

ORIGINALES

Acciones del lípido polar antihipertensivo de la médula renal (factor activador de las plaquetas) sobre el sistema vascular

M. SANCHEZ CRESPO, F. ALONSO, P. IÑARREA, J. GOMEZ-CAMBRONERO, V. ALVAREZ y L. HERNANDO.

Servicio de Nefrología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

RESUMEN

Puesto que las plaquetas de rata no responden con la liberación de ^3H -serotonina frente al PAF-acéter sintético a concentraciones de hasta $10\ \mu\text{g/ml.}$, la rata, al contrario del conejo, se consideró un modelo apropiado para estudiar las acciones del PAF-acéter no mediadas por la activación de plaquetas y la liberación subsecuente de sus mediadores inflamatorios. Hemos desarrollado una aproximación experimental usando microesferas marcadas con ^{57}Co y ^{113}Sn para determinar el efecto del PAF-acéter sobre el gasto cardiaco, la resistencia vascular periférica y los flujos y resistencias regionales. El efecto sobre la permeabilidad vascular y el volumen sanguíneo fue estudiado por la medida del aclaramiento de ^{125}I -HSA y las variaciones del hematócrito. Una caída significativa de la presión sanguínea y de la resistencia vascular periférica se halló con dosis de PAF-acéter de $0,05$ a $5\ \mu\text{g}$. Las dosis más altas de PAF-acéter indujeron también una depleción marcada del volumen sanguíneo. Se observó un descenso significativo en los flujos regionales esplénico, coronario y renal, pero no en el gasto cardiaco. Estos resultados muestran que el PAF-acéter, por sí mismo, induce una caída en la resistencia vascular periférica y a dosis más altas también en el volumen circulante, contribuyendo ambas al efecto hipotensor. La redistribución del gasto cardiaco parece ser la expresión de una acción no uniforme del compuesto sobre la resistencia vascular de los diferentes órganos.

Palabras clave: Factor activador de las plaquetas. Lípido polar antihipertensivo de la médula renal. Hipertensión. Alquil-acetil-glicero-fosfolina.

VASCULAR ACTIONS OF THE ANTIHYPERTENSIVE RENOMEDULLARY POLAR LIPID (PLATELET ACTIVATING FACTOR)

SUMMARY

Since rat platelets fully responsive to thrombin and collagen did not respond by releasing ^3H -serotonin with up to $10\ \mu\text{g/ml}$ of synthetic PAF-acether, the rat contrarily to the rabbit, was considered to be an appropriate model to study the actions of PAF-acether not mediated through the activation of platelets and the subsequent release of their inflammatory mediators. We developed an experimental approach using ^{57}Co and ^{113}Sn radiolabeled microspheres to assess the effect of PAF-acether on cardiac output, peripheral vascular resistance, and regional flows and resistance. The effect on vascular permeability and blood volume was found with doses of PAF-acether ranging from 0.05 to $5\ \mu\text{g}$. Moreover, the highest doses of PAF-acether also induced a marked depletion of blood volume. A significant fall in spleen, coronary and kidney blood flow, but not in cardiac output, was also found. Our data show that PAF-acether, by itself, induces a drop in peripheral vascular resistance and, at higher doses, also in circulating volume, accounting for both by the hypotensive effect. The redistribution of cardiac output seems to be

Recibido: 24 de noviembre de 1983.
 Recibido en forma definitiva: 20 de diciembre de 1983.
 Aceptado: 21 de diciembre de 1983.
 Correspondencia: Dr. M. Sánchez Crespo.
 Servicio de Nefrología.
 Fundación Jiménez Díaz. Avda. Reyes Católicos, 2.
 Madrid-3.

the expression of a nonuniform action of the compound on the vascular resistance of the different organs.

Key words: Platelet-activating factor. Antihypertensive renomedullary polar lipid. Hypertension. Alkyl-acetyl-glycero-phosphocholine.

Abreviaturas: HSA = albúmina sérica humana.
PAF, PAF-acéter = factor activador de las plaquetas.
PAM = presión arterial media.
PMNs = leucocitos polimorfonucleares.

INTRODUCCION

El factor activador de las plaquetas (PAF, PAF-acéter) es un potente mediador de las reacciones inflamatorias que ha sido estudiado en varias especies animales, incluyendo el humano, y que se genera siguiendo la activación de basófilos de conejo¹, polimorfonucleares humanos y de conejo²⁻⁴ y monocitos humanos y de rata^{4,5}. Recientemente su estructura química ha sido caracterizada por dos grupos independientes^{6,7}. Evidencias posteriores han documentado la misma identidad estructural para el compuesto sintético 1-0-aquil-2-acetil-*sn*-gliceril-3-fosforilcolina y el PAF nativo del conejo. Por esta razón se han propuesto los epónimos AGE⁸ y PAF-acéter⁷.

El interés de este compuesto ha sido posteriormente realizado por el descubrimiento de que el lípido polar antihipertensivo de la médula renal, un lípido derivado de la médula renal fresca que disminuye la presión sanguínea, tiene una estructura química idéntica⁹. Además un compuesto análogo al PAF nativo de conejo y al PAF-acéter sintético ha sido obtenido por estimulación de riñón aislado de rata por PIROTZKY y cols.¹⁰.

El papel biológico del PAF-acéter ha sido hasta ahora explicado por la activación de las plaquetas y la liberación de sus mediadores¹¹. Sin embargo, la ubicua presencia de fosfolípidos en membranas celulares y las diversas vías inmunológicas y no inmunológicas de activación celular que conducen a la liberación de PAF apoyan la hipótesis de que pueden existir acciones biológicas de compuestos del tipo PAF no mediadas por la activación plaquetaria previa.

Estudiando la respuesta de plaquetas de rata a un PAF autólogo obtenido de macrófagos peritoneales hemos observado sorprendentemente que estas plaquetas responden plenamente al PAF de rata nativo¹². Sin embargo, son absolutamente insensibles al PAF-acéter sintético, que a su vez es activo sobre plaquetas de conejo. Estos resultados nos animaron a estudiar las acciones vasculares directas del compuesto sintético PAF-acéter en la rata, puesto que los resultados previos de los experimentos sobre plaquetas de rata aisladas permiten descartar la participación de las mismas.

MATERIALES Y METODOS

Animales y reactivos

Se utilizaron ratas Sprague-Dawley, machos y hembras, de

300 a 400 g. de peso como fuente de plaquetas y para la infusión de compuestos. Conejos Nueva Zelanda de 3 a 4 kg. fueron usados solamente como donantes de plaquetas. El compuesto sintético PAF-acéter (1-0-hexadecil-2-acetil-*sn*-gliceril-3-fosfocolina) (un regalo del doctor J. Benveniste, INSERM-200, París, Francia) se obtuvo como ha sido descrito por GODFROID y cols.¹³. La solución de solución de PAF en cloroformo-metanol (5 mg/ml.) fue trasvasada a un tubo de vidrio fonde. Se evaporó a sequedad y resuspendió en una solución de salino tamponada con fosfato, pH 7,4, con 0,25 % de albúmina bovina sérica. El diazóxido fue obtenido de Schering-Essex España. La ³H-hidroxi-triptamina-creatinina sulfato fue obtenida del centro radioquímico Amersham U.K. Las microesferas marcadas fueron obtenidas de New England Nuclear, Boston, Massachusetts.

Aislamiento de plaquetas

La sangre de conejo fue obtenida de la arteria central de la oreja por punción con aguja siliconizada. La sangre de rata fue obtenida por punción de la bifurcación de la aorta con aguja siliconizada y jeringas de vidrio. En ambos casos se empleó una solución de citrato-dextrosa como anticoagulante y las plaquetas se incubaron previamente con ³H-serotonina y se aislaron siguiendo una modificación del método de Ardlie, tal y como describieron BENVENISTE y cols.¹. Finalmente las plaquetas fueron resuspendidas en un medio que contiene Ca⁺² y Mg⁺² y se incubaron a 37° C durante 10 minutos con el estímulo o con soluciones control. La liberación de ³H-serotonina se midió contando la radiactividad de los sobrenadantes usando un líquido de centelleo apropiado. La composición de los medios ha sido previamente publicada⁴. Experimentos adicionales se realizaron en un agregómetro Chrono-log (Pensylvania) añadiendo al plasma, rico en plaquetas obtenido de una sangre de rata citrada al 0,38 %, concentraciones crecientes de PAF-acéter a fin de descartar un efecto negativo del procedimiento de aislamiento de las plaquetas sobre su respuesta a la estimulación por PAF-acéter.

Diseño experimental para el estudio de la acción vasopermeabilizante y de la acción hipotensora

Las ratas fueron anestesiadas mediante inyección intraperitoneal de Nembutal (PE 250, Vygon, France) a fin de evitar cambios en la presión sanguínea inducidos por la hipoventilación. Ambas arterias femorales fueron canuladas con catéter de polietileno (PE 50), uno para la conexión al transductor de presión (Elema-Sehonander, Suecia) con un registro (Siemens, Alemania) y el otro para la administración de drogas y para la toma de muestras sanguíneas, ya que la profunda hipotensión inducida por el PAF hace difícil el estudio a través del catéter venoso. Cuando el propósito de los experimentos fue la medida del gasto cardíaco y de las resistencias periféricas, la arteria carótida derecha fue también canulada y el catéter (PE 10) fue avanzado hasta el ventrículo izquierdo.

Medida de la permeabilidad vascular

La ^{125}I -HSA radioyodurada, de acuerdo con la técnica de McCONNAHEY y DIXON ¹⁴, fue inyectada por el catéter femoral 20 minutos antes del inicio de cualquier experimento. A distintos tiempos se extrajo la sangre por el catéter femoral para la medida de radiactividad y para la determinación del hematocrito usando tubos microcapilares de 100 μl . recubiertos de heparina.

Recuento de los leucocitos y plaquetas

Se tomaron diez microlitros de sangre con una micropipeta capilar y se diluyeron al 1:10 en una solución alcohólica de azul de toluidina, similar a la usada para el conteo de basófilos ¹⁵. Los frotis de sangre fueron teñidos con una solución de Giemsa para determinar las variaciones en el número de polimorfonucleares. El recuento de plaquetas se hizo en algunas muestras con una solución de citrato como diluyente ¹⁶.

Medida de los parámetros hemodinámicos

Se utilizó una técnica de microesferas marcadas en la forma descrita ¹⁷. Las microesferas de plástico marcadas con ^{57}Co y ^{113}Sn , denominadas 15 μm . en el código de fabricación, se prepararon como sigue. Se tomaron 500 μl . del tubo original y se diluyeron en 10 ml. de una solución al 30 % de sacarosa con Tween 80 al 0,05 % como agente surfactante, a fin de evitar la precipitación o adhesión de las microesferas. El número de esferas inyectadas fue calculado a partir de su actividad específica. Se inyectaron 200 μl . de la solución de microesferas a través del catéter de la arteria carotídea derecha hacia el ventrículo izquierdo durante un período de 10-15 segundos, seguidos por un lavado con 200 μl . de solución de Ringer. Desde 10 segundos antes de la inyección y hasta 50 segundos después se extrajo la sangre libremente del catéter femoral a un tubo de plástico previamente pesado. El volumen de sangre fue calculado dividiendo el peso de la muestra de sangre por la gravedad específica de la sangre (1.107 g/ml.). Los tiempos seleccionados para la recolección sanguínea fueron considerados apropiados, ya que las microesferas no fueron detectadas en la sangre 45 segundos después de la inyección. Las variaciones en los parámetros hemodinámicos inducidos por la inyección de PAF-acéter fueron medidas por la inyección en condiciones basales de microesferas marcadas con ^{57}Co y microesferas marcadas con ^{113}Sn después de la infusión del compuesto. Esta secuencia fue seleccionada a fin de hacer despreciables las interferencias en la lectura de las muestras (menos del 1,5 % de interferencia del ^{57}Co en las lecturas de ^{113}Sn).

Cuando finalizaron los períodos de inyección y recolección de sangre femoral, las ratas se sacrificaron por inyección intravascular de KCl; posteriormente, el corazón, el bazo y ambos riñones fueron separados, lavados con solución salina isotónica, pesados en una balanza de precisión, cortados en fragmentos y colocados en tubos de plástico con 1,5 ml. de salino isotónico, para determinar la radioactividad del órgano en un contador de radiactividad gamma. Las muestras de sangre fueron también completadas con solución salina para homogenizar el recuento.

Cálculo de parámetros hemodinámicos.

El gasto cardiaco fue calculado según la fórmula.

$$\text{GC} = \frac{\text{RTI}}{\text{RF}} \times \text{FF}$$

Donde RTI es la radiactividad total inyectada.

GC = Gasto cardiaco.

FF = Flujo femoral.

RF = Radiactividad de la muestra femoral.

El flujo en los órganos fue calculado según la fórmula.

$$\text{FO} = \frac{\text{RO}}{\text{RF}} \times \text{FF}$$

FO = Flujo del órgano (fue finalmente corregido para ser expresada en ml/g. de órgano).

RO = Radiactividad del órgano.

La resistencia periférica fue calculada según la fórmula.

$$\text{RPT} = \frac{\text{PAM}}{\text{GC}}$$

RPT = Resistencia periférica total (se expresa en $\text{mmHg ml}^{-1} \text{m}^{-1} \times 100 \text{ g}$).

PAM = Presión arterial media.

RESULTADOS

Efecto del PAF-acéter sobre las plaquetas de conejo y de rata

Las plaquetas de conejo respondieron mediante la liberación de serotonina con concentraciones de PAF-acéter tan bajas como 0,1 ng/ml. en forma dosis-dependiente como se muestra en la figura 1A. Sin embargo, las plaquetas de rata fueron absolutamente insensibles a dosis de PAF-acéter de hasta 10 $\mu\text{g/ml}$. en ocho experimentos separados; sin embargo, mostraron una respuesta normal a la trombina y al colágeno (Fig. 1B). Además las plaquetas de rata no agregaron cuando el plasma rico en plaquetas fue expuesto en el agregómetro a concentraciones de PAF-acéter de hasta 0,3 $\mu\text{g/ml}$. Estos datos sugieren claramente que la falta de respuesta de las plaquetas de rata no puede ser explicada sobre la base de un resultado anormal del experimento.

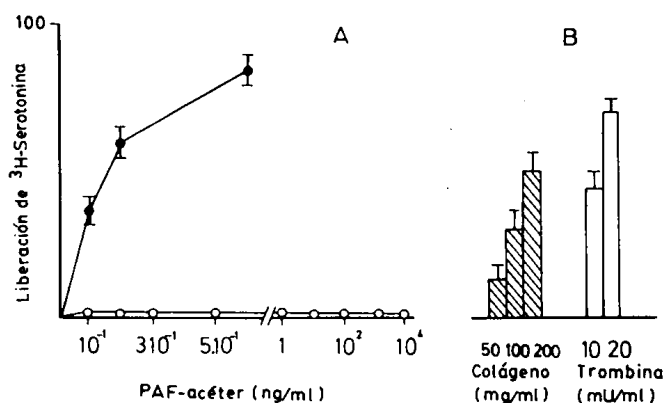


Fig. 1.—Efecto del PAF-acéter sobre las plaquetas de conejo y de rata. La respuesta de las plaquetas de conejo (●) y de rata (○) frente a distintas concentraciones de PAF-acéter se muestra en A. La respuesta de las plaquetas de rata al colágeno y a la trombina se muestra en B. Los datos muestran la $M \pm DS$ de ocho experimentos.

Efecto del PAF-acéter sobre el número total de leucocitos y plaquetas

El recuento de leucocitos y polimorfonucleares se determinó en siete experimentos, antes y a diferentes tiempos después de la infusión de PAF-acéter. Solamente se

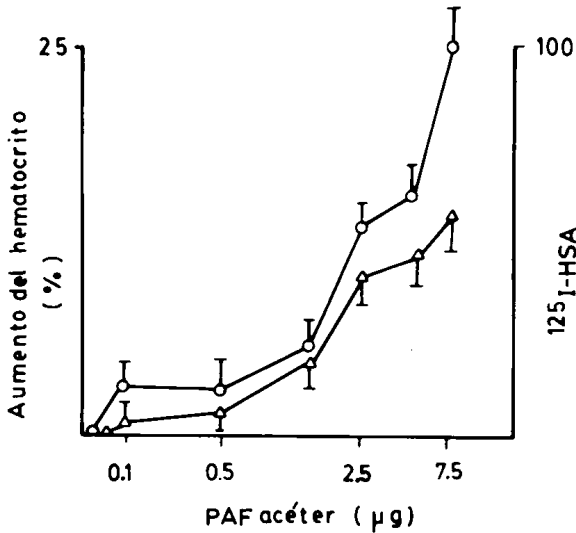


Fig. 2.—Efecto del PAF-acéter sobre la permeabilidad vascular. La variación del hematocrito sobre el valor inicial basal (○) y de la concentración plasmática de ^{125}I -HSA (Δ), expresada como porcentaje de la disminución sobre el nivel inicial, se midieron tras la inyección de distintas dosis de PAF-acéter. Los datos representan la $M \pm DS$ de cuatro experimentos.

encontraron variaciones minoritarias del conteo como muestran las figuras 5 y 6. La observación de los frotis no mostró variaciones en la proporción de PMNs. En otros cinco experimentos, el recuento de plaquetas no fue influido por la infusión de PAF-acéter (datos no mostrados).

Efecto del PAF-acéter sobre la permeabilidad vascular

Se encontró un marcado efecto del PAF sobre la permeabilidad vascular con dosis superiores a 1 μg . Esto ocurrió en los primeros 5 minutos después de la infusión, y su magnitud alcanzó hasta una pérdida del 70 % de los niveles plasmáticos iniciales de ^{125}I -HSA y un incremento del hematocrito del 20 % para las dosis más altas. Como se muestra en la figura 2, la pérdida de la ^{125}I -HSA Plasmática fue dosis-dependiente y paralela al incremento en el hematocrito. Se halló una correlación entre el efecto hipotensor del PAF-acéter, medido por el área de los triángulos rectángulos trazados bajo el registro de la presión arterial y las variaciones de las concentraciones plasmáticas de ^{125}I -HSA (Fig. 4, $p < 0,001$), lo cual sugiere que la depleción de volumen sanguíneo inducida por el PAF-acéter da cuenta de una parte sustancial del efecto hipotensor. Para asegurar si la acción del PAF-acéter sobre la permeabilidad vascular es un efecto característico del compuesto y no una mera consecuencia de su acción hipotensora se inyectaron cuatro ratas con 0,75 mg de diazóxido, una dosis con un efecto hipotensor similar a una concentración alta de PAF-acéter. Aunque la PAM fue reducida de 108 ± 13 a 66 ± 10 mmHg ($M \pm SEM$, $p < 0,005$), no hubo variaciones en el hematocrito y en el aclaramiento de ^{125}I -HSA. El líquido peritoneal se

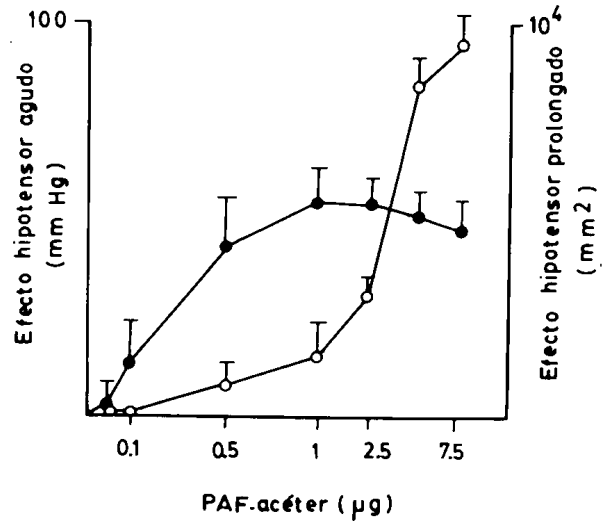


Fig. 3.—Efecto del PAF-acéter sobre la tensión arterial. El efecto hipotensor agudo del PAF-acéter (●) se determinó midiendo la caída en mm. de Hg de la presión arterial media. El efecto hipotensor prolongado (○) se midió calculando el área del triángulo rectángulo bajo el registro del trazado. Los datos representan $M \pm DS$ de cuatro experimentos.

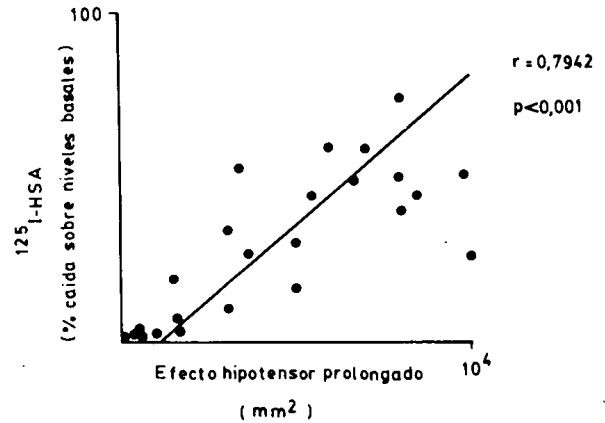


Fig. 4.—Correlación entre el efecto hipotensor prolongado y el incremento de permeabilidad vascular.

recogió después de la infusión de 5 μg . de PAF-acéter en cinco animales y después de la inyección de 0,75 mg. de diazóxido en otros cuatro. Las cantidades de ^{125}I -HSA medidas en las muestras y expresadas como porcentaje de la concentración final en plasma fueron respectivamente de $58,7 \pm 3,2$ y $8,6 \pm 1,1$ ($M \pm SEM$, $p < 0,001$), lo cual demuestra la especificidad de la acción del compuesto y sugiere que el PAF-acéter a dosis altas induce la pérdida del fluido intravascular hacia las cavidades serosas y los espacios intersticiales.

Efecto del PAF-acéter sobre la presión sanguínea

La infusión de PAF-acéter a dosis tan bajas como 0,05 μg . indujo una caída significativa en la presión sanguínea. El efecto fue instantáneo y desapareció en unos pocos minutos con las dosis más bajas. Con dosis superiores a 0,5 μg . no hubo diferencias significativas en la caída tensional medida en mm. de Hg; sin embargo, el

efecto fue mucho más prolongado como se muestra en la figura 3, la cual representa la dosis de PAF-acéter frente al área de los triángulos trazados bajo el registro de presión arterial. En ningún caso se observó la muerte de animales, en una situación similar a la anafilaxia, ni se hallaron variaciones en el ritmo y la frecuencia respiratorias. Cuando las infusiones fueron repetidas, no se observó taquiflaxia. La cinética de la acción de varias dosis de PAF-acéter en experimentos características de muestra en las figuras 5 y 6.

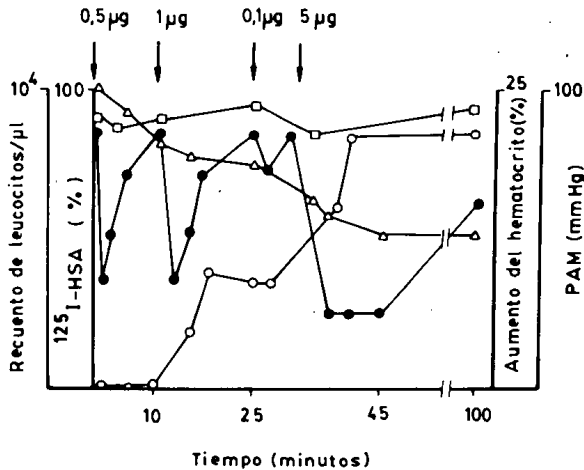


Fig. 5.—Efecto de la infusión repetida de PAF-acéter. A distintos tiempos se midieron la tensión arterial media (●), las variaciones del hematocrito (○), del recuento de leucocitos (□) y de la concentración plasmática de ^{125}I -HSA (Δ). Los números de la parte superior de la figura representan las dosis de PAF inyectadas. La figura muestra un experimento representativo entre otros cinco.

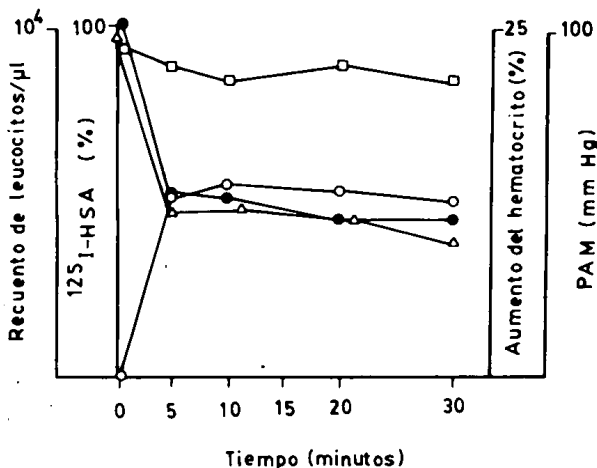


Fig. 6.—Efecto de una infusión única de PAF-acéter. Se midieron las variaciones del hematocrito (○), del recuento de leucocitos (□), de la presión arterial media (●) y de la concentración plasmática de ^{125}I -HSA a distintos (Δ) tiempos tras la infusión de 2,5 μg . de PAF-acéter. La figura muestra un experimento representativo entre cuatro.

Efecto del PAF-acéter sobre la resistencia vascular periférica y el gasto cardiaco

En las condiciones del experimento el número de esferas inyectadas fue de 1,1 a $1,6 \times 10^4$, lo cual hace para

un experimento típico realizado con 18.345 esferas el siguiente número de esferas por 1,5 mg. de órgano: 945 en el corazón, 570 en el riñón y 160 en el bazo. El efecto del PAF-acéter en la resistencia vascular periférica y en el gasto cardiaco se exploró con la inyección de 5 μg . de PAF-acéter en seis ratas y 0,5 μg . en otras seis. Estas concentraciones fueron escogidas a fin de estudiar el efecto de dosis con y sin efecto sobre la permeabilidad vascular, siendo la respuesta hipotensora al PAF lo suficientemente larga como para permitir las medidas en un estado estable.

Como se muestra en la tabla I, la infusión de 5 μg . de PAF-acéter indujo una profunda caída de la PAM; asimismo, el gasto cardiaco mostró valores similares antes y después de la infusión de PAF-acéter. Cuando se estudió el gasto en los diferentes órganos se halló una caída significativa en el gasto coronario, esplénico y renal, los cuales descendieron al 50, 21 y 13 % de los valores iniciales, respectivamente. Cuando la inyección se realizó con 5 μg . el descenso simultáneo en la presión sanguínea y la resistencia periférica justificó la falta de efecto sobre el gasto cardiaco; sin embargo, se halló también una reducción en el gasto en coronarias, bazo y riñón, que alcanzó, respectivamente, el 18, 47 y 33 % de los valores iniciales (tabla I). La resistencia regional mostró una variación no uniforme como se define por un incremento en las resistencias renales y esplénicas, mientras la resistencia coronaria permaneció cerca de los niveles previos (tabla I).

DISCUSION

En los últimos años se ha profundizado notablemente en el conocimiento el PAF-acéter o lípido polar antihipertensivo de la médula renal; sin embargo, puesto que la mayoría de los datos han sido obtenidos en el conejo, no hay evidencia completa acerca de la relevancia de estos hallazgos en otras especies. De hecho, los resultados de distintos laboratorios han mostrado las diferencias existentes en el origen celular y mecanismo de activación celular que lleva a la liberación del PAF-acéter entre las distintas especies animales. A este respecto hay nuevas y amplias evidencias limitando la liberación de PAF-acéter en la anafilaxia al conejo y al cobaya, ya que nosotros y otros hemos mostrado la incapacidad de los basófilos humanos ^{4,18} y células cebadas y basófilos de rata ^{5,19} para liberar PAF-acéter. Sin embargo, el campo de las acciones biológicas del PAF-acéter ha sido ampliado por la demostración de su liberación por distintas células tras su activación inmunológica y no inmunológica. La patobiología de la infusión intravenosa de PAF-acéter sintético en conejos, documentada por McMANUS y cols. ²⁰, reproduce fielmente la anafilaxia sistémica; sin embargo, los estudios sobre el efecto de la infusión de PAF-acéter en la rata han sido realizados cuando se trataba de determinar la estructura química del lípido polar

TABLA I

EFECTO DE LA INFUSION DE PAF-ACETER SOBRE LAS RESISTENCIAS PERIFERICAS, GASTO CARDIACO Y FLUJOS REGIONALES

	PAF-acéter 5 µg.			PAF-acéter 0,5 µg.		
	Antes	Después	p	Antes	Después	p
Resistencia periférica total	4,24 ± 0,47	2,23 ± 0,47	< 0,01	5,93 ± 1,12	2,86 ± 0,17	< 0,005
Presión arterial media	108,00 ± 9,45	60,5 ± 10,21	< 0,005	114,64 ± 9,79	73,37 ± 11,72	< 0,005
Gasto cardíaco	25,34 ± 2,21	25,7 ± 4,15	NS	24,07 ± 5,6	25,78 ± 6,72	NS
Flujo coronario	8,30 ± 2,48	4,16 ± 1,58	< 0,05	8,81 ± 2,44	7,2 ± 1,02	NS
Resistencia vascular coronaria	13,01 ± 4,35	14,54 ± 4,37	NS	13,01 ± 4,52	10,1 ± 1,93	NS
Flujo renal	4,78 ± 0,58	0,65 ± 0,27	< 0,0005	4,05 ± 0,31	2,15 ± 0,72	< 0,05
Resistencia vascular renal	24,03 ± 2,15	194,67 ± 20,12	< 0,005	25,3 ± 1,9	34,02 ± 1,74	< 0,05
Flujo esplénico	0,98 ± 0,22	0,21 ± 0,08	< 0,005	0,79 ± 0,33	0,53 ± 0,24	NS
Resistencia vascular esplénica	99,37 ± 17,56	786,50 ± 80,90	< 0,005	120 ± 23,2	138,43 ± 36,3	NS

Los datos representan la M ± DS de 6 animales inyectados con cada dosis. Los datos de las columnas marcadas «antes» representan los valores obtenidos con microesferas marcadas con cobalto antes de la infusión de PAF. Los de las columnas «después» representan los valores obtenidos con microesferas marcadas con ¹¹³Sr tras la infusión del compuesto.

antihipertensivo de la médula renal y no de analizar su acción como mediador anafiláctico e inflamatorio⁹. Nuestros datos muestran que la infusión de PAF-acéter en ratas induce una amplia acción sobre el sistema vascular que puede considerarse como independiente de las plaquetas, porque las plaquetas de rata parecen ser extremadamente resistentes, sino completamente insensibles a la activación por el PAF-acéter.

Además, el efecto hipotensor del PAF-acéter se observa en animales normotensos, y no solamente en animales hipertensos artificialmente como en los experimentos de BLANK y cols.⁹. Distintos mecanismos parecen servir de base al efecto hipotensor prolongado ya que dosis bajas son casi tan eficaces como las dosis más altas para descender la presión arterial en pocos segundos, aunque existen diferencias significativas en la duración. La infusión de PAF-acéter a dosis superiores a 2,5 µg. induce una significativa depleción de volumen sanguíneo que se correlaciona con el efecto hipotensor prolongado. Mientras el efecto hipotensor agudo parece mediado por su acción transitoria sobre la resistencia vascular por ser el PAF-acéter un agente vasodilatador, el efecto prolongado puede explicarse por la depleción del volumen sanguíneo inducida por el PAF-acéter. Además, este comportamiento del PAF-acéter es único entre todos los agentes hipotensores y parece inexplicable por su acción sobre las resistencias periféricas, ya que concentraciones de diazóxido que inducen una caída similar de la presión sanguínea carecen de efecto sobre el aclaramiento de ¹²⁵I-HSA. Con respecto a las variaciones del flujo regional y de la resistencia observadas siguiendo a la infusión de PAF-acéter, los datos muestran que aunque existe una dependencia de la dosis en el riñón y bazo, no existe una acción uniforme del compuesto sobre el lecho vascular de los diferentes órganos. Esto está de acuerdo con las reglas generales de la hemodinámica, ya que sugiere que el flujo regional depende no sólo de la presión de perfusión sino también de los cambios regionales de resistencia. De hecho, mientras los vasos coronarios se comportan como un lecho vascular autorregulable capaz

de preservar su flujo frente a una reducción significativa de la presión de perfusión, el riñón y el bazo parecen incapaces de reducir la resistencia regional «pari passu» con la vasodilatación que el compuesto induce en otros órganos y que da cuenta de la reducción total en las resistencias periféricas observada tras la infusión.

Tras la demostración por McMANUS y cols.²⁰ de que bajas cantidades de PAF-acéter inician alteraciones intravasculares en el conejo idénticas a aquellas que ocurren en la anafilaxia sistémica tales como trombocitopenia reversible, neutropenia y liberación de factor plaquetario 4, nuestros datos muestran algunas diferencias significativas con los experimentos en conejos. Primero, las ratas parecen ser mucho más resistentes a la infusión de PAF-acéter que los conejos. Segundo, los cambios observados en ratas no son como los que se observan en la anafilaxia, pues aparentemente no hay cambios respiratorios significativos ni desensibilización de los órganos blanco. Tercero, el compuesto no induce neutropenia ni trombocitopenia.

Es de relevancia que el PAF-acéter induce un incremento de permeabilidad vascular que no puede compararse con el de ningún otro mediador inflamatorio. Esta acción, que da cuenta de una buena parte de su efecto hipotensor, debe ser también analizada sobre la base de sus consecuencias inmunopatológicas^{12,21,22}. Aunque las observaciones iniciales del PAF-acéter han sido realizadas en la enfermedad del suero del conejo, como un estímulo para la liberación de aminas vasoactivas de la plaquetas y para la deposición de inmunocomplejos en los tejidos, nuestros datos sugieren que el PAF-acéter puede favorecer el atrapamiento de inmunocomplejos en los vasos sanguíneos y los glomérulos por sí mismo, y no a través de la activación de las plaquetas.

En resumen, los datos sugieren un amplio papel para el PAF-acéter en la patología más allá de su descripción original como mediador de la anafilaxia.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado con la ayuda del Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social y de la Funda-

ción Alvarez de Toledo. El doctor J. Benveniste nos proporcionó PAF-acéter sintético. El doctor López Novoa nos ayudó a poner a punto la técnica de las microesferas marcadas.

BIBLIOGRAFIA

1. BENVENISTE, J.; HENSON, P. M., y COCHRANE, C. G.: «Leukocyte-dependent histamine release from rabbit platelets. I. The role of IgE, basophils and a platelet-activating factor». *J. Exp. Med.*, 136: 1356-1377, 1972.
2. LYNCH, J. M.; LORNER, J. M.; BETZ, S. J., y HENSON, P. M.: «The release of platelet-activating factor by stimulated neutrophils». *J. Immunol.*, 23: 219-226, 1979.
3. LOTNER, G. Z.; LYNCH, J. M.; BETZ, S. J., y HENSON, P. M.: «Human neutrophil derived platelet-activating factor». *J. Immunol.*, 124: 676-685, 1980.
4. SANCHEZ CRESPO, M.; ALONSO, F., y EGIDO, J.: «Platelet activating factor in anaphylaxis and phagocytosis I Release from human peripheral polymorphonuclears and monocytes by ionophore A23187 and phagocytosis but no from degranulating basophils». *Immunology*, 40: 645-655, 1980.
5. MENCIA-HUERTA, J. M., y BENVENISTE, J.: «Platelet-activating factor and macrophages. I. Evidence for the release from rat and mouse peritoneal macrophages and not from mastocytes». *Eur. J. Immunol.*, 9: 409-415, 1979.
6. DEMOPOULOS, C. A.; PINCKARD, R. N., y HANAHAN, D. J.: «Platelet-activating factor. Evidence for 1-0-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine as the active component (a new class of lipid chemical mediators)». *J. Biol. Chem.*, 254: 9355-9358, 1979.
7. BENVENISTE, J.; TENCE, M.; VARENCE, P.; BIDAULT, J.; BOULLET, C., y POLONSKY, J.: «Semisynthese et structure proposee du facteur activant les plaquettes (PAF): PAF acether un alkyl ether analogue de la lysophosphatidylcholine». *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 289: 1037-1040, 1979.
8. HANAHAN, D. J.; DEMOPOULOS, C. A.; LIEHR, J., y PINCKARD, R. N.: «Identification of rabbit basophil derived platelet-activating factor as acetyl-glycerol-ether-phosphorylcholine (AGEPC)». *J. Biol. Chem.*, 255: 5514-5516, 1980.
9. BLANK, M. L.; SNYDER, F.; Byer, L. W.; BROODS, B., y MUIRHEAD, E. E.: «Antihypersensitive activity of an alkyl ether analog of phosphatidylcholine» *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 90: 1194-1202, 1979.
10. PIROTZKY, E.; MISUMI, J.; BOULLET, C., y BENVENISTE, J.: «Liberation du facteur activant les plaquettes (PAF-acether) par perfusion du rein isolé de rat». *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 290: 1079-1082, 1980.
11. SHAW, J. O.; PRINTZ, M. P.; HIRABAYASHI, K., y HENSON, P. M.: «Role of prostaglandin synthesis in rabbit platelet activation induced by basophil-derived platelet-activating factor». *J. Immunol.*, 121: 1939-1945, 1978.
12. SANCHEZ CRESPO, M.; ALONSO, F.; EGIDO, J., y BARAT, A., A.: «Rat serum sickness: possible role of inflammatory mediators allowing deposition of immune complexes in the glomerular basement membrane». *Clin. Exp. Immunol.*, 49: 631-638, 1982.
13. GODFROID, J. J.; HEYMANS, F.; Michel, E.; REDEMIHL, C.; STEINER, E., y BENVENISTE, J.: «Platelet-activating factor (PAF-acether). Total synthesis of 1-0-octadecyl-2-0-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine». *FEBS letters*, 116: 161-164, 1980.
14. MCCONNHEY, P. J., y DIXON, F. J.: «A method of trace iodination of protein for immunologic studies». *Int. Arch. Allergy. Appl. Immunol.*, 29: 185-190, 1966.
15. MOORE, A. E., y JAMES, G. W.: «A simple direct method for absolute basophil leukocytes count». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 82: 185-190, 1966.
16. DACIE, J. V., y LEWIS, S. M.: «Practical Hematology». Edinburgh: Churchill and Livingstone, pp. 53-54, 1975.
17. LOPEZ-NOVOA, J. M.; MARTIN OAR, J. E.; MATA, F.; RAMOS, B., y HERNANDO, L.: «Medida del gasto cardiaco y distribución periférica en ratas utilizando microesferas radiactivas». *Rev. Esp. Fisiol.*, 36: 271-280, 1980.
18. BETZ, S. J.; LOTNER, G. A., y HENSON, P. M.: «Generation and release of platelet-activating factor from enriched preparations of rabbit basophils, failure of human basophils to release PAF». *J. Immunol.*, 125: 249-255, 1980.
19. EGIDO, J.; ALONSO, F.; SANCHEZ CRESPO, M.; BARAT, A., y HERNANDO, L.: «Absence of an anaphylactic vasopermeability mechanism in the Heymann nephritis of rats». *Clin. Exp. Immunol.*, 40: 99-106, 1980.
20. MCMANUS, L. M.; HANAHAN, D. J.; DEMOPOULOS, C. A., y PINCKARD, R. N.: «Pathobiology of the intravenous infusion of acetyl-glycerol-ether-phosphorylcholine (AGEPC) a synthetic platelet-activating factor (PAF) in the rabbit». *J. Immunol.*, 125: 2919-2924, 1980.
21. HENSON, P. M., y COCHRANE, C. G.: «Immune complex disease in rabbits. The role of complement and of a leucocyte-dependent release of vasoactive amines from platelets». *J. Exp. Med.*, 133: 554-563, 1971.