

## EDITORIALES

### El lípido polar antihipertensivo de la médula renal. Un viejo problema con nuevas perspectivas

M. SANCHEZ CRESPO

Servicio de Nefrología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

La idea de que el riñón pueda desempeñar una actividad antihipertensiva ha estado presente en la literatura desde hace varios años<sup>1,2</sup>; sin embargo, sus bien conocidas actividades presoras, ejercidas a través del sistema renina-angiotensina y de la retención de Na en ciertas circunstancias, han merecido más atención en los últimos tiempos. Esto se ha debido en gran parte a la incapacidad de poder relacionar el poder antihipertensivo del riñón con sustancias de naturaleza química conocida. Sin embargo, trabajos más recientes han permitido establecer cuáles son las sustancias que pueden contribuir a desempeñar esta función, sus mecanismos de síntesis, su origen celular y sus acciones biológicas. Además se ha determinado que alguno de estos compuestos puede ser liberado por otros órganos frente a estímulos específicos, y contribuir a regular otros fenómenos fisiológicos que ocurren paralelamente a los cambios en la homeostasis vascular.

Los trabajos de MUIRHEAD<sup>3-5</sup> han sido los primeros que han demostrado de forma concluyente que las células intersticiales de la médula renal generan actividad antihipertensiva por su capacidad para segregar sustancias con poder vasodilatador. Estas sustancias son de naturaleza lipídica y se clasifican en dos grupos de acuerdo con sus características cromatográficas y de solubilidad: lípido antihipertensivo renomedular neutro o ANRL<sup>6</sup> y lípido antihipertensivo renomedular polar o APRL<sup>7</sup>.

Cuando se inyecta por vía intravenosa el ANRL no se observa ningún efecto durante los dos primeros minutos, pero transcurrido este tiempo, la tensión arterial se reduce lentamente durante 15-60 minutos para volver a alcanzar más tarde su nivel basal. La inyección de APRL induce en el animal hipertenso, al igual que en el normotenso, una caída rápida e intensa de la presión arterial, cuya magnitud y duración dependen de la dosis. Existían discrepancias en cuanto a asignar un papel biológico a estos compuestos, pues no se sabía si existían de forma natural o si, por el contrario, son productos semisintéticos generados durante el proceso de extracción y purificación. El grupo de MUIRHEAD<sup>8</sup> ha señalado que el ANRL se encuentra en el efluente venoso de riñones de ratas hipertensas y por esta razón considera al ANRL un compuesto endógeno que desempeña un papel en la regulación de la tensión arterial. Contrariamente, el APRL

sólo se encontraría en el tejido renal tras reducción con Vitride® (Na AlH<sub>2</sub> (OCH<sub>2</sub> OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y acetilación. Por este motivo lo han considerado un vasodilatador semisintético; pero, como veremos, este punto de vista debe ser modificado.

En el otoño de 1979 tres grupos de investigadores publicaron separadamente y partiendo de supuestos distintos la estructura química del APRL. El primero de ellos, BLANK y cols.<sup>9</sup>, propuso como estructura el compuesto 1-O-alkil-2-acetil-*sn*-glicero-3-fosfololina, basándose en el hecho de que este compuesto obtenido por un procedimiento semisintético a partir de fosfolípidos de corazón de buey poseía las mismas acciones biológicas y las mismas propiedades químicas que el APRL. La trascendencia de este hallazgo superaba la, ya de suyo importante, de esclarecer la composición química del APRL, pues se trataba de la primera descripción de un eterglicerofosfolípido con actividad biológica. En publicaciones sucesivas<sup>7</sup> se establecieron los requerimientos estructurales indispensables para que el compuesto desarrollase su acción biológica. Así, la sustitución del enlace éter por una unión éster en la primera cadena alquílica conlleva la pérdida de actividad, al igual que la eliminación del grupo acetilo o su intercambio por una cadena alquílica de mayor longitud.

Al mismo tiempo que BLANK y cols.<sup>9</sup>, BENVENISTE y cols.<sup>10</sup> y DEMOPOULOS y cols.<sup>11</sup> determinaron que la misma estructura química era la que correspondía al factor activador de las plaquetas; un mediador de las reacciones inflamatorias, generado por leucocitos de distintas especies animales<sup>12-15</sup>, que es el agente con mayor capacidad para inducir la agregación y la reacción de liberación en plaquetas de conejo y humanas de cuantos se conocen<sup>12,16</sup>.

Tras estos hallazgos se ha hecho necesario replantear la significación biológica del APRL o factor activador de las plaquetas desde los siguientes supuestos: cuáles son sus fuentes naturales, cuáles los mecanismos por los que se sintetiza, cómo se regula su síntesis, cuáles son sus acciones biológicas y qué papel desempeña en patología renal.

Es necesario también poner un cierto orden en la terminología, pues nos encontramos ante un compuesto con distintas acciones biológicas, cuyo conocimiento se ha desarrollado en forma paralela y por lo tanto no convergente. Parece obligado, pues, preferir la terminología química a la meramente descriptiva de acciones biológicas, y en lo que sigue nos referiremos al compuesto co-

Correspondencia: Dr. M. Sánchez Crespo.  
Servicio de Nefrología.  
Fundación Jiménez Díaz. Avda. Reyes Católicos, 2.  
Madrid-3.

mo alquil-acetil-glicero-fosfolina o alquil-acetil-GPC, restringiendo el término PAF o PAF-acéter para aquellas situaciones en que, si bien existe evidencia suficiente de que se trata de este compuesto, no existe aún certeza absoluta de que no pueda mostrar alguna pequeña variación estructural.

### Fuentes naturales de alquil-acetil-GPC

Este aspecto ha revestido tintes de controversia porque no todas las especies animales se comportan de igual forma. En el conejo son los polimorfonucleares basófilos las células que liberan una mayor cantidad de alquil-acetil-GPC, y esto en respuesta a estímulos anafilácticos<sup>12</sup>. Sin embargo, el basófilo humano ha perdido esta capacidad y son los polimorfonucleares neutrófilos y los monocitos las células que pueden liberar alquil-acetil-GPC en respuesta a estímulos específicos, fundamentalmente partículas fagocitables<sup>14</sup>. El tejido renal representa en conejo y rata<sup>3-5,17</sup> una fuente importante de alquil-acetil-GPC y en el hombre puede postularse que las células renales liberan este compuesto, puesto que en la orina humana hemos podido demostrar con criterios químicos y biológicos la presencia de un fosfolípido análogo al alquil-acetil-GPC<sup>18</sup>.

### Síntesis de alquil-acetil-GPC

La síntesis de alquil-acetil-GPC requiere la participación de enzimas específicas que generan el compuesto. En homogeneizados de hígado, riñón y bazo, SNYDER y cols.<sup>19,20</sup> demostraron dos enzimas que podrían sintetizar alquil-acetil-GPC. El primero de ellos utiliza como sustratos alquil-acetil-glicerol y citidin-difosfo-colina, y el segundo inserta un grupo acetilo donado por el acetil-CoA en el compuesto alquil-liso-GPC. Nuestro grupo ha demostrado que ambas enzimas se encuentran en neutrófilos humanos<sup>21</sup>, pero sólo la acetiltransferasa se activa durante el proceso de síntesis de alquil-acetil-GPC que se desencadena por estímulos específicos tales como partículas fagocitables o ionóforo. La acetiltransferasa se ha encontrado también en macrófagos peritoneales de rata<sup>22</sup> y existe evidencia indirecta de que la vía de acetilación se utiliza también para la síntesis de alquil-acetil-GPC en plaquetas de conejo<sup>23</sup>. Este hecho tiene especial importancia al compararlo con lo que ocurre cuando se generan mediadores lipídicos de cualquiera de las dos familias conocidas: prostaglandinas y leucotrienos. Estos compuestos se forman a partir del ácido araquidónico, que a su vez es liberado de los fosfolípidos de membrana por la acción del enzima fosfolipasa A2. Este enzima no discrimina en cuanto a sus sustratos y es activo tanto sobre diacilglicerofosfolípidos como sobre alquil-acil-glicerofosfolípidos. Cuando el sustrato es este último, además de ácido araquidónico se obtiene alquil-

liso-GPC, que es el sustrato adecuado para que el enzima acetiltransferasa genere alquil-acetil-GPC.

### Regulación de la síntesis de alquil-acetil-GPC

El alquil-acetil-GPC no se sintetiza de forma continua en los órganos en los que se han encontrado los enzimas que pueden generarlo. Esto es así porque sus potentes actividades biológicas pondrían en peligro al individuo si el compuesto se generara continua e indiscriminadamente.

El control de la síntesis de alquil-acetil-GPC se ha estudiado fundamentalmente en polimorfonucleares por dos razones principales. Es una población que puede obtenerse fácilmente con poca contaminación, y puede estimularse en condiciones de integridad celular que difícilmente pueden conseguirse en el caso de homogeneizados de órganos. Nuestro grupo ha encontrado que los niveles intracelulares de AMP cíclico modulan la liberación de alquil-acetil-GPC en respuesta a estímulos fagocitarios<sup>24</sup>. Esto se pone de manifiesto desde un doble punto de vista, durante la secreción de alquil-acetil-GPC hay una elevación precoz de los niveles intracelulares de AMP cíclico, y los fármacos que modifican los niveles intracelulares de AMP cíclico son capaces de bloquear la respuesta secretoria de la célula.

Cambios en la metilación de fosfolípidos acompañan a la liberación de alquil-acetil-GPC en el polimorfonuclear humano, y la modificación farmacológica con homocisteinilactona y deazoadenosina de estas metilaciones permite aumentar la liberación de alquil-acetil-GPC en respuesta a estímulos fagocitarios<sup>25</sup>.

La formación de fosfatidilcolina por la vía de la fosfolinatransferasa también guarda relación con la secreción de alquil-acetil-GPC<sup>26</sup> y recientemente hemos encontrado que drogas como la dansylcadavenina, amantadina y rimantadina, que bloquean la internalización de receptores, inhiben también la síntesis de alquil-acetil-GPC<sup>34</sup>.

La conclusión de todos estos datos puede sintetizarse como sigue: durante la estimulación de los polimorfonucleares se activan distintos procesos celulares, los cuales pueden modularse por mecanismos fisiológicos y farmacológicos que conducen a modificar la liberación de alquil-acetil-GPC. Puede suponerse que alguno de estos mecanismos pueda influir también sobre el parénquima renal, regulando la liberación de alquil-acetil-GPC.

### Acciones biológicas del alquil-acetil-GPC

El alquil-acetil-GPC es capaz de desempeñar un número crecido de acciones biológicas. Dos de ellas han recibido mayor atención que los restantes, a saber: su

capacidad de inducir agregación y reacción de liberación en plaquetas y su poder hipotensor. La acción sobre las plaquetas, en el caso del conejo, se observa con concentraciones del orden de  $10^{-11}$  M, lo que hace que este compuesto sea el estímulo plaquetario más potente de los conocidos hasta la fecha. Su acción es extremadamente rápida y se desencadena siguiendo la interacción del compuesto con un receptor específico de la superficie plaquetaria (P. M. HENSON, comunicación personal).

La acción hipotensora se observa en animales de experimentación cuando se administra el compuesto por vía oral o por vía intravenosa. Recientemente hemos observado<sup>27,28</sup> que en la acción hipotensora pueden discriminarse dos componentes. El primero de ellos, al que denominamos efecto hipotensor precoz, depende de la relajación rápida de la musculatura arteriolar y se caracteriza por una caída brusca de las resistencias periféricas. Cuando se administran dosis mayores, el efecto hipotensor es más prolongado y se correlaciona con la depleción del volumen intravascular. Esta depleción es muy llamativa y depende de otra acción del compuesto: su capacidad de aumentar la permeabilidad vascular, que hace que una fracción importante del volumen intravascular pase rápidamente al espacio intersticial y a las cavidades serosas. Este hecho lo hemos comprobado al observar que la albúmina marcada con <sup>125</sup>I inyectada en la circulación, previamente a la infusión de alquil-acetil-GPC, abandona rápidamente el espacio intravascular para concentrarse en los tejidos y en el líquido ascítico. Asociada con estas acciones hemodinámicas, se encuentra la capacidad del compuesto para redistribuir el gasto cardiaco, disminuyendo el flujo sanguíneo en el riñón y en el bazo<sup>28</sup>.

El alquil-acetil-GPC es quimiotáctico para polimorfonucleares y monocitos e induce en estas células la secreción del contenido de sus gránulos lisosomiales<sup>29</sup>. En el corazón aislado de cobaya induce la caída del flujo coronario, la disminución de la fuerza contráctil y la aparición de una variedad de trastornos del ritmo<sup>35</sup>.

### El alquil-acetil-GPC en el riñón

El parénquima renal ha sido históricamente la fuente más antigua de alquil-acetil-GPC. Sin embargo, el desconocimiento de su estructura química ha impedido que se haya podido relacionar la liberación de este compuesto desde el riñón a la circulación sistemática con al menos una parte de la actividad antihipertensiva del riñón. MUIRHEAD<sup>8</sup> en una publicación reciente considera que es el lípido polar neutro el que se libera por el riñón de forma natural. Sin embargo, PIROTZKY y cols. han obtenido alquil-acetil-GPC en el efluente venoso de riñones de rata inmunizada, al perfundirlos con el antígeno específico y con el ionóforo A23187 (Eli-Lilly). Nuestro grupo ha escogido un abordaje más simple estudiando con criterios

químicos y biológicos orina de 15 sujetos normotensos y de 3 pacientes con lupus eritematoso diseminado que tenían proteinuria masiva por glomerulopatía lúpica<sup>18</sup>. En todos los sujetos normales encontramos cantidades detectables de un compuesto fosfolipídico que presentaba las siguientes analogías con el alquil-acetil-GPC sintético:

- 1) Idéntico comportamiento cromatográfico en capa fina en las siguientes mezclas de solventes orgánicos: Cloroformo, metanol, agua (65:35:4; v/v). Cloroformo, metanol, ácido acético, agua (60:35:1:8; v/v). Cloroformo, metanol, hidróxido amónico (70:30:5; v/v). Cloroformo, agua, propanol, ácido propiónico (1:1:2:2; v/v).
- 2) Sensibilidad al tratamiento con fosfolipasas A2, C y D.
- 3) Capacidad para agregar las plaquetas de conejo con desarrollo de desensibilización cruzada entre el compuesto sintético y el factor aislado de la orina.
- 4) Capacidad para inducir hipotensión que desaparece con el tratamiento por metanol alcalino.

En los enfermos de lupus eritematoso la cantidad de alquil-acetil-GPC presente en la orina era muy superior a la observada en sujetos normales.

Con la lógica reserva que requiere el saber que no son términos idénticos presencia en orina y liberación sistémica por el riñón, estos datos proporcionan la primera evidencia de que el riñón humano puede liberar en condiciones normales un nuevo compuesto capaz de desempeñar un papel importante en la homeostasis cardiovascular, promoviendo la dilatación del sistema arteriolar, la distribución del gasto cardiaco y la permeabilidad del sistema venocapilar.

### El alquil-acetil-GPC en la patología renal

Del análisis de las fuentes de este compuesto, así como de la consideración de sus acciones biológicas, puede deducirse que sea capaz de desempeñar un papel importante en dos grupos de enfermedades en las que la afectación renal es relevante: la patología por inmunocomplejos y la hipertensión arterial.

La enfermedad aguda del suero del conejo constituye uno de los modelos que más han contribuido a nuestro conocimiento de las enfermedades por inmunocomplejos y fue en este proceso donde se describió por vez primera el mediador de la inflamación que conocemos hoy como alquil-acetil-GPC. BENVENISTE, HENSON y COCHRANE<sup>12</sup> establecieron que sólo aquellos conejos cuyos basófilos degranulaban y liberaban alquil-acetil-GPC en el curso de la enfermedad desarrollaban glomerulonefritis. La interpretación completa de este hecho debe hacerse como sigue: la liberación de alquil-acetil-GPC favorece, bien por sus acciones directas sobre la pared vascular, bien a

través de sus acciones sobre polimorfonucleares y plaquetas, los cambios hemodinámicos y de vasopermeabilidad necesarios para que los inmunocomplejos circulantes puedan depositarse en el interior de las paredes vasculares y de las membranas basales glomerulares.

Trabajos de nuestro grupo han demostrado que fenómenos similares ocurren en un modelo crónico de enfermedad del suero en la rata<sup>30</sup>, y cómo la liberación de un factor activador de plaquetas en algún momento de la enfermedad es responsable del cambio de patrón de depósito de los inmunocomplejos. Así, durante las fases iniciales de la enfermedad sólo se demuestran inmunoreactantes en el mesangio. Posteriormente, coincidiendo con la aparición de proteinuria y la liberación de factor activador de las plaquetas, se produce el depósito de inmunocomplejos en la membrana basal glomerular. Algo muy distinto ocurre en la nefritis de Heymann de las ratas. En esta enfermedad, la formación de los complejos ocurre «in situ» y no es necesario que se desarrolle aumento de vasopermeabilidad<sup>31</sup>. También hemos comprobado que la infusión de inmunoagregados de IgG en el ratón, seguido de la administración de alquil-acetil-GPC, induce un marcado aumento de vasopermeabilidad, que hace que los agregados se aclaren más rápidamente de la circulación y se acumulen en los vasos de la piel. Cuando el aumento de vasopermeabilidad desaparece, los inmunoagregados vuelven de nuevo a la circulación<sup>32</sup>. En otros experimentos la infusión de agregados de IgG en ratones normales es seguido de un aumento de permeabilidad capaz de reducir el volumen circulante en un 24 %. Estos cambios son precedidos por la liberación de factor activador de plaquetas por los fagocitos mononucleares del hígado y del bazo. Cuando los animales son previamente deplecionados de los fagocitos, se suprimen los cambios de permeabilidad que siguen a la infusión de los agregados y la liberación de factor activador de plaquetas en el hígado y en el bazo<sup>33</sup>.

Todos estos hechos sugieren que el alquil-acetil-GPC y, probablemente, mediadores análogos, juegan un papel importante en la distribución de los inmunocomplejos entre la circulación y las membranas filtrantes, y por lo tanto, en el desarrollo de los fenómenos inflamatorios característicos de las enfermedades por depósito tisular de inmunocomplejos.

La participación del alquil-acetil-GPC en la hipertensión arterial o en las alteraciones del funcionamiento renal en procesos como la cirrosis hepática, es en la actualidad pura especulación, pero si no se ha llegado aún a la confirmación experimental de alguna de las hipótesis posibles es porque el tema es tan reciente que aún está esperando a quien pueda desarrollarlo.

#### AGRADECIMIENTO

Este trabajo ha sido realizado en parte gracias a una ayuda de la Fundación Alvarez Toledo.

#### BIBLIOGRAFIA

1. GOLDBLATT, H.; LYNCH, J.; HANZAL, R. F., y SUMERVILLE, W. W.: «Production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia». *J. Exp. Med.*, 59: 347-362, 1934.
2. MUIRHEAD, E. E.: «Antihypertensive functions of the kidney». *Hypertension*, 2: 444-464, 1980.
3. MUIRHEAD, E. E.; BROWN, G. B.; GERMAIN, G. S., y LEACH, B. E.: «The renal medulla as an antihypertensive organ». *J. Lab. Clin. Med.*, 76: 641-652, 1970.
4. MUIRHEAD, E. E.; BROOKS, B.; PITCOCK, J. A.; STEPHENSON, P., y BROSIUS, W. L.: «Role of the renal medulla in the sodium-sensitive component of renovascular hypertension». *Lab. Invest.*, 27: 192-197, 1972.
5. MUIRHEAD, E. E.; BROOKS, B.; PITCOCK, J. A., y STEPHENSON, P.: «Renomedullary antihypertensive function in accelerated (malignant) hypertension: Observations of renomedullary interstitial cells». *J. Clin. Invest.*, 51: 181-195, 1972.
6. MUIRHEAD, E. E.; LECH, B. E.; BYESS, L. W.; BROOKS, B.; DANIELS, E. G., y HINWAN, J. W.: «Antihypertensive renomedullary lipids (ANRL)». In *Kidney hormones*, edited by Fisher, J. W. Academic Press Inc. New York, p. 485, 1971.
7. PREWITT, R. L.; LEACH, B. E.; BYERS, L. W.; BROOKS, B.; LANDS, W. E., y MUIRHEAD, E. E.: «Antihypertensive polar renomedullary lipid, a semisynthetic vasodilator». *Hypertension*, 1: 299-308, 1979.
8. MUIRHEAD, E. E.; BYERS, L. W.; DESIDERIO, D. M.; PITCOCK, J. A.; BROOKS, P. S., y BROSIUS, W. L.: «Derivation of antihypertensive neutral renomedullary lipid from renal venous effluent». *J. Lab. Clin. Immunol.* 99: 64-75, 1982.
9. BLANK, M. L.; SNYDER, F.; BYERS, L. W.; BROOKS, B., y MUIRHEAD, E. E.: «Antihypertensive activity of an alkyl ether analog of phosphatidylcholine». *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 90: 1194-1201, 1979.
10. BENVENISTE, J.; TENCE, M.; VARENNE, P.; BIDAULTS, J.; BOULLET, J., y POLOUSKI, J.: «Semi-synthese et structure proposée du facteur activant les plaquettes (P.A.F.): PAF-acether, un alkyl ether analog de la lysophosphatidylcholine». *CR. Acad. Sci. (Paris)*, 289: 1037, 1040, 1979.
11. DEMOPOULOS, C. A.; PINCKARD, R. N., y HANAHAN, D. J.: «Platelet-activating factor: evidence for 1-O-alkyl-2-sn-glycerol-3-phosphorylcholine as the active component (a new class of lipid chemical mediators)». *J. Biol. Chem.*, 254: 9355-9358, 1979.
12. BENVENISTE, J.; HENSON, P. M., y COCHRANE, C. G.: «Leukocyte-dependent histamine release from rabbit platelets». *J. Exp. Med.*, 136: 1356-1377, 1972.
13. LOTNER, G. L.; LYNCH, J. M.; BETZ, S. J., y HENSON, P. M.: «A platelet activating factor derived from human neutrophils». *J. Immunol.*, 124: 676-681, 1980.
14. SANCHEZ CRESPO, M.; ALONSO, F., y EGIDO, J.: «Platelet-activating factor in anaphylaxis and phagocytosis. Release from human polymorphonuclears and monocytes by ionophore A23187 and phagocytosis, but not from degranulating basophils». *Immunology*, 40: 645-655, 1980.
15. MENCIA-HUERTA, J. M., y BENVENISTE, J.: «Platelet-activating factor and macrophages. Evidence for the release from rat and mouse macrophages and not from mastocytes». *Europ. J. Immunol.*, 90: 409-415, 1979.
16. MC MANUS, L. M.; HANAHAN, D. J., y PINCKARD, R. N.: «Human platelet stimulation by acetyl glyceryl ether phosphorylcholine». *J. Clin. Invest.*, 67: 903-906, 1981.
17. PIROTZKY, E.; MISUMI, J.; BOULLET, C., y BENVENISTE, J.: «Libération du facteur activant les plaquettes (PAF-acether) par perfusion du rein isole de rat». *CR. Acad. Sci. (Paris)*, 290: 1079-1083, 1980.
18. SANCHEZ CRESPO, M.; IÑARRREA, P.; ALVAREZ, V.; ALONSO, F.; EGIDO, J., y HERNANDO, L.: «Presence in normal human urine of a hypotensive and platelet-activating phospholipid». *Am. J. Phys. (F)*, 244: 706-711, 1983.
19. WICKLE, R. L.; MALONE, B., y SNYDER, F.: «Biosynthesis of 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphocholine. A hypotensive and platelet-activating phospholipid». *J. Biol. Chem.*, 225: 10256-10260, 1980.
20. RENOOG, W., y SNYDER, F.: «Biosynthesis of 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphocholine (Platelet-activating-factor), a hypotensive lipid by cholinephosphotransferase in various rat tissues». *Biochem. Biophys. Acta*, 663: 545-556, 1981.
21. ALONSO, F.; GARCIA-GIL, M.; SANCHEZ CRESPO, M., y MATO, J. M.: «Activation of alkyl-lyso-phosphocholine: acetyl CoA transferase during phagocytosis in human polymorphonuclear leukocytes». *J. Biol. Chem.*, 257: 3376-3378, 1982.
22. NINNIO, E.; MENCIAHUERTA, J. M.; HEYMANS, F., y BENVENISTE, J.: «Biosynthesis of platelet-activating factor. I. Evidence for an acetyl-transferase activity in murine macrophages». *Biochem. Biophys. Acta*, 710: 23-32, 1982.
23. CHAP, H.; MANCO, G.; SIMON, M. F.; BENVENISTE, J., y DOUSTE-Blazy, L.: «Biosynthetic labeling of platelet-activating factor from radioactive acetate by stimulated platelets». *Nature*, 289: 312-314, 1981.

24. ALONSO, F.; SANCHEZ-CRESPO, M., Y MATO, J. M.: «Modulatory role of cyclic AMP in the release of platelet-activating factor from human polymorphonuclear leukocytes». *Immunology*, 45: 493-500, 1982.
25. GARCIA-GIL, M.; ALONSO, F.; SANCHEZ-CRESPO, M., y MATO, J. M.: «Inhibition of phospholipid methyltransferase during zymosan-induced secretion of platelet-activating factor in human polymorphonuclear leukocytes». *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 101: 740-748, 1981.
26. GARCIA-GIL, M. ALONSO, F. ALVAREZ CHIVA, v.; SANCHEZ-CRESPO, M., y MATO, J. M. «Phospholipid turnover during phagocytosis in human polymorphonuclear leukocytes». *Biochem. J.*, 206 67-72, 1982.
27. SANCHEZ-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. SANCHEZ-CRESPO, M.; ALONSO, F.; IÑARREA, P., y EGIDO, J.: «Non-platelet mediated vascular actions f PAF». *Agents Actions*, 11: 565-567, 1981.
29. GOETZL, E. J.; DERIAN, C. K.; TANBER, A. I., y VALONE, F. J.: «Novel effects of 1-O-hexadecyl-2-acyl-sn-glycerol-3-phosphocholine mediators on human leukocyte function: delineation of the specific roles of the acyl substituents». *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 94 88-887, 1980.
30. SANCHEZ-CRESPO, M.; ALONSO, F.; BARAT,A., y EGIDO, J. «Rat serum sickness: local release of inflammatory mediators a allos deposition of immune complexes in the glomerular basement membrane». *Clin. Exp. Immunol.*, 49: 631-638, 1982.
31. EGIDO, J.; ALONSO, F.; SANCHEZ CRESPO, M.; BARAT, A., y HERNANDO, L. Absence of an anaphylactic vasopermeability mechanism for immune complex deposition in the Heymann nephritis of rats». *Clin. Exp Immunol.*, 42: 99-106, 190.
32. SANCHO, J. RIVERA, F.; SANCHEZ CRESPO, M., y EGIDO, J.: Effect of the infusion of synthesis PAF-acether on the fate of immune aggregates in mice». *Immunology*, 47 643-653, 1982.
33. IÑARREA P.; ALONSO,F., y SANCHEZ CRESPO, M.: «Platelet-activating factor: on effector substance of the permeability changes induced by the infusion of inmunoaggregates in the mice». *Immunopharmacology*, 6: 7-14, 1983.
34. GARCIA GIL, M., y SANCHEZ CRESPO, M.: «Dansylcadaverine and Rimantadine inhibition of phagocytosis, PAF-acether release and phosphatidylcholine synthesis en the human polymorphonuclear leukocyte». *Immunopharmacology*, 6: 317-325, 1983.
35. DELGADO, C.; SANCHEZ CRESPO, M.; TAMARGO, J., y TEJERINA, T.: «Electrophysiological actions of platelet activating factor on Guinea-pig papillary muscles». *Br. J. Pharmacol.*, 79: 239P, 1983.