron niveles séricos de creatinina en límites normales y ausencia, o muy discreta presencia, de infiltrados celulares intersticiales. No existió aumento en la producción de eicosanoides (PGE_2 y TxB_2) por los glomérulos aislados de ratas con nefrotoxicidad en relación a los controles. Estos resultados sugieren que el PAF podría ser uno de los mediadores responsables de la nefrotoxicidad inducida por la ciclosporina. Los antagonistas del PAF podrían ser de utilidad en la prevención de esa situación.

Palabras clave: **PAF. Nefrotoxicidad. Ciclosporina.**

ROLE OF PLATELET ACTIVATING FACTOR (PAF) ANTAGONISTS IN A RAT MODEL OF CYCLOSPORINE NEPHROTOXICITY

SUMMARY

The mechanisms of cyclosporine-induced nephrotoxicity are presently unclear. Since platelet activating factor (PAF) is able to cause renal vasoconstriction leading to a reduction in renal blood flow and glomerular filtration rate, in this work we have examined the effects of a specific PAF receptor antagonist, BN 52063, in an acute model of cyclosporine nephrotoxicity. Adult Sprague-Dawley rats were given 50 mg/kg/day per os for 15 days. Serum creatinine was elevated by day 7 and continued to rise until day 15. Morphologic examination of perfused kidney revealed an increase in interstitial mononuclear cells in the cortex and in the outer medulla and exudative lesions in the glomerular arterioles. The interstitial infiltrate was formed by la^+ cells, macrophages and T cells. The concomitant administration of BN 52063 (50 mg/kg/day per os) with cyclosporine prevented partially the increase in serum creatinine levels and diminished the presence of mononuclear interstitial cells. The production of eicosanoids (PGE_2 and TxB_2) by isolated glomeruli of rats with

Correspondencia: Dr. J. Egido.
Servicio de Nefrología.
Fundación Jiménez Díaz.
Avda. Reyes Católicos, 2.
28040 Madrid.

cyclosporine nephrotoxicity was in a similar range to that of control animals. These results suggest a role for PAF in the pathogenesis of cyclosporine-induced nephrotoxicity. PAF antagonists could be useful in the prevention of that complication.

Key words: **PAF. Nephrotoxicity. Cyclosporine.**

Introducción

La utilización de la ciclosporina (CsA) ha sido probablemente uno de los mayores avances en los últimos años en el tratamiento del rechazo del trasplante y de las enfermedades autoinmunes¹. La nefrotoxicidad de esta droga constituye, sin duda, su efecto adverso más importante². La comprensión de los mecanismos del daño renal por la CsA tiene, por tanto, una gran importancia clínica.

Los modelos animales de nefrotoxicidad aguda por CsA han dado resultados contradictorios, probablemente por la distinta susceptibilidad de las cepas de ratas empleadas y dosis de CsA administradas, entre otras razones³. En la mayoría de los modelos de nefrotoxicidad, sobre todo si duran un cierto tiempo, se observan alteraciones funcionales y estructurales renales³. Recientemente se ha sugerido que la vasoconstricción podría ser uno de los efectos observados más precozmente en la nefrotoxicidad aguda por CsA^{3, 6}.

El factor activador de las plaquetas (PAF) es un potente autacoide inflamatorio definido como 1-O-alkil-2-acetil-sn-glicerol-3-fosfolina^{7, 8}. La producción del PAF por varias células renales, además de por diversas células inflamatorias, sugiere que este mediador podría tener un papel preeminente en diversas situaciones fisiopatológicas⁹⁻¹². La infusión de PAF en la arteria renal induce una reducción dosis dependiente del flujo plasmático renal, del filtrado glomerular del volumen urinario y de la excreción de sodio^{13, 14}. Además es capaz de inducir aumento de la vasopermeabilidad glomerular¹³, contracción de las células mesangiales e incremento de la síntesis local de PGE₂¹⁵. Por todo ello, el PAF es un firme candidato para ser uno de los mediadores del daño renal inducido por la CsA.

En un modelo de nefrotoxicidad aguda inducida en ratas con dosis altas de CsA hemos estudiado el efecto de un antagonista específico de los receptores del PAF, BN 52063, sobre la función y las alteraciones morfológicas renales. La posible participación de algunos eicosanoides renales en el daño renal ha sido también considerada en este trabajo. Nuestros datos, mostrando un efecto beneficioso de los inhibidores del PAF sobre la nefrotoxicidad inducida por la ciclosporina, son similares a los publicados recientemente por Pirotzky

y cols.¹⁶ en un modelo de ratas espontáneamente hipertensas.

Material y métodos

Animales y tratamiento

Ratas Sprague-Dawley de 200-220 g. se guardaron en jaulas metabólicas con dieta estándar y agua «ad libitum». Unos días más tarde las ratas se distribuyeron al azar en tres grupos. A un grupo se le administraron 50 mg/kg/día de ciclosporina (Sandoz, Ltd, Basilea, Suiza) por vía oral, a otro grupo la misma dosis más 50 mg/kg/día del extracto de la Ginkgo biloba, BN 52063 (Institut Henri-Beaufour, Francia) por vía oral y al otro grupo el vehículo de la ciclosporina (aceite de oliva + 10 % de etanol), también por vía oral.

Examen de función renal

La creatinina sérica y el nitrógeno ureico sérico se determinaron por métodos estándar.

Estudios morfológicos e inmunohistoquímicos

A los días siete y quince, ratas de cada grupo se anestesiaron con pentobarbital sódico y los riñones fueron perfundidos a través de la aorta abdominal con 100 ml. de suero salino normal a 37° C. Las venas renales se abrieron para permitir el drenaje del líquido de perfusión. Posteriormente los riñones fueron extirpados y procesados para estudios histológicos e inmunohistoquímicos. La gran mayoría del tejido renal fue empleado, como se verá más abajo, para estudio de mediadores.

Para la microscopía óptica las muestras de riñón se fijaron en formol salino tamponado a pH 7,4 y cortes incluidos en parafina de 1 µm. se tiñieron con hematoxilina y eosina y ácido periódico de Schiff (PAS).

La identificación de infiltrados celulares intersticiales se realizó con la técnica de avidina-biotina peroxidasa en cortes de tejido congelados, empleando los siguientes anticuerpos monoclonales (Seralab, Crawley, Inglaterra): OX1, que identifica el antígeno leucocitario común; OX6, que reacciona con células Ia⁺; W3/13, que reacciona con las células T y los neutrófilos; W3/25, que identifica células T con actividad cooperadora y algunas células derivadas de los monocitos; OX8, que identifica células T supresoras/citotóxicas, y ED1, que identifica monocitos y macrófagos. La especificidad de esos anticuerpos

monoclonales se comprobó utilizando suero de ratón normal, IgG normal y líquido ascítico tumoral, conteniendo anticuerpos no relacionados, como se describe en otra parte¹⁷. La evaluación del infiltrado celular intersticial se realizó determinando el porcentaje de células teñidas positivamente en 10 áreas de infiltrados intersticiales escogidos al azar. La relación de células peroxidasa positivas con el número total de células infiltrantes se obtuvo usando un microscopio de luz convencional con objetivo (X63).

Ciclosporina sérica

Los niveles de ciclosporina sérica se determinaron por radioinmunoensayo comercial, empleando anticuerpos policlonales (Cyclo-Trac, Inestar Co. Minnesota, USA).

Aislamiento e incubación de los glomérulos

Los glomérulos renales se aislaron de acuerdo a técnicas previamente descritas basadas en la capacidad de los glomérulos de pasar a través de un filtro de 105 μm y ser retenidos en uno de 75 μm ¹⁸. La suspensión glomerular se obtuvo con una contaminación tubular menor del 3%. Los glomérulos aislados se incubaron durante sesenta minutos a 37° con agitación continua en 1 ml. de tampón, conteniendo Tris, 20 mM; ClNa, 130 mM; ClK, 10 mM; acetato sódico, 10 mM; Cl₂Ca, 2,5 mM, y glucosa, 5 mM; pH, 7,4. Las incubaciones se detuvieron por centrifugación a 300 g. durante tres minutos a 4°. Los sobrenadantes se recogieron y se congelaron hasta la determinación de las prostaglandinas.

Determinación de eicosanoides

Los niveles de PGE₂ y TxB₂ se midieron de los glomérulos aislados directamente en los sobrenadantes libres de proteínas mediante radioinmunoensayo sin previa extracción¹⁹.

Análisis estadístico

Los resultados mostrados se expresan como media \pm DSM. Los datos se analizaron por el test de Student. Valores de $p > 0,05$ se consideraron como no significativos.

Resultados

La administración de CsA produjo un aumento de la creatinina sérica, que fue más evidente a los quince días de tratamiento (fig. 1). Los animales a quienes simultáneamente se administró CsA y el antagonista del PAF, BN 52063, presentaron niveles más bajos de creatinina sérica (fig. 1).

Los cambios morfológicos renales estaban localizados en la parte externa de la corteza y de la médula y

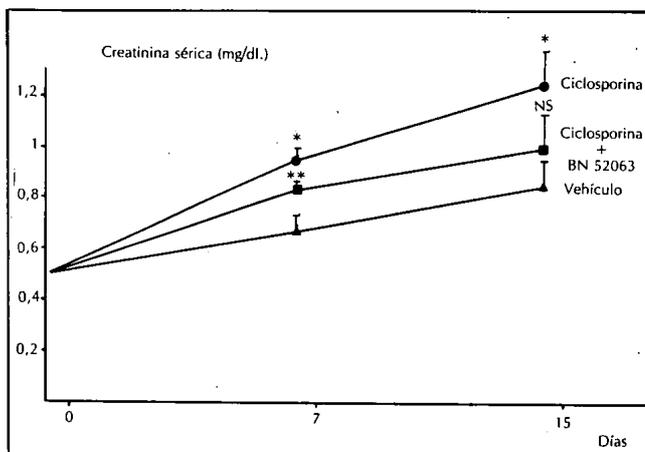


Fig. 1.—Niveles de creatinina sérica en los tres grupos de animales estudiados. * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$.

consistían en un incremento generalizado en el número de células en el intersticio (fig. 2) y pequeñas áreas focales de atrofia y vacuolización tubular. Existían además en algunas zonas lesiones exudativas de las arteriolas preglomerulares con reducción de la luz (fig. 3). La administración de la CsA durante cuatro semanas produjo amplias lesiones de fibrosis y atrofia corticomedular (no mostrado). Las células, mononucleares en su gran mayoría, se identificaron mediante anticuerpos monoclonales. Como se observa en la tabla 1, los animales inyectados con CsA presentaron un incremento de las células OX1 (antígenos leucocitarios comunes), siendo máximo a los quince días de tratamiento (fig. 4). Porcentualmente las células OX6 (Ia⁺) y la ED1 (monocitos y macrófagos) eran las más numerosas.

No hubo diferencias en los niveles plasmáticos de ciclosporina en los animales inyectados con CsA y los tratados con BN 52063 (fig. 5).

Para conocer la posible alteración de la síntesis de eicosanoides glomerulares por la CsA estudiamos la producción de PGE₂ y de TxB₂ por glomérulos aislados de animales tratados con ciclosporina y los inyectados con vehículo. Como se muestra en la figura 6, la CsA no indujo cambios significativos en la producción glomerular de PGE₂ y TxB₂, cuando se comparó con el vehículo, a los siete y quince días de estudio. Un patrón similar se observó en la síntesis de esos eicosanoides en animales a los que se administró simultáneamente CsA y BN 52063.

Discusión

Los datos presentados en este trabajo muestran que un antagonista del PAF, como el BN 52063, previene, al menos parcialmente, la nefrotoxicidad inducida por la administración de CsA durante quince días.

Los modelos «in vivo» de daño renal por la CsA en



Fig. 2.—Infiltrado inflamatorio intersticial cortical y vacuolización tubular (HE \times 450).

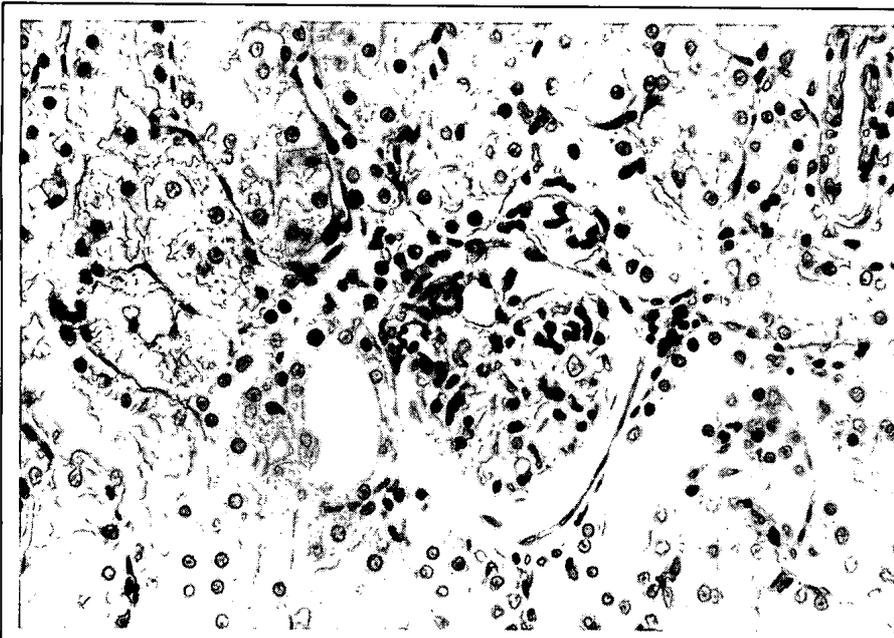


Fig. 3.—Arteriola preglomerular con lesiones exudativas (HE \times 450).

Tabla I. Infiltrados celulares intersticiales renales en ratas tratadas con ciclosporina

Grupo	OX1	OX6	W3/13	W3/25	OX8	ED1
Controles (n = 6)	23 \pm 4	15 \pm 3	16 \pm 3	12 \pm 3	5 \pm 2	6 \pm 2
Ciclosporina (n = 5) ...	92 \pm 30	52 \pm 22	40 \pm 14	26 \pm 14	19 \pm 10	31 \pm 16
Ciclosporina (n = 5) + BN 52063	47 \pm 12	30 \pm 12	21 \pm 3	16 \pm 5	8 \pm 4	14 \pm 13

ratas han sido relativamente difíciles de desarrollar, puesto que estos animales son bastante resistentes a los efectos adversos de este fármaco³. La dosis utili-

zada en nuestros estudios han sido alrededor de 10 veces la dosis de inmunosupresión empleada en los humanos. En nuestro modelo, bajo el punto de vista

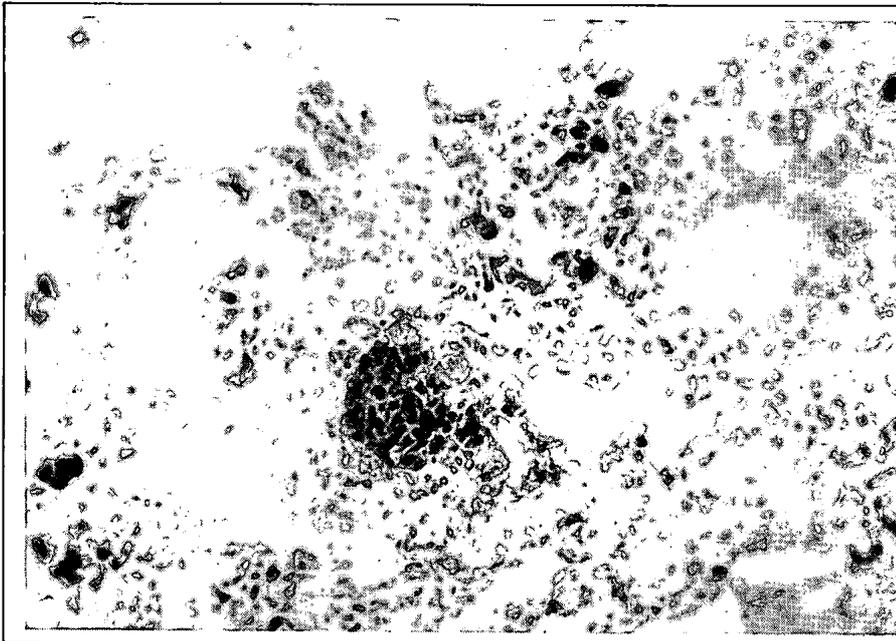


Fig. 4.—Infiltrado inflamatorio celular con predominio de células OX8⁺ (PO × 450).

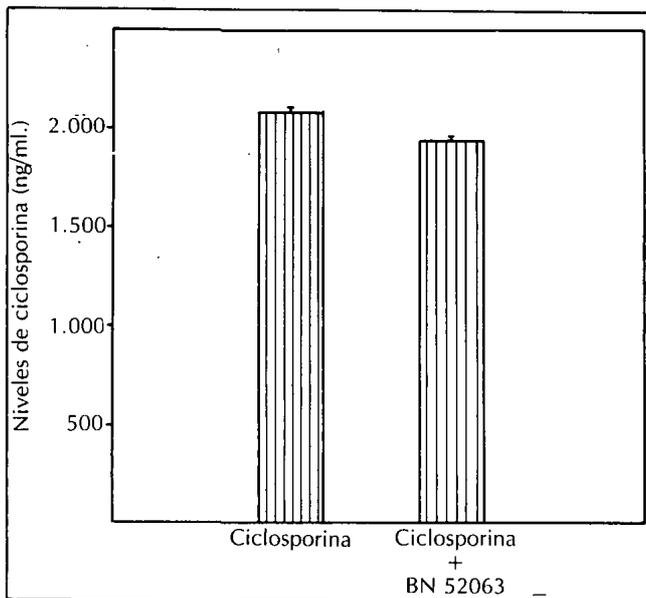


Fig. 5.—Niveles séricos de ciclosporina en el día siete.

morfológico, los riñones de los animales tratados con CsA mostraron cambios moderados, con infiltración del intersticio por células mononucleares, lesiones de exudación en las arteriolas preglomerulares con disminución de la luz y, en menor medida, áreas focales de atrofia tubular^{3, 19}. La prolongación de la administración de CsA durante cuatro semanas produjo amplias lesiones de fibrosis y atrofia corticomodular similares a las descritas por otros autores^{3, 16}.

La disminución de la función renal en ausencia de necrosis tubular significativa sugiere que la CsA no ejerce un efecto tóxico directo sobre las células epi-

teliales tubulares, sino que más bien, al menos primariamente, produciría alteraciones hemodinámicas renales. Recientemente, Barros y cols.⁶ han mostrado que la administración aguda de CsA produjo una disminución importante en el filtrado glomerular (FG) debido a un marcado incremento en las resistencias vasculares renales totales, que a su vez determinaron un descenso del flujo plasmático. Puesto que la CsA es capaz de estimular el sistema renina angiotensina «in vivo» e «in vitro»^{4, 20, 21} y las alteraciones hemodinámicas glomerulares comentadas arriba se asemejan a las producidas por la angiotensina II, se ha sugerido que esta hormona podría jugar un papel importante en la patogenia de la vasoconstricción producida por la CsA^{4, 22}. Sin embargo, los resultados de la administración de captopril en la prevención de la caída del FG y el FPR han sido contradictorios^{5, 6}. Además se ha demostrado en ratas que dosis medias de CsA aumentan la actividad de la renina plasmática (ARP) más efectivamente que las altas^{4, 21}, y que no existe relación entre las alteraciones morfológicas y el aumento de la ARP²¹.

Recientemente se ha mostrado que el tratamiento crónico con CsA induce un aumento selectivo en la excreción urinaria de TxB₂, coincidiendo con una disminución del FG^{23, 24}. Puesto que el TxA₂ es capaz de producir alteraciones hemodinámicas renales, se ha pensado que el TxB₂ podría ser uno de los mediadores de la vasoconstricción renal en la nefrotoxicidad por ciclosporina. Los datos presentados en este trabajo muestran que la producción de TxB₂ (el metabolito estable del TxA₂) por glomerulos aislados de ratas con nefrotoxicidad aguda de CsA no estaba significativamente aumentada en relación a los contro-

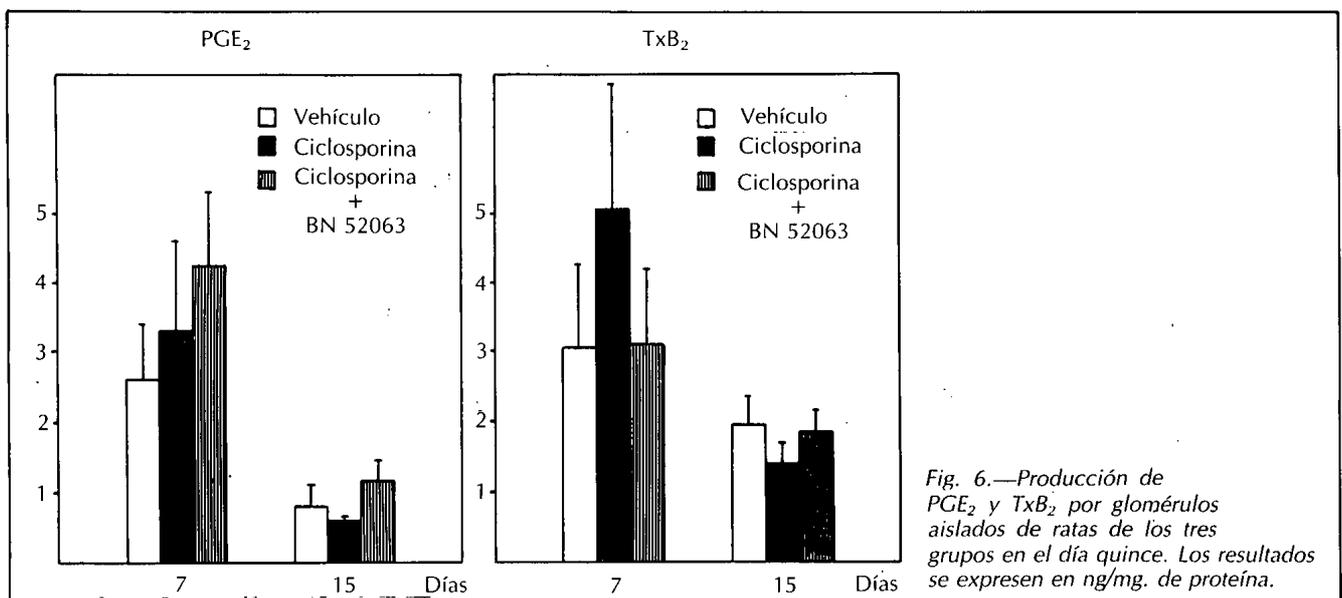


Fig. 6.—Producción de PGE₂ y TxB₂ por glomérulos aislados de ratas de los tres grupos en el día quince. Los resultados se expresan en ng/mg. de proteína.

les. Aunque no podemos descartar algún papel del TxB₂ en la nefrotoxicidad por CsA, no parece ser uno de los mediadores más importantes.

Nuestros datos empleando el BN 52063, un componente purificado de un extracto de un árbol empleado en la medicina tradicional china y que inhibe específicamente los receptores del PAF^{11, 25}, sugieren un papel para este mediador en la nefrotoxicidad por CsA.

Recientemente se ha empezado a considerar al PAF como un mediador importante en diversas situaciones fisiopatológicas renales⁹⁻¹². La infusión de PAF en la arteria renal produce vasoconstricción y provoca una disminución marcada del FG y de la fracción de filtración^{13, 14} completamente independiente de sus efectos sistémicos²⁶. El PAF induce la contracción de las células mesangiales en cultivo¹⁵ y disminuye el área glomerular²⁶, sugiriendo que este fosfolípido podría modular el FG no sólo por los efectos hemodinámicos intrarrenales o sistémicos, sino también modificando la superficie de filtración, es decir, reduciendo el K_f.

El PAF es producido por células inflamatorias, células endoteliales, mesangiales y células intersticiales renales⁹⁻¹². Puesto que el endotelio es considerado como la diana de la nefrotoxicidad de la ciclosporina en estadios iniciales, se puede especular que el PAF liberado por las células endoteliales, arteriolas y glomerulares podría actuar sobre las arteriolas pre y postglomerulares y las células mesangiales, provocando las alteraciones hemodinámicas renales comentadas más arriba. En resultados preliminares hemos observado que las ratas tratadas con ciclosporina tienen una eliminación de PAF significativamente elevada en relación a los controles. Es interesante además notar que otro ginkgolido, relacionado con

el utilizado en este trabajo, el BN 52021, inhibe los cambios en el área glomerular²⁷ y la producción de PGE₂ por las células mesangiales inducidos por PAF²⁸.

Los efectos beneficiosos de los antagonistas del PAF en nuestro modelo agudo de nefrotoxicidad por CsA se observaron tanto por mejoría de la función renal, medida por la creatinina sérica, significativamente más baja que en los animales a quienes sólo se administró CsA, como en las lesiones morfológicas. Los riñones de los animales tratados con BN 52063 no presentaron lesiones focales de atrofia tubular ni lesiones exudativas en las arteriolas preglomerulares. El infiltrado de células mononucleares en el intersticio renal fue notablemente inferior al de los animales tratados sólo con CsA.

Aunque el infiltrado de células mononucleares en la nefrotoxicidad por CsA es menos abundante y más focal que en el rechazo²⁹, estudios recientes en ratas con nefrotoxicidad aguda han mostrado un incremento importante en el número de células infiltrando la corteza y la médula renal¹⁹. Esta es la primera vez, en nuestro conocimiento, que el infiltrado intersticial es caracterizado mediante anticuerpos monoclonales en un modelo experimental de nefrotoxicidad por CsA. La disminución en aproximadamente el 50 % de su intensidad en animales tratados simultáneamente con BN 52063 recuerda lo observado en otros modelos de afectación intersticial, como en el modelo de nefropatía por adriamicina^{30, 31}, y sugiere que el PAF puede ser uno de los mediadores que intervienen a nivel renal en el reclutamiento celular inflamatorio.

El PAF estimula la liberación de otros mediadores, como los leucotrienos y las prostaglandinas en varios tipos de células y órganos. Así, se ha observado que

la infusión de PAF en riñones aislados de conejo o su incubación con células mesangiales «in vitro» provoca la liberación de PGE₂^{15, 32}. Por ello nuestro trabajo no descarta que la reducción del FG en el modelo agudo de nefrotoxicidad por CsA sea el resultado de la generación secuencial de varios mediadores de la inflamación u hormonas como la renina. Esto quizá explicaría los resultados parcialmente beneficiosos observados en otros modelos empleando diversos fármacos, como los inhibidores de la enzima de conversión o los antagonistas de los canales del calcio^{6, 33}. El BN 52063 es capaz, sin embargo, de disminuir notablemente las alteraciones morfológicas renales de atrofia tubular y fibrosis intersticial, que son muy manifiestas en el modelo de nefrotoxicidad por ciclosporina en ratas espontáneamente hipertensas³⁴.

Recientemente se ha sugerido que el PAF puede tener algún papel en el rechazo de órganos (revisión en 11, 12). Además los antagonistas del PAF, como el BN 52021 solo o en combinación con azatioprina o CsA, prolongan la supervivencia del corazón trasplantado³⁵. Estos datos, junto con la disminución de la nefrotoxicidad aguda por CsA observada con los antagonistas del PAF, sugieren que estas sustancias podrían tener interés en el trasplante de órganos. Sin embargo, teniendo en cuenta la existencia de daño vascular renal, probablemente inducido por la CsA, en pacientes trasplantados de corazón³⁶, en los próximos tiempos deben realizarse estudios en modelos crónicos de toxicidad, empleando antagonistas del PAF, solos o en combinación con otros fármacos

Agradecimientos:

Damos las gracias al Instituto Henri Beaufour (Les Plessis Robinson, Francia) y a los laboratorios Sandoz Ltd, Basilea, Suiza, por la donación del BN 52063 y la ciclosporina, respectivamente. El trabajo se ha realizado parcialmente con una ayuda del FIS y de la Fundación Iñigo Alvarez de Toledo. Paloma Hernando es becaria de esta última Fundación (FIAT).

Bibliografía

- Cohen DJ, Loertscher R, Rubin MF, Tilney NL, Carpenter CB y Strom TB: Cyclosporine: a new immunosuppressive agent for organ transplantation. *Ann Intern Med* 101:667-82, 1984.
- Kahan BB: Cyclosporine nephrotoxicity: Pathogenesis, prophylaxis, therapy and prognosis. *Am J Kidney Dis* 8:323-331, 1986.
- Experimental Cyclosporin A nephrotoxicity. An International workshop. *Clin Nephrol* 25:S-2-205, 1986.
- Siegl H, Ryffel B, Petric R, Shoemaker P, Muller A, Donatsch P y Mihatsch M: Cyclosporin, the renin-angiotensin-aldosterone system and renal adverse reactions. *Transplant Proc* 15:2719-2725, 1983.
- Murray BM, Paller MS y Ferris TF: Effect of cyclosporine administration on renal hemodynamics in conscious rats. *Kidney Int* 28:767-774, 1985.
- Barros EJG, Boim MA, Ajzen H, Ramos OL y Schor N: Glomerular hemodynamics and hormonal participation on cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 32:19-25, 1986.
- Benveniste J, Henson PM y Cochrane CG: Leucocyte-dependent histamine release from rabbits platelets. The role of IgE, basophils and a platelet-activating factor. *J Exp Med* 136:1356-1377, 1972.
- Benveniste J, Tence M, Varenne P, Bidault J, Boulet C y Polonsky J: Semisynthèse et structure proposé du facteur activant les plaquettes (PAF): PAF-acether, un alkyl ether analogue de la lysophosphatidylcholine. *CR Acad Sci Paris*, 289D:1037-1040, 1979.
- Camussi G: Potential role of platelet-activating factor in renal pathophysiology. *Kidney Int* 29:469-477, 1986.
- Schlondorff D y Neuwirth R: Platelet activating factor and the kidney. *Am J Physiol* 251:F1-F11, 1986.
- Braquet P, Touqui L, Shen TY y Vargaftig BB: Perspectives in platelet activating factor research. *Pharmacol Rev* 39:97-145, 1987.
- Pirotzky E, Egido J, Colliez P, Hosford D, Plante G y Braquet P: Involvement of platelet-activating factor in renal processes, in *Progress in lipids mediators*. R. Paoletti, ed. (in press, 1988).
- Pirotzky E, Page CP, Morley J, Bidault J y Benveniste J: Vascular permeability induced by PAF-acether (Platelet activating factor) in the isolated perfused rat kidney. *Agents and Actions* 16:17-18, 1985.
- Scherf H, Nies AS, Schwertschlag V, Hughes M y Gerber JE: Hemodynamic effects of platelet activating factor in the dog kidney in vivo. *Hypertension* 8:737-741, 1986.
- Schlondorff D, Satriano JA, Hagege J, Pérez J y Baud L: Effect of platelet-activating factor and serum treated zymosan on prostaglandin E₂ synthesis, arachidonic acid release and contraction of cultured rat mesangial cells. *J Clin Invest* 73:1227-1231, 1984.
- Pirotzky E, Colliez PH, Guilnard C, Schaeverbeke J y Braquet P: Cyclosporine induced nephrotoxicity: Preventive effect of a PAF-acether antagonist, BN 52063. *Transplant Proc* (in press, 1988).
- Mampaso F y Wilson CB: Characterization of inflammatory cells in autoimmune tubulointerstitial nephritis in rats. *Kidney Int* 23:448-454, 1983.
- Rodríguez Puyol D, Arriba G, Blanchart A, Santos JC, Caramelo C, Fernández Cruz A, Hernando L y López Novoa JM: Lack of a direct regulatory effect of atrial natriuretic factor on prostaglandin and renin release by isolated rat glomeruli. *Biochem Biophys Res Commun* 138:496-501, 1986.
- Chaumet-Riffaud PH, Oudinet JP, Sraer J, Lajotte CH y Ardaillou R: Altered PGE₂ and PGF₂ production by glomeruli and papilla of sodium-depleted and sodium-loaded rats. *Am J Physiol* 241:F517-524, 1981.
- Jackson NM, Hsu CH, Visscher GE y Venkatachalam MA: Alterations in renal structure and function in a rat model of cyclosporine nephrotoxicity. *J Pharmacol Exper Ther* 242:749-756, 1987.
- Baxter CR, Duggin GG, Willis NS, Hall BM, Horvarth JS y Tiller DJ: Cyclosporin A-induced increases in renin storage and release. *Res Commun Chem Pharmacol* 38:305-312, 1982.
- Pirotzky E, Colliez PH, Hosord D, Guilnard C, Egido J, Chabrier E y Braquet P: Effect of BN 52063 on alterations in blood pressure and renin activity induced by cyclosporine. In *Ginkgolides, Chemistry, Biology, Pharmacology and Clinical perspectives*. Ed. P. Braquet, 641-648, 1988.
- Perico N, Benigni A, Bosco E, Rossini M, Orisio S, Chilardi F, Piccinelli A y Remuzzi G: Acute cyclosporin A nephrotoxicity in rats which role for renin-angiotensin system and glomerular prostaglandins? *Clin Nephrol* 25:583-588, 1986.
- Perico N, Benigni A, Zoja C, Delaini F y Remuzzi G: Func-

- tional significance of exaggerated renal thromboxane A2 synthesis induced by cyclosporin A. *Am J Physiol* 251:F581-F587, 1986.
25. Coffman TM, Carr DR, Yarger WE y Klotman PE: Evidence that renal prostaglandin and thromboxane production is stimulated in chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation* 43:282-285, 1987.
 26. Braquet P: Involvement of PAF-acether in various immune disorders urine BN 52021 (ginkgolide B): a powerful PAF-acether antagonist isolated from ginkgo biloba L, in *Advances in Prostaglandin, Thromboxane and Leukotriene research*, vol. 16, 179-198, 1986. Zor Ed. Raven Press, New York.
 27. Sánchez Crespo M, Alonso F, Iñarrea P, Alvarez V y Egido J: Vascular actions of synthetic PAF-acether (a synthetic platelet activating factor) in the rat. Evidence for a platelet independent mechanism. *Immunopharmacology* 4:173-185, 1982.
 28. Arriba G, Barrio G, Hernando L, López-Novoa JM y Rodríguez Puyol D: Changes in glomerular cross-sectional area induced by platelet activating factor. *Nephrol Dial Transplant* 2:224-227, 1987.
 29. Neuwirth, Singhal P, Satriano JA, Braquet P y Schlondorff D: Effect of platelet-activating factor antagonists on cultured rat mesangial cells. *J Pharmacol Exp Therap* 243:409-414, 1987.
 30. Platt JL, Ferguson RM, Sibley RK, Gajl-Peczalska KJ y Michael AF: Renal interstitial cell populations in cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation* 36:343-346, 1983.
 31. Egido J, Robles A, Ortiz A, Ramírez F, González E, Mampaso F, Sánchez Crespo M, Braquet P y Hernando L: Role of platelet-activating factor in adriamycin induced nephropathy in rats. *Eur J Pharmacol* 138:119-123, 1987.
 32. Egido J, Ramírez F, Rodríguez MJ, Robles A, Ortiz A, Fierro MC, Mampaso M y Braquet P: The role of platelet activating factor (PAF) in glomerular kidney diseases. In *Progress in lipid mediators research*. Braquet Ed. Karger ES, 1988 (in press).
 33. Weisman SM, Felsen D y Vaughan ED: Platelet activating factor is a potent stimulus for renal prostaglandin synthesis: Possible significance in unilateral ureteral ligation. *J Pharmacol Exp Ther* 235:10-15, 1985.
 34. Dieperink M, Leyssac PP, Starklint H, Jorgensen KA y Kemp E: Antagonist capacities of nifedipine, captopril, phenoxybenzamine, prostacyclin and indomethacin on cyclosporin A induced impairment of rat renal function. *Eur J Clin Invest* 16:540-548, 1986.
 35. Foegh ML, Khirabaly BS, Rowles J, Braquet P y Ramwell PW: Prolongation of cardiac allograft survival with BN 52021, a specific antagonist of platelet-activating factor. *Transplantation* 42:86-88; 1986.
 36. Myers BD, Sibley R, Newton L, Tomlanovich SJ, Boshkos C, Stinson E, Luetscher JA, Whitney DJ, Krasny D, Coplon NS y Perloth MG: The long-term course of cyclosporine-associated chronic nephropathy. *Kidney Int* 33:590-600, 1988.