



Diálisis y Trasplante

www.elsevier.es/dialis



Original

Evaluación de nuevos donadores de óxido nítrico en el trasplante renal experimental

María Begoña García-Cenador^{a,*}, María Teresa Grande-Rodríguez^b, Penélope Diana Sánchez-González^b, Pablo Rodríguez-Barc^a, Joaquín Francisco López-Marcos^a, Francisco Javier García-Criado^a, Marisabel Mourelle^c y José Miguel López-Novoa^b

^a Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, Universidad de Salamanca, Salamanca, España

^b Departamento de Fisiología y Farmacología, Campus Miguel de Unamuno, Universidad de Salamanca, Salamanca, España

^c Investigación y Desarrollo, LACER SA, Barcelona, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 11 de diciembre de 2009

Aceptado el 8 de enero de 2010

On-line el 2 de abril de 2010

Palabras clave:

Respuesta inflamatoria

Trasplante renal

Óxido nítrico

RESUMEN

Introducción y objetivos: Por la importancia de minimizar el daño renal, por isquemia/reperfusión, en el trasplante de órganos, evaluamos tratamientos profilácticos para controlar la respuesta inflamatoria, utilizando diferentes donadores de óxido nítrico (NO).

Métodos: Empleamos modelos experimentales de isquemia/reperfusión y trasplante renal utilizando los donadores LA-803, LA-807, LA-810 y molsidomina. Estudiamos función renal, infiltración neutrofílica, estrés oxidativo, citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias, NO, interacción leucocito-endotelio y transcripción nuclear.

Resultados: LA-803 demostró la mayor efectividad en el control de la respuesta inflamatoria y fue seleccionado para continuar el estudio. Demostramos una disminución del estrés oxidativo y de la infiltración neutrofílica, una menor lesión endotelial con preservación de la función orgánica y una disminución de la respuesta inflamatoria.

Conclusiones: Consideramos que el empleo de donadores de NO específicos es de extraordinario interés en el trasplante de órganos, incrementando la viabilidad celular y la función orgánica postrasplante.

© 2009 SEDYT. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Evaluation of new nitric oxide donors in experimental renal transplantation

ABSTRACT

Keywords:

Inflammatory response

Renal transplant

Nitric oxide

Introduction and objectives: Given the importance of minimizing renal damage due to ischemia/reperfusion in organ transplants, we evaluated prophylactic treatments to control inflammatory response, using distinct nitric oxide donors.

Methods: We used experimental models of ischemia/reperfusion and kidney transplants using LA-803, LA-807, LA-810 donors and molsidomine. Renal function, neutrophil infiltration, oxidative stress, pro- and anti-inflammatory cytokines, nitric oxide, leukocyte-endothelium interaction and nuclear transcription were studied.

Results: LA-803 demonstrated the greatest effectiveness in controlling inflammatory response and was selected to continue the study. We found a decrease in inflammatory response, oxidative stress and neutrophil infiltration and lesser endothelial damage with preservation of organ function.

Conclusions: We believe that the use of specific nitric oxide donors could be highly useful in organ transplantation, increasing cellular viability and organ function post-transplantation.

© 2009 SEDYT. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

El fallo renal agudo por isquemia-reperfusión (I/R) es un problema clínico muy importante¹ que, a pesar de los avances

terapéuticos, sigue asociado con alta morbimortalidad y coste económico^{1,2}. Acontece a través de una compleja interacción entre efectos hemodinámicos, mediadores de la inflamación y daño tubular y endotelial^{3,4}.

Tanto el daño por I/R secundario a la extracción, almacenaje e implante renal como la respuesta inflamatoria originada durante ésta afectan a la recuperación del injerto, siendo la inflamación uno de los mecanismos más importantes en el fallo funcional del órgano³.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mbgc@usal.es (M.B. García-Cenador).

El óxido nítrico (NO) juega un papel protector en modelos de fallo renal *in vivo*⁵. Varios estudios han demostrado que el NO exógeno aumenta la supervivencia y disminuye el daño renal inducido por I/R en ratas^{6–9}.

Estudiamos la importancia de la respuesta inflamatoria y su regulación para obtener una mayor viabilidad celular y una mejor respuesta funcional del órgano trasplantado utilizando profilácticamente nuevos donadores de NO.

Métodos

Donadores de óxido nítrico

LA-803, LA-807, LA-810, a una dosis de 1,8 $\mu\text{mol/kg}$, químicamente definidos como nitrosotioles, sintetizados por Lacer[®], diseñados para liberar diferentes dosis a distintos tiempos.

Molsidomina[®] (Molsidain[®], Hoechst), utilizada como hipotensor rápido en clínica, a una dosis de 4 mg/kg.

Estudios de isquemia/reperfusión renal

Cincuenta ratas macho *Wistar* (250–275 g) (Charles River, Margate, UK).

Anestesia intraperitoneal con 75 mg/kg de ketamina (Parke-Davis, España)+50 mg/kg de diazepam (Roche, España) y 20 mg/kg de atropina (Braun, España).

I/R según García Criado^{6,8}: laparotomía media, oclusión pedículo renal izquierdo con micropinza vascular durante 60 min. Antes de finalizar la isquemia nefrectomía derecha y reperfusión de 4 h a 7 días.

A los animales divididos en grupos se les administró i.v. LA-803, LA-807, o LA-810, 30 min antes de la reperfusión; al grupo control se le administró el solvente al mismo tiempo.

A las 4 h posreperfusión se tomaron muestras de sangre y riñón, y en el seguimiento de 7 días los animales permanecieron estabulados en jaulas metabólicas para realizar estudios de supervivencia y función renal.

Estudios de trasplante renal en rata

Veinte ratas machos *Fischer* consanguíneas (200–225 g), (F.344/ICO, Iffa Credo, Francia).

Anestesiada la rata, según protocolo anterior, se realizó laparotomía media e identificaron el riñón y el uréter, la vena y la arteria renal izquierdas, la vena cava inferior y la aorta abdominal; administramos 100 UI de heparina Rovi[®]. Realizamos técnica modificada de trasplante renal ultrarrápido sobre la descrita por Neblina¹⁰, utilizando *cuff* para las anastomosis venosa y uretral y telescopaje en la arteria renal. Finalmente, nefrectomía derecha, reperfusión de 3 h y toma de muestras (sangre y riñón). Los riñones fueron perfundidos, extraídos y preservados con solución EuroCollins a 4 °C durante 24 h.

Grupos: simulado (n=4), trasplante control (n=4+4) y trasplante+LA-803 en las soluciones de perfusión y preservación y al receptor del órgano 30 min antes de la reperfusión (n=4+4).

Estudios de trasplante renal en cerdo

Treinta y cinco cerdos *minipig* machos (18–20 kg) (Harlan Laboratories SRI).

Después de administración i.m. de ketamina de 2 mg/kg, diazepam de 10 mg y atropina de 1 mg, se induce anestesia con propofol de 1,5 mg/kg i.v. y se realiza intubación orotraqueal con ventilación mecánica (Boyle, 2000), manteniendo la anestesia con propofol

(3–4 mg/kg/h), fentanilo (2 $\mu\text{g/kg/h}$) y mivacurio (1 mg/kg/h), para analgesia postoperatoria de 2 g de metamizol magnésico.

Se cateterizan la vena yugular interna y la arteria carótida; se realiza laparotomía media, disección de la aorta abdominal y arterias renales (ligando ramas suprarrenal inferior y gonadal) hasta bifurcación aórtica, disección del uréter respetando la grasa periureteral y procediéndose a la perfusión renal con EuroCollins a 4 °C y 1 mg/kg de heparina sódica. Preservación con EuroCollins a 4 °C durante 24 h y autotrasplante heterotópico siguiendo técnicas quirúrgicas y terapéuticas idénticas a las utilizadas en clínica humana.

Grupos: simulado (n=5), trasplante control (n=5) y trasplante molsidomina en soluciones de perfusión y preservación y al receptor del órgano 30 min antes de la reperfusión (n=5). Tiempos de reperfusión de 24 h, 3 y 7 días.

Variables analizadas

Pruebas de función renal.

Modelo I/R: 48 h posreperfusión.

Modelo trasplante cerdo: 7 días postrasplante.

Las concentraciones de creatinina en plasma y orina se determinaron utilizando un método automatizado basado en la reacción de Jaffé (analyzer automático Hitachi 747-200, reactivos de Boehringer Mannheim, Indianápolis, IN). El aclaramiento de creatinina fue calculado utilizando la fórmula convencional.

Radicales libres del oxígeno.

Modelo I/R: 4 h posreperfusión.

El estrés oxidativo en el riñón fue estudiado mediante los niveles de superóxido dismutasa, según las técnicas de Misra y Fridovich y el anión superóxido (ASO) por adaptación de Boveris y Forman, descrito previamente⁶.

Para la concentración de proteínas se utilizó un kit de Bio-Rad, basado en el método de Lowry (1951).

Mieloperoxidasa.

Modelo I/R: 4 h posreperfusión.

Modelo trasplante cerdo: 24 h postrasplante.

La actividad de la mieloperoxidasa (MPO) en el riñón, como marcador de infiltración neutrofílica, fue analizada según la técnica de Bradley modificada por Mullane, descrita previamente⁶.

Citocinas.

Modelo I/R: 24 h posreperfusión.

Modelo trasplante rata: 3 h posreperfusión.

Los niveles de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina (IL)-1 β , IL-6 e IL-10 fueron determinados en suero empleando kits basados en la técnica ELISA (DuoSet[®] ELISA Development System rat R&D Systems).

Estudio de la sintasa inducible del óxido nítrico (iNOS), moléculas de adhesión celular (CAMs) y factor transcripcional (κB).

Modelo trasplante rata: (molécula de adhesión celular vascular-1 soluble [sICAM-1] y molécula de adhesión celular vascular-1 soluble [sVCAM-1] 3 h postrasplante.

Modelo trasplante cerdo: (sICAM-1, molécula de adhesión celular intracelular-1 [ICAM-1], sVCAM-1 y molécula de adhesión celular vascular-1 [VCAM-1], factor nuclear κB [NF κB] e iNOS) 7 días postrasplante.

La expresión de iNOS, sVCAM-1, VCAM-1, sICAM-1, ICAM-1 y NF κB fueron evaluadas por western blot según se describe previamente⁹.

Estudio estadístico.

Todos los valores han sido representados como media \pm error estándar de la media.

La inferencia se realizó con ANOVA (test de Scheffé o Kruskal-Wallis) y Kaplan Meier. Un valor de $p < 0,05$ se aceptó como resultado significativo.

Resultados

Modelo de isquemia-reperfusión

Función renal

La creatinina obtuvo valores en los grupos tratados con NO, LA-803 de 200 mg/ml y LA-807 de 240 mg/ml, que no se diferencian del grupo simulado (140 mg/ml), existiendo diferencias ($p < 0,05$) con los del grupo isquemia-control (510 mg/ml) y el tratado con LA-810 (470 mg/ml).

El aclaramiento de creatinina en los grupos tratados con LA-803 y LA-807 y el grupo simulado presenta diferencias con el grupo de isquemia-control ($p < 0,01$) (fig. 1).

Estrés oxidativo

La I/R en el grupo control de 309 U/mgprot induce un incremento de superóxido dismutasa con respecto al grupo simulado, de 58,1 U/mgprot ($p < 0,01$). Los grupos LA-803 de 73,8 U/mgprot y LA-807 de 100 U/mgprot presentan una disminución ($p < 0,01$) con respecto al grupo control y LA-810.

El ASO aumenta en el grupo control con respecto al grupo simulado ($p < 0,001$). En los grupos LA-803 y LA-807 disminuye con respecto al grupo control ($p < 0,001$) y LA-810 ($p < 0,01$) (fig. 2).

Infiltración neutrofílica

La MPO aumenta ($p < 0,001$) en el grupo control vs. el grupo simulado. Los grupos LA-803 y LA-807 presentan una disminución con respecto al grupo control y LA-810 ($p < 0,001$) (fig. 3).

Modelo de trasplante renal en rata

Citocinas proinflamatorias

El TNF- α se incrementa ($p < 0,01$) en el grupo trasplante-control respecto al grupo simulado, disminuyendo ($p < 0,01$) en el grupo LA-803 (fig. 4).

La IL-1 β , incrementada en el trasplante-control (197,6 pg/ml), con respecto al trasplante NO (73 pg/ml).

Daño endotelial

La sICAM-1 presenta una disminución en el grupo LA-803 y un aumento en el grupo trasplante-control (fig. 5).

La sVCAM está elevada en el grupo trasplante-control (318,7%) ($p < 0,01$) con respecto al grupo simulado (100%), mientras que en el trasplante LA-803 (123%) disminuye ($p < 0,01$) hasta alcanzar los valores del grupo simulado.

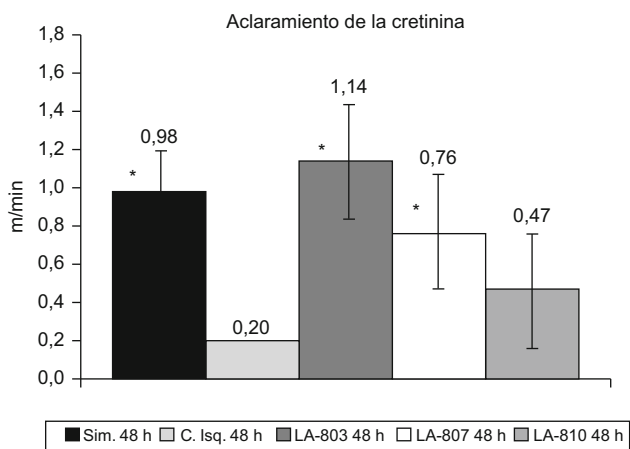


Figura 1. Modelo isquemia-reperfusión renal. Aclaramiento de creatinina a las 48 h postreperfusión.
* vs. grupo control isquemia, 48 h.

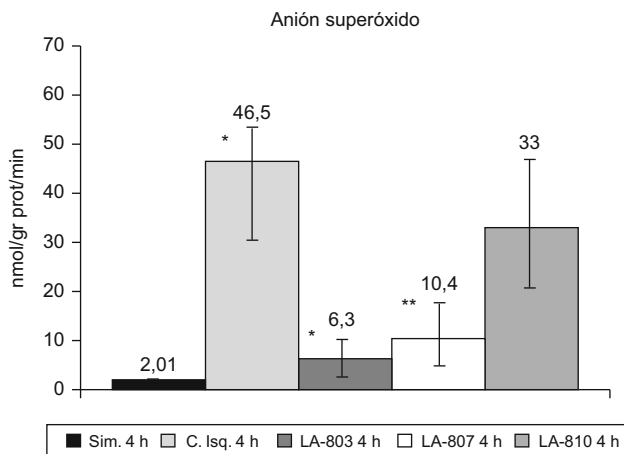


Figura 2. Modelo isquemia-reperfusión renal. Ritmo de producción del anión superóxido a las 4 h postreperfusión.
* vs. grupo simulado 4 h.
** vs. grupo control isquemia 4 h, y LA-810 4 h.

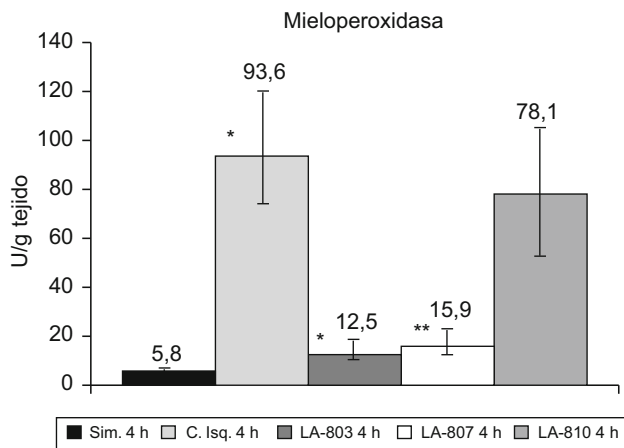


Figura 3. Modelo isquemia-reperfusión renal. Actividad de la mieloperoxidasa, a las 4 h postreperfusión.
* vs. grupo simulado 4 h.
** vs. grupo control isquemia 4 h, y LA-810 4 h.

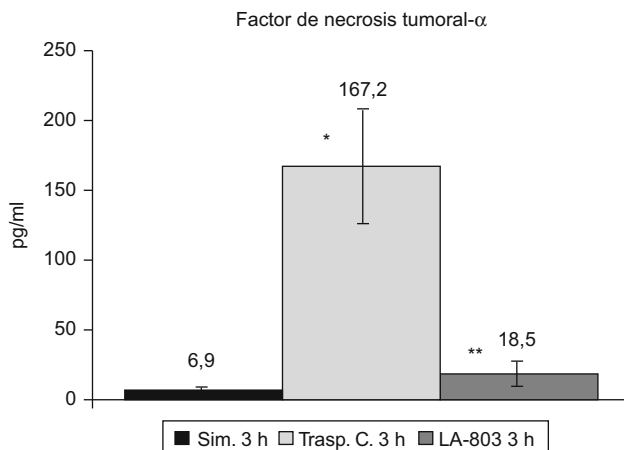


Figura 4. Modelo trasplante renal en rata. Concentración del factor de necrosis tumoral alfa a las 3 h posttrasplante.
* vs. grupo simulado 3 h.
** vs. grupo trasplante control 3 h.

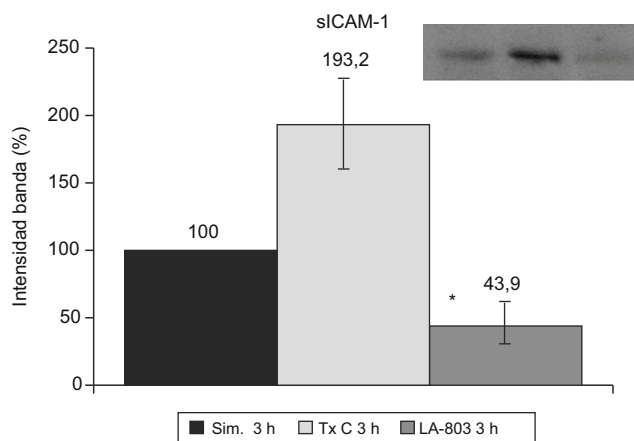


Figura 5. Modelo trasplante renal en rata. Intensidad de la banda de sICAM-1; porcentaje respecto al grupo simulado, a las 3 h postrasplante. * vs. grupo trasplante control 3 h.

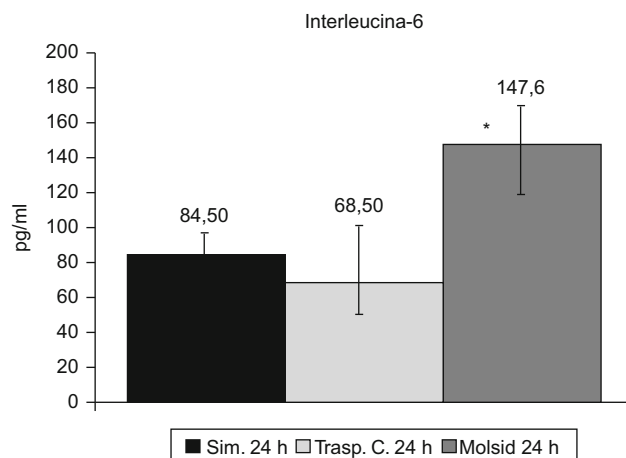


Figura 7. Modelo trasplante renal en cerdo. Concentración de interleucina-6 a las 24 h postrasplante. * vs. grupo trasplante control 24 h.

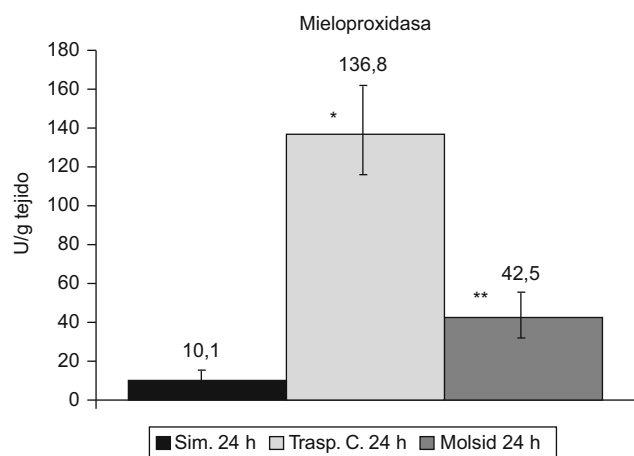


Figura 6. Modelo trasplante renal en cerdo. Actividad de la mieloperoxidasa a las 24 h postrasplante. * vs. grupo simulado 24 h. ** vs. grupo trasplante control 24 h.

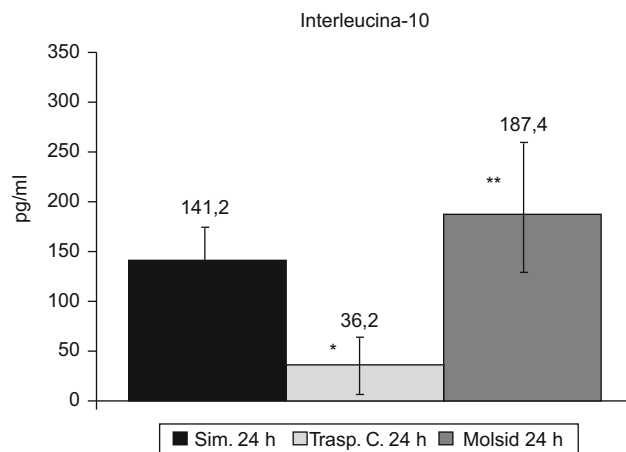


Figura 8. Modelo trasplante renal en cerdo. Concentración de interleucina-10 a las 24 h postrasplante. * vs. grupo simulado 24 h. ** vs. grupo trasplante control 24 h.

Modelo de trasplante renal en cerdo

Función renal

La creatinina, al séptimo día postrasplante, presentó un incremento ($p < 0,001$) en el grupo trasplante-control (3,8 mg/ml). No observamos diferencias entre los grupos simulado (1,2 mg/ml) y trasplante-molsidomina (0,9 mg/ml).

El aclaramiento de creatinina no difiere en el grupo tratado (8,7 ml/min) con respecto al grupo simulado (11,3 ml/min). Fue significativa la diferencia entre el grupo molsidomina (8,7 ml/min) y el grupo control (4,5 ml/min) ($p < 0,01$).

Infiltración neutrofílica

Incremento de MPO ($p < 0,001$) en el grupo control respecto al grupo simulado. A pesar de la disminución en el grupo trasplante-molsidomina, sigue siendo superior a la del grupo simulado ($p < 0,05$) (fig. 6).

Citocinas antiinflamatorias

Las IL-6 e IL-10 presentaron un incremento ($p < 0,01$) en el grupo trasplante-molsidomina. La IL-10 disminuyó ($p < 0,01$) en el grupo control (figs. 7 y 8).

Óxido nítrico

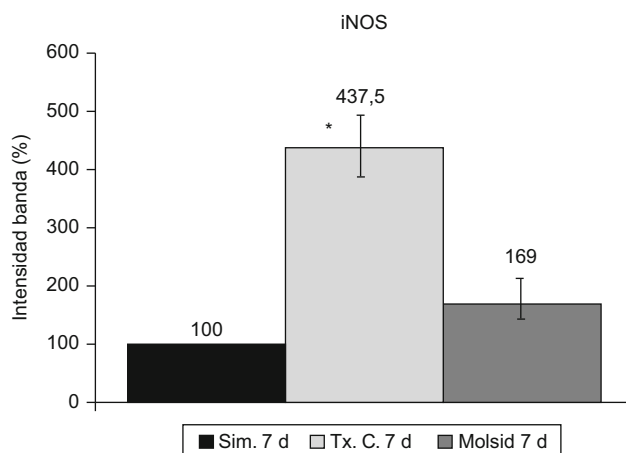


Figura 9. Modelo trasplante renal en cerdo. Expresión de iNOS; porcentaje de intensidad de banda respecto al grupo simulado, a los 7 días postrasplante. * vs. grupo simulado y grupo molsidomina 7 días.

La concentración de nitritos demostró un incremento ($p < 0,001$) en el grupo trasplante-control (24 h=48,2 nM; 7 d=34,3 nM) respecto al grupo simulado (24 h=6,1 nM;

7 d=4,6 nM) y al grupo molsidomina (24 h=11,1 nM; 7 d=8 nM); en éste observamos una disminución significativa ($p < 0,05$) a los 7 días respecto de la evaluada a las 24 h.

La expresión de la iNOS objetivó un incremento ($p < 0,001$) en el grupo trasplante-control respecto al grupo simulado y al grupo molsidomina (fig. 9).

Interacción leucocito-endotelio

La ICAM-1 aumentó ($p < 0,01$) en el grupo trasplante-control (158,4%) con respecto al grupo simulado y al grupo molsidomina (117,8%). La sICAM-1 experimentó un incremento ($p < 0,001$) en el grupo trasplante-control (198,2%) con respecto al grupo molsidomina (43%), que descendió ($p < 0,01$) por debajo de los valores del grupo simulado.

La VCAM-1 aumentó ($p < 0,05$) en el grupo trasplante-control con respecto al grupo simulado y al grupo molsidomina (fig. 10). Igual comportamiento tuvo la sVCAM-1 (fig. 11).

Regulación transcripcional

La activación de κB se mantuvo incrementada ($p < 0,001$) en el grupo trasplante-control a los 7 días postreperfusión. El grupo molsidomina no experimentó cambios con respecto al grupo simulado (fig. 12).

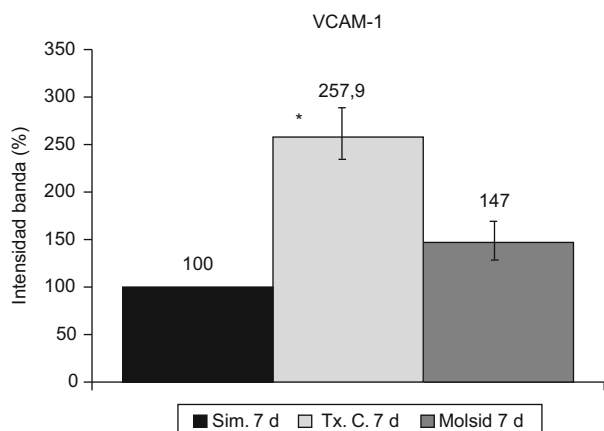


Figura 10. Modelo trasplante renal en cerdo. Intensidad de la banda de VCAM-1; porcentaje respecto al grupo simulado, a los 7 días postrasplante. * vs. grupo simulado y grupo molsidomina 7 días.

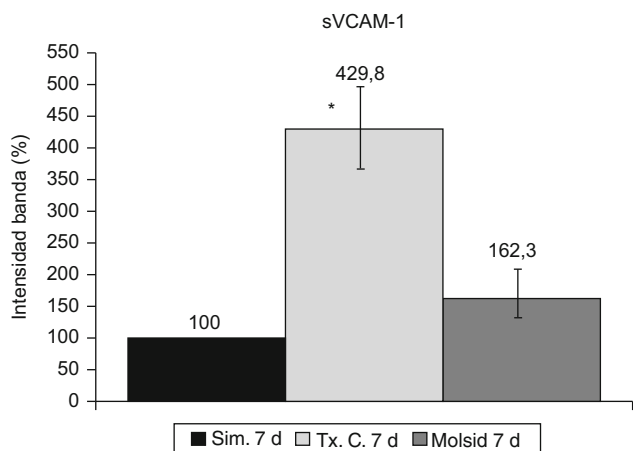


Figura 11. Modelo trasplante renal en cerdo. Intensidad de la banda de sVCAM-1; porcentaje respecto al grupo simulado, a los 7 días postrasplante. * vs. grupo simulado y grupo molsidomina 7 días.

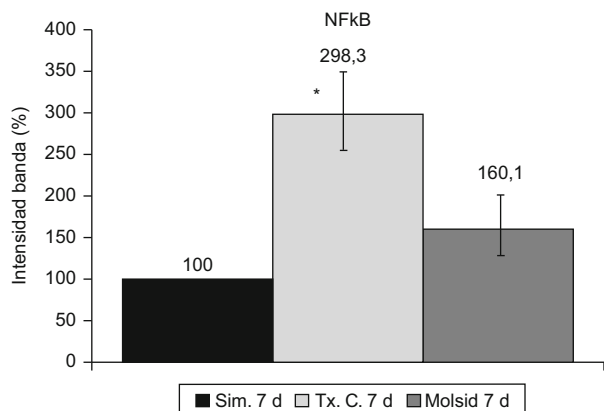


Figura 12. Modelo trasplante renal en cerdo. Activación de NFkB; porcentaje respecto al grupo simulado a los 7 días postrasplante. * vs. grupo simulado y grupo molsidomina 7 días.

Discusión

El diseño experimental desarrollado plantea estudiar la respuesta inflamatoria, sus consecuencias en el trasplante de órganos y su control profiláctico con donadores de NO.

La función renal demuestra la agresividad de los modelos aplicados y un mantenimiento de ésta en los animales tratados. Este mantenimiento podría deberse a la síntesis de sustancias vasodilatadoras y el bloqueo de las vasoconstrictoras, mediante una disminución del efecto de contracción mesangial inducida por los RLO, una disminución de la producción de NO por la enzima renal iNOS, junto con la síntesis de NO por la enzima cNOS, esencial en la conservación de la función renal¹¹⁻¹³.

El estado oxidativo demuestra un fuerte incremento de la actividad enzimática del sistema defensivo en los controles que se corrobora con la elevación del ASO¹⁴⁻¹⁶; las causas de la disminución de radicales libres del oxígeno (RLO) en los grupos tratados podrían ser la inhibición por el NO exógeno de la NADPH-oxidasa¹⁷ y la xantinaoxidasa, la reacción del NO con el ASO, la disminución de la activación e infiltración neutrofílica por bloqueo de los RLO con NO, la menor producción de TNF- α y de otros mediadores de la respuesta inflamatoria^{6,8} y el control de la transcripción nuclear, como veremos más adelante.

El incremento de la infiltración neutrofílica en los grupos control y su relación directamente proporcional con el daño ocasionado en la inflamación ha sido ampliamente demostrado¹⁸⁻²⁰. La significativa disminución de la actividad de la MPO detectada en los grupos tratados con los donadores de NO^{6,8} nos revela la modulación en la activación leucocitaria e interacción leucocito-endotelio. Bath et al²¹ demuestran in vitro cómo el NO exógeno puede disminuir la quimiotaxis, resultado coincidente con nuestra menor infiltración en los grupos tratados. Los RLO, entre otros mediadores, son responsables de incrementar la llegada al foco de las células inflamatorias, de la activación de los leucocitos polinucleares neutrófilos y de la expresión de las CAMs por parte del endotelio y de los leucocitos, iniciándose de este modo la infiltración; estos aspectos son claves para la migración.

Las citocinas proinflamatorias inducen la expresión de CAMs; el TNF- α estimula la adhesividad neutrofílica y la activación del factor transcripcional κB . Por estos motivos sospechamos que un posible mecanismo de acción en el efecto beneficioso del NO podría ser la regulación de la producción de citocinas. Los resultados evidencian un incremento de las citocinas proinflamatorias (TNF- α e IL-1 β) en

los grupos control que disminuye de forma significativa al ser tratados. Los mecanismos implicados podrían deberse a una disminución de la activación neutrofílica: el TNF- α liberado por neutrófilos induciría la liberación de RLO por parte de otros neutrófilos, quienes, a su vez, aumentarían el daño, entre otras, en las células endoteliales, favoreciéndose así el fenómeno de migración leucocitaria. El descenso del TNF- α bloquearía este proceso de activación autocrina y conduciría a una menor activación del NF κ B y, por tanto, menor expresión de CAMs; esto último conllevaría una disminución en la infiltración neutrofílica. El NF κ B, también está implicado en la síntesis de citocinas proinflamatorias; por tanto, al disminuir los RLO (menor infiltración neutrofílica), en mayor o menor medida con los diferentes tratamientos empleados, disminuye el ambiente oxidativo intracelular que favorece la activación del NF κ B y, de esta manera, la producción de estas citocinas^{6,8,22}.

Tanto la citocina antiinflamatoria IL-6 como la IL-10 en los grupos tratados con NO presentan un importante incremento, y, por tanto, un mayor control de la respuesta inflamatoria, ya que son citocinas inmunomoduladoras que juegan un importante papel en la supresión de la respuesta inflamatoria^{23,24}. Se ha demostrado que la administración de IL-10 disminuye el daño renal por I/R²⁵, y el tratamiento con anti-IL-10 lo exacerba. En trabajos *in vitro* las incubaciones con molsidomina aumentan la actividad de las citocinas antiinflamatorias²⁶.

El NO es uno de los más importantes mediadores de la respuesta inflamatoria; su producción aumenta de forma significativa en los grupos trasplante-control, debido a la activación de la iNOS, dependiente de la producción de RLO, la liberación de citocinas proinflamatorias, la activación de NF κ B, etc., ocasionando, como resultado final, una mayor lesión inflamatoria. Los niveles altos de NO producidos por la iNOS se han implicado en el daño renal asociado con la reperusión. Varias investigaciones *in vivo* e *in vitro* han demostrado que la inhibición de la expresión y de la actividad de la iNOS puede prevenir la lesión renal mediada por NO²⁷.

La expresión de eNOS y de iNOS puede ocurrir simultáneamente tras la reperusión, y los efectos beneficiosos que ejerce a nivel local la actividad de la eNOS sobre la vascularización renal no serían contrarrestados por el perjudicial efecto citotóxico que ejerce la iNOS desde la infiltración macrofágica.

Hemos hallado una disminución significativa de la expresión de las CAMs estudiadas en los animales tratados, que puede deberse a diferentes factores; en principio, la regulación de la propia respuesta inflamatoria con la disminución en la producción de citocinas proinflamatorias²⁸, pero no podemos olvidar la posible modulación de la activación de proteínas transcripcionales como NF κ B.

La disminución de la expresión de las moléculas de adhesión celular estudiadas determinarán una menor interacción leucocito-endotelio y, consecuentemente, una menor infiltración neutrofílica, fenómeno directamente relacionado con el daño posreperusión.

La menor activación e infiltración neutrofílica^{29,30} conducirá a una menor producción de RLO causantes de lesión tisular. Éstos, a su vez, son mediadores inflamatorios capaces de activar factores transcripcionales como κ B, causante de la producción de diferentes citocinas proinflamatorias responsables del incremento de la expresión de CAMs^{31,32} y, además, en el caso del TNF- α , del incremento en la producción de RLO. Todo ello redundará en una menor lesión tisular, con un mantenimiento de la función del órgano y, consecuentemente, un efecto protector en el síndrome de la respuesta inflamatoria por I/R, que podría ser la clave del efecto beneficioso del tratamiento con el donador de NO en el trasplante renal.

La administración de los donadores de NO tiene efectos protectores sobre la función renal e inhibe la respuesta inflamatoria inducida por la I/R renal en el trasplante renal. Estos efectos parecen estar mediados por el menor estrés oxidativo, la

disminución de citocinas proinflamatorias con un aumento de los sistemas de autocontrol inflamatorio, la menor interacción leucocito-endotelio y, consecuentemente, una menor infiltración neutrofílica y daño endotelial^{33–37}.

Estos datos sugieren la posibilidad de utilizar un donador de NO para trasplante renal con el objetivo de preservar la función del injerto y hacer disminuir la incidencia de fallo del injerto postrasplante.

Agradecimientos

Trabajo financiado por: Investigación y Desarrollo de Lacer S.A., Ministerio de Ciencia y Tecnología (SAF2007-63893), Instituto Carlos III de Investigación Sanitaria (RedinRen, 206/0016), Junta de Castilla y León (SA001/CO5) y Fundación Renal Íñigo Álvarez de Toledo.

Bibliografía

- Chertow GM, Burdick E, Honour M, Bonventre JV, Bates DW. Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:3365–70.
- Bell M, Martling CR. Long-term outcome after intensive care: Can we protect the kidney? *Crit Care.* 2007;11:147.
- Devarajan P. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17:1503–20.
- Nankivell BJ, Chapman JR. Chronic allograft nephropathy: Current concepts and future directions. *Transplantation.* 2006;81:643–54.
- Rivas-Cabañero L, Montero A, López-Novoa JM. Increased glomerular nitric oxide synthesis in gentamicin-induced renal failure. *Eur J Pharmacol.* 1994;270:119–21.
- García-Criado FJ, Eleno N, Santos-Benito F, Valdunciel JJ, Reverte M, Lozano-Sánchez FS, et al. Protective effect of exogenous nitric oxide on the renal function and inflammatory reaction in a model of ischemia-reperfusion. *Transplantation.* 1998;66:982–90.
- Torras J, Herrero-Fresneda I, Lloberas N, Riera M, Cruzado JM, Grinyó JM. Promising effects of ischemic preconditioning in renal transplantation. *Kidney Int.* 2002;61:2218–27.
- Rodríguez-Peña A, García-Criado FJ, Eleno N, Arévalo M, López-Novoa JM. Intrarenal administration of molsidomine, a molecule releasing nitric oxide, reduces renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Am J Transplant.* 2004;4:1605–13.
- Lozano FS, López-Novoa JM, Rodríguez JM, Barros MB, García-Criado FJ, Nicolás JL, et al. Exogenous nitric oxide modulates the systemic inflammatory response and improves kidney function after risk-situation abdominal aortic surgery. *J Vasc Surg.* 2005;42:129–39.
- López-Neblina F, Toledo-Pereyra LH, Suzuki S. Ultrarapid orthotopic technique for renal transplantation in the rat. *Microsurgery.* 1994;15:274–8.
- Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. The anti-aggregating properties of vascular endothelium: Interactions between prostacyclin and nitric oxide. *Br J Pharmacol.* 1987;92:639–46.
- Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. Comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor, nitric oxide and prostacyclin in platelets. *Br J Pharmacol.* 1987;92:181–7.
- Rivas Cabañero L, Rodríguez-López A, Martínez-Salgado C, Saura M, Lamas S, López-Novoa JM. Gentamicin treatment increases mesangial cell nitric oxide production. *Exp Nephrol.* 1997;5:23–30.
- Gryglewski RJ, Palmer RMJ, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature.* 1986;320:454–6.
- Hogg N, Darley-Usmar V, Wilson M, Moncada S. Production of hydroxyl radicals from the simultaneous generation of superoxide and nitric oxide. *Biochem J.* 1992;281:419–24.
- Toledo-Pereyra LH, López-Neblina F, Toledo AH. Reactive oxygen species and molecular biology of ischemia/reperfusion. *Ann Transplant.* 2004;9:81–3.
- Clancy RM, Leszczynska-Piziak J, Abramson SB. Nitric oxide, an endothelial cell relaxation factor, inhibits neutrophil superoxide production via a direct action on the NADPH oxidase. *J Clin Invest.* 1992;90:1116–21.
- Linas S, Whittenburg D, Repine JE. Nitric oxide prevents neutrophil-mediated acute renal failure. *Am J Physiol.* 1997;272:F48–54.
- Basile DP. The endothelial cell in ischemic acute kidney injury: Implications for acute and chronic function. *Kidney Int.* 2007;72:151–6.
- Rao RM, Yang L, García-Cárdena G, Lusinskas FW. Endothelial-dependent mechanisms of leukocyte recruitment to the vascular wall. *Circ Res.* 2007;101:234–7.

21. Bath PMW, Hassall DG, Gladwin AM, Palmer RMJ, Martin J. Nitric oxide and prostacyclin: Divergence of inhibitory effects on monocyte chemotaxis and adhesion to endothelium *in vitro*. *Arterioscler Thromb*. 1991;11:254–60.
22. Daemen MA, Van de Ven MW, Heineman E, Buurman WA. Involvement of endogenous interleukin-10 and tumor necrosis factor- α in renal ischemia-reperfusion injury. *Transplantation*. 1999;67:792–800.
23. Moore KW, De Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*. 2001;19:683–765.
24. Sarkar S, Sinsimer KS, Foster RL, Brewer G, Pestka S. AUF1 isoform-specific regulation of anti-inflammatory IL10 expression in monocytes. *J Interferon Cytokine Res*. 2008;28:679–91.
25. Deng J, Kohda Y, Chiao H, Wang Y, Hu X, Hewitt SM, et al. Interleukin-10 inhibits ischemic and cisplatin-induced acute renal injury. *Kidney Int*. 2001;60:2118–28.
26. Freels JL, Nelson DK, Hoyt JC, Habib M, Numanami H, Lantz RC, et al. Enhanced activity of human IL-10 after nitration in reducing human IL-1 production by stimulated peripheral blood mononuclear cells. *J Immunol*. 2002;169:4568–71.
27. Yokozawa T, Chung HY, Kim DW, Goto H. Involvement of superoxide and/or nitric oxide in renal tissue injury. *Exp Toxicol Pathol*. 1999;51:517–21.
28. Spiecker M, Darius H, Kaboth K, Hubner F, Liao JK. Differential regulation of endothelial cell adhesion molecule expression by nitric oxide donors and antioxidants. *J Leukoc Biol*. 1998;63:732–9.
29. Neumann B, Machleidt T, Lifka A, Pfeffer K, Vestweber D, Mak TW, et al. Crucial role of 55-kilodalton TNF receptor in TNF-induced adhesion molecule expression and leukocyte organ infiltration. *J Immunol*. 1996;156:1587–93.
30. Cristol JP, Thiernemann C, Mitchell JA, Walder C, Vane JR. Support of renal blood flow after ischemic-reperfusion injury by endogenous formation of nitric oxide and of cyclo-oxygenase vasodilator metabolites. *Br J Pharmacol*. 1993;109:188–94.
31. Valdivielso JM, Crespo C, Alonso JR, Martínez-Salgado C, Eleno N, Arévalo M, et al. Renal ischemia in the rat stimulates nitric oxide synthesis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001;280:R771–9.
32. Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: An endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88:4651–5.
33. Yu L, Gengaro PE, Niederberger M, Burke TJ, Schrier RW. Nitric oxide: A mediator in rat tubular hypoxia/reoxygenation injury. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:1691–5.
34. Guan Z, Gobe G, Willgoss D, Endre ZH. Renal endothelial dysfunction and impaired autoregulation after ischemia-reperfusion injury result from excess nitric oxide. *Am J Physiol Renal*. 2006;291:F619–28.
35. Valdivielso JM, Blantz RC. Acute renal failure: Is nitric oxide the bad guy? *Antiox Redox Signal*. 2002;4:925–34.
36. Cooke JP, Tsao PS. Cytoprotective effects of nitric oxide. *Circulation*. 1993;88:2451–4.
37. Johnson III G, Tsao PS, Lefer AM. Cardioprotective effects of authentic nitric oxide in myocardial ischemia with reperfusion. *Crit Care Med*. 1991;19:244–52.