

DEPARTAMENT CIRURGIA

ÓXIDO NÍTRICO INHALADO EN DONANTES Y
RECEPTORES DE TRASPLANTE PULMONAR.
PREVENCIÓN DE LA DISFUNCIÓN PRIMARIA DEL
INJERTO

IGNACIO MORENO PUIGDOLLERS

UNIVERSITAT DE VALENCIA
Servei de Publicacions
2009

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 16 de gener de 2009 davant un tribunal format per:

- D^a. Guillermina Font Pérez
- D. Antonio Montero Matamala
- D^a. Mercedes Lluch Fernández
- D^a. Carmen Gomar Sancho
- D^a. Amparo Mir Gisbert

Va ser dirigida per:

D^a. Rosario Vicente Guillen

©Copyright: Servei de Publicacions
Ignacio Moreno Puigdollers

Depòsit legal:

I.S.B.N.:978-84-370-7434-4

D.L.:V-1293-2009

Edita: Universitat de València
Servei de Publicacions
C/ Artes Gráficas, 13 bajo
46010 València
Spain
Telèfon: 963864115

UNIVERSIDAD DE VALENCIA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA



***ÓXIDO NÍTRICO INHALADO EN DONANTES Y
RECEPTORES DE TRASPLANTE PULMONAR.
PREVENCIÓN DE LA DISFUNCIÓN PRIMARIA
DEL INJERTO***

Memoria presentada para optar al Título de Doctor en Medicina y Cirugía
por:

IGNACIO MORENO PUIGDOLLERS

Directora: Rosario Vicente Guillén

Servicio Anestesiología y Reanimación

Hospital La Fe Valencia

La Dra. **Rosario Vicente Guillén**, Facultativa Especialista en Anestesiología y Reanimación del Hospital Universitario La Fe de Valencia,

CERTIFICA:

Que el licenciado IGNACIO MORENO PUIGDOLLERS, ha realizado el trabajo: ***“ÓXIDO NÍTRICO INHALADO EN DONANTES Y RECEPTORES DE TRASPLANTE PULMONAR. PREVENCIÓN DE LA DISFUNCIÓN PRIMARIA DEL INJERTO”***, íntegramente bajo su estricta dirección.

En Valencia, Octubre de 2008

Fdo: Dra. Rosario Vicente Guillén

“Donde quiera que se ama el arte de la medicina, se ama tambien a la humanidad”

Platón

Este trabajo de investigación forma parte de un Ensayo Clínico que ha sido financiado mediante una beca por la empresa INO Therapeutics Inc., (Clinton, New Jersey).

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a mis padres, José-Luis y Mari Carmen, la educación recibida, el espíritu de aprendizaje y la posibilidad de estudiar una carrera sin la cual no hubiera podido realizar mi especialidad ni los estudios de postgrado que han culminado en esta tesis doctoral.

A la Doctora Rosario Vicente, directora e impulsora de este estudio, trabajadora incansable y siempre motivada ante nuevos retos. Además de una excelente profesional a la cual admiro, posee una gran calidad humana, lo que le confiere el perfil ideal de un buen médico.

Al grupo de Anestesiólogos de Trasplante Pulmonar del Hospital La Fe, capitaneados por el Dr. Fernando Ramos y la Doctora Rosario Vicente, auténticos expertos y pioneros del trasplante pulmonar, ellos me enseñaron y me siguen enseñando cada día las peculiaridades de este apasionante implante.

Al Servicio de Cirugía Torácica del Hospital La Fe, especialmente al Dr. Padilla, Dr. Calvo, Dr. Peñalver y Dr. Pastor, por ayudarme en la recogida de muestras del donante pulmonar allí donde se encontrara. También al personal de enfermería del equipo de extracción (Mari Cruz, María José, José Manuel, Voro...) por traerme las muestras sin poner pegos.

A todo el Servicio de Reanimación del Hospital La Fe, desde el staff médico encabezado por el Dr. José-Luis Vicente y el Dr. Barberá por facilitarme los trámites y el desarrollo del estudio sin objeciones. También al personal de enfermería por ayudarme en la recogida de las muestras, para ese “estudio interminable” que por fin parece que estoy acabando.

A la Profesora Amparo Mir, cuando me dio clases de Inmunología en la Facultad de Medicina ya intuí su capacidad investigadora que, posteriormente me ha podido demostrar en este estudio. No habríamos podido determinar las citocinas sin su ayuda. Le agradezco su paciencia y docencia en la explicación de la técnica ELISA para los que no estamos acostumbrados a trabajar en el laboratorio todos los días.

Al personal del Departamento de Medicina (Pili, José, Rosa) y especialmente a Gema que me ayudó con el material y a comprender mejor la técnica. También a las doctoras Olga Portolés y Marisa Guillén del Departamento de Medicina Preventiva por su asesoramiento en el análisis estadístico.

Al personal del Departamento de Microbiología de la La Fe, por dejarme utilizar sus instalaciones, centrifugadora, nevera de -80°C, material...

A la Coordinación de Trasplantes, (Dr. Galán, Luisa, Pepa, Puri, Manoli y Ana) por avisarme siempre que había un donante pulmonar y a María, la becaria de la Coordinación de Trasplantes, por ayudarme a procesar las muestras iniciales.

Al Servicio de Neumología del Hospital La Fe (Dra. Morales, Dra. Solé, Dr Ansuátegui), por facilitarme la revisión de historias clínicas cuando lo he necesitado y ayudarme siempre que hemos tenido dudas clínicas.

Y por último, pero más importante, a mi mujer Raquel y a mis hijos Pablo y el recién llegado Nicolás, por robarles mucho tiempo libre de dedicación al estar con este “trabajito”. Gracias por su amor y comprensión.

ABREVIATURAS

TP.....	Trasplante Pulmonar
DPI/dpi.....	Disfunción Primaria del Injerto
NO.....	Óxido Nítrico
iNO.....	Óxido Nítrico inhalado
ONT.....	Organización Nacional de Trasplantes
EPOC.....	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
VIH.....	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
VHB.....	Virus de la Hepatitis B
IMC.....	Índice de masa corporal
RA.....	Rechazo Agudo
BOS.....	Síndrome de Bronquiolitis Obliterante
CMV.....	Citomegalovirus
VEMS.....	Volumen Espiratorio Máximo Segundo
MHC.....	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
HLA.....	Human Leukocyte Antigens
IL.....	Interleuquina, citocina
SDRA.....	Síndrome de distress respiratorio del adulto
ALI.....	Lesión Pulmonar Aguda
ISHLT.....	Sociedad Internacional de Trasplante cardíaco y pulmonar
RX.....	Radiografía
PaO ₂	Presión alveolar de oxígeno
FiO ₂	Fracción inspirada de oxígeno
VMC.....	Ventilación mecánica controlada
PEEP.....	Presión positiva al final de la expiración
CEC.....	Circulación extracorpórea
HTP.....	Hipertensión pulmonar
PaCO ₂	Presión arterial del dióxido de carbono
ECMO.....	Oxigenación por membrana extracorpórea

PGE.....	Prostaglandinas
TNF.....	Factor de necrosis tumoral
IFN.....	Interferones
CSF.....	Factores estimuladores de colonias
TGF.....	Factor transformador de tejidos
ELISA.....	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
BAL.....	Lavado Broncoalveolar
ppm.....	partes por millón
NOS.....	Óxido nítrico sintetasas
GMPc.....	Guanosín-monofosfato-cíclico
NADPH.....	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
PMN.....	Polimorfonucleares
NO ₂	Dióxido de Nitrógeno
GCs.....	Guanilato ciclasa soluble
PAF.....	Factor activador plaquetario
PAPm.....	Presión Arteria Pulmonar media
RVP y RVS.....	Resistencia Vascular Pulmonar y Sistémica
TEP.....	Tromboembolismo Pulmonar
GC.....	Gasto Cardíaco
CC.....	Cirugía Cardíaca
TCO.....	Trasplante Cardíaco
CEIC.....	Comité Ético de Investigación Clínica
ECG.....	Electrocardiograma
PVC.....	Presión venosa central
TA.....	Tensión Arterial
PcAP.....	Presión capilar pulmonar
SvO ₂	Saturación venosa mixta de oxígeno

ÍNDICE

ÍNDICE	11
1 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	15
2 INTRODUCCIÓN	19
2.1 EL TRASPLANTE PULMONAR	20
2.1.1 Indicaciones	
2.1.2 Contraindicaciones Absolutas	
2.1.3 Contraindicaciones Relativas	
2.1.4 Rechazo Agudo	
2.1.5 Infecciones	
2.1.6 Rechazo Crónico	
2.1.7 Factores que influyen en el Rechazo de Órganos	
2.2 DISFUNCIÓN PRIMARIA DEL INJERTO	27
2.2.1 Incidencia	
2.2.2 Definición	
2.2.3 Factores de Riesgo del Donante	
2.2.4 Factores de Riesgo del Receptor	
2.2.5 Resultados Clínicos tras Disfunción Primaria del Injerto	
2.2.6 Tratamiento de la Disfunción Primaria del Injerto	
2.3 LAS CITOCINAS	38
2.3.1 Propiedades y Características	
2.3.2 Secreción de citocinas por los Linfocitos Th1/Th2	
2.3.3 Medición de citocinas	
2.3.4 Clasificación de las citocinas según el tipo de respuesta	
1) Citocinas mediadoras de la inmunidad natural	
2) Citocinas que regulan la activación de linfocitos T	
3) Citocinas proinflamatorias e inmunosupresoras	
2.4 OXIDO NITRICO	58
2.4.1 Introducción	

2.4.2 Óxido Nítrico Endógeno	
- Síntesis	
- Fisiología	
- Acciones del óxido nítrico	
2.4.3 Óxido Nítrico Inhalado	
- Introducción	
- Efectos Clínicos	
- Metabolismo	
- Administración y Monitorización	
- Efectos Adversos	
- Aplicaciones Clínicas	
3 HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS	84
3.1 HIPÓTESIS DE TRABAJO	
3.2 OBJETIVOS	
4 MATERIAL Y MÉTODOS	87
4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	
4.1.1 Diseño Básico	
4.1.2 Selección de los pacientes	
4.2 PROTOCOLO DE TRASPLANTE PULMONAR	90
4.2.1 Extracción pulmonar	
4.2.2 Cirugía de banco	
4.2.3 Técnica Anestésica	
4.3 ADMINISTRACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO	95
4.4 VARIABLES ANALIZADAS	97
4.4.1 Parámetros Respiratorios	
4.4.2 Parámetros Hemodinámicos	
4.4.3 Parámetros Inmunológicos	

4.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	100
5 RESULTADOS	102
6 DISCUSIÓN	163
7 CONCLUSIONES	195
8 BIBLIOGRAFÍA	198

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El trasplante pulmonar (TP) constituye actualmente una opción terapéutica válida para los pacientes con enfermedades parenquimatosas y vasculares pulmonares en estadio terminal en los que otros tratamientos se han mostrado ineficaces.

Aunque presenta mayor número de complicaciones que el de otros órganos sólidos tanto a corto como a largo plazo, se han producido avances importantes en la mejora del pronóstico de estos enfermos, especialmente en lo que se refiere a superar los problemas precoces perioperatorios, con los avances en inmunosupresión, técnicas quirúrgicas y preservación del órgano.

A nivel global, la supervivencia a tres años de los trasplantados pulmonares se aproxima al 70% pero desciende hasta el 50% cumplidos los cinco años del implante.

La cirugía produce un trauma tisular y una reacción inflamatoria que atrae a las defensas celulares. La lesión tisular altera la fisiología normal de diversos sistemas y libera potentes mediadores de la inflamación y del dolor.

La disfunción primaria del injerto (DPI/dpi) secundaria al daño de isquemia/reperfusión es responsable de una importante morbilidad y la principal causa de muerte precoz tras el implante pulmonar. La incidencia de DPI varía entre el 11% y el 57% según los estudios consultados y se encontraba afectada por la falta de criterios de definición estandarizados hasta la reunión de consenso publicada en Octubre de 2005^{1,2}.

La DPI está relacionada con el desarrollo de un proceso inflamatorio donde juegan un papel importante la activación de leucocitos, secuestro de neutrófilos, liberación de enzimas dañinos y radicales libres de oxígeno.

Los cambios en el sistema inmunológico que se producen durante el trasplante y el posible desarrollo de DPI pueden objetivarse observando la respuesta perioperatoria de diversos marcadores como las citocinas (pro y antiinflamatorias).

Las citocinas son glucoproteínas que actúan como factores producidos mayoritariamente por leucocitos que intervienen en la regulación de las células del sistema inmune, así como en los procesos inflamatorios. Se les atribuye un importante papel en la regulación de la interacción entre los leucocitos circulantes y el endotelio y parénquima pulmonar durante la dpi.

Varios tratamientos han sido investigados para optimizar el período de isquemia del órgano, reducir la dpi, mejorar la función del injerto y disminuir la morbilidad y mortalidad. Así, se ha empleado la prostaglandina E1 durante la reperfusión del pulmón donante.

Los efectos protectores de la pentoxifilina y el óxido nítrico inhalado (iNO) también han sido comprobados en humanos durante el trasplante pulmonar.

El efecto contrastado del iNO es la vasodilatación pulmonar selectiva que produce una disminución de la presión arterial pulmonar media y las resistencias vasculares pulmonares; por ello su uso terapéutico para la hipertensión pulmonar y la insuficiencia cardíaca derecha derivada de ella. Incrementa la relación ventilación/perfusión y con ello la oxigenación. También se le atribuye efecto antiinflamatorio, broncodilatador (relaja el músculo liso bronquial) y de mejora en el intercambio gaseoso (ya que es vasodilatador alveolar).

El iNO podría aminorar la DPI por su efecto sobre los neutrófilos polimorfonucleares al inhibir su adherencia, inhibición de radicales libres y limitación en la producción de citoquinas.

Sin embargo, el efecto protector del iNO sobre la DPI está controvertido y encontramos multitud de estudios en la literatura que se encuentran a favor y en contra de esta hipótesis³.

Mientras algunos autores han investigado el papel de las citocinas en la DPI y otros han pretendido evidenciar que el iNO atenúa ésta liberación, todavía no se ha demostrado en humanos si existe un verdadero efecto inmunomodulador del iNO administrado durante el perioperatorio del trasplante pulmonar⁴.

Por lo tanto, era necesario efectuar este estudio con el objetivo de evaluar la eficacia del iNO en el donante y receptor pulmonar para mejorar los parámetros de función pulmonar, observar si se reduce la cascada inflamatoria y prevenir o aminorar la DPI.

INTRODUCCIÓN

2.1 EL TRASPLANTE PULMONAR (TP)

El TP se ha convertido en una efectiva estrategia terapéutica aplicable en el estadio final de la enfermedad pulmonar no maligna, en la cual no hay posibilidad de mejoría o curación con otras medidas médico/quirúrgicas, con el objetivo de alargar la supervivencia de estos pacientes y mejorar de forma considerable su calidad de vida⁵.

El número de TP, desde 1980, supera ampliamente los 10.000 casos (uni o bipulmonares). En España se inició el programa de TP en la década de los 90. El primer TP con éxito se realizó en el Hospital Vall d'Hebron de Barcelona en 1990 y posteriormente iniciaron su actividad los diferentes grupos de trasplante en otras comunidades. En 1991 el Hospital Puerta de Hierro de Madrid realizó su primer trasplante, en 1992 lo realizó el Hospital La Fe de Valencia, en 1993 se efectuó en el Hospital Reina Sofía de Córdoba, en 1997 en el Hospital Marqués de Valdecilla de Santander y en 1999 en el Hospital Juan Canalejo de La Coruña⁶.

Estos son los Centros dónde se practica actualmente el trasplante de pulmón en España. Desde Enero de 1993 hasta Diciembre de 2006 hay registrados, según los datos de la Organización Nacional de Trasplantes (ONT), 1618 trasplantes pulmonares⁷.

Cada TP conlleva una enorme complejidad organizativa y técnica. A pesar de los progresos conseguidos, el procedimiento continúa teniendo una morbilidad y mortalidad nada despreciables. Existe además la problemática de la escasez de órganos, más acusada en el pulmón pues éste precisa un cuidadoso manejo y es el órgano que más rápidamente se degrada. Este es el motivo por el que el pulmón es válido para trasplante sólo en un 1.5% del total de las donaciones de órganos. Por todo lo expuesto, deben

seleccionarse cuidadosamente a los potenciales receptores que puedan beneficiarse del implante. Estos han de ser pacientes con insuficiencia respiratoria avanzada en estadio terminal, en los que se han agotado todos los tratamientos posibles, con expectativa de vida inferior a dos años, pero con una situación clínica suficientemente aceptable para permitirles soportar la intervención⁸.

2.1.1 Indicaciones

Se dividen en cuatro grandes grupos, dependiendo del componente fisiopatológico predominante. Algunas enfermedades presentan un patrón mixto y son difíciles de clasificar en estos grupos⁹:

- Enfermedades intersticiales difusas del pulmón (patrón restrictivo): fibrosis pulmonar idiopática o secundaria.
- Enfermedades obstructivas pulmonares crónicas (EPOC): Enfisema
- Enfermedades supurativas pulmonares de origen séptico: bronquiectasias o fibrosis quística.
- Enfermedades del árbol vascular pulmonar: hipertensión pulmonar primaria o secundaria.

El trasplante puede ser unipulmonar, bipulmonar o cardiopulmonar.

La sustitución de un solo pulmón puede, en bastantes casos, devolver al paciente una capacidad funcional respiratoria suficiente para desarrollar su vida normal. Es algo menos complejo, reporta un menor riesgo al paciente y una recuperación más fácil al persistir la ayuda de un pulmón nativo. Además permite un mayor aprovechamiento de los órganos ya que podemos trasplantar a dos pacientes a partir de un único donante.

Sin embargo el trasplante unipulmonar no siempre es posible, debiendo recurrir al bipulmonar, bien porque la indicación sea patología séptica, lo

que produciría la infección del pulmón trasplantado si dejamos el otro, o bien porque por las características de desarrollo potencial del paciente se considere más adecuado el reemplazo de ambos pulmones para restituir al máximo la capacidad funcional pulmonar teórica. El trasplante cardiopulmonar se reserva para los casos en los que coexiste una alteración severa e irreversible de la función cardíaca^{8,10,11}.

2.1.2 Contraindicaciones Absolutas de TP

La presencia de: insuficiencia renal (aclaramiento de creatinina menor de 50 mg/ml/min), enfermedad coronaria severa no susceptible de tratamiento o insuficiencia ventricular izquierda evolucionada, infección bacteriana o micótica extra pulmonar activa no controlada, infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (en discusión), infección por virus hepatitis B (VHB) (antígeno positivo), infección por virus hepatitis C (evidencia histológica de daño hepático), edad (>65 años para el trasplante unipulmonar, >60 años para el bipulmonar y 55 años para el trasplante cardiopulmonar), enfermedad neoplásica activa o estar libre de enfermedad al menos 2 años (excepto epitelomas) o >5 años en tumores metastáticos (riñón, mama, colon, melanomas)^{5,9,12}.

2.1.3 Contraindicaciones Relativas de TP

La osteoporosis sintomática, enfermedad músculo-esquelética severa o neuromuscular progresiva, uso de más de 20 mg/día de corticoides, estado nutricional (IMC <70% ó >130%)¹³ de los valores teóricos, hábitos adictivos (alcoholismo, tabaquismo, drogadicción), problemas

psicosociales, colonización pulmonar por gérmenes (hongos o bacterias rebeldes al tratamiento farmacológico)^{5,9,12}.

A pesar de los avances conseguidos en el campo del TP tanto a nivel técnico como en el control de la inmunosupresión y del postoperatorio inmediato, todavía existen numerosas complicaciones inherentes a la complejidad específica de este tipo de implante que ensombrecen las estadísticas de supervivencia y de morbilidad. Las principales complicaciones por su alta frecuencia y su vital importancia son: la DPI, el Rechazo Agudo (RA), las Infecciones y el Rechazo Crónico ó Síndrome de Bronquiolitis Obliterante (BOS).

2.1.4 Rechazo agudo (RA)

La incidencia, a pesar de los regímenes inmunosupresores actuales, es alta y la mayoría de receptores experimentan al menos un episodio de rechazo agudo¹⁴. Aunque raramente es mortal, es uno de los factores de riesgo principales para el desarrollo de una bronquiolitis obliterante. El RA es primariamente un fenómeno de inflamación mediada por células (linfocitos T colaboradores, citocinas, linfocitos T citotóxicos) de un órgano reconocido como extraño por el receptor. Histológicamente el rechazo agudo celular se caracteriza por infiltrados perivasculares linfocíticos con o sin una bronquitis linfocitaria o bronquiolitis acompañante. El mayor riesgo de que se produzca corresponde al primer año postrasplante, siendo especialmente frecuente en el periodo postoperatorio inmediato, generalmente entre 7 y 14 días después de la intervención. Las manifestaciones clínicas son inespecíficas e incluyen fiebre, tos, disnea, auscultación de crepitantes o roncus, aparición de infiltrados en la radiología torácica y deterioro en la oxigenación o en la función pulmonar.

Si el rechazo es de un grado bajo, en ocasiones se puede presentar de forma silente. La radiografía de tórax es anormal en el 75% de los episodios de rechazo agudo en el primer mes postrasplante, pero puede ser normal o no mostrar cambios hasta en el 80% de los episodios más tardíos. Es necesaria la realización de una biopsia transbronquial para confirmar el episodio de rechazo¹⁵. El tratamiento del rechazo agudo consiste en la administración de dosis de choque de corticoides.

En pacientes clínicamente estables y asintomáticos se han encontrado biopsias transbronquiales positivas de rechazo en el 25% al 71% de los casos (en general rechazo mínimo o leve), por lo que suele ser una práctica estandar realizar biopsias transbronquiales de vigilancia periódicas, sobre todo durante los primeros 6-12 meses postrasplante¹⁶.

2.1.5 Infecciones

Son dos veces más frecuentes en receptores pulmonares que en receptores de corazón e hígado y se estima que constituye la principal causa de morbilidad en el postoperatorio del TP^{17,18,19}. Las infecciones pueden ser adquiridas, proceder de la colonización del pulmón donante, del pulmón nativo contralateral en caso de trasplante unipulmonar o de organismos provenientes de las vías respiratorias altas y senos paranasales. Entre los factores que favorecen la infección están la inmunosupresión, la denervación del pulmón trasplantado con depresión del reflejo tusígeno y abolición del reflejo mucociliar y la interrupción del drenaje linfático. La neumonía bacteriana es la infección más frecuente, apareciendo hasta en el 66% de los TP, por lo que se aplica profilaxis antibiótica rutinaria. Dado el riesgo de desarrollar bronquitis o neumonía que presentan estos pacientes, el aislamiento de microorganismos bacterianos en el esputo se trata de

manera precoz con antibióticos específicos, aunque represente sólo una colonización de las vías aéreas.

La infección por Citomegalovirus (CMV) es la segunda infección más frecuente en el postoperatorio, aconteciendo de 1 a 4 meses después del trasplante. El ganciclovir se emplea como profilaxis y/o tratamiento²⁰.

Las infecciones fúngicas también son relativamente frecuentes, principalmente por *Candida* o *Aspergillus* y requieren profilaxis específica²¹.

2.1.6 Rechazo Crónico

Es la mayor complicación que afecta la morbi-mortalidad a largo plazo del trasplante pulmonar y cardio-pulmonar y se manifiesta histológicamente en forma de bronquiolitis obliterante (BOS) u obstrucción de la vía aérea debido a un proceso fibroproliferativo^{22,23,24}. El BOS, que no precisa de confirmación histológica, se caracteriza por el declive progresivo del VEMS basal post-trasplante²⁵. El principal factor predisponente para el posterior desarrollo de BOS es el RA. La infección por CMV o el tiempo de isquemia prolongado tienen una implicación menos significativa^{26,27}. Su diagnóstico precoz es fundamental pues un aumento en la inmunosupresión en etapas iniciales podría ralentizar el curso de la patología²⁸.

2.1.7 Factores que influyen en el rechazo de órganos

El fracaso de un determinado trasplante, depende en gran medida de la relación genética existente entre donante y receptor. Cada especie animal posee un conjunto de genes denominado genéricamente Complejo Mayor

de Histocompatibilidad (MHC), y en el caso de los humanos sistema HLA (del inglés Human Leukocyte Antigens) que codifica para una serie de moléculas presentes en la superficie de las células, que son las que determinan en gran parte el grado de compatibilidad o incompatibilidad en el trasplante de órganos. Es evidente que la función fisiológica de estas moléculas no es el rechazo de órganos o tejidos, pero el conocimiento que se tiene en la actualidad de ellas, proviene en gran medida de la influencia que ejercen en la inmunología del trasplante.

La presencia en los órganos injertados de moléculas HLA distintas a las del receptor (situación de incompatibilidad HLA) provoca en éste el desarrollo de anticuerpos y células T citotóxicas dirigidas frente a dichas moléculas, lo que conduce al rechazo de dicho órgano. Por el contrario, si las moléculas HLA presentes en el órgano injertado son iguales a las del receptor (situación de compatibilidad HLA), se reduce en gran medida la incidencia y la severidad del rechazo, aumentando por tanto la supervivencia del injerto.

En la prevención del rechazo se puede actuar a diferentes niveles. Antes del trasplante, buscando la máxima compatibilidad posible entre el donante y el receptor y asegurándose de que, en todo caso, el receptor no tiene anticuerpos preformados contra los antígenos HLA del donante; y después del trasplante con el uso de una terapia inmunosupresora adecuada a cada caso. La supervivencia a largo plazo (sobre todo después de los 5 primeros años), es mayor cuanto mayor sea el grado de compatibilidad HLA, sobre todo en lo que se refiere a las moléculas de clase II porque los linfocitos T CD4+, sólo son capaces de reconocer las moléculas que le son presentadas en la superficie de las células unidas a moléculas de clase II (restricción por clase II), por el contrario, los linfocitos T CD8+, sólo son capaces de

reconocer moléculas que le son presentadas en la superficie de las células unidas a moléculas de clase I (restricción por clase I).

Durante el trasplante se puede actuar en la prevención del rechazo con la utilización de agentes inmunosupresores. Por supuesto, el agente inmunosupresor ideal, sería aquel capaz de reducir o anular la posibilidad de un rechazo, pero sin afectar al resto de las respuestas inmunes.

Por desgracia este agente inmunosupresor no ha sido descubierto hasta el momento, por lo que es necesario tener en cuenta que los pacientes inmunosuprimidos presentan problemas de disminución de defensas frente a todo tipo de organismos patógenos y de desarrollo de determinados tipos de tumores. Las terapias inmunosupresoras más efectivas son las basadas en la interrupción de la citocina 2 (IL-2) por los inhibidores calcineurínicos (ciclosporina y tacrolimus).

2.2 DISFUNCIÓN PRIMARIA DEL INJERTO (DPI)

La DPI es una forma de daño pulmonar agudo que sigue la secuencia de acontecimientos inherentes al proceso del trasplante pulmonar, empezando por la muerte encefálica en el donante, la isquemia pulmonar, la conservación del tejido donante, el trasplante y la reperfusión del órgano en el receptor^{1,29}.

2.2.1 Incidencia

Varía entre un 11% y 57% según los estudios consultados³⁰⁻³³, debido a la falta de criterios de definición estandarizados entre los centros. Así pues, existían una gran variedad de sinónimos para denominar al mismo

síndrome: daño de isquemia-reperfusión, respuesta al implante, edema de reperfusión, edema del implante, edema no cardiogénico, disfunción precoz del injerto, disfunción primaria del injerto (DPI), fallo primario del injerto y síndrome de distress respiratorio agudo post-trasplante (SDRA) o daño agudo pulmonar (ALI).

La Sociedad Internacional de Trasplante cardíaco y pulmonar (ISHLT) formó un grupo de trabajo sobre DPI en el congreso pulmonar en 2003 con el objetivo de estandarizar los criterios de definición para unificar conceptos y facilitar futuros estudios sobre la DPI^{1,2}.

La DPI es responsable de una significativa morbi/mortalidad tras el implante pulmonar^{34,35} y de forma frecuente ocurre entre las horas iniciales hasta los tres primeros días post-trasplante, siendo la principal causa de la mortalidad (50%) en el primer mes¹⁴. Se caracteriza por una pobre oxigenación, baja compliance pulmonar, edema intersticial/alveolar, infiltrados pulmonares en la radiografía (RX) de tórax, incremento en las resistencias vasculares pulmonares, shunt intrapulmonar y daño alveolar agudo.

2.2.2 Definición

La DPI severa según el consenso de la ISHLT^{1,2}, sobre los artículos³⁶⁻⁴⁰ publicados al respecto, incluye:

- 1) Infiltrado difusos pulmonares en la radiografía durante las primeras 72 horas del trasplante.
- 2) Relación PaO₂/FiO₂ (Presión alveolar de oxígeno/Fracción inspirada de oxígeno) menor que 200 en las primeras 72 horas postoperatorias.

3) No otra causa de disfunción (rechazo agudo, obstrucción de la anastomosis venosa, edema pulmonar cardiogénico, neumonía viral o bacteriana).

El **grado de severidad** de la DPI fue definido dependiendo la relación PaO₂/FiO₂ y la existencia de infiltrados según la siguiente tabla:

Grado	DPI	Relación PO₂/FiO₂	Infiltrados Pulmonares
0		>300	Ausentes
1		>300	Presentes
2		200-300	Presentes
3		<200	Presentes

Tabla 1: Graduación de la severidad de la DPI¹

El **tiempo** desde el desarrollo de la DPI también fue definido como sigue:

- T-cero (T0): Definido dentro de las primeras 6 horas del final de la reperfusión del injerto. La primera gasometría a la llegada a la Unidad de Reanimación es ideal para evaluar este estadio, manteniendo al receptor en ventilación mecánica controlada (VMC) con FiO₂ de 1.0 y presión positiva al final de la espiración (PEEP) = 5.
- T24, T48 y T72: Así se evalúa la situación al primer, segundo y tercer día post-reperfusión. El grupo de trabajo no aconseja graduar la situación transcurridas más de 72 horas porque otros factores podrían interferir la situación de DPI.

Si un paciente lleva oxigenación extracorpórea pasa directamente al grado 3. Cualquier enfermo ventilado mecánicamente con FiO₂ mayor que 0.5 y con iNO durante 48 horas tras el implante debería considerarse como grupo 3.

2.2.3 Factores de Riesgo del Donante

Juegan un importante papel en el desarrollo de DPI tras el TP, este impacto aparece fundamentalmente en las primeras 24 horas tras la reperfusión, mientras que los factores del receptor parecen más relevantes a continuación^{41,42}.

Los factores del donante deberían ser diferenciados entre los que son propios de las características individuales inherentes a cada donante y de aquellos que se adquieren con la muerte cerebral o posterior a ella^{43,44}.

Los factores individuales como el sexo femenino, las edades extremas (>45 ó <21 años) y el tabaquismo podrían potencialmente incrementar el riesgo de DPI^{31,45-50}.

Los factores de riesgo adquiridos del donante incluyen la muerte cerebral, la ventilación mecánica prolongada, broncoaspiración, neumonía, contusiones pulmonares, politrasfusiones o la inestabilidad hemodinámica que podrían contribuir al daño pulmonar y la DPI⁴⁹.

En un estudio de Fisher⁵¹ se evidenció que los niveles de interleuquina 8, en lavado broncoalveolar de 28 donantes con muerte encefálica no traumática, era significativamente más altos que los controles en sujetos sanos, esos niveles de interleuquina 8 se correlacionaban con la infiltración de neutrófilos en el tejido pulmonar del donante y parecen correlacionarse con la incidencia de DPI tras la reperfusión según diversos autores^{52,53}.

El excesivo aporte de fluidos al donante puede ser perjudicial para el pulmón particularmente si existe disfunción ventricular derecha⁵⁴.

La temperatura⁵⁵, volumen⁵⁶ y presión⁵⁷ de la solución de preservación tanto como el inflado⁵⁸, temperatura⁵⁹ y oxigenación⁶⁰ del pulmón extraído durante su traslado, todos estos factores han demostrado tener un impacto en la calidad de la función pulmonar tras la reperfusión. Además el tipo de

solución de reperfusión^{61,62} junto al uso de flujo retrógrado⁶³ y un tiempo de isquemia corto⁶⁴ (nunca mayor de 7 horas) han demostrado experimentalmente y clínicamente mejoría en la función del injerto.

Las mejoras en el mantenimiento de los donantes y las técnicas de preservación del órgano, en la pasada década, han ayudado a incrementar el número de pulmones disponibles para el trasplante y reducir el riesgo de DPI. Así, ésta parece ser el resultado de la suma de insultos pulmonares más que debida a un solo factor.

2.2.4 Factores de Riesgo del Receptor

Han sido evaluados por numerosos estudios, con resultados muchas veces dispares debido a la falta de unanimidad en la definición de DPI que existía hace algunos años.

Existe controversia con factores como la edad, el sexo femenino, la raza o la presencia de obesidad en el receptor, los cuales no han podido demostrar con la suficiente evidencia ser determinantes en el posterior desarrollo de DPI^{31,40,65-67}.

La congestión hepática por fallo cardíaco derecho es común entre los receptores con hipertensión pulmonar (HTP) severa y conlleva una disfunción hepática que contribuye a la elevada mortalidad de esta población^{68,69}.

La hipervolemia relacionada con el fracaso renal podría exacerbar la severidad del edema pulmonar en el contexto de la DPI¹⁴.

Aunque por definición la presencia de DPI requiere descartar la presencia de un componente cardiogénico, la existencia de una mínima elevación en la presión capilar pulmonar podría contribuir al desarrollo de este

síndrome al elevar la presión hidrostática y el edema pulmonar en el injerto pulmonar con una barrera endotelial dañada⁷⁰.

Una alta incidencia de DPI ha sido descrita en receptores con detección de anticuerpos HLA específicos del donante mediante citometría de flujo⁷¹.

La mortalidad precoz está incrementada si se trata de un trasplante, sobre todo aquellos debidos a DPI aguda o si dependían de ventilación mecánica⁷². La presencia de adhesiones pleurales y/o toracotomía previa que aumentan el sangrado intra y postoperatorio pueden favorecer el desarrollo de DPI⁷³.

Actualmente el factor de riesgo más evidente y claramente asociado al desarrollo de DPI es el diagnóstico de HTP en el receptor^{34,37}. Se ha demostrado que esta relación es independiente de las características del donante y de los factores intraoperatorios y se refiere a la HTP primaria del receptor, no la acontecida una vez implantado el injerto³¹. En la HTP nos encontramos una depresión ventricular derecha que de forma aguda tras el implante pulmonar sufre una reducción de su postcarga lo cual favorece la perfusión hacia un endotelio vascular hipóxico y dañado, lo que se traduce en edema y mala función del injerto⁷⁴⁻⁷⁶. En un estudio sobre pacientes trasplantados por HTP debido a enfermedades congénitas se evidenció una incidencia de DPI a las 24 horas del 82% en los implantes unipulmonares, del 59% en los bipulmonares y del 33% en el trasplante cardio-pulmonar, lo que reafirma la teoría de la mejoría en la perfusión al disminuir la resistencia y mayor tendencia al edema en el pulmón implantado junto al papel del ventrículo derecho⁷⁷.

La HTP secundaria podría estar relacionada con el incremento de mortalidad perioperatoria pero no con una mayor incidencia de DPI^{78,79}.

Aunque algunos estudios sugieren que el trasplante bipulmonar conlleva un mayor riesgo de DPI y fallo respiratorio prolongado con respecto al

unipulmonar, la elevada prevalencia de HTP asociada y mayor uso de circulación extracorpórea (CEC) en los receptores de implante bilateral pueden confundir estos resultados como se demuestra en los análisis multivariantes^{32,33,37,40}.

Datos significativos apoyan el uso seguro de la CEC durante el trasplante pulmonar^{80,81}. Los posibles efectos deletéreos sobre la función pulmonar han sido documentados pero no parecen afectar significativamente los resultados a corto-largo plazo⁸²⁻⁸⁴. Las mejoras en las técnicas de CEC, incluido el uso de filtros leucocitarios y ultrafiltración modificada, disminuirán sus efectos deletéreos potenciales. Así pues, se aconseja el uso de CEC si las condiciones hemodinámicas/respiratorias lo requieren⁸⁵⁻⁸⁷ pero no de inicio ya que su uso comporta la existencia de otro tipo de factores de riesgo como el sangrado perioperatorio y la necesidad de transfusión de hemoderivados^{88,89}.

Para evitar la presencia de neutrófilos y la precipitación de la cascada inflamatoria que se produce tras la reperfusión de un órgano isquémico^{90,91}, se está utilizando últimamente una técnica de reperfusión modificada con presión constante. Consiste en la inserción de un catéter en la arteria pulmonar tras el implante, se produce una depleción sanguínea leucocitaria suplementando con nitroglicerina, aspartato, glutamato, dextrosa, ajustando el pH y los niveles de calcio. Se administra esta solución en las arterias pulmonares del nuevo pulmón a una presión constante <20 mm Hg. En diversos ensayos parece demostrar su efectividad en la reducción de la DPI y la morbi/mortalidad^{92,93}.

2.2.5 Resultados Clínicos tras DPI

Incluyen ventilación mecánica prolongada, mayor estancia en las Unidades de Cuidados Críticos, mayor estancia hospitalaria, elevación de la mortalidad a corto y largo plazo, mayores costes económicos^{14,94,95} y mayor incidencia del síndrome de bronquiolitis obliterante (BOS) que es la presentación clínica del Rechazo Crónico. Así, una posible asociación entre DPI y BOS se ha hipotetizado durante años y se cree en la actualidad que la existencia de un daño agudo en el injerto como la DPI o un rechazo agudo produce una bronquiolitis linfocítica y finalmente, tras su reparación y remodelación se produce el BOS⁹⁶⁻⁹⁷.

2.2.6 Tratamiento de la DPI

Deberá presentar una gran similitud con el del Síndrome de Distress Respiratorio del Adulto (SDRA) ya que existen características indistintas entre las dos entidades como la hipoxia severa y la aparición radiológica de infiltrados alveolares difusos^{98,99}.

En términos generales, los objetivos del tratamiento se centran en evitar una excesiva administración de fluidos, en el contexto de un síndrome con defecto de permeabilidad capilar, mientras se intenta asegurar una adecuada perfusión de los órganos y de la anastomosis bronquial. Esto se puede conseguir con una combinación de restricción hídrica y bajas dosis de vasopresores sistémicos, junto a vasodilatadores pulmonares. La inevitable, en ocasiones, disfunción renal por azoemia o necrosis tubular aguda debería ser tolerada con permisividad para una eventual ultrafiltración o apoyo de diálisis si se precisa¹⁰⁰.

La corrección de la pérdida de fluidos debe ser cautelosa y optimizando en todos los casos los niveles de hemoglobina y de coagulación con la transfusión de hemoderivados si se requiere.

El manejo ventilatorio de estos pacientes se asemeja al SDRA, si aplicamos volúmenes corriente de 10-15 ml/kg para mantener una presión arterial de oxígeno (PaO₂) y presión arterial del dióxido de carbono (PaCO₂) normales, esto conlleva a menudo a observar presiones pico y meseta elevadas con el consecuente riesgo de sobre-distensión pulmonar y barotrauma^{101,102}. Además, varios estudios sobre animales aseguran que esta sobre-distensión alveolar perpetua el daño pulmonar con liberación de citocinas complicando aun más el cuadro clínico de disfunción respiratoria^{103,104}.

Así pues, se recomienda para el manejo ventilatorio de este proceso la ventilación de protección pulmonar que combina volúmenes corriente bajos (6-8 ml/kg) con distensión alveolar limitada mientras mantenemos abiertas los alveolos con una presión positiva final espiratoria (PEEP) elevada, presiones meseta ≤ 30 cm H₂O y alta frecuencia respiratoria con modo ventilatorio asistido por volumen^{105,106}. También se han recomendado diversas medidas terapéuticas que mejorarían el intercambio gaseoso como la hipercapnia permisiva, invertir la relación inspiración/espiración¹⁰² o el uso de la posición en decúbito prono^{107,108}.

El iNO se ha empleado habitualmente en el tratamiento de la DPI dadas sus propiedades de vasodilatación pulmonar específica y mejoría del intercambio gaseoso, (como analizaremos posteriormente), aunque todavía no existen ensayos clínicos prospectivos y randomizados de la suficiente entidad que demuestren la mejoría de la supervivencia en aquellos casos

de DPI establecida. Así pues, existen estudios a favor¹⁰⁹⁻¹¹¹ y en contra de esta hipótesis^{112,113}. El uso profiláctico del iNO para evitar el desarrollo de DPI y mejorar la supervivencia tampoco ha podido ser demostrado y por lo tanto su uso rutinario no está recomendado salvo casos de hipoxemia o HTP como parte de un tratamiento combinado que permita estabilizar al paciente y si no mejora plantearse la necesidad de otras medidas más avanzadas como la implantación de un sistema de oxigenación mediante membrana extracorpórea (ECMO) o el trasplante.

Las prostaglandinas (PGE₁) también han sido frecuentemente utilizadas para el tratamiento de la DPI al serles atribuidas propiedades de reducción en la adhesión de neutrófilos y de la permeabilidad capilar junto a antiagregación plaquetaria además de vasodilatación sistémica^{114,115}. Por lo tanto su uso está indicado en aquellos casos de DPI severa como parte integrante de un tratamiento combinado ya que su uso como monoterapia no tiene la suficiente evidencia clínica contrastada¹¹⁶.

Los hallazgos experimentales en animales y la incipiente experiencia clínica en humanos indican que el **surfactante pulmonar exógeno** supone una prometedora opción terapéutica para intentar revertir los cambios que se producen tras el daño agudo pulmonar, que incluyen el colapso alveolar, la alteración de la relación ventilación/perfusión y el edema pulmonar con disminución en la oxigenación. Aunque también se precisan estudios randomizados para confirmar estos supuestos¹¹⁷⁻¹²⁰.

Los fármacos del tratamiento futuro de la DPI ya se están investigando ahora y existen varias líneas: un inhibidor del complemento¹²¹ (receptor-1 soluble), un antagonista del factor activador de plaquetas¹²², inhibidores de

la enzima convertidora de angiotensina¹²³, anti-trombina III¹²⁴ como agente anti-inflamatorio y la aprotinina¹²⁵.

Para el tratamiento de la DPI muy severa (grado 3), que no responde a las medidas convencionales, algunos programas de trasplante se reservan el sistema **ECMO** como un intento de revertir una situación clínica crítica con una elevada tasa de mortalidad. El ECMO ha sido empleado en el tratamiento del fallo respiratorio en neonatos con excelentes resultados¹²⁶. La supervivencia tras el ECMO en adultos con fallo respiratorio era menos favorable pero recientes series han demostrado mejores resultados¹²⁷ con supervivencias superiores al 55%. El modo veno-venoso proporciona sólo soporte pulmonar mejorando el intercambio gaseoso y está indicado en pacientes hemodinámicamente estables que tienen DPI pero un adecuado gasto cardíaco. Mientras que el modo arterio-venoso está indicado en pacientes que tengan una combinación de fallo respiratorio y hemodinámica que no responde adecuadamente a los agentes vasoactivos¹²⁸⁻¹³⁰. Aunque es difícil de comprobar, es probable que existan pacientes con un alto riesgo de desarrollar DPI postoperatoria y teóricamente se beneficiarían del uso profiláctico del ECMO colocado antes o durante el implante.

El **re-trasplante pulmonar** en condiciones normales no llega al 2% de todos los casos pero si se desarrolla una DPI muy severa este porcentaje se eleva hasta el 22.6%. La mortalidad en estos pacientes que se encuentran con dependencia del ventilador y muchas veces con fallo multiorgánico al menos incipiente supera el 90%. Por lo tanto, conviene considerar el re-trasplante en casos muy seleccionados de pacientes que desarrollen la DPI y pudiendo utilizar el ECMO como puente hacia unas condiciones clínicas

óptimas que permitan efectuar el re-trasplante con mejores perspectivas de éxito intra y post-operatorio¹³¹⁻¹³⁴.

2.3 LAS CITOCINAS

Las citocinas (o citoquinas) son glucoproteínas que actúan como factores producidos mayoritariamente por leucocitos que intervienen en la regulación de las células del sistema inmune, así como en los procesos inflamatorios¹³⁵. Son moléculas de bajo peso molecular, normalmente entre 15-30 KDa, constituidas por 120-180 aminoácidos. Se unen a receptores específicos de la membrana de las células donde van a ejercer su función, iniciando una cascada de transducción intracelular de señal que altera el patrón de expresión génica, de modo que esas células diana producen una determinada respuesta biológica. Contribuyen a la activación, blastogénesis y/o diferenciación en células efectoras, regulando también otros procesos como la apoptosis, adquisición de capacidad citotóxica y la recirculación de los leucocitos.

Los efectos y la síntesis de las citocinas no se limitan al sistema inmune, ya que se ha observado que estas moléculas pueden regular la función de las células de otros órganos y tejidos. Por otro lado, el estado funcional de las células del sistema inmune es modulado por moléculas aparentemente propias de otros sistemas tales como el sistema nervioso o el endocrino, sugiriendo la integración global de todos ellos dentro del organismo¹³⁶.

Originariamente se estableció el término linfocina para denominar productos biológicos producidos por linfocitos en respuesta al antígeno. Posteriormente su uso se amplió a moléculas de características similares secretadas por otros tipos celulares, por lo que se utilizó el término más amplio de citocina. El término interleucina o interleuquina (IL) se aplicó a

aquellas moléculas que servían como señales de comunicación entre distintos tipos de leucocitos, numerándose correlativamente a medida que se descubrían (IL-1, IL-2, etc.), otras eran secretadas por monocitos/macrófagos, por lo que se llamaron monoquinas. Sin embargo, se desaconseja el uso de esas denominaciones, para agruparlas a todas bajo el concepto de citoquinas (citocinas). No obstante, algunas de ellas se detectaron inicialmente en ensayos funcionales in vitro y aún conservan su denominación original de acuerdo con la función biológica que permitió su identificación, como es el caso del TNF (factor de necrosis tumoral), interferones (IFN), factores estimuladores de colonias (CSF) y el TGF (factor transformador de tejidos).

Las quimioquinas (o quimiocinas) son un tipo de citoquinas de pequeño tamaño, con papeles en la respuesta inflamatoria y la quimiotaxis de fagocitos.

2.3.1 Propiedades y Características

Las características comunes de las citocinas son:

1) La secreción de citocinas es un suceso breve y autolimitado. En general no se almacenan en la célula, y su síntesis se inicia por una nueva transcripción génica de corta duración. En muchos casos ello se debe a que los correspondientes ARNm tienen una corta vida media, que a su vez depende de que las zonas 3' no traducibles son ricas en A y U. La síntesis de citocinas es por tanto un proceso transitorio.

2) El radio de acción de las citocinas es corto, siendo su modo de acción autocrino, yuxtacrino o paracrino y (en pocas ocasiones) de tipo endocrino.

3) Las citocinas producen sus efectos uniéndose a receptores específicos de alta afinidad alterando en las células diana los patrones de expresión génica.

La afinidad de cada receptor hacia su citoquina correspondiente suele ser bastante alta, del orden de lo femtomolar (10^{-15} M) a lo picomolar (10^{-12} M).

4) Muchos tipos individuales de citocinas, pueden producirse por diversos tipos celulares. Por ello, se tiende cada vez más a denominar a estas moléculas como citocinas, en vez de linfocinas o monocinas. Dentro del sistema inmune natural, los macrófagos son los mayores productores de citoquinas, mientras que en el sistema específico lo son las células T colaboradoras (linfocitos Th)

5) Sus acciones se solapan ya que son realizadas por varios tipos de citocinas diferentes, también llamado redundancia (varias citoquinas pueden ejercer el mismo efecto).

6) Es usual que un tipo de citocina influya sobre la síntesis de otro, produciéndose cascadas en las que una segunda o una tercera citocina, puede mediar las mismas acciones biológicas de la primera, o suprimirlas. Esta propiedad de aumentar o suprimir la producción de otras citocinas, proporciona un mecanismo regulador muy importante para las respuestas inmunes.

7) A menudo, dos citocinas pueden tener un efecto sinérgico y se pueden potenciar (por ejemplo, la acción conjunta de IL-4 e IL-5 induce en células B el cambio de clase para que produzcan IgE), aunque también en ocasiones distintas citocinas tienen efectos antagónicos (por ejemplo, el IFN- γ bloquea el cambio de clase promovido por IL-4).

8) Las citocinas son moléculas pleiotrópicas, es decir actúan sobre diferentes tipos de células induciendo sobre ellas efectos variados. En muchos casos, una citocina puede interactuar con diferentes tipos celulares que expresan receptores para ella.

9) Una única célula presenta receptores para múltiples citocinas.

10) La unión de una citocina a su receptor altera la expresión de receptores tanto para la propia citocina como para otras.

Las interacciones de los efectos de las distintas citocinas sobre las células inmunes determinan que una mezcla de dos citocinas pueda tener acciones cuantitativa y cualitativamente diferentes de las que tendrían ambas citocinas por separado. Por esta razón, en condiciones naturales, las citocinas ejercen sus acciones biológicas en presencia de otras citocinas y su acción biológica refleja las interacciones sinérgicas o antagónicas entre las distintas citocinas a las que está expuesta la célula diana. Debido a estos hechos, los distintos tipos celulares pueden activarse de forma diferencial en un ambiente que presenta una misma combinación de citocinas.

Tabla 2. Nomenclatura de las citocinas y sus receptores¹⁴⁷

Citocina	Sinónimos	Peso molecular kD	Receptor	Peso molecular kD
IL-1 α	Factor Activador de los Linfocitos (LAF)	17	CD121a	80
IL-1 β	Pirógeno Endógeno (EP)		CD121b	68
IL-2	Factor de crecimiento de linfocitos T (T-CGF) Factor cooperador de la citotoxicidad (KHF)	15.5	CD25 CD122 IL-2R γ	55 75 64
IL-3	Factor de crecimiento de mastocitos	20.32		
IL-4	BSF-1 BCGF-1	18-20	CD124	140
IL-5	T cell replacing factor I Factor II de crecimiento de células B Factor potenciador de la síntesis de IgA Factor estimulador de colonias de eosinófilos	24	CD125	

IL-6	Interferón b2 BSF-2	21-26	CD126 CD130	80 130
IL-7	Limpoyetina I	25	CD127	75
IL-8	Factor activador de los neutrófilos NAF-1	8-10	CDw128	58-67
IL-10	Factor inhibidor de la síntesis de citocinas (CSIF).	17-21	CD114	110
IL-12	Factor estimulador de las células NK	p35 p40	IL-12R	110
IL-13	P-600	9-17		
IL-14		50-60		
IL-15		14-15		
GM-CSF		20-30	CD116	75-85
TNF α	Caquetina	17	CD120a CD120b	55 75
TNF β	Linfotoxina (LT)	25	CD120a CD120b	55 75
TGF β		25	Tipo I Tipo II Tipo III	53 70-85 250-350
IFN α	Interferón leucocitario		CD118	
IFN β	Interferón fibroblastoideo		CD118	
IFN γ	Interferón inmune, interferón tipo II	20-25	CD119	90

2.3.2 Secreción de citocinas por los linfocitos Th1/Th2

Inicialmente, los linfocitos Th de ratón se dividieron en dos subtipos en virtud del patrón de interleuquinas que producían¹³⁷. Los linfocitos T cooperadores de tipo 1 (Th1) producirían IL-2, IL-10, IL-12, IFN γ y TNF β y serían por tanto los responsables de la promoción de las respuestas celulares que pasaron a denominarse respuestas inmunes de tipo 1.

Los linfocitos T cooperadores de tipo 2 (Th2) producirían IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 y IL-13 y serían los responsables de la cooperación con las

células B en las respuestas humorales, que pasaron a denominarse respuestas inmunes de tipo 2¹³⁸.

Los linfocitos T CD4+, como consecuencia de una estimulación antigénica, pueden diferenciarse hacia linfocitos T cooperadores de tipo Th1 o Th2, estando esta diferenciación en parte condicionada por las citocinas que se encuentran en el medio. Así, la presencia de IL-12 promueve la diferenciación hacia Th1, mientras que la IL-4 condiciona el desarrollo Th2. Los linfocitos Th1, en colaboración con los macrófagos, están implicados en la respuesta inmune celular, mientras que los Th2 promueven la respuesta inmune humoral.

Se han descrito otras subpoblaciones de linfocitos T CD4+ efectores que secretan un perfil de citocinas diferente y llevan a cabo funciones específicas. Este es el caso de los linfocitos T reguladores de los que se han descrito varios tipos.

Los linfocitos T CD8+ se diferencian hacia linfocitos T citotóxicos como respuesta a la estimulación antigénica y a la presencia de citocinas secretadas por otras células. Ejercen su función efectora mediante la secreción fundamentalmente de IL-2, IL-16, IFN-gamma y TNF.

Finalmente hay una serie de citocinas que pueden ser producidas por ambos tipos de linfocitos T, CD4+ y CD8+, tales como IL-2, GM-CSF y TGF-beta.

En los últimos años se ha propuesto un nuevo subtipo en la clasificación de las células Th, aunque no está totalmente aceptado por toda la comunidad de investigadores. Este subtipo, al que se le ha llamado Th3, secretaría TGF- β y se postula que actuaría como población reguladora¹³⁹.

Los estudios de los patrones de secreción de citocinas en células individuales han demostrado que en los linfocitos humanos, sólo un pequeño porcentaje de los linfocitos encaja en las categorías Th1 y Th2¹⁴⁰.

La mayoría de los linfocitos T cooperadores humanos presenta patrones de secreción de citocinas que combinan la secreción de algunas citocinas tipo 1 con la de otras tipo 2; por ejemplo la IL-10, una citocina Th2 por excelencia, es producida tanto por linfocitos T productores de IL-4, como por los productores de IFN γ ¹⁴¹.

Existe una regulación cruzada y así, el IFN- γ secretado por las Th1 inhibe la proliferación de las Th2, las Th2 inhiben por sus citoquinas la producción en macrófagos del óxido nítrico (NO) y otros bactericidas, así como la secreción por estos macrófagos de IL-1, IL-6, IL-8 y otras citoquinas

Este fenómeno de regulación negativa cruzada explica las ya antiguas observaciones de que existe una relación inversa entre la producción de anticuerpos y la hipersensibilidad de tipo retardado.

Los macrófagos y otras células presentadoras de antígeno también producen citoquinas (como la IL-12, descubierta hace relativamente poco tiempo) que regulan a su vez funciones inmunes efectoras. La IL-12 se produce en macrófagos activados en respuesta a infecciones bacterianas o de protozoos. Esta citoquina provoca la proliferación de células NK (natural killer) y Th1, que aumentan la producción de IFN- γ . Este interferón inmune ayuda en la mayor activación de macrófagos. De esta forma se cierra este circuito de retroregulación positiva entre macrófagos y Th1, destinado a potenciar funciones efectoras de la rama celular de la inmunidad.

La predominancia de una u otra de las dos subpoblaciones de linfocitos Th depende a su vez del microambiente de citoquinas en que ocurriera la activación y maduración inicial a partir de linfocitos en reposo: por ejemplo, in vitro se ha visto que si un Th se activa por antígeno en

presencia de IL-4, se desarrolla hasta Th2, mientras que si el entorno de activación es rico en IFN- γ , se desarrolla hasta Th1.

Es un hecho generalmente admitido que las células T que secretan IL-4 no secretan IFN γ y viceversa, pero también es cierto que en los linfocitos Th humanos existen células que secretan cualquiera de las combinaciones del resto de citocinas según patrones de asociación aleatorios¹⁴². Por tanto, que aunque existen respuestas inmunes de tipo 1 y de tipo 2, éstas no se basan (al menos en la especie humana) en el predominio de clones de Th1 o Th2, sino en el predominio de clones productores de IL-4 o IFN γ . Las células dendríticas y los macrófagos (que producen IL-12 y no IL-4) estimulan preferentemente el desarrollo de linfocitos T productores de IFN γ mientras que las células B (que producen IL-4 y no IL-12) inducen la diferenciación de los linfocitos Th hacia la producción de IL-4.

En los años recientes está cada vez más claro que el resultado de la respuesta inmune depende en buena medida de los niveles relativos de células Th1 y Th2: en una respuesta a patógenos intracelulares existe un aumento de citoquinas de Th1, mientras que en respuestas alérgicas¹⁴³ y ante helmintos es superior el nivel de las de Th2.

Así pues, algunos modelos experimentales de enfermedades autoinmunes órganoespecíficas¹⁴⁴ como la diabetes mellitus autoinmune o la artritis, se ha comprobado que están mediadas por células Th1, lo cual sugiere que la posibilidad de redirigir los perfiles de producción de citocinas patogénicas puede ser una estrategia terapéutica prometedora para el tratamiento de algunas enfermedades autoinmunes.

2.3.3 Medición de citocinas

La actividad biológica de las citocinas se puede medir con distintas modalidades de bioensayos, utilizando, por ejemplo, líneas celulares cuya función depende de la presencia del factor que se quiere estudiar. En la actualidad, se utilizan como técnica más habitual inmunoensayos en fase sólida, como el ELISA para cuantificar la concentración de citocinas en fluidos biológicos, y el ELISPOT para conocer el número de células productoras. También es posible cuantificar y caracterizar las células productoras identificando las citocinas intracelulares mediante citometría de flujo. Otra posibilidad es la utilización de técnicas de RT-PCR cuantitativa que permiten detectar y medir los niveles de RNAm que codifican una determinada citocina¹⁴⁵.

2.3.4 Clasificación de las citocinas según el tipo de respuesta

1) Citocinas mediadoras de inmunidad natural

Son aquellas que protegen frente a la infección viral (interferones de tipo I, MIP 1- α , RANTES) y las que inician las reacciones inflamatorias que defienden frente a las infecciones bacterianas (IL-15, TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-18)^{146,147}. Estas citocinas se producen de forma inmediata tras el contacto de las células implicadas en las respuestas inmunes innatas con un agente extraño. Los monocitos y macrófagos activados son la principal fuente de estas moléculas aunque también pueden ser producidas por linfocitos activados y otras células no pertenecientes al sistema inmune, como células endoteliales y fibroblastos.

Tabla 3. Citocinas mediadoras de inmunidad natural¹⁴⁸

<u>Citocina</u>	<u>Efectos biológicos principales</u>	<u>Célula productora principal</u>
IL-1 α IL-1 β	Proinflamatorias. Inducen la síntesis de proteínas de fase aguda. Pirógenos	Monocitos, macrófagos
IL-6	Proinflamatoria. Induce la síntesis de proteínas de fase aguda. Regula la hematopoyesis. Estimula la secreción Igs	Monocitos, macrófagos
TNF- α	Proinflamatoria. Responsable del shock endotóxico. Pirógeno. Induce expresión de moléculas de adhesión	Monocitos, macrófagos, LT
IL-10 IL-19 IL-20 IL-22	Inmunosupresoras. Inhiben la expresión de citocinas y otros mediadores proinflamatorios y la expresión de MHC-II y moléculas de adhesión en monocitos. Estimulan B e inducen síntesis de IgG	Monocitos, macrófagos, LT, LB
IL-12	Inductor de la diferenciación Th1. Estimula la actividad citotóxica de T y NK	Monocitos, macrófagos
IL-18	Estimula la actividad citotóxica de T y NK	Células adrenales y de Kupffer
IL-23	Estimula la actividad citotóxica de T y células NK	Células dendríticas activadas
IFN- α IFN- β	Efecto antiproliferativo e inmunomodulador. Actividad antitumoral	Monocitos, macrófagos Fibroblastos

La IL-1 es producida fundamentalmente por monocitos y macrófagos, pero también por células dendríticas, endoteliales, NK y otros tipos celulares. Existen dos formas, IL-1 α e IL-1 β que, aunque solamente tienen un 25 % de homología en su secuencia aminoacídica, comparten el mismo receptor y ejercen efectos biológicos similares. Parte de sus efectos proinflamatorios se debe a que induce la liberación de histamina en los mastocitos, generando vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular en el lugar de la inflamación. Es el principal pirógeno endógeno, induciendo fiebre a través de la producción de prostaglandinas. También promueve la síntesis de proteínas de fase aguda por los hepatocitos y actúa

sobre el SNC induciendo sueño y anorexia, típicamente asociados con los procesos infecciosos. A concentraciones bajas la IL-1 es un mediador de la inflamación local, pero a dosis elevadas comparte con el TNF, su capacidad para producir fiebre, inducir la síntesis de proteínas hepáticas de fase aguda e iniciar el desgaste metabólico que conduce a la caquexia^{149,150}.

La IL-6 es producida fundamentalmente por monocitos/macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, linfocitos T y células del estroma de la médula ósea. Junto con la IL-1 es la principal inductora de la síntesis de proteínas de fase aguda, sobre todo de fibrinógeno, que contribuye a la respuesta inflamatoria de fase aguda.

Además de su efecto en la inflamación, se ha observado que promueve la diferenciación de linfocitos B hacia células plasmáticas, induciendo la producción de inmunoglobulinas. También puede aumentar la producción de IL-2 y el desarrollo de los precursores hematopoyéticos dependientes de la IL-3. La IL-6 precisa de la IL-2, aunque sea en cantidades mínimas, para ejercer su acción favorecedora de la diferenciación. La IL-6 actúa como coestimulador de la activación de las células T y de los timocitos^{151,152}.

La IL-8 es un miembro de la familia α de las quimiocinas y es producida por una amplia variedad de células, tras su estimulación con diferentes señales que incluyen a la IL-1, TNF, endotoxina y diferentes virus; también es producida por las plaquetas. Los receptores para la IL-8 (IL-8R) se encuentran en diversos tipos celulares. Esta quimiocina ejerce un papel primordial en la iniciación de la respuesta inflamatoria al promover la quimiotaxis y posterior degranulación de los neutrófilos. Además, desarrolla una acción quimiotáctica sobre otras células entre las que se encuentran los linfocitos T y los basófilos. Sobre estos últimos estimula la liberación de

histamina. Algunas de las acciones proinflamatorias del TNF α y la IL-1 son mediadas por la secreción de IL-8, que por tanto actúa como un mediador secundario de los procesos inflamatorios. Dentro de las quimiocinas de la familia β podemos destacar MIP-1 α que es un factor quimiotáctico para monocitos, eosinófilos, células B y NK. MIP-1 α es un mediador importante en la inflamación inducida por virus. RANTES es otro miembro de esta familia que es quimiotáctico para células T memoria y eosinófilos¹⁵³.

La IL-10 es producida por linfocitos del tipo Th2, así como también por monocitos/macrófagos, linfocitos B, queratinocitos y otros varios tipos celulares. Es la citocina inmunosupresora por excelencia, inhibiendo la síntesis de muchas otras citocinas, entre las que podemos citar IFN γ , TNF-alfa, IL-2, IL-12, y la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) -II y moléculas de adhesión en monocitos. También tiene efectos antiproliferativos sobre muchos tipos celulares. La IL-10 ejerce además múltiples actividades inmunomoduladoras^{154,155}. Se ha visto que es un cofactor para el crecimiento de líneas y colonias de células mastocíticas in vitro. Regula las funciones mediadas por linfocitos B induciendo la síntesis de IgG, y por linfocitos T, influyendo en el desarrollo de timocitos y células T. También ejerce efectos reguladores sobre la angiogénesis. El virus de Epstein Barr secreta una proteína que posee una gran homología estructural con la IL-10 humana (vIL-10), y que tras unirse con baja afinidad al propio receptor de la IL-10, ejecuta actividades biológicas similares. Relacionadas estructural y funcionalmente con la IL-10 se han descrito recientemente nuevas moléculas tales como la IL-19, IL-20 e IL-22, cuyas funciones son todavía poco conocidas.

Los TNF. Los factores de necrosis tumoral fueron descritos inicialmente por su capacidad de causar necrosis en algunos tumores. Con posterioridad, sin embargo, ganaron protagonismo por las numerosas funciones que ejercen sobre las respuestas inmunes. Se han descrito dos moléculas estrechamente relacionadas, el TNF-alfa y el TNF-beta, con elevada homología en su secuencia aminoacídica.

El **factor de necrosis tumoral α (TNF α)**, es una proteína que existe en una forma libre y también como molécula de membrana. El TNF α es producido por células T activadas, mastocitos y macrófagos tras estimulación por endotoxinas bacterianas, factor estimulador de colonias de macrófago (M-CSF), IFN γ IL-2 ó IL-15. El TNF α fue descrito como factor tóxico para algunas células en cultivo, y causante de necrosis hemorrágica de tumores *in vivo*. El TNF α es el principal mediador de la respuesta inmune frente a bacterias Gram negativas y que el estímulo más potente para su producción son los lipopolisacáridos bacterianos (LPS). Después de la actuación por LPS, el IFN γ regularía positivamente su síntesis.

El TNF α ejerce numerosos efectos *in vivo* que son muy dependientes de su concentración. A concentraciones bajas el TNF α actúa localmente como un mediador paracrino que provoca aumento de la adhesividad de las células endoteliales de los vasos, activación leucocitaria y estimulación de la producción de IL-1, IL-6 e IL-8 en los fagocitos mononucleares. También coestimula la activación de linfocitos T y B. Cuando las cantidades de TNF α son mayores, éste actúa de modo endocrino y provoca acciones sistémicas: estimula la producción de reactantes de fase aguda por el hígado y la producción de IL-1 e IL-6 en células del endotelio vascular; activa el sistema de coagulación e induce fiebre; suprime la proliferación de las células progenitoras hematopoyéticas de la médula ósea y contribuye a la inducción del estado caquético. En las sepsis por bacterias Gram negativas

se producen grandes cantidades de TNF α las concentraciones extremadamente elevadas de TNF α deprimen la contractilidad del miocardio con la consiguiente reducción de la perfusión tisular, relajan el tono del músculo liso vascular, contribuyendo a la disminución de la presión sanguínea y provocan coagulación intravascular diseminada.

Sobre los monocitos el TNF α induce un aumento de la expresión de moléculas de clase I del MHC y liberación de IL-1, cuyas propiedades biológicas se solapan a las del TNF α . En presencia de IL-2, el TNF α incrementa la expresión de receptores para IL-2 en células NK, así como su actividad citotóxica. Parece probable la existencia de algún lazo de regulación autocrino, ya que las células NK son capaces de producir TNF α ^{156,157}.

Interferones tipo I. Los interferones (IFN) fueron inicialmente descritos como agentes producidos por células infectadas por virus. Posteriormente se descubrió que además de su capacidad antiviral ejercían efectos reguladores sobre la proliferación y la diferenciación de varios tipos celulares y tenían capacidad de modular el sistema inmune. Se clasificaron en dos grupos. Los interferones tipo I, que incluyen el IFN-alfa y el IFN-beta, con capacidad principalmente antiviral y antiproliferativa, y el IFN-gamma (tipo II) con un mayor efecto inmunomodulador. El IFN-gamma es producido fundamentalmente por monocitos y macrófagos, mientras que el IFN-alfa es secretado por fibroblastos y algunas células epiteliales. Ambos incrementan la expresión de moléculas de MHC de clase I. En algunos casos se ha observado que poseen actividad antitumoral, posiblemente debido a su efecto antiproliferativo sobre las células tumorales, y modulador sobre el sistema inmune^{158,159}.

2) Citocinas que regulan la activación y diferenciación linfocitaria T

En respuesta a una estimulación antigénica, los linfocitos T se activan, proliferan y se diferencian hacia células efectoras específicas. Estas células ejercen sus funciones produciendo una serie de moléculas solubles, verdaderas artífices de los mecanismos efectores de la respuesta inmune adaptativa.

Tabla 4. Citocinas producidas durante las respuestas adaptativas¹⁴⁸

<u>Citocina</u>	<u>Efectos biológicos principales</u>	<u>Célula productora principal</u>
IL-2	Induce proliferación de T, B y NK. Citotóxica e inflamatoria	LT activados, LTh1, LT citotóxicos
IFN- γ	Incrementa la expresión de MHC-I y II. Activa macrófagos y NK. Inhibe la proliferación de células Th2.	LTh1, LT citotóxicos, NK
TNF	Proinflamatoria. Pirógeno. Induce expresión de moléculas de adhesión	LTh1, LT citotóxicos
IL-4	Inductor de la diferenciación Th2. Inhibe citocinas y mediadores proinflamatorios e induce IL-1Ra. Estimula crec. y diferenciación de linfocitos B. Induce IgE e IgG4.	LTh2, mastocitos, basófilos.
IL-5	Diferenciación, proliferación y activación de eosinófilos	LTh2
IL-10	Inhibe la expresión de citocinas y otros mediadores proinflamatorios y la expresión de MHC-II y moléculas de adhesión. Estimula B e induce la síntesis de IgG	LTh2, monocitos, macrófagos, LB
IL-13	Inhibe la expresión de citocinas y otros mediadores proinflamatorios. Estimula crecimiento y diferenciación de B y promueve el cambio de isotipo hacia IgE.	LTh2
IL-16	Quimiotáctico de T	LT citotóxicos
TGF- β	Inmunosupresora. Inhibe el crecimiento de muchos tipos celulares, la síntesis de varias citocinas y la citotoxicidad natural	LT activados
GM-CSF	Desarrollo y diferenciación de granulocitos y macrófagos	LT activados

La IL-2 es secretada por linfocitos T CD4+ y CD8+ activados en respuesta a un estímulo antigénico. Inicialmente se describió como factor de crecimiento de células T, ya que es el principal agente que controla su proliferación. Ejerce otros muchos efectos sobre el sistema inmune,

teniendo un papel esencial en el desarrollo de las respuestas inflamatorias crónicas, tanto humorales como celulares. Es un factor estimulador del crecimiento de linfocitos T, B y NK. Promueve la actividad citotóxica mediada por linfocitos T y células NK, así como el desarrollo de células LAK (células asesinas activadas por citocinas). Tras unirse a su receptor en linfocitos T, activa la secreción de IFN-alfa, linfoxina, IL-4, IL-3, IL-5 y GM-CSF. Sobre los linfocitos B estimula su crecimiento y diferenciación e incrementa la expresión de moléculas de MHC de clase II^{160,161}.

El **factor de necrosis tumoral β (TNF β)** es una glicoproteína que presenta un 30% de homología en su secuencia de aminoácidos con el TNF α . El TNF β es producido por los linfocitos T activados y por algunas líneas linfoblastoideas de linfocitos B. El TNF α y el TNF β comparten los mismos receptores y en consecuencia sus actividades biológicas¹⁶².

Los factores transformadores del crecimiento (TGF). Hay dos tipos de factores transformadores del crecimiento, el TGF- α y el TGF- β , que no poseen ninguna similitud estructural ni comparten los mismos efectos. Solamente el TGF- β tiene efectos inmunomoduladores. Es producido por linfocitos T, plaquetas y otros muchos tipos celulares. Su nombre responde a la observación inicial de que inducía cambios fenotípicos en los fibroblastos de rata. Incrementa la proliferación de fibroblastos, osteoblastos y células musculares lisas e incrementa la síntesis de proteínas de la matriz extracelular, lo que favorece la curación de las heridas. Esta citocina tiene también efectos inmunosupresores ya que se observó que inhibía el crecimiento y la función de muchos tipos celulares. En el sistema inmune inhibe la síntesis y/o el efecto del IFN- γ , TNF- α , TNF- β , IL-1, IL-2 e IL-3, así como la citotoxicidad natural y específica¹⁶³.

El Interferón γ (IFN γ), es una glicoproteína secretada por los linfocitos T proinflamatorios y por las células NK. Es el principal factor activador de macrófagos en los que estimula la producción de IL-1 y TNF, aumenta su capacidad lítica e induce la expresión de moléculas de histocompatibilidad de clase I y II del MHC con lo que aumenta la presentación antigénica y la activación de linfocitos CD4+ y CD8+. El IFN γ tiene un efecto protector contra infecciones parasitarias y otros patógenos intracelulares y puede contribuir a muchos de los efectos tóxicos de las endotoxinas bacterianas. También regula positivamente la capacidad citotóxica de los linfocitos T y de las células NK promoviendo su activación y maduración. El IFN γ activa los neutrófilos y las células endoteliales, promoviendo la adhesión e infiltración linfocitaria¹⁶⁴.

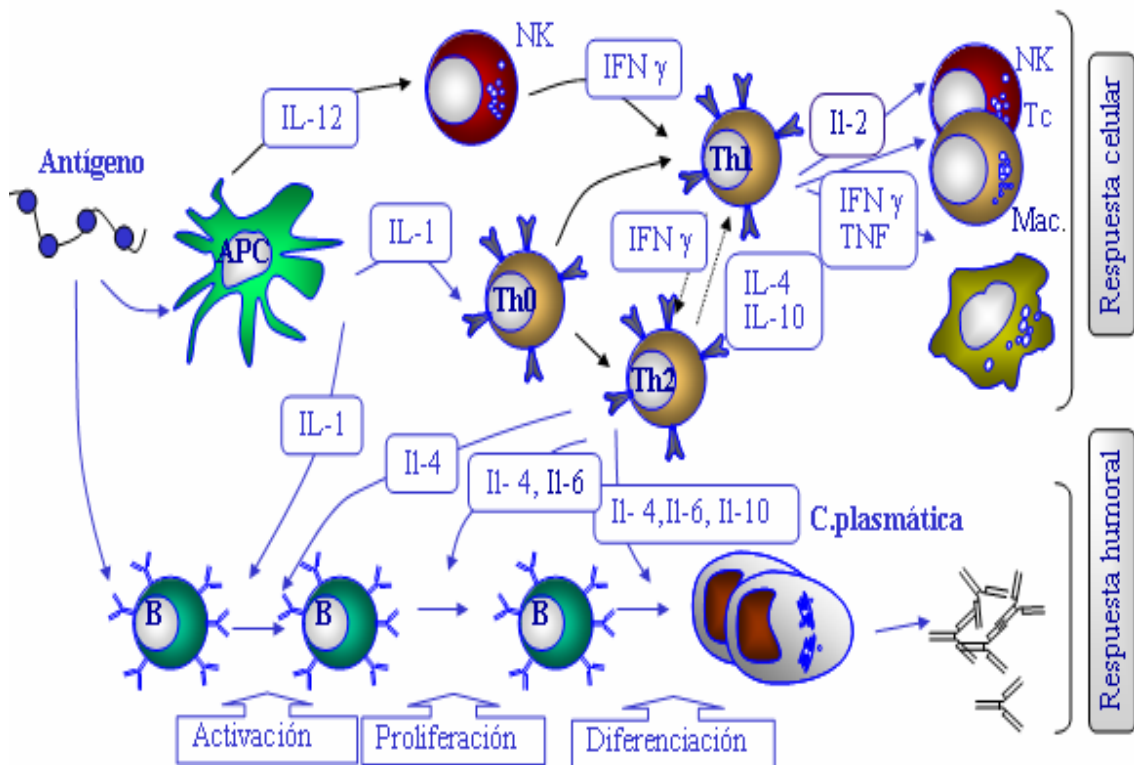
3) Citocinas proinflamatorias e inmunosupresoras

En relación con la respuesta inflamatoria algunas citocinas favorecen el desarrollo de la misma (citocinas proinflamatorias) mientras que otras ejercen un efecto supresor de la inflamación (citocinas inmunosupresoras). Las citocinas con actividad antiinflamatoria e inmunosupresora inhiben el crecimiento celular o suprimen la secreción de otras citocinas. Entre ellas se encuentran la IL-4, IL-13 e IL-10, que activan las acciones de los linfocitos B a la vez que inhiben las respuestas inflamatorias. La IL-10 es la citocina inmunosupresora por excelencia. También se incluye en este apartado el TGF- β que, como se ha dicho anteriormente, inhibe el crecimiento y la función de muchos tipos celulares, la síntesis de determinadas citocinas y la actividad citotóxica natural y específica. Finalmente, los interferones tipo I (α y β), también se pueden considerar

citocinas supresoras debido a su capacidad antiproliferativa y a su efecto regulador de la producción de citocinas proinflamatorias.

En el grupo de las citocinas con actividad proinflamatoria se incluyen las producidas por los monocitos y macrófagos activados durante las respuestas inmunes innatas, aunque también pueden ser producidas por linfocitos activados (Th1 o citotóxicos), y otras células no pertenecientes al sistema inmune. Las principales citocinas que participan en los acontecimientos celulares y moleculares asociados con los fenómenos inflamatorios son la IL-1, IL-6, TNF- α y algunos miembros de la familia de las quimiocinas. Otra importante citocina proinflamatoria es el IFN- γ , producido por linfocitos Th1 en las respuestas inmunes específicas y por células NK activadas.

Figura 1: Esquema general de la respuesta inmune¹⁴⁸



Principales puntos de acción de las citocinas sobre la respuesta inmune.

2.3.5 Liberación de mediadores inflamatorios en el TP

Estudios clínicos y experimentales han demostrado que la reperfusión de un órgano isquémico induce una rápida liberación de citocinas pro-inflamatorias a nivel sistémico y local. Estas incluyen IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF, IFN- γ ¹⁶⁵... y se pueden cuantificar en suero y BAL.

La respuesta citoquímica juega un papel fundamental en la respuesta inflamatoria local o sistémica; entre ellas, la IL-6¹⁶⁶ ha mostrado ser un excelente “marcador de la respuesta inflamatoria generalizada precoz” en el postoperatorio inmediato.

La presencia de Isquemia potencia la activación de los macrófagos que liberan citocinas pro-inflamatorias que median el daño durante la fase temprana de la reperfusión. La IL-8, IL-12, IL-18, TNF- α e Interferon- γ activaran los neutrófilos del receptor y los linfocitos-T que potenciarán la fase tardía del daño de reperfusión y perpetuarán el deterioro tisular¹⁶⁷.

Habitualmente hay un balance entre las citocinas pro y anti-inflamatorias y ante un estímulo se produce una liberación de citocinas pro-inflamatorias seguido de la liberación de citocinas anti-inflamatorias que limitan la respuesta ante la agresión¹⁶⁸.

La IL-8, principalmente liberada por los macrófagos alveolares en respuesta a sustancias endógenas anómalas ó moco espeso, es una de las más importantes citocinas implicadas en el desarrollo de la DPI por su capacidad en el reclutamiento de neutrófilos¹⁶⁹ (es el quimiotáctico más potente de los neutrófilos en las vías aéreas). Este aumento de la migración de neutrófilos hacia el endotelio y epitelio pulmonar, así como la atracción de polimorfonucleares (PMN), estimula la producción de IL-1, IL-2, IL-4 y IL-6^{170,171}.

Los bajos niveles de IL-10, una citocina anti-inflamatoria, en donantes añosos, podrían predisponer a la DPI^{52,172,173}.

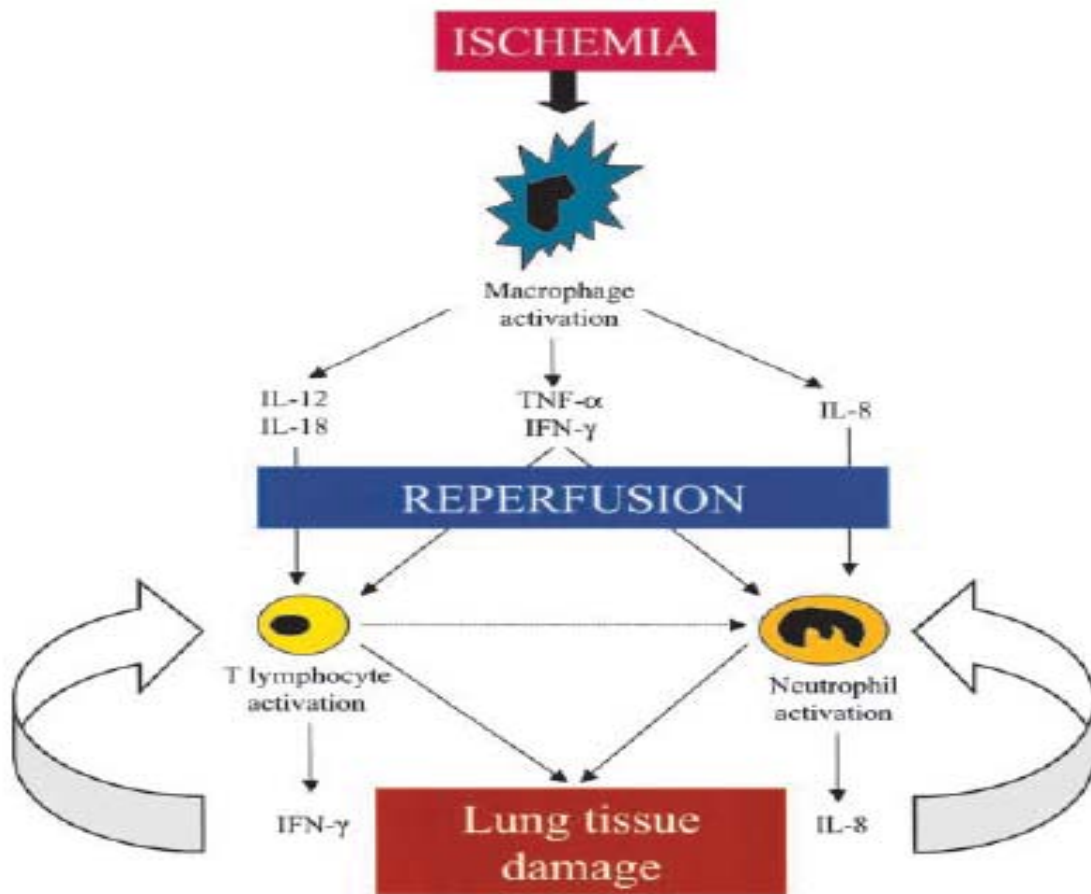


Figura 2: Interacción activación leucocitaria/liberación de citocinas durante la isquemia/reperfusión pulmonar¹⁶⁷

Cytokine	Main Cell Source	Function
TNF-α	Macrophages, lymphocytes	Proinflammatory
IFN-γ	Lymphocytes	Proinflammatory
MCP-1	Immune cells, and lung epithelial cells	Macrophage chemotaxis
IL-1β	Macrophages, fibroblasts	Proinflammatory
IL-2	Lymphocytes	T cell proliferation
IL-6	Macrophages, endothelial cells, and epithelial cells	Proinflammatory
IL-8	Macrophages, epithelial cells, and fibroblasts	Neutrophil chemotaxis
IL-10	Macrophages, lymphocytes	Antiinflammatory
IL-12	Macrophages	T cell activation
IL-18	Macrophages	T cell activation

Definition of abbreviations: IL = interleukin; MCP-1 = macrophage chemoattractant protein-1; TNF = tumor necrosis factor.

Figura 3: Origen y Función de las citocinas involucradas en la DPI durante el trasplante pulmonar¹⁶⁷

2.4 OXIDO NÍTRICO (NO)

2.4.1 Introducción

La relajación de la fibra muscular lisa como componente estructural activo de la pared vascular, da origen a una directa vasodilatación. El agente que desencadena este proceso fue en un principio conocido como el factor de relajación derivado del endotelio (EDRF), descubierto por Furchgott y Zawadzki¹⁷⁴ en 1980. Este factor es producido por la célula endotelial como consecuencia de estímulos fisiológicos, del estrés o de los estímulos químicos que in vivo puedan ejercer la acetilcolina y/o la bradiquinina sobre sus respectivos receptores en la pared endotelial.

Desde que en 1987, Palmer y Moncada¹⁷⁵ demostraron que el óxido nítrico (NO) considerado hasta ese momento como un contaminante atmosférico, era el factor relajante del endotelio, se iniciaron estudios clínicos y de laboratorio tan numerosos sobre esta sustancia, que en 1992 fue bautizada como la molécula de moda por la revista *Science*¹⁷⁶ y mereció el que se le otorgara el premio Nobel en medicina y fisiología en 1998 a los investigadores pioneros de tan importante descubrimiento (Ferid Murad, Robert Furchgott y Louis Ignarro).

El óxido nítrico es un gas inodoro e incoloro, que se forma por la unión de dos átomos, uno de nitrógeno (N) y otro de oxígeno (O). El NO se produce durante la combustión de la gasolina de los automóviles, y forma parte de la contaminación atmosférica, una vez allí, el NO se desplaza a la estratósfera (a una altitud de unos 18.000 m), en donde participa en la degradación de la capa de ozono, la cual protege a la superficie de la Tierra, o litosfera, de la radiación ultravioleta (UV). Durante los últimos

años se ha descubierto que el NO realiza funciones que son importantes para la supervivencia de los organismos¹⁷⁷.

La historia del descubrimiento del NO como una molécula importante en la fisiología de los organismos es relativamente nueva, y comenzó durante los primeros veinticinco años del siglo XX. Sin embargo, el hombre, sin saberlo, ha utilizado el NO desde el principio de la civilización. Por ejemplo, los antiguos sumerios curaban las carnes con sales de nitratos, lo que les permitía preservar su color rojo y, además, eliminar a la bacteria que causa el botulismo (*Clostridium botulinum*). Esto se debe a que las sales de nitratos producen NO, el cual es un bactericida potente¹⁷⁸. Entre finales del siglo XIX y principios del siglo XX, se aprovechó el efecto que tiene el NO en la fisiología del cuerpo humano, sin embargo, el uso del NO como fármaco fue casual. Durante esa época era común administrar nitroglicerina a los pacientes que sufrían de angina de pecho. En esos pacientes, la administración de nitroglicerina provoca una vasodilatación de las arterias coronarias y, con ello, el alivio del dolor y la disminución de la posibilidad de sufrir un infarto al miocardio. El mecanismo que está detrás de este efecto fue desconocido hasta mediados de la década de 1980, cuando se estableció que la nitroglicerina libera NO y que esta molécula es la responsable de disminuir la presión sanguínea¹⁷⁹.

De este modo se inició la historia de la investigación que ha permitido entender el papel que juega el NO en la fisiología de los organismos. Actualmente se sabe que el NO se produce en el cuerpo humano en una gran variedad de tipos celulares, y que participa en procesos que permiten la supervivencia de los organismos, tal como la regulación de la presión sanguínea, el desarrollo del sistema nervioso central, facilitar la transmisión nerviosa en los procesos de aprendizaje y memoria, y la activación de la

respuesta inmune. El NO participa en la reproducción sexual, ya que funciona como señal en las primeras etapas del desarrollo embrionario.

En otros organismos, como las plantas, el NO también interviene en procesos importantes, como son el metabolismo, el desarrollo y la defensa^{180,181}. Sin embargo el NO también puede resultar muy dañino, ya que la pérdida de control en sus niveles tiene consecuencias graves que ponen en peligro distintas funciones del organismo. El mal funcionamiento en la producción o disponibilidad del NO se asocia con enfermedades como la hipertensión, la disfunción eréctil (la función del fármaco llamado sildenafilo -Viagra®- es prolongar el efecto del NO en la dilatación de los vasos sanguíneos en el cuerpo cavernoso del pene, lo que permite la entrada de la sangre que es necesaria para lograr la erección), procesos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer y el mal de Parkinson, y disfunciones del sistema inmune, como el shock séptico, lo que puede aumentar la morbi/mortalidad del paciente^{182,183}.

El NO es un villano terrible para los organismos patógenos, como las bacterias. La respuesta de defensa de los animales y las plantas incluye a la producción de NO que, debido a su poder bactericida, elimina a los patógenos. En suma, el protagonista de esta historia, el NO, es una especie de doctor Jekyll y Mr. Hyde, debido a que es una molécula poderosa que regula funciones vitales y que, sin embargo, resulta fatal si está fuera de control¹⁸⁴.

2.4.2 Óxido Nítrico endógeno (eNO)

- Síntesis

El NO es una molécula formada por dos átomos, un átomo de oxígeno (O) y otro de nitrógeno (N). El oxígeno tiene 8 electrones y el nitrógeno tiene 7

electrones; por lo tanto, cuando estos dos átomos se encuentran, sus electrones se aparean para formar una molécula de NO, que contiene un electrón desapareado (Figura 2). La presencia del electrón desapareado permite al NO interactuar rápidamente con otros átomos que son abundantes en los sistemas biológicos, tal como el N y el azufre (S) que forman parte de las proteínas. La unión del NO a las proteínas, u otras moléculas, se llama nitrosación, y este proceso es la base química que permite al NO ejercer diversas funciones en los organismos (Figura 2)¹⁸⁵. El NO también interactúa con átomos metálicos, como el hierro (Fe), el cual forma parte de proteínas que se conocen como ferroproteínas o hemoproteínas. Estas proteínas son fundamentales en la regulación de un gran número de funciones biológicas, como la producción de energía, el transporte y almacenamiento del oxígeno y la transducción de señales, es decir, el proceso que coordina la respuesta en el interior de la célula a las señales externas. Por otro lado, el NO reacciona rápidamente con el oxígeno molecular (O₂) y con diferentes formas del O₂ que son altamente reactivas, como los radicales superóxido (O₂^{·-}) e hidroxilo (OH), los cuales son sumamente tóxicos. La interacción del NO con el O₂ genera peroxinitrito y otras formas reactivas del N que también son tóxicas, por lo tanto, la combinación del NO con las formas reactivas del O₂ constituye el principal mecanismo mediante el cual el NO daña a las células. La mayoría de las moléculas que regulan la fisiología de los organismos, como las proteínas y algunas hormonas, son moléculas complejas que requieren de receptores y canales en la superficie celular para poder entrar o salir de la célula. En cambio, el NO es una molécula pequeña y neutra que difunde libremente a través de la membrana hacia el interior de la célula¹⁸⁶.

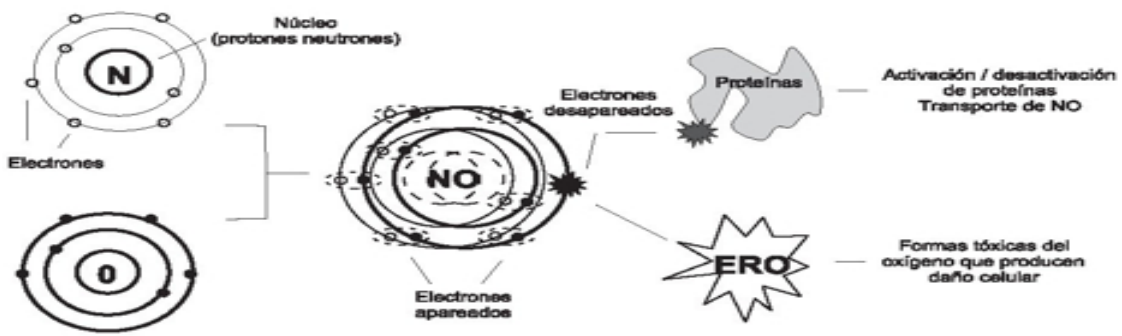
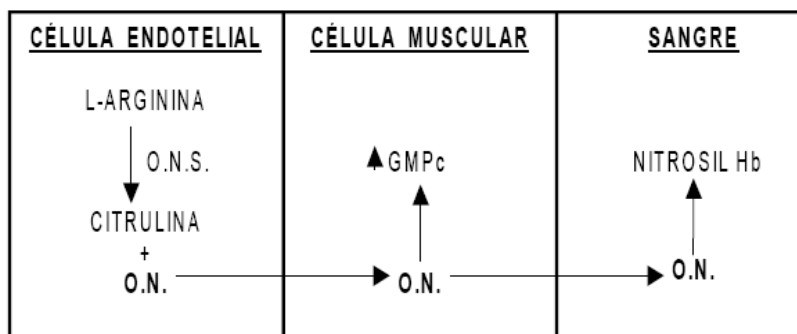


Figura 4: Asociación del NO¹⁸⁴

Según los términos acordados en la XIV Reunión Internacional sobre la nomenclatura farmacológica del NO y compuestos relacionados¹⁸⁷, este compuesto se sintetiza en la célula endotelial vascular a partir del aminoácido L-arginina, que por medio de las óxido nítrico sintetasas (NOS), convierten a ésta en NO y citrulina (figura 3). Posteriormente el NO difunde pasivamente hacia la célula muscular vascular donde provoca un aumento del Guanosín-monofosfato-cíclico (GMPc) con la consiguiente contracción del músculo y dilatación del vaso. A continuación y también por difusión pasiva pasa a la sangre donde en milésimas de segundo se une a la hemoglobina, formando nitrosil-hemoglobina y dejando de ser activo¹⁸⁸.



O.N.: Óxido Nítrico. O.N.S.: Óxido Nítrico sintetasa. GMPc: Guanosín monofosfato cíclico. Hb: Hemoglobina.

Figura 5: Síntesis de NO¹⁸⁹

Los cofactores de esta reacción varían dependiendo del órgano donde se sucede la reacción. Así, el cofactor endotelial es la nicotinamida adenina

dinucleótido fosfato (NADPH), el cerebral es la calmodulina y en los macrófagos es la tetrahidro-blopterina.

La regulación en la liberación y síntesis del NO depende de las NOS, de las cuales existen dos tipos:

- 1) NOS constitutivas a las que resumiendo podríamos considerar responsables de la actividad basal y más fisiológica de NO (nNOS, eNOS).
- 2) NOS inducibles que aparecen ante determinados estímulos incrementando la producción de NO (iNOS); este incremento, en determinados casos (Sepsis, Fracaso Multiorgánico, Trauma) puede ser tan grande que provoque efectos deletéreos como una vasodilatación irreversible¹⁹⁰.

La isoforma purificada y clonada en las neuronas (nNOS) se encuentra también expresada en el músculo esquelético¹⁹¹, en los neutrófilos, en los islotes pancreáticos, en los endotelios y epitelios del aparato respiratorio¹⁹², y en las vísceras del tracto gastrointestinal. La isoforma endotelial (eNOS) que fue purificada y clonada en las células endoteliales también puede expresarse en ciertas poblaciones neuronales del cerebro¹⁹³ y en las plaquetas¹⁹⁴. Estas dos primeras NOS son calcio/calmodulina dependientes, se encuentran en el citosol, y sólo producen cantidades importantes de NO al ser activadas por una elevación del calcio intracelular.

Por último, en cuanto a la isoforma inducible (iNOS) que fue purificada por primera vez en los macrófagos y PMN, su expresión ha podido ser observada en células de diversos tipos, tales como las células musculares lisas y las células endoteliales¹⁹⁵ y recientemente en un pequeño número de neuronas situadas en el hilio del hipocampo, en el cerebelo, corteza y otras áreas del cerebro de ratas adultas normales. Es inducida por la liberación endógena de citoquinas proinflamatorias y endotoxinas que producen

grandes concentraciones de NO que son citotóxicas y citostáticas para las células blanco.

La NOS es similar a la citocromo P450 reductasa, cuando se compara la secuencia de aminoácidos que las conforman y los sitios de actividad de sus reguladores de función. Requieren de tres cofactores: NADPH, flavina adenina dinucleótido y flavinmononucleótido. Además la NOS, dependiendo del tejido donde es sintetizada, puede utilizar otros dos cofactores que la citocromo P450 reductasa no utiliza, que son la calmodulina y una región susceptible de fosforilación por una de tres proteinkinasa: la proteinkinasa dependiente de AMPc, la proteinkinasa dependiente del complejo calcio-calmodulina y la denominada proteinkinasa C¹⁹⁶.

Como **Inhibidores de la actividad de la NOS**, hemos de señalar a dos compuestos, la N^ω-monometil-L-arginina (L-NMMA) y la N^ω-N^ω-dimetil-L-arginina asimétrica (L-ADMA)¹⁹⁷, que pueden producirse a partir de residuos de arginina tras metilación durante la renovación proteica. Estos compuestos en condiciones fisiológicas se encuentran en concentraciones bajas, pero en situaciones patológicas, como es el caso de las afecciones renales, pueden llegar a tener concentraciones bastantes elevadas que pueden disminuir la síntesis de NO¹⁹⁸. Otros inhibidores como la N^ω-nitro-L-arginina (L-NNA), su ester la N^ω-nitro-arginina metil ester (L-NAME) y la N-iminoetil-L-ornitina (L-NIO) pueden inhibir de manera preferente a las isoformas constitutivas de la NOS^{199,200}, mientras que la N^ω-amino-L-arginina y la aminoguanidina inhiben la iNOS de los macrófagos de una manera selectiva²⁰¹⁻²⁰⁵.

El inhibidor L-NAME parece inhibir in vitro la síntesis de NO por la isoforma eNOS²⁰⁶⁻²⁰⁸ y la isoforma nNOS, incrementando la presión sanguínea in vivo de forma patente.

- Fisiología

El NO es un gas con propiedades de los radicales libres, que actúa como una molécula mensajera de gran inestabilidad y vida corta, difundiendo por cualquier punto de la membrana de la célula productora, para actuar intercelularmente sin requerir ningún tipo de transportador de membrana. Al ser liberado al torrente sanguíneo, es metabolizado en segundos por la hemoglobina, teniendo una vida media estimada de 6 segundos²⁰⁹. Al reaccionar con la hemoglobina por una reacción oxidativa produce metahemoglobina, existiendo la posibilidad de toxicidad por este producto de la reacción. La metahemoglobina es metabolizada por la metahemoglobina reductasa a hemoglobina ferrosa.

En humanos el nitrógeno del grupo guanidino de la L-arginina en presencia de oxígeno y agua produce nitritos y nitratos, siendo el NO, un intermediario en su síntesis. Se eliminan en la orina y se ha descrito la utilidad de su medición para calcular la producción de NO, teniendo en cuenta que la dieta puede elevar la eliminación urinaria de nitratos¹⁸⁷. La excreción de nitrato urinario se aumenta con el ejercicio vigoroso varias veces y en los estados sépticos varios cientos de veces, una pequeña parte se elimina por la saliva donde se transforma en nitrito. Se considera que el nitrato representa el producto terminal final (si bien inespecífico, porque sufre la interferencia de varios otros factores, como la función renal y la ingesta de nitratos), mientras que el nitrito es específico, pero inestable.

Al mezclarse con O₂, se produce una reacción cuyo producto es el dióxido nitroso (NO₂), sustancia altamente tóxica para los pulmones. El NO₂ inhalado a una concentración de 2 ppm por más de 24 horas, produce una depleción en el número de cilios del epitelio de los bronquiolos terminales.

Estos cambios morfológicos revierten después de 21 días de exposición a esta concentración de NO₂¹⁸⁸.

- Acciones del NO

El NO puede ejercer diversas acciones como regulador, protector o citotóxico, según las circunstancias y concentraciones en las que intervenga, pudiendo actuar de forma directa o indirecta²¹⁰.

- Acción sobre el Sistema Vascolar

El esfuerzo de cizallamiento y diferentes agonistas, como bradicinina, adenosina, histamina, trombina o acetilcolina, inducen un aumento de la concentración intracelular de calcio que activa la cNOS para producir pequeñas cantidades de NO²¹¹. Dada su corta vida media, el NO debe inducir efectos biológicos en localizaciones cercanas a su sitio de producción (acción paracrina). El NO difunde hasta las células adyacentes, donde, debido a su afinidad por el hierro del hemo, reacciona con la guanilato ciclasa soluble (GCs), lo que da lugar a la formación de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), estimulación ulterior de la proteína cinasa GMPc-dependiente, disminución de la concentración intracelular de calcio y relajación del músculo liso vascular. La liberación de NO inducida por el flujo pulsátil mantiene el sistema cardiovascular en un estado constante de vasodilatación^{212,213}. Los nitrovasodilatadores de uso clínico (nitroglicerina, nitroprusiato de sodio) actúan al ser metabolizados a NO y producen así la activación de la GCs. El NO también ejerce efectos sobre la célula endotelial (acción autocrina), principalmente inhibición de su propia síntesis por retroalimentación²¹⁴.

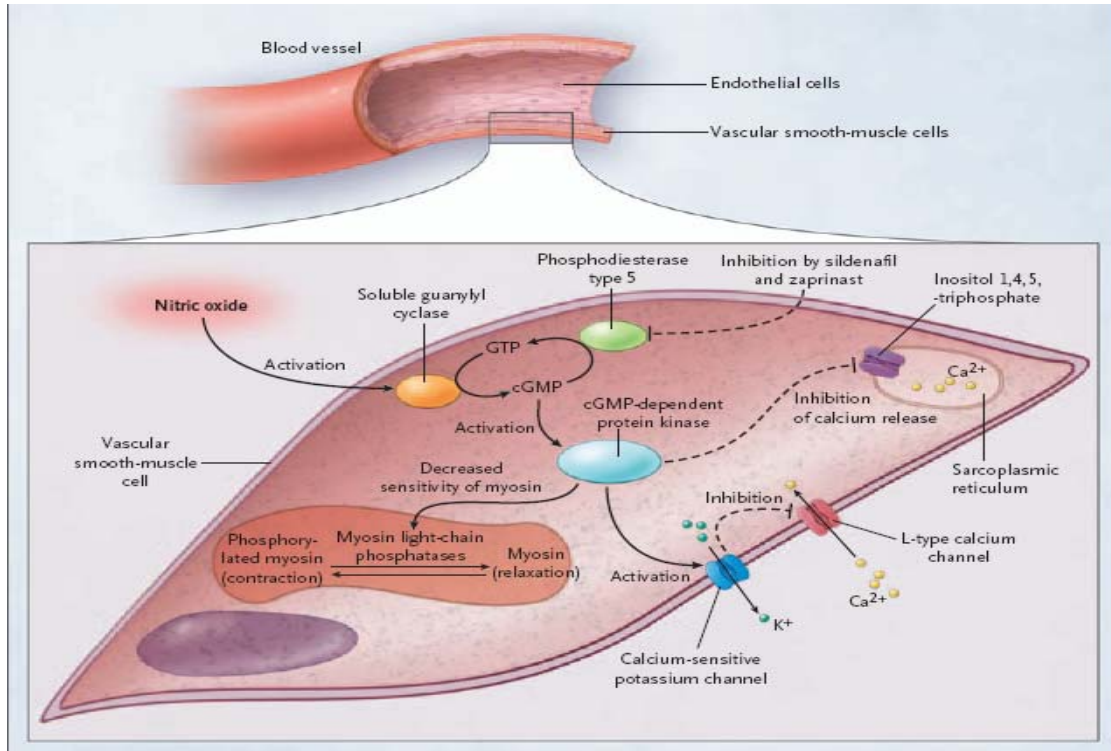


Figura 6: Acción vascular del NO²¹⁵

Una producción excesiva de NO provoca la relajación de las arterias y una presión sanguínea excesivamente baja. Esta situación, que en general no es grave para una persona sana, resulta crítica en enfermos que han entrado en shock séptico como resultado de una infección generalizada.

Otra situación es la disfunción eréctil que se produce en el varón por una falta de producción de NO. En condiciones normales, como consecuencia de la estimulación sexual, se libera NO en el cuerpo cavernoso. El NO activa entonces la enzima guanilato ciclasa que sintetiza GMPc, provoca la relajación del músculo liso y permite la entrada de sangre y la erección. El fármaco sildenafil, desarrollado recientemente, inhibe selectivamente la fosfodiesterasa de tipo 5, la enzima responsable de la degradación del GMPc en el cuerpo cavernoso. De esta manera, al no eliminar GMPc se aumenta el efecto del NO y se consigue una vasodilatación normal^{215,216}.

- **Acción sobre otros Sistemas**

Entre las funciones del NO en el **sistema nervioso** podemos citar i) la autorregulación del flujo vascular tanto periférico como central, ii) la activación de las fibras parasimpáticas que inervan los vasos cerebrales²¹⁷, iii) el incremento del flujo sanguíneo durante la hipercapnia, iv) la participación en los mecanismos de defensa cerebral ante las infecciones mediante la microglía, que en estas situaciones expresa grandes cantidades de la isoforma iNOS^{218,219} y v) su participación en procesos de plasticidad neuronal, aprendizaje y memoria.

El NO también ejerce un papel fisiológico como **molécula antiinflamatoria**. En realidad, los trastornos asociados con disminución del NO se correlacionan con modificaciones compatibles con una respuesta inflamatoria aguda²²⁰, como aumento de la adhesión de leucocitos-células endoteliales, agregación de plaquetas-leucocitos, extravasación de albúmina y aumento de la formación de radicales libres de oxígeno. Los inhibidores de la NOS, al aumentar la disponibilidad de superóxido, desestabilizan a los mastocitos y producen liberación de factor activador plaquetario (PAF) y leucotrieno B₄, expresión de P-selectina sobre la superficie endotelial y aumento ulterior de la adhesividad de los leucocitos²²¹. El NO producido en condiciones fisiológicas destruye el anión superóxido, dado que la inhibición de la NOS produce un aumento del estrés oxidativo²²², y se sabe que el superóxido aumenta el reclutamiento de leucocitos.

Mecanismo inmunológico, en algunas situaciones, la NOS inducible de los macrófagos, produce grandes cantidades de NO, que inhibe la producción de adenosin trifosfato y de ADN, por consiguiente impide la proliferación patógena de bacterias, hongos y parásitos. Las citocinas relacionadas con los linfocitos TH1 como IL-2 e INF-gama, estimulan a los

macrófagos para la producción de grandes cantidades de NO, por otro lado las citocinas producidas por los linfocitos TH2 como IL-4 e IL-10 regulan negativamente la producción de NO, también lo hace el TGF-beta, y el PDFG²²³. La excesiva producción de NO por parte de los macrófagos en el caso de shock séptico, puede producir marcada vasodilatación periférica con la consiguiente hipotensión²²⁴.

Efectos sobre la **agregación plaquetaria**, el óxido nítrico producido a nivel del endotelio vascular, difunde hacia la pared de los vasos, pero también hacia la luz, ingresando al interior de las plaquetas, este óxido nítrico inhibe la agregación plaquetaria disminuyendo la coagulación²²⁵.

El NO incrementa el flujo sanguíneo en la mucosa gástrica e inhibe la adherencia de leucocitos al endotelio en la microcirculación gástrica. Por lo cual es un factor muy importante para la protección de la mucosa gástrica e incide siendo uno de los factores que disminuyen el riesgo de sangrado gastrointestinal alto²²⁶.

Entre otros efectos en el organismo numerosos autores estudian la participación del NO en múltiples procesos fisiológicos y patológicos:

en el aprendizaje y la memoria, en la regulación del sueño, en la reproducción, puede estar asociado con trastornos patológicos de la enfermedad de Alzheimer, en el asma bronquial posee acción vasodilatadora y actúa como neurotransmisor y mediador de la inflamación, en la disfunción de células B de los islotes pancreáticos en la diabetes mellitus insulino dependiente, que causa inhibición de la secreción de insulina²²⁷.

2.4.3 Óxido Nítrico inhalado (iNO)

La administración sistémica de NO no es posible debido a su rápida inactivación por la hemoglobina. El NO es de 1.000 a 3.000 veces más afín por la hemoglobina que el O₂, sin embargo, cuando se administra por vía inhalatoria, el NO difunde del alvéolo a la circulación pulmonar produciendo vasodilatación a dicho nivel, pero la inactivación a nivel sanguíneo impide sus efectos sistémicos, esto lo diferencia del resto de los vasodilatadores²²⁸.

- Introducción

El iNO ha sido usado ampliamente en Europa para el tratamiento de la insuficiencia respiratoria y la hipertensión pulmonar (HTP) desde hace años tanto en quirófano como en las Unidades de cuidados críticos. El uso racional del iNO en estos pacientes está basado en la mejoría de la oxigenación arterial en los pacientes con Síndrome de Distress Respiratorio del Adulto (SDRA) y en la reducción del tono vascular pulmonar en pacientes con resistencia vascular pulmonar elevada o riesgo de fallo ventricular derecho²²⁹⁻²³¹.

Sin embargo, varios ensayos clínicos randomizados no han podido demostrar una mejoría en la supervivencia o morbilidad en pacientes críticos tratados con iNO^{232,233}. A pesar de ello, multitud de facultativos lo siguen empleando como medicación de “uso compasivo”, al no estar aprobado su uso como fármaco en adultos pero sí en neonatos, por lo que sus indicaciones precisas estaban poco clarificadas hasta la Reunión de Consenso a cargo de la Sociedad europea de Medicina Intensiva y la

Asociación Europea de Anestesiología en Cirugía Cardiotorácica en 2004, con publicación posterior de las Guías y Recomendaciones allí debatidas²³⁴.

- Efectos clínicos

Los efectos biológicos del iNO se empezaron a estudiar en 1991 en distintos modelos experimentales al comprobar que producía profunda dilatación de la musculatura lisa vascular constreñida en la circulación pulmonar sin acción hemodinámica fuera del pulmón (**Vasodilatación Pulmonar Selectiva**)^{235,236}.

Una de sus propiedades más beneficiosas al ser administrado en la mezcla de gases inhalados es que se distribuye hacia las zonas mejor ventiladas de los pulmones y es ahí donde se observa su principal **Efecto Vasodilatador Pulmonar**. Por este mecanismo se reduce el shunt y se respeta la vasoconstricción hipóxica pulmonar al vasodilatarse el lecho sanguíneo que baña los alvéolos mejor ventilados, diferente a cuando se administran drogas vasodilatadoras que tienen efectos sistémicos y que vasodilatan todo el lecho pulmonar sin respetar las zonas mal ventiladas empeorando la relación ventilación-perfusión.

La vasodilatación específica ha sido demostrada ampliamente^{237,238} y requiere la liberación sostenida de iNO, la interrupción brusca de esta terapia puede provocar un efecto rebote con marcada vasoconstricción e HTP.

El iNO también posee un **Efecto Broncodilatador** que es dosis-dependiente y menos efectivo que la inhalación de un β_2 agonista^{239,240}.

El **Efecto de Mejoría en la Oxigenación** se observa hasta en un 60% de los pacientes con lesión pulmonar aguda (LPA)²⁴¹. En el SDRA se requiere menor dosis de iNO para mejorar la oxigenación que para disminuir el tono

vascular pulmonar y además se precisa cada vez menos iNO tras unos días de exposición²⁴².

La dosis óptima para el tratamiento de la HTP y la hipoxemia se desconoce y se han estudiado dosis entre 3 - 80 ppm. Parece claro que cada caso tiene una particular curva dosis-respuesta y existe un grupo de pacientes no respondedores los cuales no obtendrán beneficio pese a que incrementemos la dosis progresivamente^{243,244}.

Se puede conseguir un **Efecto de Sinergia** junto a otros fármacos vasodilatadores^{245,246} para reducir la HTP como el **Bosentan** que es un antagonista de los receptores de la endotelina A y B con acción reductora de la resistencia vascular y sistémica (sólo disponible via oral), el **Sildenafil** que es un inhibidor de la fosfodiesterasa-5 y aumenta la acción local del NO favoreciendo la vasodilatación con incremento de la respuesta eréctil (sólo disponible via oral), el **Iloprost** que es un análogo de la prostaciclina con acción vasodilatadora y antiagregante (via intravenosa e inhalatoria) y el **Epoprostenol** que es una prostaglandina con acción antiagregante y vasodilatadora empleada en infusión intravenosa.

- Metabolismo

Se metaboliza de tres formas: 1) mediante la formación de NO₂ al reaccionar con el O₂ de la sangre, 2) al reaccionar con la hemoglobina para formar metahemoglobina, donde el hierro ha sido oxidado desde el estado ferroso al férrico, el cual no puede transportar el O₂ y por tanto, no contribuye a la capacidad de la sangre para transportar este gas y 3) al combinarse con la deoxihemoglobina y formar nitrosohemoglobina. Tiene una vida media de 3 a 6 segundos y su duración de acción es de 2 a 8 minutos, persistiendo sus efectos sobre la PAP y la oxigenación arterial

luego de suspender el tratamiento. Se excreta por vía renal siendo sus metabolitos nitratos y nitritos, al menos el 70% del iNO es excretado como nitrato en la orina transcurridas 48 horas.²⁴⁷

- Administración y Monitorización

Existen pocos dispositivos fabricados para administrar NO, se pueden utilizar diversos tipos de respiradores y sistemas de gas, aconsejándose el empleo de respiradores de flujo continuo. Las bombas de NO, han de disponer de un caudalímetro de alta precisión el cual se conecta a la rama inspiratoria del respirador, una vez programado el flujo que deseamos, éste se mezcla y diluye con los gases que provienen del respirador resultando la concentración definitiva que se administra al paciente se deben emplear humidificadores convencionales y no filtros nasales con una temperatura de 34 a 35°C. En presencia de O₂ el NO es oxidado a dióxido de nitrógeno (NO₂), que en concentraciones altas es tóxico, por consiguiente el tiempo de exposición del NO con O₂ debe ser el mínimo posible y ambas concentraciones que llegan al paciente deben ser continuamente monitorizadas, la constante evaluación de posible exposición a niveles tóxicos y la revisión de los circuitos en este sentido son extremadamente importantes para dar una administración segura de la terapia con NO. Para las mediciones se utilizan aparatos de electroquímica que son suficientemente fiables para los rangos que se utilizan de 5 a 50 ppm, los de quimioluminiscencia son más exactos puesto que permiten medir concentraciones muy bajas de NO y NO₂ en partes por billón (1 ppm = 1,000 ppb)²⁴⁸.

La administración de NO en la rama inspiratoria del respirador, sea en forma continua o secuencial, está contraindicada fuera de la ventilación

controlada, en la que no se asegure un patrón ventilatorio constante. Aunque algunos autores mencionan la posibilidad incluso de suministrarlo mediante puntas nasales en pacientes extubados. Un sistema de administración ideal para administrar NO es en la rama inspiratoria del respirador en una posición alejada del paciente y en cualquier tipo de ventilación debe cumplir con dos requisitos: el flujo de NO debe ser sincrónico con el flujo del respirador, para que sea administrado sólo durante la inspiración, debe regular el flujo de NO administrado en el circuito de forma proporcional al flujo de gas administrado por el respirador. Parecen seguras concentraciones de NO₂ inhalado menores de 5 ppm y de metahemoglobinemia inferiores a un 2.5%. Se deberá discontinuar el tratamiento si la concentración de metahemoglobina excede el 3%. La localización más adecuada para monitorizar el NO es la rama inspiratoria cerca del paciente ya que en este sitio, la mezcla está más homogeneizada. También se deben monitorizar con un sistema de alarmas los niveles de O₂ y NO₂ de forma continua²⁴⁹.

Las **dosis** de NO usadas inicialmente fueron muy variadas, desde escasas partes por millón hasta 200 ppm. Hoy en día existe un consenso sobre la ausencia de efectos beneficiosos al utilizar dosis superiores a 20 ppm (la concentración de NO₂ se incrementa porcentualmente al superar esta cifra), así pues, las dosis recomendadas van desde los 5 hasta las 20 ppm, siendo la ideal la mínima que dentro de estos rangos consiga mejorar la saturación arterial de O₂ (SatO₂)²⁵⁰.

- Efectos Adversos

- Metahemoglobinemia, ya que la nitrosilhemoglobina se metaboliza a Metahemoglobina y podrían aumentar sus niveles por encima del 3% causando problemas con el transporte de O₂. Los pacientes con más riesgo de presentar metaHb son los prematuros dado que la Hb fetal se oxida con más facilidad y pueden tener además déficit de metaHb reductasa. También tienen riesgo los pacientes que reciben altas concentraciones de NO durante largos periodos, los tratados con nitrovasodilatadores endovenosos y los que tienen alteraciones de la actividad de la metaHb reductasa adquirida o congénita²⁵¹. El tratamiento consiste en suprimir la inhalación de NO y administrar azul de metileno, que permite disminuir rápidamente los niveles de metaHb.
- Producción de NO₂, el riesgo de formación de NO₂ será menor con el empleo de flujos en el respirador mayores de 10 L/min y con las dosis de NO recomendadas. Con niveles tóxicos de NO₂ se ha observado: pérdida de los cilios, inflamación de la mucosa, edema pulmonar, hemorragia alveolar, lesiones de patrón enfisematosos y fibrosis intersticial²⁵².
- Estrés Oxidativo, existen incógnitas en cuanto al riesgo sobre todo en los prematuros o cuando coexiste una inflamación pulmonar y en relación a la posible lesión directa celular sobre el alvéolo, en especial sobre el surfactante y sus proteínas. En un entorno aeróbico el NO produce desaminación de los nucleósidos, nucleótidos y ácidos nucleicos en cultivos de células de mamíferos pero probablemente in vivo las alteraciones del DNA producidas por las especies reactivas de nitrógeno estén limitadas por el efecto protector del NO²⁵³.

- Función plaquetaria, (inhibición de la agregación y adhesión) con prolongación del tiempo de sangría que facilitaría las hemorragias, sobre todo la intracraneal²⁵⁴.
- Efecto Rebote: El NO debe retirarse cuando hayan revertido las condiciones que aconsejaron su uso o bien cuando una vez usado se demuestre su ineffectividad. Esta retirada nunca debe ser brusca, sino paulatina, disminuyendo lentamente las ppm hasta llegar a 1, ya que están descritos fenómenos de rebote en la presión de la arteria pulmonar e hipoxemia. El mecanismo implicado podría ser la reducción de la síntesis de NO endógeno inducida por la regulación negativa del NO inhalado^{255,256}.

- Aplicaciones Clínicas

1) Insuficiencia Cardíaca:

La habitual resistencia vascular pulmonar (RVP) elevada observada en pacientes con insuficiencia ventricular izquierda crónica puede provocar una disregulación del tono de la musculatura lisa y un remodelamiento vascular. Esto conlleva vasoconstricción, adherencia leucocitaria, trombosis, inflamación y aterosclerosis²⁵⁷.

Se han descrito casos de aparición repentina de edema pulmonar en pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva severa en tratamiento con iNO debido probablemente al súbito incremento del llenado auricular izquierdo causado por la vasodilatación pulmonar²⁵⁸.

Aunque no está indicado su uso en la insuficiencia cardíaca izquierda, puede ser usado como test de reactividad vascular pulmonar antes del trasplante cardíaco o en el postoperatorio si existe depresión ventricular derecha²⁵⁹.

2) Hipertensión Pulmonar (HTP):

Antes conocida como HTP primaria, es una enfermedad progresiva de la vasculatura pulmonar que provoca un fallo cardiaco derecho. La definición actual incluye la HTP idiopática, la familiar y la relacionada con factores de riesgo. La etiología permanece indefinida y la supervivencia es de 3 años en adultos tras el diagnóstico²⁶⁰.

El pronóstico puede mejorar en pacientes que responden al tratamiento con calcioantagonistas y/o anticoagulación y aquellos tratados con prostaciclina de forma continua²⁶¹.

La respuesta al test vasodilatador tiene importantes consecuencias en la elección de la terapia y el pronóstico. Así, sólo los pacientes con respuesta positiva a este test serán candidatos al tratamiento con calcioantagonistas a largo plazo. Los fármacos empleados para efectuar el test son el epoprostenol, la adenosina y el iNO y se considerará una respuesta positiva si la presión de arteria pulmonar media (PAPm) desciende entre 10-40 mmHg con aumento del gasto cardiaco. El iNO se emplea para testar los candidatos apropiados (respondedores) en el preoperatorio de cirugía cardiaca o trasplante²⁶².

El tratamiento de la HTP severa en estadio III/IV se basa en la terapia combinada de prostanoides (epoprostenol, iloprost o treprostinil), bosentan y sildenafil asociados al iNO (si se puede administrar). Si no existe respuesta se debe realizar septostomia atrial y/o trasplante cardio/pulmonar^{245,263,264}.

3) Tromboembolismo Pulmonar (TEP):

El iNO, al disminuir la PAP, es probable que descargue el ventrículo derecho en los casos de TEP e HTP tromboembólica crónica. Además sus efectos de antiagregación plaquetaria pueden ser beneficiosos para resolver el cuadro^{265,266}.

El uso del iNO ha sido descrito en 10 pacientes con TEP masivo que condujo a una situación de shock cardiogénico. En al menos 8 casos, el iNO descendió la postcarga ventricular derecha, mejoró el gasto cardiaco (GC) e incrementó el contenido arterial de oxígeno²⁶⁷⁻²⁶⁹.

4) Enfermedad de las células falciformes:

Los glóbulos rojos rígidos dan lugar a una alteración del flujo de la sangre en la microcirculación, fenómenos de oclusión venosa, inflamación y hemólisis. Dada la reducción del NO endógeno (eNO) por la Hemoglobina desoxigenada (HbS), el iNO restaura la homeostasis endotelial al producir vasodilatación pulmonar e inactivación de la HbS, lo cual permite al eNO actuar como vasodilatador en órganos periféricos²⁷⁰.

Su empleo en varios casos agudos de insuficiencia respiratoria demostraron mejoría en la oxigenación y el descenso de la PAP. En un estudio prospectivo randomizado en pacientes pediátricos el uso de iNO, comparado con placebo, redujo el dolor y los requerimientos de morfina en las primeras 6 horas²⁷¹⁻²⁷³.

5) Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC):

Con esta patología, la presencia de HTP tiene una peor respuesta a la oxigenoterapia y por lo tanto un impacto adverso en el pronóstico²⁷⁴. A pesar de que existen estudios con resultados dispares, un ensayo randomizado y prospectivo comparó O₂ sólo y O₂ + iNO durante un periodo de 3 meses en pacientes estables demostrando una reducción de la PAP y de las RVP en el grupo del iNO^{275,276}. Faltan estudios de supervivencia tras la administración de este fármaco por lo que no existe evidencia de su beneficio en pacientes EPOC²³⁴.

6) Cirugía Cardíaca (CC):

- HTP perioperatoria en CC:

El fallo ventricular derecho durante o tras CC electiva es frecuente en pacientes con HTP previa, trasplante cardíaco (TCO) y en pacientes que reciben una asistencia mecánica ventricular derecha. Esta disfunción derecha supone el 50% de todas las complicaciones cardíacas y el 19% de mortalidad tras TCO.

El iNO ofrece varias ventajas en el tratamiento de esta patología al dilatar selectivamente la vasculatura pulmonar y no afectar negativamente al balance miocárdico de O₂ o a la presión arterial sistémica²⁷⁷.

La presencia de fallo ventricular derecho e HTP puede imposibilitar el destete de la circulación extracorpórea (CEC). Las estrategias terapéuticas para estos casos son: iNO, prostaglandinas y últimamente las asistencias mecánicas circulatorias²⁷⁸. Tampoco existen, en este caso, ensayos clínicos randomizados que demuestren una mayor supervivencia y resultados con el iNO en esta patología, pero los expertos reconocen que su uso mejora las condiciones hemodinámicas cuando se utiliza en el perioperatorio de CC junto a otras medidas ventilatorias y farmacológicas que mejoren la función ventricular derecha²⁷⁹.

- Mecanismos de Asistencia ventricular izquierda:

La asistencia ventricular puede mejorar la supervivencia y morbilidad de pacientes con fallo cardíaco severo agudo o crónico, como puente al trasplante, puente a la recuperación o como terapia permanente²⁸⁰.

La asistencia ventricular izquierda descarga el ventrículo izquierdo y disminuye la presión en la aurícula izquierda, simultáneamente incrementa la precarga en el ventrículo derecho. Si la RVP está normal, esta asistencia disminuye la postcarga del ventrículo derecho

constituyendo una ayuda para su función, pero en caso de HTP este efecto se pierde y el ventrículo derecho disfuncionante es incapaz de proporcionar un relleno adecuado para la asistencia ventricular izquierda²⁸¹. Esta situación puede requerir la inserción de una asistencia biventricular.

La disfunción ventricular derecha resulta fatal en estos casos y por eso se han descrito buenos resultados al asociar iNO en este tipo de pacientes^{282,283}.

- Trasplante Cardíaco (TCO):

Es la opción quirúrgica para el tratamiento de la enfermedad cardiaca terminal. Debido a la mejoría en el tratamiento médico de la insuficiencia cardiaca, el estadio clínico de los pacientes cuando llegan al trasplante está muy avanzado y con frecuencia presentan HTP. La consecuente elevación de las RVP contribuye al fallo ventricular derecho tras el TCO con el aumento de mortalidad correspondiente. El diagnóstico y el tratamiento efectivo de la HTP secundaria en pacientes con TCO es crucial y la vasodilatación pulmonar es el objetivo²⁸⁴.

La prostaglandina E1 (PGE1) ha sido usada en estos casos pero su profunda vasodilatación sistémica con reducción incluso de la perfusión coronaria han limitado su utilización.

El iNO, en combinación con una terapia multimodal, reduce el fallo ventricular derecho al disminuir las RVP en comparación con la PGE1, y así su empleo está recomendado por todos los expertos en el perioperatorio de TCO que cursen con esta complicación, aunque no existan ensayos clínicos randomizados al respecto^{285,286}.

7) Cirugía Torácica:

- Ventilación Unipulmonar: La hipoxemia aparece de forma frecuente durante la ventilación unipulmonar y es debida

principalmente a un incremento del flujo de sangre hacia el pulmón no ventilado (shunt intrapulmonar)^{287,288}. Si existe una alteración importante de la relación ventilación/perfusión causada por la vasoconstricción pulmonar hipóxica y la redistribución del flujo pulmonar, el iNO puede resultar beneficioso al incrementar el flujo sanguíneo pulmonar del pulmón ventilado al dilatar la vasculatura pulmonar^{288,289}.

Varios estudios demuestran que en ausencia de hipoxemia ó HTP, la administración de iNO no aporta beneficios en la oxigenación o PAP por lo que su uso parece limitado a aquellos casos de severa hipoxemia durante la ventilación unipulmonar que sean refractarios al tratamiento y las medidas convencionales^{290,291}.

- Lesión por Isquemia/Reperfusión: Como ya comentamos en la fisiopatología de la DPI, el daño pulmonar asociado con la isquemia y la reperfusión junto al stress oxidativo es una importante causa de morbilidad y mortalidad posterior al **trasplante pulmonar**. El eNO está disminuido tras el implante a pesar del aumento de la expresión de la NOS^{292,293}. El edema por isquemia-reperfusión está relacionado con el desarrollo de un proceso inflamatorio donde juegan un papel importante la activación de leucocitos y liberación de radicales libres. Diferentes publicaciones han investigado que el óxido nítrico (NO) inhalado reduce la disfunción del injerto¹⁰⁹⁻¹¹¹.

El iNO ha sido empleado con éxito en este implante por su vasodilatación pulmonar selectiva disminuyendo la PAP, mejorando la relación ventilación/perfusión y las oxemias. Así varios estudios le atribuyen un papel protector en la lesión de isquemia/reperfusión²⁹⁴⁻²⁹⁸. Lamentablemente, estos hallazgos no

podieron corroborarse en un ensayo doble ciego, comparativo con placebo, sobre 84 pacientes, con administración de iNO (20 ppm) 10 minutos tras la reperfusión y hasta 6 horas después, donde observaron ausencia de beneficios en oxigenación, tiempo de extubación y mortalidad a los 30 días²⁹⁹.

Sí se encontró evidencia en otro ensayo clínico randomizado donde se demostró que el iNO reduce la necesidad de CEC en el trasplante bipulmonar al mejorar la estabilidad hemodinámica y oxigenación durante el clampaje de la arteria pulmonar y posterior reperfusión del primer pulmón implantado³⁰⁰.

8) Síndrome de Distress Respiratorio del Adulto (SDRA) y Lesión

Pulmonar Aguda (ALI):

En estos dos procesos existe una marcada alteración en la distribución de la perfusión pulmonar a favor de las áreas peor ventiladas³⁰¹.

La introducción del iNO ofrece la posibilidad de modular selectivamente el flujo pulmonar, reducir la HTP y mejorar la relación ventilación/perfusión. Varios ensayos clínicos administrando iNO en pacientes con SDRA confirmaron la mejoría en la oxigenación arterial y la hemodinámica pulmonar³⁰²⁻³⁰⁵. Además estos parámetros mejoran aún más si se asocian otras medidas como la presión positiva tele-espírométrica (PEEP) y la posición del paciente en decúbito prono^{306,307}.

Se publicó un metanálisis³⁰⁸ en el que se examinaron cinco ensayos clínicos controlados³⁰⁹⁻³¹³ que examinaron a 535 pacientes considerando el efecto del óxido nítrico inhalado, comparado con el gas placebo inhalado, en la mortalidad y morbilidad de pacientes con insuficiencia respiratoria aguda hipoxémica. El óxido nítrico no marcó una diferencia significativa en la mortalidad en ensayos sin cruzamiento. La evidencia publicada a partir de un estudio demostró que el iNO producía una mejoría transitoria

en la oxigenación en las primeras 72 horas de tratamiento. Los datos limitados no demostraron diferencias significativas en cuanto a los días sin ventilador entre los grupos de tratamiento y de placebo y ninguna dosis específica de iNO tuvo una ventaja significativa sobre las demás. Otros indicadores clínicos de efectividad como la duración de la hospitalización y de la estancia en cuidado intensivo se reportaron en forma inconsistente. No se reportaron complicaciones significativas que fueran directamente atribuibles a este tratamiento.

Los resultados de esta revisión deberían interpretarse con cautela, ya que cada ensayo tuvo algún grado de metodología defectuosa. Aunque se reclutaron 535 pacientes en estos estudios, no todos los resultados estuvieron disponibles para su incorporación en los análisis. Por lo tanto, hubo una potencia insuficiente para observar diferencias considerables en la morbilidad, o mortalidad, cuando tantos factores influyen sobre los resultados en esta enfermedad.

Uno de estos estudios evidenció en el análisis posterior menor mortalidad y descenso del tiempo en ventilación mecánica en el grupo que recibió 5 ppm de iNO³⁰⁹.

Está demostrado que la terapia con iNO reduce la necesidad de ECMO debida a insuficiencia respiratoria severa³⁰³.

Según las recomendaciones de los expertos³¹⁴ y la revisión reciente publicada²¹⁵ se puede concluir que no existe evidencia clínica de beneficio para el uso rutinario del iNO en SDRA y ALI pero si se puede emplear como soporte cardio-respiratorio en aquellos casos de hipoxemia y/o HTP severa refractaria.

***HIPÓTESIS DE TRABAJO
Y OBJETIVOS***

3.1 HIPÓTESIS DE TRABAJO

Nuestra hipótesis consistirá en comparar y comprobar, mediante la medición de varios parámetros (respiratorios, hemodinámicos e inmunológicos) en distintos tramos horarios, si existe beneficio en la terapia con óxido nítrico inhalado en donantes y/o receptores de trasplante pulmonar, para modular la respuesta vascular e inflamatoria con la finalidad de evidenciar si se produce una reducción de la disfunción primaria del injerto y un descenso en la morbi/mortalidad con respecto a un grupo control sin iNO.

3.2 OBJETIVOS

- 1) Analizar, mediante el estudio comparativo de los grupos, si la adición de óxido nítrico al donante pulmonar previene la aparición de la disfunción primaria del injerto.
- 2) Determinar, mediante el estudio comparativo de los grupos, si la administración de óxido nítrico al receptor pulmonar durante el intraoperatorio y postoperatorio previene la aparición de la disfunción primaria del injerto.
- 3) Constatar, mediante el estudio comparativo de los grupos, si existen diferencias en los parámetros hemodinámicas pulmonares y sistémicos.
- 4) Comprobar, mediante el estudio comparativo de los grupos, si hay cambios en el intercambio gaseoso si se administra óxido nítrico.
- 5) Cuantificar, mediante el estudio comparativo de los grupos, los niveles de citocinas pro y antiinflamatorias para observar si el óxido nítrico reduce o no esta cascada.
- 6) Estudiar, mediante el estudio comparativo de los grupos, aquellos factores de riesgo que incrementan la aparición de dpi y comprobar que no existe ninguna variable de confusión en el análisis de estos datos.
- 7) Calcular, mediante el estudio comparativo de los grupos, la mortalidad y observar mediante análisis de supervivencia su relación con el tratamiento con iNO y la dpi.
- 8) Observar, mediante el estudio comparativo de los grupos, si éstos son homogéneos y se distribuyen normalmente.

MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio piloto, unicéntrico, prospectivo, de grupos paralelos, controlado, de diseño abierto, para evaluar la eficacia del óxido nítrico inhalado en el donante y receptor de trasplante pulmonar junto a la prevención del fallo primario del injerto.

Este estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Universitario La Fe de Valencia, certificando que se ajustaba a las normas éticas sobre investigación biomédica con sujetos humanos y era viable en cuanto al planteamiento científico, objetivos, material y métodos, etc. Teniendo en cuenta que se trata de un principio activo de una especialidad farmacéutica en nuevas condiciones de uso.

4.1.1 Diseño básico

Se analizaron 49 trasplantes pulmonares consecutivos (desde Mayo de 2005 hasta Noviembre de 2007), se perdieron 13 pacientes (tres de ellos por infección/rechazo agudo y el resto por no obtenerse las muestras basales) haciendo un estudio comparativo entre los siguientes tres grupos:

- 1) Donantes que sí reciban iNO durante 3 horas previas a la extracción del órgano y receptores que sí reciban iNO durante el implante y hasta 48 horas posteriores a la reperfusión del injerto (9 pacientes).
- 2) Donantes que no reciban iNO y receptores que sí reciban iNO durante el implante y hasta 48 horas posteriores a la reperfusión del injerto (20 pacientes).
- 3) Donantes y receptores que no reciban iNO (20 pacientes).

Se analizaron una serie de variables clínicas e inmunológicas determinadas en distintos puntos cronológicos del proceso (basal, 12, 24 y 48 horas) para poder así realizar un estudio comparativo entre los 3 grupos.

Los pacientes se asignaron a uno de los tres grupos de forma no aleatorizada con una relación 1:1:1, según la procedencia de los donantes. El tamaño de la muestra inicial para este estudio piloto era de 60 pacientes; 20 en cada grupo de tratamiento, pero debido a la escasez de donantes en nuestro Hospital y en los demás centros sanitarios de la ciudad de Valencia, en el grupo 1) correspondiente al de administración de iNO en los donantes sólo se han podido recoger 9 casos.

Dadas las características del estudio, éste no fue ciego.

4.1.2 Selección de los pacientes

- **Población de estudio**

Donantes y Receptores de un trasplante pulmonar.

- **Criterios de inclusión**

- Tener programado un trasplante pulmonar.
- Edad: de 18 a 65 años.
- Haber firmado el consentimiento informado aprobado por el Comité Ético.

- **Criterios de exclusión**

- Infección bacteriana no controlada.
- Aclaramiento de creatinina < 50 ml/min.
- Disfunción orgánica severa extrapulmonar.
- Persistencia hábito tabáquico.
- Enfermedad neoplásica (2-5 años libre de tumor según tipo).
- Mujeres embarazadas o en período de lactancia.

- Osteoporosis severa Úlcera péptica activa Enfermedad neuromuscular progresiva.
- Enfermedad sistémica activa limitante. Diabetes complicada.
- Cualquier contraindicación que a juicio del investigador el paciente debe ser excluido.

- Criterios de retirada

- Si se produce cualquier condición que a juicio del investigador haga necesaria su retirada.
- Si el paciente o su tutor legal deciden retirar su consentimiento para participar en el estudio.
- Si se ha producido un acontecimiento adverso inaceptable o se han registrado anomalías clínicamente relevantes en las pruebas de laboratorio o se ha producido una violación del protocolo.

4.2 PROTOCOLO DE TRASPLANTE PULMONAR

El trasplante, ya fuera unipulmonar ó bipulmonar, se desarrolló según el protocolo anestésico/quirúrgico establecido y habitual.

4.2.1 Extracción pulmonar

Antes de iniciar la extracción se realiza la última gasometría con fracción inspirada de O₂ (FiO₂) al 100% durante 5 minutos, si la presión alveolar de O₂ (PaO₂) es superior a 300 mmHg se consideran los pulmones válidos, salvo anomalía en la visión directa. Se administra un bolo intravenoso (i.v.) de 500 mg de metilprednisolona. Se realiza esternotomía media, tras la administración de heparina (300 U.I./kg de peso), se coloca la aguja de cardioplejia y la cánula de perfusión pulmonar. Se infunden

prostaglandinas inmediatamente antes de iniciar la extracción (500 mcg de PGE1). En este punto empieza la extracción tras el clampaje de aorta, momento en que se inicia el tiempo de isquemia³¹⁵.

La solución de perfusión pulmonar (Celsior a 4°C) se administra mientras se realiza una ventilación suave. Una vez extraídos los pulmones son almacenados en una bolsa estéril de plástico. Esta bolsa se introduce a su vez en otras dos y finalmente en un contenedor rodeado de hielo que se transporta en nevera para mantener la hipotermia.

4.2.2 Cirugía de banco

Una vez llegan los pulmones al Hospital y, previamente al implante, se realiza la cirugía de banco para separar y preparar ambos pulmones. Una vez separados se realiza un lavado y aspirado bronquial junto a una segunda perfusión por vía retrógrada con solución de Celsior e insuflación.

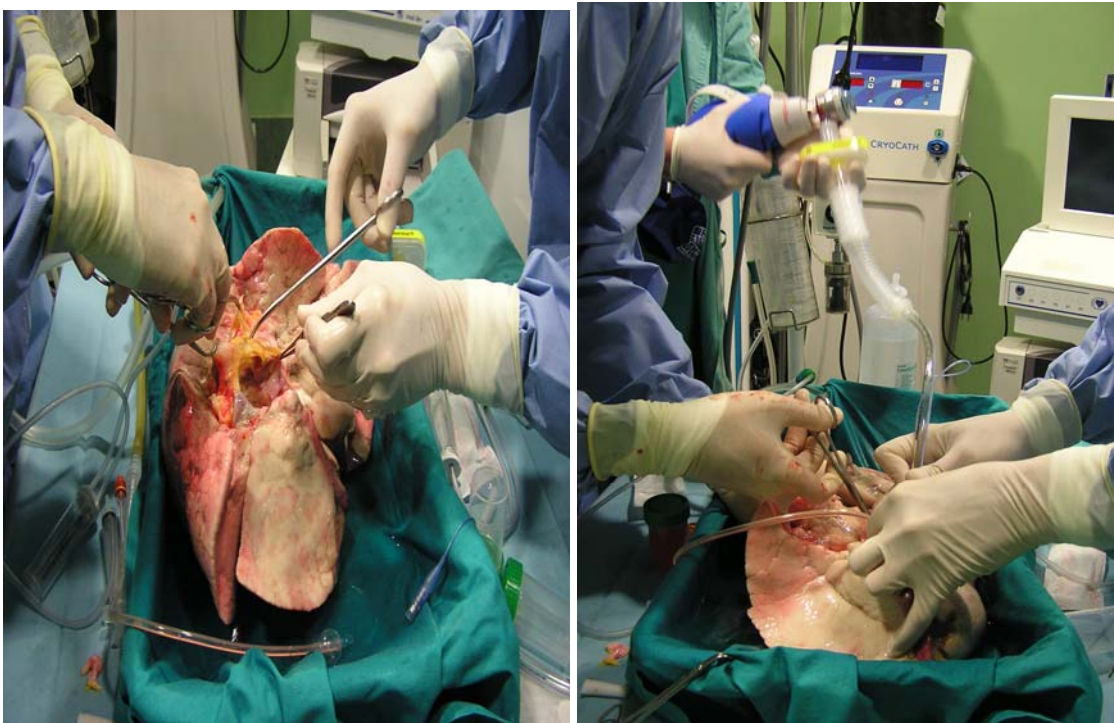


Figura 7: Separación, perfusión e insuflación pulmonar en banco

4.2.3 Técnica Anestésica

- **Monitorización**

Se monitoriza de forma continua el electrocardiograma (ECG) de cinco derivaciones, la pulxioximetría digital, la temperatura central y se coloca una sonda vesical . Tras la inducción anestésica se inserta una vía central yugular interna con catéter de Swanz-Ganz (Monitor Vigilance, Edwards Critical Care) y catéter de arteria radial.

Con todo ello se monitoriza de forma continua: Presión arteria pulmonar (PAP), presión venosa central (PVC) y la Tensión arterial (TA), además se puede comprobar la presión capilar pulmonar (PcAP), las resistencias vasculares sistémicas (RVS) y pulmonares (RVP), el gasto cardíaco (GC) y la saturación venosa mixta de oxígeno (SvO₂).



Figura 8: Monitorización anestésica en el trasplante pulmonar

- **Inducción y Mantenimiento**

Tras una adecuada preoxigenación se induce con una combinación de midazolam (0,04 mg/kg)/etomidato (0,3 mg/kg) para evitar la hipotensión arterial, fentanilo (2 mcg/kg) y un relajante muscular (rocuronio o cis-atracurio).

Tras la ventilación manual con mascarilla se procede a la intubación con tubo de doble luz izquierdo (Robertshaw), eligiendo el de mayor calibre posible y situándolo de forma exacta para que se produzca la ventilación selectiva de cada pulmón (situación que comprobaremos).

El mantenimiento se realiza con anestesia general balanceada con mezcla de aire/O₂ ó O₂ al 100% si es necesario, junto a un gas halogenado como el sevofluorane (en caso de hipotensión se puede mantener el nivel de hipnosis con perfusión de midazolam incluido en la infusión continua de cis-atracurio).

Previo a la reperfusión de cada pulmón se administra 500 mg de metil-prednisolona.

- Problemas intraoperatorios

- El inicio de la ventilación unipulmonar puede conllevar la aparición de hipoxemia e hipercapnia por lo que habrá que realizar una serie de maniobras terapéuticas tales como: amentar FiO₂, aumentar el volumen minuto, volver a la ventilación bilateral intermitente, pinzar la arteria ipsilateral ó finalmente iniciar CEC.
- Tras el clampaje de la arteria pulmonar puede existir un incremento importante en la PAP con fallo ventricular derecho que intentaremos tratar con: soporte inotrópico con dopamina (5-10mg/kg/min) y/o dobutamina (5-15 mg/kg/min), vasodilatadores pulmonares (nitroglicerina, PGE1 e iNO) ó finalmente iniciar CEC.
- Tras el desclampaje de la arteria pulmonar si existe DPI observaremos una clínica de hipoxemia y bajo gasto cardíaco con elevación de las presiones pulmonares por lo que convendrá administrar: inotrópicos, PEEP, diuréticos, vasodilatadores pulmonares ó finalmente iniciar CEC³¹⁶.

- Las indicaciones para entrar en CEC en cualquier momento del trasplante son: Índice cardíaco (IC) $< 2 \text{ l/min/m}^2$, SvO₂ $< 60\%$, PAM $< 50 \text{ mmHg}$, SaO₂ $< 85\%$, pH $< 7,00$.

- Tratamiento en Reanimación

Además del tratamiento inotrópico y vasodilatador que pueda mantener desde quirófano, existe un protocolo de fármacos que se administran a todos los trasplantes pulmonares.

- Antibioterapia profiláctica:
 - Imipenem 500 mgr c/6 h. i.v. En pacientes menores de 20 años sustituirlo por Meropenem 500 mgr. c/8 h. i.v.
 - Ciprofloxacino 200 mgr. c/12 h. i.v.
 - Fluconazol 200 mgr. c/12 h. i.v.
 - Nistatina enjuagues orales 5 c.c. c/6 h.
 - Corsodyl enjuagues orales c/6 h. (no coincidir con la Nistatina).
 - Mycostatín óvulos vaginales c/8 h.
 - Tras extubación añadir:
 - + Fungizona aerosoles: 50 mgr. en 20 ml. de SF, cargar 3 ml. en cámara de aerosol c/8 h.
 - + Colistina aerosoles: 1 millón en 5 ml. de SF c/12 h.
 - Ganciclovir 10 mgr./Kgr./día, repartido en dos dosis (5 mgr./Kgr./12 h.), diluido en 100ml. de SF a pasar en 1 h. . A partir del 10º día.
 - Soltrím/Septrin 1 comp. c/24 h. A partir del 20º día.
- Inmunosupresión:
 - Metilprednisolona 1 mgr./Kgr./día. Repartido en dos dosis (0,5 mgr./Kgr./12 h. i.v.).
 - Prednisona : 0,2 a 0,5 mgr./Kgr./día repartido en dos dosis

(0,1- 0,25 mgr./Kgr./12h.). A partir del 10º día.

- Ciclosporina (Sandimmun): 2,5 mgr/Kgr/día. (1,25 mgr/Kgr/12h) diluido en 50 ml. de suero Glucosado a pasar por bomba en perfusión continua.). Recambios a las 9 h. y 21 h. Iniciar tras comprobar adecuada función renal.
 - Sandimmun neoral : 5 mgr./Kgr./12 h. A las 9 h. y 21 h. (cuando inicie ingesta oral. Buscar niveles de ciclosporina entre 350-400 ngr.
- + Fibrosis Quística: tacrolimus 0,1 mg/kg/día sng o 0'01 mg/kg/día iv en perfusión continua (en lugar de ciclosporina). Niveles 5-15 ngr/ml³¹⁷.

4.3 ADMINISTRACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO

El fármaco activo, óxido nítrico inhalado iNO (INOmax® de INO Therapeutics Inc., Clinton, New Jersey) se suministró en cilindros de aluminio de tamaño 44 o equivalente a una concentración de 400 ppm de nitrógeno en equilibrio (nitrógeno al 99,92% de calidad 5, óxido nítrico al 0,08% de calidad farmacéutica). INOmax 400 ppm contiene el principio activo, óxido nítrico, formulado a través de una serie de diluciones con Nitrógeno. Se administra al paciente a través de ventilación mecánica después de su dilución con mezcla de aire/oxígeno utilizando ventiladores y sistemas de administración aprobados por la CE.

Se utilizó un aparato (INOvent® de INO Therapeutics Inc., Clinton, New Jersey) con funciones de administrador de iNO a la dosis deseada (en este caso 10 ppm) a través del módulo inyector en la rama inspiratoria próxima al respirador.

El mismo equipo ejerce funciones de monitorización al medir continuamente la concentración de iNO inspirado en la rama inspiratoria

del circuito cerca del paciente. La concentración de dióxido de nitrógeno (NO_2) y de FiO_2 también se miden en el mismo lugar.

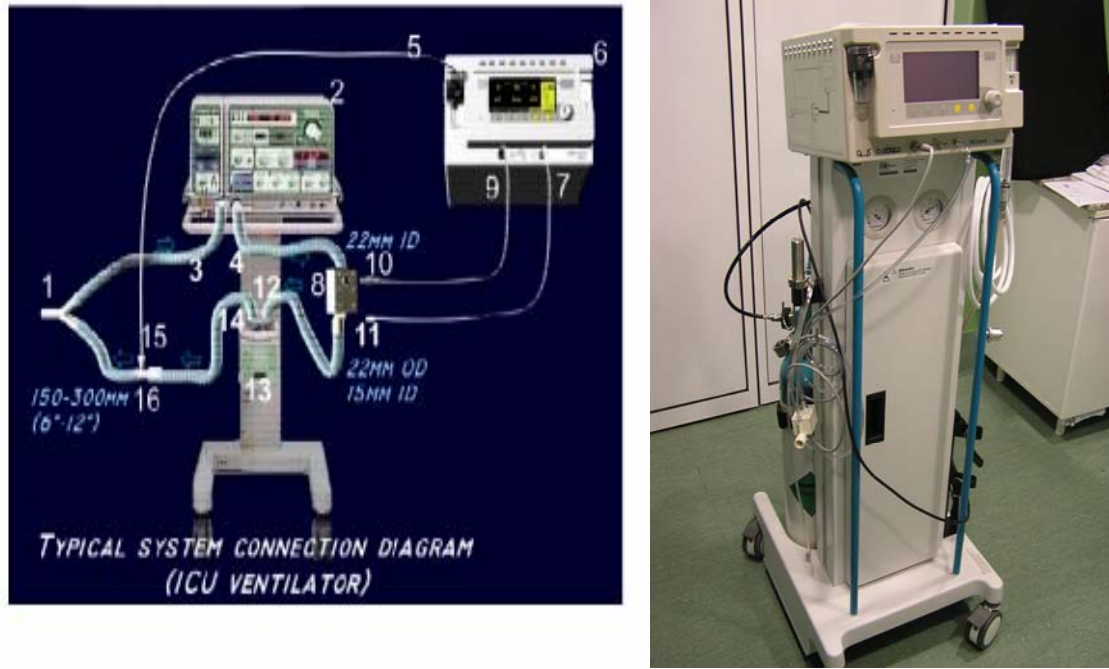


Figura 9: Diagrama de administración y Monitor de iNO

Según el protocolo del estudio clínico antes comentado, se establecen 3 grupos de estudio en los cuales se administró iNO a 10 ppm en los 2 primeros:

- 1) Donantes que reciban iNO durante 3 horas previas a la extracción del órgano y receptores que también reciban iNO desde el inicio del trasplante y hasta 48 horas posteriores a la reperusión del injerto -iNO don/recep- (9 pacientes).
- 2) Donantes que No reciban iNO y receptores que Sí reciban iNO durante el implante y hasta 48 horas posteriores a la reperusión del injerto -iNO recep- (20 pacientes).
- 3) El tercer grupo no recibe iNO ni donante ni receptor -control- (20 pacientes).

4.4 VARIABLES ANALIZADAS

Según el protocolo del estudio se compararon los valores de diversas variables de forma cronológica en distintos momentos según fuera en el donante ó receptor:

- Donante: Valores basales (D0) y tras 3 horas de administración de iNO (D3h).
- Receptor: Valores basales (R0), a las 12 horas de la reperfusión del injerto (R12h), a las 24 horas de la reperfusión del injerto (R24h) y a las 48 horas de la reperfusión del injerto (R48h).

4.4.1 Parámetros Respiratorios

Se analizó:

- Relación PaO₂/FiO₂
- Presión alveolar de dióxido de Carbono (PaCO₂)
- Presencia de infiltrados pulmonares en radiografía de torax

4.4.2 Parámetros Hemodinámicos

Se determinó:

- Presión Arterial Media (PAm)
- Presión Arteria Pulmonar Media (PAPm)
- Resistencias Vasculares Pulmonares (RVP)
- Gasto Cardíaco (GC)

4.4.3 Parámetros Inmunológicos

Se analizaron cuatro interleuquinas:

- IL-6 (citocina 6),
- IL-8 (citocina 8),
- IL-10 (citocina 10),
- TNF-RI (receptor I de Factor de necrosis tumoral)

en Sangre y lavado broncoalveolar (BAL) de:

- donantes (basal y a las 3 horas de terapia con iNO) y
- receptores (basal y a las 12, 24 y 48 horas de reperfusión del injerto).

La Técnica del BAL se realizó mediante broncofibroscopio, que se introdujo en el bronquio segmentario o subsegmentario elegido y, a través de su canal interno, se instiló el suero salino en bolos de 20-50 ml hasta el volumen total (150 ml). El BAL practicado en un bronquio subsegmentario con 150 ml puede explorar un millón de alveolos³¹⁸. La extracción de las muestras se efectuó según el horario previsto salvo en 19 casos que no se obtuvo el BAL de las 48 horas por permanecer el paciente ya extubado en ese momento.

La extracción de muestras sanguíneas se realizó a través de la arteria radial obteniendo 6 ml que fueron depositados en 3 tubos secos.

Tras filtrar, centrifugar y recoger el sobrenadante, las muestras de suero y BAL fueron congeladas en tubos de ependorf a -80°C hasta la determinación de niveles que se realizó mediante técnica de inmunoanálisis (ELISA -Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay-).

- Técnica ELISA:

Se realizaron los ensayos de ELISA según la metodología propuesta por el fabricante (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Los anticuerpos de captura se unieron a una placa Immunosorp (Nunc, Dinamarca) durante

toda la noche. Se retiraron los anticuerpos de captura y se lavó la placa tres veces con amortiguador de lavado (buffer de fosfatos ph 7.2, 0.05% de Tween); se adicionaron las muestras problema así como el estándar de la citocina recombinante humana a determinar, la placa se dejó incubando durante 2 h a T^a ambiente, se retiró el sobrenadante y se lavó cinco veces con amortiguador de lavado; se adicionaron los anticuerpos de detección conjugados a biotina durante 1 h a T^a ambiente, la placa se lavó siete veces con amortiguador de lavado, se agregó el substrato más el cromógeno (peróxido de hidrógeno y 3,3',5,5' tetrametil diaminobenzidina), se detuvo la reacción con ácido sulfúrico 2N. Se leyó a 450 nm de absorbancia en un lector de ELISA (Thermolabsystems, Helsinki, Finlandia). Se calculó la concentración con respecto a una regresión lineal del estándar de la citocina recombinante. Los niveles en sangre fueron expresados en pg/ml.

Las muestras de BAL fueron ajustadas según la concentración de proteínas que fueron calculadas con la técnica colométrica de Lowry³¹⁹, expresando el resultado total en pg/mg de proteína.



Figura 10: Tubos de Ependorf y caja



Figura 11: placa ELISA y pipetamulticanal

4.4.4 Disfunción Primaria del Injerto (DPI)

La DPI severa (grado III de la ISHLT –International Society of Heart and Lung Transplantation-) ^{1,2} fue definida por:

- 1) Infiltrado en la radiografía durante las primeras 72 horas del trasplante.
- 2) Relación PO₂/FiO₂ menor que 200 en las primeras 72 horas postoperatorias.
- 3) No otra causa de disfunción (rechazo agudo, obstrucción de la anastomosis venosa, edema pulmonar cardiogénico, neumonía).

4.4.5 Parámetros Demográficos y de Anestesia/Reanimación

- Edad, sexo, tipo de patología respiratoria.
- Necesidad de circulación extracorpórea (CEC)
- Tiempo de Intubación y de Isquemia del primer pulmón injertado.
- Exitus precoz en la Unidad de reanimación y Supervivencia global.

4.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los valores se expresan como porcentaje (discretas) ó media ± desviación/error típico con intervalo de confianza para la media al 95% (contínuas), según se consideró más adecuado para su interpretación dependiendo de la variable estudiada.

En todos los casos, se interpretó como significativo un efecto cuyo p-valor asociado fue inferior al 5% (resaltado en gris).

Se realizaron análisis de la normalidad e igualdad de varianzas con los test de Kolmogorow-Smirnov y Levene, aceptándose la hipótesis de igualdad si se superaba un 15% de significación (p-valor del test > 0,15).

Se utilizó la prueba de Chi-cuadrado y el test exacto de Fisher para analizar la diferencia entre proporciones.

Si las muestras seguían una distribución normal y homogénea, se realizó el test T de Student para muestras independientes ó el ANOVA (pruebas de Tukey y Scheffé) en caso de comparación grupal.

En los casos que no se demostró igualdad de varianzas se realizaron pruebas no paramétricas de U de Mann-Whitney, Kruskal-Wallis ó Wilcoxon según fueran contrastes binarios ó grupales y apareados ó independientes.

En todas las variables se efectuó un estudio comparativo según los grupos que recibieron o no iNO (iNO don/recep, iNO recep, control) y según desarrollaran o no DPI (DPI si, DPI no).

Se determinaron los factores de riesgo para la dpi mediante el análisis univariante y aquellos que habían resultado significativos fueron incluidos en una regresión logística binaria para efectuar un estudio multivariante.

Se calculó el modelo de predicción con una ecuación de riesgo para la DPI y la sensibilidad y especificidad con curva COR y área bajo la curva.

Finalmente se realizaron análisis de supervivencia mediante gráficas de Kaplan-Meyer con estudio de significación Log-Rank.

Para este análisis estadístico se utilizó el programa SPSS 15.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois) para Windows.

RESULTADOS

5.1 Análisis de la disfunción primaria del injerto (DPI/dpi)

La incidencia de DPI de los 49 trasplantes estudiados fue del 38,8% y su asociación con el grupo de estudio mostró diferencias significativas ($p=0,040$) tal como se aprecia en la tabla 5 y 6 (ver en parte final de resultados) junto al gráfico 1.

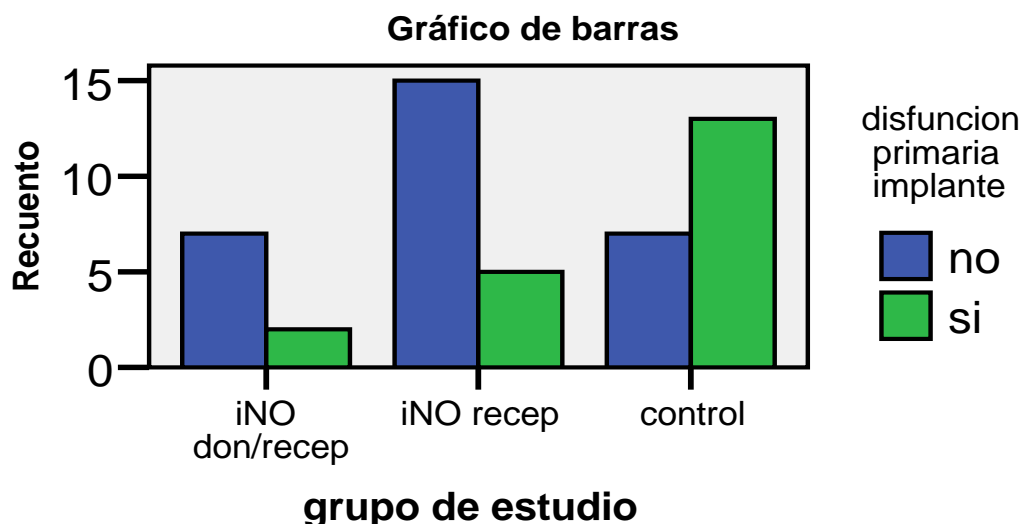


Gráfico 1: Recuento grupo de estudio/dpi

Se observa que los grupos tratados con iNO presentan menor incidencia de DPI y esta diferencia es estadísticamente significativa.

5.2 Análisis del sexo

Participaron 28 hombres (57,1%) y 21 mujeres (42,9%).

- Según el grupo analizado (Tabla 7,8):

Se observa una distribución homogénea del sexo entre los grupos ($p=0,696$).

- Según la disfunción primaria del injerto (Tabla 9,10):

No existe una asociación estadísticamente significativa ($p=0,801$) entre el riesgo de disfunción primaria del injerto y el sexo del paciente.

5.3 Análisis de la edad

Estratificamos la edad del receptor en dos grupos equivalentes en número de elementos al diferenciar entre los menores vs mayores de 50 años.

- Según el grupo de estudio (Tabla 11,12):

No se encontró asociación ($p=0,471$) entre la edad \leq 50 años del receptor y los grupos estudiados.

- Según la disfunción primaria del injerto (Tabla 13,14):

No se observó asociación ($p=0,567$) entre la edad del receptor y la incidencia de dpi.

5.4 Análisis de la etiología de la Insuficiencia Respiratoria crónica

Dividimos las enfermedades respiratorias que motivaron la necesidad de trasplante en Fibrosis pulmonar, Enfisema, Fibrosis Quística, Otras...

Observando una distribución uniforme de los casos, Gráfico 2.

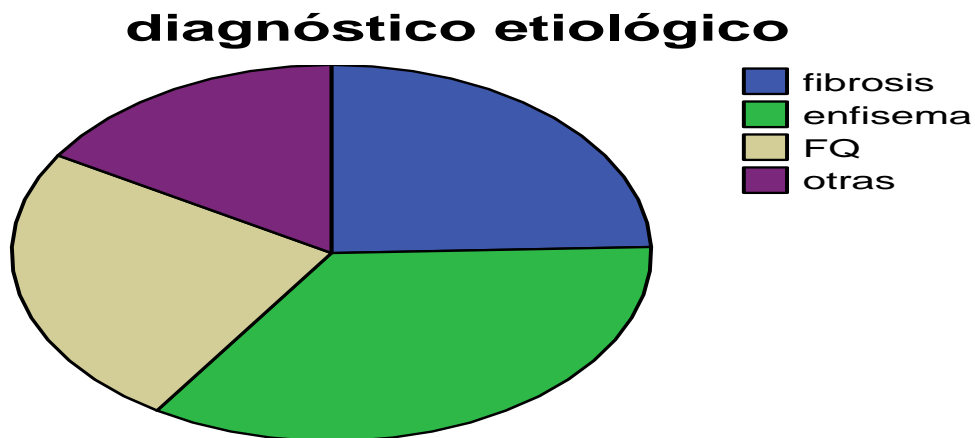


Gráfico 2: Diagnóstico Etiológico

- Según el grupo de estudio no se observaron diferencias en las frecuencias de los diagnósticos etiológicos en los distintos grupos del estudio ($p=0,689$)

- Según la disfunción primaria del injerto (Tabla 15,16):

Tampoco se halló relación ($p=0,549$) entre la aparición de dpi y el diagnóstico etiológico.

5.5 Análisis del tipo de trasplante

Observamos si existen diferencias si el trasplante es unipulmonar (12 casos, 24'5%) o bipulmonar (37 casos, 75'5%).

- Según el grupo de estudio (Tabla 17,18):

Existe una distribución homogénea ($p=0,751$) entre los grupos y el tipo de trasplante.

- Según la disfunción primaria del injerto (Tabla 19, 20):

Se evidencia la falta de asociación ($p=0,456$) entre la etiología del trasplante y la dpi.

5.6 Análisis del tiempo de isquemia

Registramos el tiempo de isquemia (nº horas) del primer pulmón injertado para poder comparar entre los implantes unipulmonares y bipulmonares.

- Según el grupo de estudio (Tabla 21,22):

No se observan diferencias ($p= 0,170$) en el tiempo de isquemia entre los grupos.

- Según la disfunción primaria del injerto (Tabla 23,24):

Se observa que la disfunción primaria del injerto apareció con mayor frecuencia cuando se prolongó el tiempo de isquemia ($199,33\pm 49,70$ minutos vs. $244,05\pm 57,80$) ($p=0,012$).

5.7 Análisis de la Circulación Extracorpórea (CEC)

La necesidad de entrada en CEC se produce por bajo gasto y/o insuficiencia respiratoria intraoperatoria.

- Según el grupo de estudio (Tabla 25):

No existe asociación ($p=0,785$) entre el grupo estudiado y la necesidad de CEC.

- Según la disfunción primaria del injerto (Tabla 26,27):

Se observó una asociación estadísticamente significativa ($p < 0,0005$) entre la utilización de CEC y el desarrollo de dpi. La entrada en CEC multiplica por trece el riesgo de desarrollar dpi ($OR=13$; $IC95\%=2,92-57,84$).

5.8 Análisis del tiempo de intubación

Considerando las horas desde su ingreso en Reanimación hasta la primera extubación reglada (límite máximo 168 horas = una semana).

- Según el grupo de estudio (Tabla 28,29):

Recurriendo a la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis por la falta de homogeneidad de varianzas, se observa que el grupo control presentó un tiempo de intubación prolongado con respecto a los receptores que recibieron iNO, con diferencia estadísticamente significativa ($p=0,030$).

- Según la disfunción primaria del implante (Tabla 30,31):

En este caso también se utiliza una prueba no paramétrica por la ausencia de normalidad y aparece una relación significativa ($p=0,035$) entre la disfunción primaria del injerto con un mayor período de intubación.

5.9 Análisis de la mortalidad inmediata en la Unidad de Reanimación

Se refiere a aquellas defunciones (exitus) acontecidas durante el postoperatorio inmediato en Reanimación antes del alta a la sala de hospitalización, no incluyendo los reingresos.

- Según el grupo de estudio (Tabla 32,33):

Aunque existe mayor porcentaje de exitus en el grupo control, esta diferencia no es estadísticamente significativa ($p=0,159$)

- Según la disfunción primaria del injerto (Tabla 34,35):

Se demuestra una muy alta probabilidad de fallecer en los casos de disfunción primaria del injerto ($p=0,003$ $OR=15,07$) y bajo riesgo si no se presenta. La dpi eleva por quince las posibilidades de exitus inmediato.

5.10 Análisis de la relación PO₂/FiO₂ a las 12 horas del ingreso

Teniendo en cuenta que la DPI severa o grado II requiere que la relación PO₂/FiO₂ sea menor que 200 en las primeras 72 horas postoperatorias, en este caso sólo analizamos según el grupo de estudio ya que por definición los pacientes con dpi presentarán relaciones PO₂/FiO₂ más bajas.

- Según el grupo de estudio (Tabla 36,37):

Recurriendo a la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis por la falta de homogeneidad de varianzas, se observa que el grupo control presentó una relación PO₂/FiO₂ a las 12 horas de ingreso significativamente menor que los grupos tratados con iNO (p=0,003).

5.11 Análisis de la relación PO₂/FiO₂ a las 24 horas del ingreso

- Según el grupo de estudio (Tabla 38,39):

Recurriendo a la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis por la falta de homogeneidad de varianzas, se observa que el grupo control presentó una relación PO₂/FiO₂ a las 24 horas de ingreso significativamente menor que los grupos tratados con iNO (p=0,002).

5.12 Análisis de la relación PO₂/FiO₂ a las 48 horas del ingreso

- Según el grupo de estudio (Tabla 40,41)

A las 48 horas no encontramos diferencias en los valores de PO₂/FiO₂ entre el grupo iNO y el control (p=0,18).

5.13 Análisis del dióxido de carbono (CO₂) a las 12 horas de ingreso

Se determinó la presión parcial de CO₂ (PCO₂) en mmHg mediante gasometría arterial.

- Según el grupo de estudio (Tabla 42,43):

Se aprecia ausencia de diferencias (p=0,61) entre los grupos.

- Según la disfunción primaria del injerto (Tabla 44,45):

Apareció ausencia de significación ($p=0,161$) en la diferencia entre los grupos aunque los pacientes con dpi presentaron mayores niveles de PCO₂.

5.14 Análisis del dióxido de carbono (CO₂) a las 24 horas de ingreso

- Según el grupo de estudio (Tabla 46,47):

Se aprecian diferencias significativas ($p=0,016$) entre los grupos tratados con iNO y el grupo control que presenta mayores niveles de PCO₂.

- Según la disfunción primaria del injerto (Tabla 48,49):

Se demuestra una mayor retención carbónica en el grupo que desarrolla dpi a las 24 horas del ingreso ($p=0,001$).

5.15 Análisis del dióxido de carbono (CO₂) a las 48 horas de ingreso

- Según el grupo de estudio (Tabla 50,51):

Aparecen diferencias significativas ($p=0,023$) entre los grupos tratados con iNO y el grupo control que presenta mayor PCO₂ a las 48 horas.

- Según la disfunción primaria del injerto también existieron diferencias a las 48 horas con un nivel superior de CO₂ en el grupo que desarrolló dpi y una significación de $p=0,009$, mediante U de Mann-Whitney.

5.16 Análisis de la Presión Arteria Pulmonar Media (PAPm) a las 12 horas del ingreso

Se determinó la PAPm en mmHg mediante catéter de Swanz-Ganz.

- Según el grupo de estudio (Tabla 52,53):

Se aprecia una diferencia significativa ($p=0,000$) entre las medias de los grupos tratados con iNO y el grupo control que presentó una PAPm más elevada a las 12 horas de su ingreso.

- Según la disfunción primaria del injerto (Tabla 54,55):

Existen diferencias significativas ($p=0,001$) con elevación de la PAPm a las 12 horas en el grupo que desarrolló dpi.

5.17 Análisis de la PAPm a las 24 horas del ingreso

- Según el grupo de estudio (Tabla 56, 57):

Aparece una diferencia significativa ($p=0,000$) entre las medias de los grupos tratados con iNO y el grupo control que presentó elevación de la PAPm a las 24 horas del ingreso.

- Según la disfunción primaria del injerto (Tabla 58, 59):

Se demuestra una diferencia significativa ($p=0,000$) con PAPm superior a las 24 horas en el grupo que desarrolló dpi.

5.18 Análisis de la PAPm a las 48 horas del ingreso

- Según el grupo de estudio (Tabla 60,61):

Aparece diferencia significativa ($p=0,000$) con mayor PAPm a las 48 horas en el grupo control.

- Según la disfunción primaria del injerto (Tabla 62,63):

Se aprecia como existe una elevación significativa ($p=0,001$) de la PAPm a las 48 horas en el grupo que sufre dpi.

5.19 Análisis de la Resistencia Vascular Pulmonar (RVP) a las 12 horas

Se midió en dyn/s/cm^5 mediante catéter de Swanz-Ganz.

- Según el grupo de estudio (Tabla 64,65):

Se observa de forma muy significativa ($p=0,000$) que los grupos tratados con iNO presentan niveles menores de RVP a las 12 horas con respecto al grupo control.

- Según la disfunción primaria del injerto (Tabla 66,67):

Se observa de forma significativa ($p=0,000$) que el grupo que desarrolló dpi presentaba RVP más elevada a las 12 horas.

5.20 Análisis de la Resistencia Vascular Pulmonar (RVP) a las 24 horas

- Según el grupo de estudio (Tabla 68,69):

Se observan diferencias significativas ($p=0,000$) entre los grupos tratados con iNO y el grupo control que presenta una RVP más elevada a las 24 horas.

- Según la disfunción primaria del injerto (Tabla 70,71):

Se demuestra que la RVP a las 24 horas del grupo que desarrolló dpi fue significativamente más elevada ($p=0,000$).

5.21 Análisis de la Resistencia Vascular Pulmonar (RVP) a las 48 horas

- Según el grupo de estudio (Tabla 72,73):

Se observan diferencias en las medias ($p=0,000$) con menor RVP a las 48 horas de los grupos tratados con iNO con respecto al control.

- Según la disfunción primaria del injerto (Tabla 74,75):

El grupo que desarrolló dpi presentó de forma significativa ($p=0,000$) unas cifras mayores de RVP a las 48 horas del ingreso.

5.22 Análisis del Gasto Cardíaco (GC) a las 12 horas

La medición del GC en L/min se realizó mediante el catéter de Swan-Ganz.

- Según el grupo de estudio no hubieron diferencias entre los grupos con $p=0,147$.

- Según la disfunción primaria del injerto tampoco hubo diferencias con $p=0,611$.

5.23 Análisis del Gasto Cardíaco (GC) a las 24 horas

- Según el grupo de estudio no hubieron diferencias entre los grupos con $p=0,593$.
- Según la disfunción primaria del injerto tampoco hubo diferencias con $p=0,992$.

5.24 Análisis del Gasto Cardíaco (GC) a las 48 horas

- Según el grupo de estudio no hubieron diferencias entre los grupos con $p=0,179$.
- Según la disfunción primaria del injerto tampoco hubo diferencias con $p=0,835$.

5.25 Análisis Inmunológico de la IL-6

- Según las muestras del DONANTE:

Se determinó el nivel de IL-6 en BAL y sangre basal y a las 3 horas de inhalación de iNO y se analizó mediante una prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras apareadas (Tabla 76,77):

Se aprecia que no existen diferencias ($p=0,715$) en los niveles de IL-6 en BAL de los donantes tras 3 horas de inhalación de iNO previo al explante pulmonar.

Tampoco aparecen diferencias ($p=0,686$) en las cifras de IL-6 en sangre de los donantes tras 3 horas de tratamiento con iNO.

- Según las muestras en RECEPTORES:

Se calculó la variable “diferencia” como la resta entre los valores obtenidos a las 12, 24, 48 horas y el nivel basal del receptor para eliminar posibles sesgos, como que el receptor ya presentara unos niveles elevados de IL-6 previos al trasplante.

+ *Según el grupo de estudio a las 12 horas* (Tabla 78-81):

Resultados

Se observa que los valores de IL-6 en BAL a las 12 horas son superiores en el grupo control que no recibió iNO aunque la diferencia no es estadísticamente significativa ($p=0,072$).

Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p= 0,006$) entre los grupos que recibieron iNO con respecto al grupo control en el análisis de IL-6 en sangre a las 12 horas de la reperfusión.

+ *Según la disfunción primaria del injerto a las 12 horas* (Tabla 82-85):

Se observa de forma significativa ($p=0,025$) unas cifras de IL-6, en BAL a las 12 horas, más elevadas en el grupo que desarrolló dpi.

Existe diferencia significativa ($p= 0,026$) con mayor nivel de IL-6 en sangre a las 12 horas en los receptores que sufrieron dpi.

+ *Según el grupo de estudio a las 24 horas* (Tabla 86-89):

Aunque los niveles de IL-6 en BAL a las 24 horas están más elevados en el grupo control con respecto a los tratados con iNO, estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p=0,319$).

Pese a que los valores de IL-6 en sangre a las 24 horas de la reperfusión son más elevados en el grupo control con respecto a los tratados con iNO estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p=0,182$).

+ *Según la disfunción primaria del injerto a las 24 horas* (Tabla 90-93):

No se observaron diferencias significativas ($p=0,481$) con respecto a la dpi en los niveles de IL-6 en BAL a las 24 horas.

No se observaron diferencias significativas ($p=0,660$) con respecto a la dpi en los niveles de IL-6 en Sangre a las 24 horas.

+ *Según el grupo de estudio a las 48 horas* (Tabla 94-97):

Pese al escaso número de elementos para analizar, la muestra era normal por lo que se realizó el test de ANOVA que no mostró diferencias ($p= 0,660$) entre los grupos para IL-6 en BAL a las 48 horas de la reperfusión del injerto.

Se observó que no existían diferencias significativas ($p=0,398$) entre los grupos en los valores de IL-6 en Sangre a las 48 horas pese a que el grupo control presentaba cifras más elevadas que los tratados con iNO.

+ *Según la disfunción primaria del injerto a las 48 horas* (Tabla 98-101):

No existen diferencias ($p=0,233$) en IL-6 de BAL a las 48 h. según la dpi.

No existen diferencias ($p=0,763$) en IL-6 de sangre a las 48 h. según la dpi.

5.25 Análisis Inmunológico de la IL-8

- Según las muestras del DONANTE (Tabla 102,103):

Se observa una diferencia estadísticamente significativa ($0,028$) con menor nivel de IL-8 en BAL tras 3 horas de tratamiento con iNO en los donantes.

Aunque los valores de IL-8 fueron inferiores en sangre tras 3 horas de iNO las diferencias no son estadísticamente significativas ($p=0,063$).

- Según las muestras en RECEPTORES:

+ *Según el grupo de estudio a las 12 horas* (Tabla 104-107):

Se observa que el grupo control presentó valores más elevados de IL-8 en BAL a las 12 horas con respecto a los grupos tratados con iNO ($p=0,017$).

Se observa que el grupo control presentó valores más elevados de IL-8 en BAL a las 12 horas con respecto a los grupos tratados con iNO ($p=0,011$).

+ *Según la disfunción primaria del injerto a las 12 horas* (Tabla 108-111):

Se observa una diferencia significativa ($p=0,009$) con mayores niveles de IL-8 en BAL a las 12 horas en los pacientes con dpi.

Se observa una diferencia significativa ($p=0,034$) con mayores niveles de IL-8 en sangre a las 12 horas en los pacientes con dpi.

+ *Según el grupo de estudio a las 24 horas* (Tabla 112-115):

Se observó una diferencia significativa ($p=0,005$) con mayores niveles de IL-8 en BAL a las 24 horas en el grupo control con respecto a los tratados con iNO.

Se observó una diferencia significativa ($p=0,009$) con mayores niveles de IL-8 en Sangre a las 24 horas en el grupo control con respecto a los tratados con iNO.

+ *Según la disfunción primaria del injerto a las 24 horas* (Tabla 116-119):

Existió una cifra más elevada de IL-8 en BAL de 24 horas en los pacientes que sufrieron dpi ($p=0,043$).

A pesar de que los pacientes que desarrollaron dpi presentaron mayores niveles de IL-8, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,240$).

+ *Según el grupo de estudio a las 48 horas* (Tabla 120-123):

Se observó que no existen diferencias ($p= 0,942$) en los valores de IL-8 en BAL a las 48 horas entre los grupos de estudio.

Se observó que no existen diferencias ($p=0,808$) en los valores de IL-8 en Sangre a las 48 horas entre los grupos de estudio.

+ *Según la disfunción primaria del injerto a las 48 horas* (Tabla 124-127):

No se observaron diferencias significativas ($p=0,699$) según la dpi en BAL a las 48 horas.

No se observaron diferencias significativas ($p= 0,101$) según la dpi en Sangre a las 48 horas.

5.26 Análisis Inmunológico de la IL-10

- Según las muestras del DONANTE (Tabla 128,129):

Aunque se reduce el valor de IL-10 tras 3 horas de iNO, no existen diferencias significativas ($p=0,068$) en BAL de donante.

Aunque se reduce el valor de IL-10 tras 3 horas de iNO, no existen diferencias significativas ($p=0,064$) en Sangre de donante.

- Según las muestras en RECEPTORES:

+ *Según el grupo de estudio a las 12 horas* (Tabla 130-133):

Aunque el grupo control presentó mayores niveles de IL-10 en BAL a las 12 horas, estas diferencias no fueron significativas ($p=0,200$).

Se demuestra que el grupo control mantuvo unas cifras de IL-10 en Sangre a las 12 horas significativamente superiores ($p=0,029$) a las presentadas por los grupos tratados con iNO.

+ *Según la disfunción primaria del injerto a las 12 horas* (Tabla 134-137):

Los resultados reflejan que el grupo que desarrolló dpi tuvo niveles más elevados de IL-10 en BAL a las 12 horas de la reperfusión ($p=0,044$).

Pese a que los pacientes con dpi presentan valores más elevados de IL-10 en sangre a las 12 horas, las diferencias no son significativas ($p=0,069$).

+ *Según el grupo de estudio a las 24 horas* (Tabla 138-141):

Se observan diferencias significativas ($p=0,027$) con mayor nivel de IL-10 en el grupo control en BAL a las 24 horas de la reperfusión.

Se observan diferencias significativas ($p=0,012$) con mayor nivel de IL-10 en el grupo control en sangre a las 24 horas de la reperfusión.

+ *Según la disfunción primaria del injerto a las 24 horas* (Tabla 142-145):

Pese a niveles más elevados de IL-10 en BAL de 24 horas en el grupo que desarrolló dpi, estas diferencias no fueron significativas ($p=0,323$).

Pese a niveles más elevados de IL-10 en sangre de 24 horas en el grupo que desarrolló dpi, estas diferencias no fueron significativas ($p=0,107$).

+ *Según el grupo de estudio a las 48 horas* (Tabla 146-149):

Se concluye que no existen diferencias ($p=0,855$) entre los grupos en la IL-10 en BAL a las 48 horas.

Se concluye que no existen diferencias ($p=0,855$) entre los grupos en la IL-10 en Sangre a las 48 horas.

+ *Según la disfunción primaria del injerto a las 48 horas* (Tabla 150-153):

No existen diferencias ($p=0,517$) según la dpi para la IL-10 en BAL a las 48 horas.

No existen diferencias ($p=0,365$) según la dpi para la IL-10 en Sangre a las 48 horas.

5.27 Análisis Inmunológico del TNF-RI

- Según las muestras del DONANTE (Tabla 154,155):

No existen diferencias ($p=0,128$) en el análisis del TNF-RI en BAL a las 3 horas de recibir tratamiento con iNO en los donantes.

No existen diferencias ($p=0,207$) en el análisis del TNF-RI en Sangre a las 3 horas de recibir tratamiento con iNO en los donantes.

- Según las muestras en RECEPTORES:

+ *Según el grupo de estudio a las 12 horas (Tabla 156-159):*

Se observa que el grupo control presentó unos niveles superiores de TNF en BAL a las 12 horas con respecto a los grupos tratados con iNO ($p=0,007$).

Pese a que el grupo control presentó unos niveles más elevados de TNF-RI en sangre a las 12 horas con respecto a los grupos tratados con iNO, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p=0,138$).

+ *Según la disfunción primaria del injerto a las 12 horas (Tabla 160-163):*

A pesar de que el grupo de la dpi presentó niveles de TNF más elevados en BAL a las 12 horas, las diferencias no fueron significativas ($p=0,187$).

Se observa que el grupo de dpi presentó unos niveles superiores de TNF en Sangre a las 12 horas con respecto al grupo sin dpi ($p=0,045$).

+ *Según el grupo de estudio a las 24 horas (Tabla 164-167):*

Se observa que el grupo control presentó unos niveles superiores de TNF en BAL a las 24 horas con respecto a los grupos tratados con iNO ($p=0,047$).

No existen diferencias ($p=0,352$) entre los grupos respecto a los valores de TNF en sangre a las 24 horas.

+ *Según la disfunción primaria del injerto a las 24 horas* (Tabla 168-171):

No se observan diferencias significativas ($p=0,337$) con respecto a la dpi en los valores de TNF en BAL a las 24 horas de la reperfusión.

No se observan diferencias significativas ($p=0,219$) con respecto a la dpi en los valores de TNF en Sangre a las 24 horas de la reperfusión.

+ *Según el grupo de estudio a las 48 horas* (Tabla 172-175):

No existen diferencias significativas ($p=0,589$) entre los grupos en los valores del TNF en BAL a las 48 horas de la reperfusión.

No existen diferencias significativas ($p=0,851$) entre los grupos en los valores del TNF en sangre a las 48 horas de la reperfusión.

+ *Según la difunción primaria del injerto a las 48 horas* (Tabla 176-179):

No se observaron diferencias significativas ($p=0,603$) con respecto a la dpi en los valores de TNF en BAL a las 48 horas de la reperfusión.

No se observaron diferencias significativas ($p=0,603$) con respecto a la dpi en los valores de TNF en sangre a las 48 horas de la reperfusión.

5.28 TABLA RESUMEN SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y ANESTESIA/REANIMACIÓN

Teniendo en cuenta las diferencias entre los grupos tratados con iNO con respecto al grupo control (iNO/control) y también comparando los pacientes que desarrollaron dpi contra los que no sufrieron esta complicación (dpi/no dpi) se muestra en nivel p de significación \pm OR.

GRUPO	iNO/control p	dpi/no dpi p ± OR
Sexo	0,696	0,801 OR=1,15
Edad >/< 50 años	0,471	0,567 OR=0,71
Etiología	0,689	0,549
Tipo Trasplante	0,751	0,456 OR=0,60
T° Isquemia	0,170	0,012
CEC	0,785	0,000 OR=13
T° Intubación	0,030	0,035
Mortalidad Rean.	0,159	0,003 OR=15,07

**5.29 TABLA RESUMEN SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA
VARIABLES NUMÉRICAS**

Teniendo en cuenta la distinción anteriormente descrita entre los grupos y los horarios de recogida de muestras (12, 24 y 48 horas). Se detectó una p:

GRUPO	iNO/control			dpi/nodpi		
	12 h	24h	48h	12 h	24h	48h
PO2/FiO2	0,003	0,002	0,18	—	—	—
CO2	0,61	0,016	0,023	0,161	0,001	0,009
PAPm	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,001
RVP	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
GC	0,147	0,593	0,179	0,611	0,992	0,835

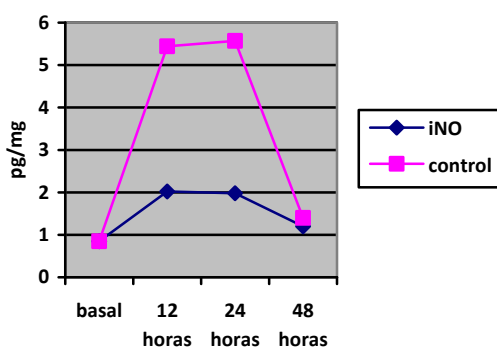
5.30 TABLA RESUMEN SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA Y GRÁFICOS DE VALORES CUANTIFICADOS DE IL-6

Se expresan los niveles de (p) de IL-6 en BAL y Sangre según los grupos:

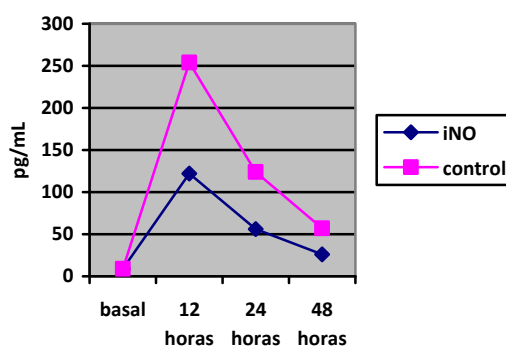
- 1) Diferencia entre nivel basal y tras 3 horas de iNO en donantes
- 2) Diferencia entre grupos tratados con iNO versus control y
- 3) Diferencia entre los pacientes que desarrollan o no dpi.

IL-6/ GRUPO	Don/ Don +3h iNO	iNO/control			dpi/nodpi		
		12 h	24h	48h	12 h	24h	48h
BAL	0,715	0,072	0,319	0,617	0,025	0,481	0,233
SANGRE	0,686	0,006	0,182	0,398	0,026	0,660	0,763

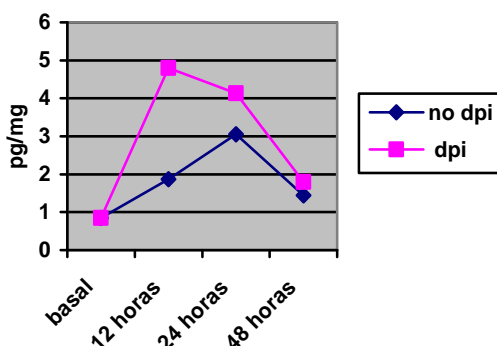
3) VALORES IL-6 BAL/GRUPO



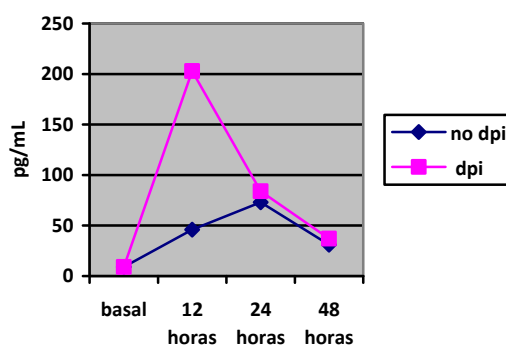
4) VALORES IL-6 SANGRE/GRUP



5) VALORES IL-6 BAL/dpi



6) VALORES IL-6 SANGRE/dpi



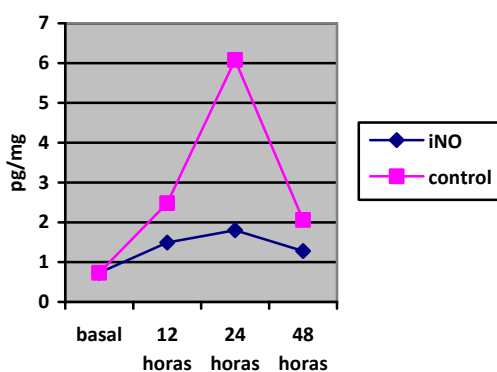
Gráficos 3,4,5,6: Valores cronológicos IL-6 en BAL y Sangre.

5.31 TABLA RESUMEN SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA Y GRÁFICOS DE VALORES CUANTIFICADOS DE IL-8

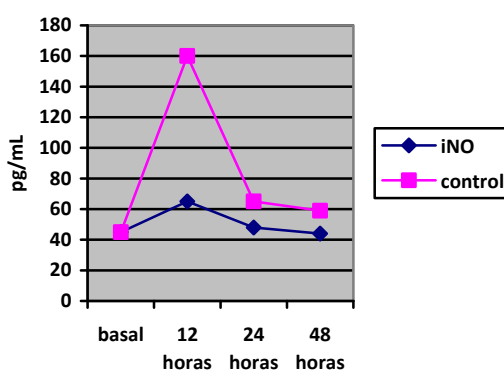
Se expresan los niveles de significación (p) de IL-8 en BAL y Sangre en los distintos grupos:

IL-8/ GRUPO	Don/ Don +3h iNO	iNO/control			dpi/nodpi		
		12 h	24h	48h	12 h	24h	48h
BAL	0,028	0,017	0,005	0,942	0,009	0,043	0,699
SANGRE	0,063	0,011	0,009	0,808	0,034	0,240	0,101

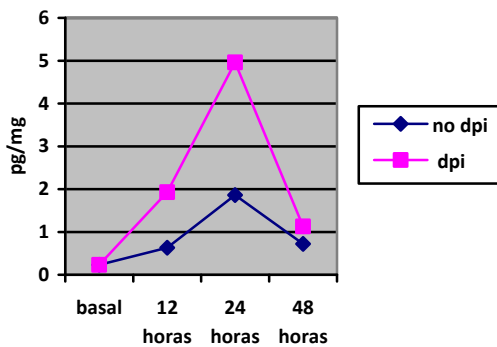
7) VALORES IL-8 BAL/GRUPO



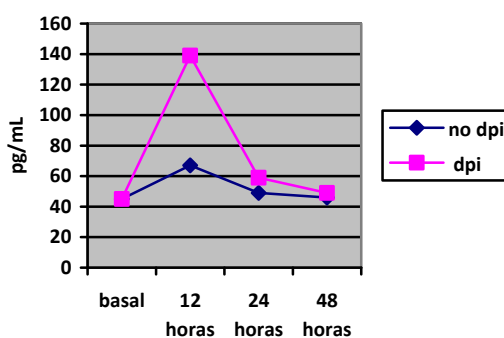
8) VALORES IL-8 SANGRE/GRUP



9) VALORES IL-8 BAL/dpi



10) VALORES IL-8 SANGRE/dpi



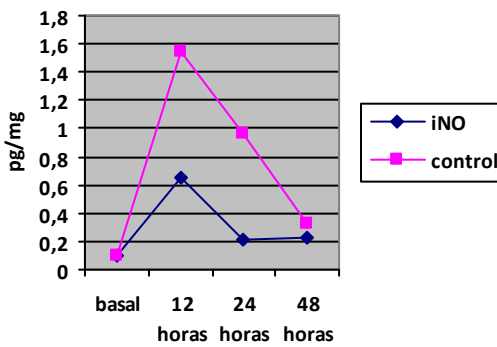
Gráficos 7,8,9,10: Valores cronológicos IL-8 en BAL y Sangre

5.32 TABLA RESUMEN SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA Y GRÁFICOS DE VALORES CUANTIFICADOS DE IL-10

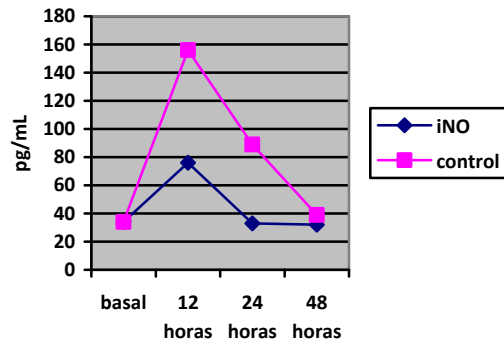
Se expresan los niveles de significación (p) de IL-10 en BAL y Sangre en los distintos grupos:

IL-10/ GRUPO	Don/ Don +3h iNO	iNO/control			dpi/nodpi		
		12 h	24h	48h	12 h	24h	48h
BAL	0,068	0,200	0,027	0,855	0,044	0,323	0,517
SANGRE	0,064	0,029	0,012	0,386	0,069	0,107	0,365

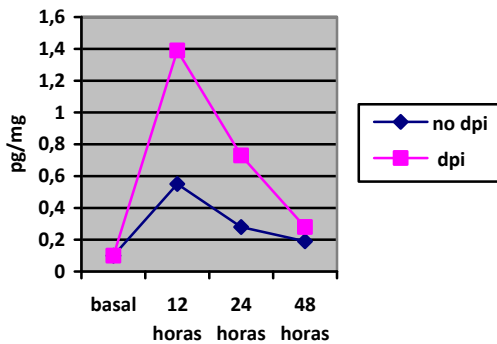
11) VALORES IL-10 BAL/GRUP



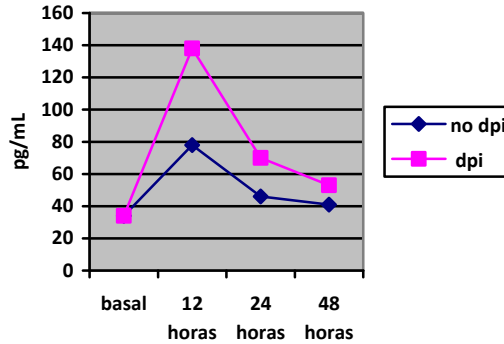
12) VALORES IL-10 SANGRE/GRUP



13) VALORES IL-10 BAL/dpi



14) VALORES IL-10 SANGRE/dpi



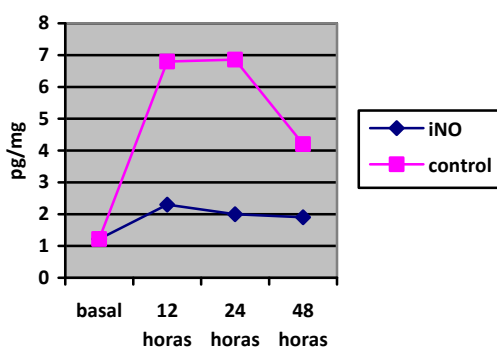
Gráficos 11,12,13,14: Valores cronológicos IL-10 en BAL y Sangre.

5.33 TABLA RESUMEN SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA Y GRÁFICOS DE VALORES CUANTIFICADOS DE TNF-RI

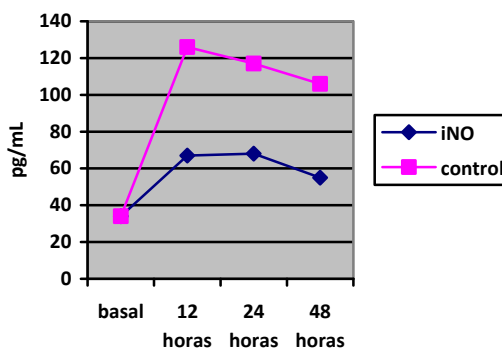
Se expresan los niveles de significación (p) de TNF-RI en BAL y Sangre en los distintos grupos:

TNF-RI/ GRUPO	Don/ Don +3h iNO	iNO/control			dpi/nodpi		
		12 h	24h	48h	12 h	24h	48h
BAL	0,128	0,007	0,047	0,589	0,187	0,337	0,603
SANGRE	0,207	0,138	0,352	0,851	0,045	0,219	0,837

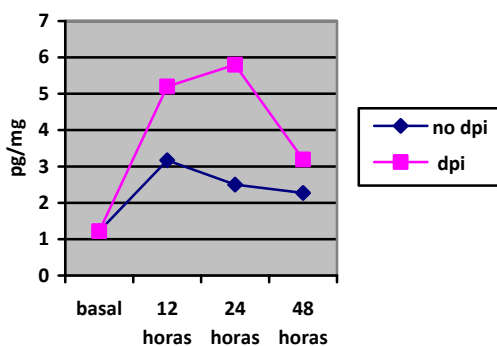
15) VALORES TNF BAL/GRUPO



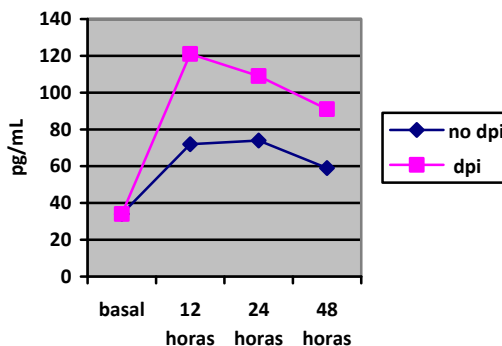
16) VALORES TNF SANGRE/GRUP



17) VALORES TNF BAL/dpi



18) VALORES TNF SANGRE/dpi



Gráficos 15,16,17,18: Valores cronológicos TNF en BAL y Sangre.

5.34 ANÁLISIS MULTIVARIANTE MEDIANTE REGRESIÓN LOGÍSTICA BINARIA

Este estudio de Regresión Logística Múltiple permitirá obtener medidas de asociación (OR) para cada variable ajustadas por las demás, así como detectar posibles interacciones y confusiones entre ellas y el efecto estudiado (dpi).

Una vez estudiadas las distintas variables que en el análisis univariante mostraban significación estadística con respecto a la dpi [Pacientes tratados con iNO vs control, CEC(si ó no), Tiempo de Isquemia 1º pulmón (punto de corte = media aritmética = 216 minutos, Tiempo de intubación (punto de corte = media aritmética = 43 horas) , exitus(si o no)], las introducimos en una regresión logística binaria para determinar el riesgo de dpi, descartando aquellas que el análisis multivariante no muestran significación, el resultado es:

Tabla 180: Variables en la ecuación de riesgo de dpi

	B	Wald	Sig.	Exp(B)	I.C. 95,0% para EXP(B)	
					Inferior	Superior
Paso 1(a) grupoiNO(1)	3,949	7,789	,005	51,884	3,241	830,659
cec(1)	4,922	9,908	,002	137,275	6,406	2941,467
tisquemiadicot	2,670	5,022	,025	14,441	1,398	149,190
Constante	-,347	,419	,518	,706		

a Variable(s) introducida(s) en el paso 1: grupoiNO, cec, tisquemiadicot.

Así pues el modelo de Predicción para la dpi sería:

$$\text{Logit}(p) = -0,347 + 3,949x(\text{grupoiNO}) + 4,922x(\text{CEC}) + 2,670x(\text{TIsquem})$$

Tabla 181: Tabla de clasificación

Observado	Pronosticado		Porcentaje correcto
	disfuncion primaria implante no	si	
Paso 1 disfuncion primaria implante no	26	3	89,7
si	3	17	85,0
Porcentaje global			87,8

Podemos apreciar como el modelo obtenido clasifica correctamente a 17 pacientes de los 20 que desarrollan dpi por lo que su **sensibilidad** es del 85%, además coloca adecuadamente a 26 individuos que no sufren dpi del total de 29 por lo que la **especificidad** del modelo es del 90%, y de forma global se han clasificado correctamente el 87,8% de los individuos.

Este modelo de regresión posee una adecuada proporción de variabilidad de dpi con un **68,3% según el R cuadrado de Nagelkerke**.

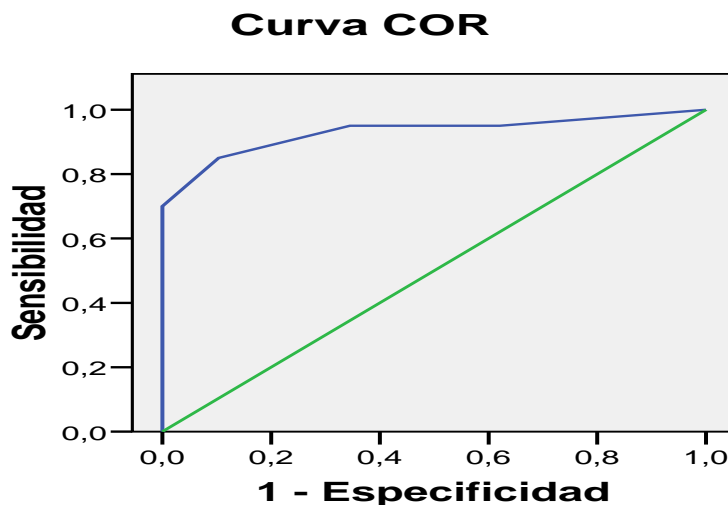
Se construyó la correspondiente curva COR que muestra como la sensibilidad y la especificidad varía según se establezca un punto de corte u otro para clasificar a los individuos en un grupo de predicción y que el área bajo la curva es 0,929.

Tabla 182: Área bajo la curva

Área	Error típ.	Sig. asintótica	Intervalo de confianza asintótico al 95%	
			Límite superior	Límite inferior
,929	,044	,000	,844	1,015

Este es el poder de discriminación del modelo construido, un 92,9% del máximo posible.

Gráfico 19: Curva COR dpi



Los segmentos diagonales son producidos por los empates.

5.35 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA SEGÚN EL GRUPO DE ESTUDIO

Se efectuó una estratificación para agrupar a aquellos pacientes que fueron tratados con iNO versus el grupo control y se realiza un seguimiento cuantificando la supervivencia en meses desde el momento del trasplante hasta la fecha actual. Se utiliza el método de Kaplan-Meier para calcular la media de supervivencia en cada grupo, construir gráficas y comparar su nivel de significación con el test estadístico Log Rank.

Tabla 183: Resumen del procesamiento de los casos

grupo iNO	Nº total	Nº de eventos	Censurado	
			Nº	Porcentaje
iNO	29	10	19	65,5%
control	20	11	9	45,0%
Global	49	21	28	57,1%

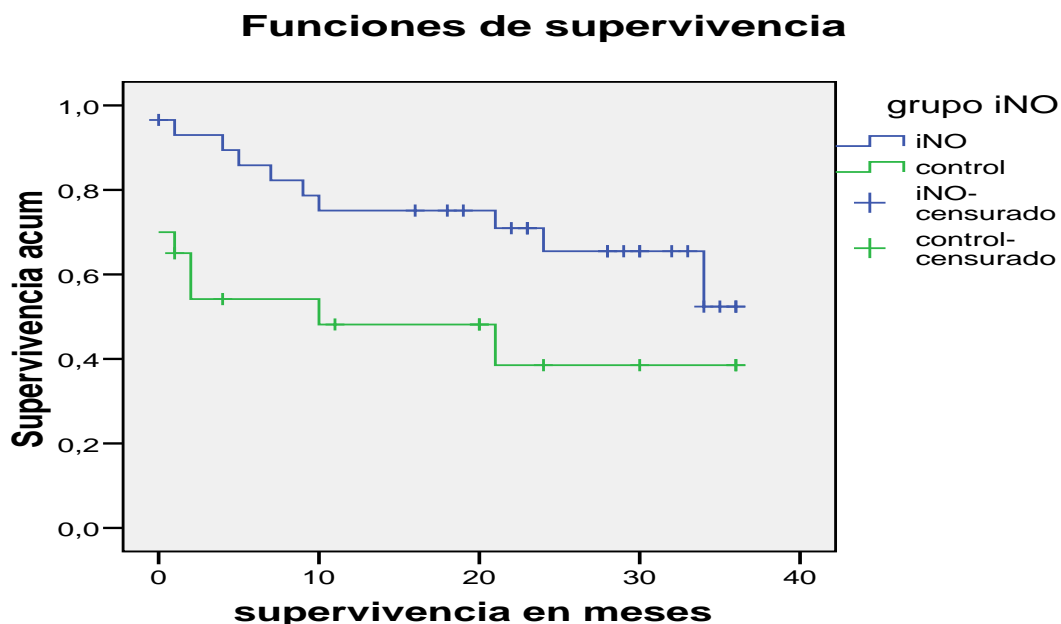
Se observa una mayor supervivencia en el grupo iNO (65,5%) con respecto al control (45%) sobre un total de 57,1%. Nuestra serie presentó, por tanto, una mortalidad global del 42,9% a los 36 meses de seguimiento.

Tabla 184: Media del tiempo de supervivencia y Log Rank

grupo	Estimación	Error típico	Media		Chi-cuadrado	Sig.
			Intervalo de confianza al 95%			
			Límite inf.	Límite sup.		
iNO	26,779	2,520	21,841	31,718	4,150	,042
control	16,757	3,842	9,227	24,288		
Global	22,772	2,268	18,327	27,218		

Se evidencia una supervivencia media de 26,779 meses en el grupo iNO contra 16,757 en el grupo control. El test de significación de Log Rank nos indica que sí existen diferencias significativas entre los dos grupos con respecto a la supervivencia.

Gráfico 20: Curva supervivencia según grupo de estudio



5.36 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA SEGÚN LA DISFUNCIÓN PRIMARIA DEL INJERTO

De igual forma que en el estudio anterior se compara la supervivencia entre los grupos que desarrollaron o no dpi.

Tabla 185: Resumen del procesamiento de los casos

disfuncion primaria implante	Nº total	Nº de eventos	Censurado	
			Nº	Porcentaje
no	30	10	20	66,7%
si	19	11	8	42,1%
Global	49	21	28	57,1%

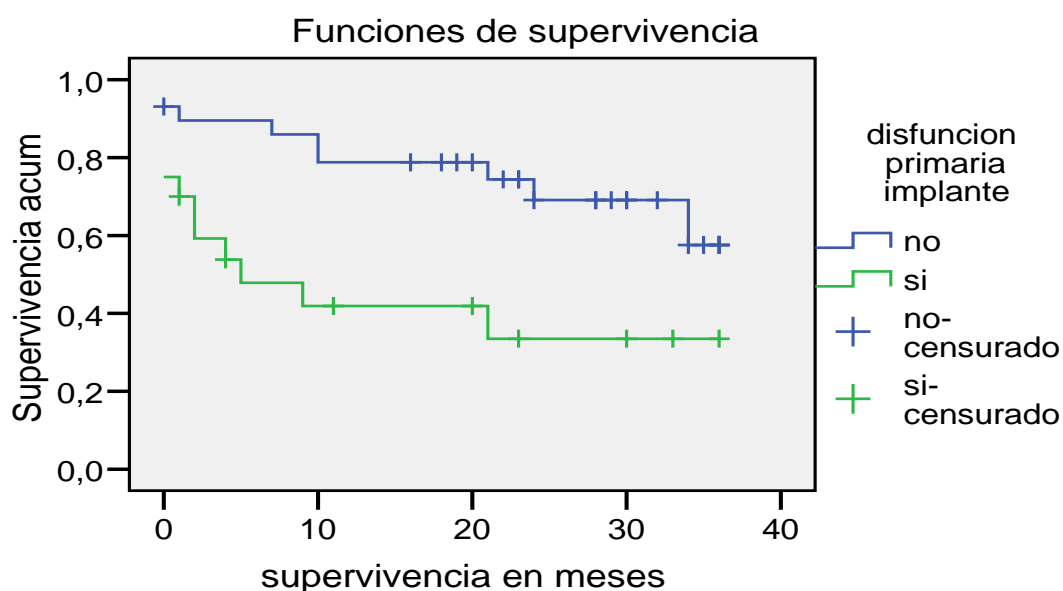
Se observa una mayor supervivencia en el grupo sin dpi (66,7%) con respecto al que sufrió dpi (42,1%) sobre un total de 57,1%. La mortalidad global sigue siendo del 42,9% a los 36 meses de seguimiento.

Tabla 186: Media del tiempo de supervivencia y Log Rank

dpi	Media				Chi-cuadrado	Sig.
	Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%			
			Límite inf.	Límite sup.		
no	27,839	2,444	23,048	32,630	7,305	,007
si	15,139	3,729	7,831	22,447		
Global	22,772	2,268	18,327	27,218		

Se evidencia una supervivencia media de 15,139 meses en el grupo dpi y 27,839 en el grupo sin dpi. Esta diferencia fue significativa.

Gráfico 21: Curva supervivencia según dpi



5.37 Tablas Descriptivo y análisis estadístico según grupo y dpi

Tabla 5: Relación grupo de estudio/dpi

			disfuncion primaria implante		Total
			no	si	
grupo de estudio	iNO don/recep	Recuento	7	2	9
		% de grupo de estudio	77,8%	22,2%	100,0%
	iNO recep	Recuento	15	5	20
		% de grupo de estudio	75,0%	25,0%	100,0%
	control	Recuento	8	12	20
		% de grupo de estudio	40,0%	60,0%	100,0%
Total		Recuento	30	19	49
		% de grupo de estudio	61,2%	38,8%	100,0%

Resultados

Tabla 6: Prueba de chi-cuadrado grupo estudio/dpi

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6,433	2	,040
N de casos válidos	49		

Tabla 7: Relación grupo de estudio/sexo paciente

			grupo de estudio			Total
			iNO don/recep	iNO recep	control	
sexo paciente	hombre	Recuento	4	12	12	28
		% de grupo de estudio	44,4%	60,0%	60,0%	57,1%
	mujer	Recuento	5	8	8	21
		% de grupo de estudio	55,6%	40,0%	40,0%	42,9%
Total		Recuento	9	20	20	49
		% de grupo de estudio	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 8: Prueba de chi-cuadrado grupo de estudio/sexo

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,726	2	,696
N de casos válidos	49		

Tabla 9: Relación disfuncion primaria implante/sexo paciente

			dpi		Total
			no	si	
sexo paciente	hombre	Recuento	17	11	28
		% de dpi	60,7%	39,3%	100,0%
	mujer	Recuento	13	8	21
		% de dpi	61,9%	38,1%	100,0%
Total		Recuento	30	19	49
		% de dpi	61,2%	38,8%	100,0%

Tabla 10: Prueba de chi-cuadrado y Odds Ratio dpi/sexo

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	IC al 95%		
				Valor	Sup.	Inf.
Chi-cuadrado	,063	1	,801			
N de casos	49					
				Odds Ratio para sexo paciente		
				N de casos	1,159	,367 3,660
					49	

Tabla 11: Relación grupo de estudio/edad >/< 50

			grupo de estudio			Total
			iNO don/recep	iNO recep	control	
edad50	<50	Recuento	6	9	12	27
		% de grupo de estudio	66,7%	45,0%	60,0%	55,1%
	>50	Recuento	3	11	8	22
		% de grupo de estudio	33,3%	55,0%	40,0%	44,9%
Total		Recuento	9	20	20	49
		% de grupo de estudio	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 12: Prueba de chi-cuadrado grupo de estudio/edad >/< 50

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	1,505	2	,471
N de casos válidos	49		

Tabla 13: Relación disfuncion primaria implante/edad >/< 50 años

			dpi		Total
			no	si	
edad50	<50	Recuento	16	11	27
		% de dpi	59,3%	40,7%	100,0%
	>50	Recuento	14	8	22
		% de dpi	63,6%	36,4%	100,0%
Total		Recuento	30	19	49
		% de dpi	61,2%	38,8%	100,0%

Tabla 14: Prueba de chi-cuadrado y Odds Ratio dpi/edad >/< 50 años

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Valor	Intervalo de confianza al 95%	
					Superior	Inferior
Chi-cuadrado	,328	1	,567			
N de casos válidos	49					
				Odds ratio para edad	,714	2,264
				N de casos válidos	49	,225

Tabla 15: Relación disfuncion primaria implante/diagnóstico etiológico

			dpi		Total
			no	si	
diagnóstico etiológico	fibrosis	Recuento	8	4	12
		% de dpi	66,7%	33,3%	100,0%
	enfisema	Recuento	10	7	17
		% de dpi	58,8%	41,2%	100,0%
	FQ	Recuento	9	3	12
		% de dpi	75,0%	25,0%	100,0%
	otras	Recuento	3	5	8
		% de dpi	37,5%	62,5%	100,0%
Total		Recuento	30	19	49
		% de dpi	61,2%	38,8%	100,0%

Tabla 16: Prueba de chi-cuadrado dpi/diagnóstico etiológico

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2,114(a)	3	,549
N de casos válidos	49		

Tabla 17: Relación grupo de estudio/tipo de trasplante

			grupo de estudio			Total
			iNO don/recep	iNO recep	control	
tipo de trasplante	tx unipulmonar	Recuento	2	6	4	12
		% de grupo de estudio	22,2%	30,0%	20,0%	24,5%
	tx bipulmonar	Recuento	7	14	16	37
		% de grupo de estudio	77,8%	70,0%	80,0%	75,5%
Total		Recuento	9	20	20	49
		% de grupo de estudio	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 18: Prueba de chi-cuadrado grupo/tipo de trasplante

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,571	2	,751
N de casos válidos	49		

Tabla 19: Relación disfuncion primaria implante/tipo de trasplante

			dpi		Total
			no	si	
tipo de trasplante	tx unipulmonar	Recuento	6	6	12
		% de dpi	50,0%	50,0%	100,0%
	tx bipulmonar	Recuento	24	13	37
		% de dpi	64,9%	35,1%	100,0%
Total		Recuento	30	19	49
		% de dpi	61,2%	38,8%	100,0%

Tabla 20: Prueba de chi-cuadrado y Odds Ratio dpi/tipo trasplante

	Valor	Sig. asint (bilat)		Valor	Intervalo de confianza al 95%	
				Inferior	Sup.	Inf.
Chi-cuadrado	,555	,456	Odds Ratio para tipo de trasplante	,609	,164	2,261

Tabla 21: Descriptivo de tiempo de isquemia 1º pulmón

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	9	185,44	39,154	13,051	155,35	215,54
iNO recep	20	227,85	70,395	15,741	194,90	260,80
control	20	219,85	44,086	9,858	199,22	240,48
Total	49	216,80	56,793	8,113	200,48	233,11

Tabla 22: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA de grupo de estudio/tiempo de isquemia primer pulmón

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	Sig.
1,739	2	46	,187	Intergrupos	11476,637	2	5738,318	,170
				Total	154821,95	48		

Tabla 23: Descriptivo tiempo de isquemia/dpi

	disfuncion primaria implante	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
tiempo de isquemia 1º pulmón	no	30	199,53	49,699	9,074
	si	19	244,05	57,801	13,260

Tabla 24: Prueba T de muestras independientes T° de isquemia/dpi

	Prueba de Levene	Prueba T					
		Sig.	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza	
						Superior	Inferior
T° de isquemia 1° pulmón	Se han asumido varianzas iguales	,313	.012	-40,643	15,593	-72,013	-9,274

Tabla 25: Relación CEC/grupo de estudio y prueba chi-cuadrado

	grupo de estudio				Total	Chi-cuadrado N	Valor	Sig. Asint (bilat)
	iNO don/recep	iNO recep	control					
CEC no	Recuento	7	13	14	34	,483 49		,785
	% de grupo	77,8%	65,0%	70,0%	69,4%			
CEC si	Recuento	2	7	6	15			
	% de grupo	22,2%	35,0%	30,0%	30,6%			
Total	Recuento	9	20	20	49			
	% de grupo	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%			

Tabla 26: Relación CEC/dpi

		dpi		Total
		no	si	
circulación extracorporea no	Recuento	27	7	34
	% de dpi	79,4%	20,6%	100,0%
si	Recuento	3	12	15
	% de dpi	20,0%	80,0%	100,0%
Total	Recuento	30	19	49
	% de dpi	61,2%	38,8%	100,0%

Tabla 27: Prueba de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Valor	Intervalo de confianza al 95%	
					Superior	Inferior
Chi-cuadrado	13,740	1	.000	13,000	2,922	57,846
N de casos válidos	49					
Odds Ratio para cec				49		
N de casos válidos						

Tabla 28: Descriptivo tiempo de intubación (horas)/grupo de estudio

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	9	30,56	19,622	6,541	15,47	45,64
iNO recep	20	30,10	21,031	4,703	20,26	39,94
control	20	61,95	49,071	10,973	38,98	84,92
Total	49	43,18	37,952	5,422	32,28	54,08

Tabla 29: Prueba de homogeneidad de varianzas y de Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
8,644	2	46	,001

	tiempo de intubación
Kruskal-Wallis	
Sig. asintót.	.030

Tabla 30: Descriptivo tiempo de intubación/dpi

disfuncion primaria implante		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
tiempo de intubación horas	no	30	32,52	23,444	4,353
	si	19	59,30	49,835	11,143

Tabla 31: Prueba de igualdad de varianzas y U de Mann-Whitney

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas	
	F	Sig.
tº intubación	10,864	,002

	tiempo de intubación horas
U de Mann-Whitney	186,500
Z	-2,108
Sig. asintót. (bilateral)	.035

Tabla 32: Relación exitus/ grupo de estudio

			grupo de estudio			Total
			iNO don/recep	iNO recep	control	
exitus reanimación	no	Recuento	9	18	15	42
		% de grupo	100,0%	90,0%	75,0%	85,7%
	si	Recuento	0	2	5	7
		% de grupo	,0%	10,0%	25,0%	14,3%
Total		Recuento	9	20	20	49
		% de grupo	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Resultados

Tabla 33: Prueba de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3,675	2	,159
N de casos válidos	49		

Tabla 34: Relación exitus/disfuncion primaria implante

			dpi		Total
			no	si	
exitus reanimación	no	Recuento	30	12	42
		% de dpi	71,4%	28,6%	100,0%
	si	Recuento	0	7	7
		% de dpi	,0%	100,0%	100,0%
Total		Recuento	30	19	49
		% de dpi	61,2%	38,8%	100,0%

Tabla 35: Prueba de chi-cuadrado y Estimación de Riesgo

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Valor	Intervalo de confianza al 95%		
					Superior	Inferior	
Chi-cuadrado	8,626	1	,003				
Numero de casos	49						
				Odds Ratio para exitus	15,077	1,677	135,542
				N de casos válidos	49		

Tabla 36: Descriptivo Relación PO2/FiO2 12h/grupo estudio

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	8	273,25	98,105	34,685	191,23	355,27
iNO recep	20	299,55	134,147	29,996	236,77	362,33
control	20	166,40	92,906	20,774	122,92	209,88
Total	48	239,69	127,278	18,371	202,73	276,65

Tabla 37: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.
3,367	,043

Kruskal-Wallis	Relación PO2/FiO2 12h
Sig. asintót.	,003

Tabla 38: Descriptivo Relación PO2/FiO2 24h

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	8	313,51	56,779	20,074	266,04	360,97
iNO recep	20	340,06	104,137	23,286	291,32	388,80
control	20	219,41	102,623	22,947	171,38	267,44
Total	48	285,36	111,266	16,060	253,06	317,67

Tabla 39: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal Wallis

Estadístico de Levene	Sig.	Kruskal-Wallis	Relación PO2/FiO2 24h
2,298	,112	Sig. asintót.	.002

Tabla 40: Descriptivo Relación PO2/FiO2 48h

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	8	260,75	52,936	18,716	216,49	305,01
iNO recep	20	269,13	90,070	20,140	226,98	311,29
control	20	199,82	71,050	15,887	166,57	233,07
Total	48	238,86	82,811	11,953	214,81	262,90

Tabla 41: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
1,381	,262	Inter-grupos	52639,792	26319,896	.018
		Intra-grupos	269667,719	5992,616	
		Total	322307,511		

Tabla 42: Descriptivo Presión alveolar CO2 12h

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	8	43,50	2,204	,779	41,66	45,34
iNO recep	20	45,30	3,556	,795	43,64	46,96
control	20	46,00	2,000	,447	45,06	46,94
Total	48	45,29	2,865	,414	44,46	46,12

Tabla 43: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.	Kruskal-Wallis	Presión alveolar CO2 12h
2,374	,105	Sig. asintót.	,061

Tabla 44: Descriptivo relación Presión alveolar CO2 12h/dpi

disfuncion primaria implante	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Presión alveolar CO2 12h no	30	44,78	3,117	,600
si	19	45,95	2,418	,528

Tabla 45: Prueba T de muestras independientes PCO2 12 h/dpi

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias					
		Sig.	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
						Superior	Inferior
Presión alveolar CO2 12h	,508	,161	-1,175	,825	-2,835	,486	

Tabla 46: Descriptivo Presión alveolar CO2 24h

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	8	48,25	4,950	1,750	44,11	52,39
iNO recep	20	47,55	4,817	1,077	45,30	49,80
control	20	50,90	2,553	,571	49,71	52,09
Total	48	49,06	4,265	,616	47,82	50,30

Tabla 47: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.	Kruskal-Wallis	Presión alveolar CO2 24h
3,034	2	45	,058	Sig. asintót.	,016

Tabla 48: Descriptivo Relación PCO2 24 h/dpi

dpi	N	Media	Desv. típ.	Error típ.
Presión alveolar CO2 24h no	30	47,37	3,982	,766
si	19	51,24	3,646	,796

Tabla 49: Prueba T de muestras independientes PCO2 24h/dpi

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias				
	Sig.	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Superior	Inferior
Presión alveolar CO2 24h	,660	.001	-3,868	1,117	-6,116	-1,619

Tabla 50: Descriptivo Presión alveolar CO2 48h/grupo de estudio

	N	Media	Desv. típ.	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	8	48,88	5,489	1,941	44,29	53,46
iNO recep	20	48,75	6,373	1,425	45,77	51,73
control	20	53,60	5,165	1,155	51,18	56,02
Total	48	50,79	6,119	,883	49,01	52,57

Tabla 51: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
,161	,852	Inter-grupos	270,492	135,246	.023
		Intra-grupos	1489,425	33,098	
		Total	1759,917		

Tabla 52: Descriptivo PAPm 12 horas/grupo de estudio

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	8	24,25	2,188	,773	22,42	26,08
iNO recep	20	25,70	3,028	,677	24,28	27,12
control	20	30,85	2,739	,612	29,57	32,13
Total	48	27,60	3,923	,566	26,46	28,74

Tabla 53: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
1,206	,309	Inter-grupos	373,229	186,615	.000
		Intra-grupos	350,250	7,783	
		Total	723,479		

Tabla 54: Descriptivo PAPm 12 h/dpi

disfuncion primaria implante		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Presión arteria pulmonar media 12h	no	30	25,96	3,425	,659
	si	19	29,71	3,552	,775

Tabla 55: Prueba T de muestras independientes PAPm 12h/dpi

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias					
		Sig.	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ.	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
						Superior	Inferior
Presión arteria pulmonar media 12h	,701	,001	-3,751	1,013 1,017	-5,790 -5,804	-1,713	

Tabla 56: Descriptivo PAPm 24h/grupo de estudio

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	8	24,25	2,252	,796	22,37	26,13
iNO recep	20	24,65	2,739	,612	23,37	25,93
control	20	28,75	2,381	,532	27,64	29,86
Total	48	26,29	3,242	,468	25,35	27,23

Tabla 57: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
,167	,847	Inter-grupos	208,117	104,058	,000
		Intra-grupos	285,800	6,351	
		Total	493,917		

Tabla 58: Descriptivo PAPm 24h/dpi

dpi		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Presión arteria pulmonar media 24h	no	30	24,89	3,030	,583
	si	19	28,10	2,587	,564

Tabla 59: Prueba T de muestras independientes PAPm 24 h/dpi

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias					
		Sig.	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
						Superior	Inferior
Presión arteria pulmonar media 24h	,513	,000	-3,206	,828	-4,873	-1,540	

Tabla 60: Descriptivo PAPm 48h /grupo de estudio

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	8	22,63	3,335	1,179	19,84	25,41
iNO recep	20	23,75	2,403	,537	22,63	24,87
control	20	27,30	2,055	,459	26,34	28,26
Total	48	25,04	3,094	,447	24,14	25,94

Tabla 61: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.
2,099	,134

	Presión arteria pulmonar media 48h
Kruskal-Wallis	
Sig. asintót.	,000

Tabla 62: Descriptivo PAPm 48h/dpi

disfuncion primaria implante	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Presión arteria pulmonar media 48h no	30	23,85	3,195	,615
si	19	26,57	2,204	,481

Tabla 63: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-Whitney

	Prueba de Levene		U de Mann-Whitney	Presión arteria pulmonar media 48h
	F	Sig.		
Presión arteria pulmonar media 48h	2,910	,095	Z	126,500
			Sig. asintót. (bilateral)	-3,288
				,001

Resultados

Tabla 64: Descriptivo RVP 12h/grupo de estudio

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	8	109,38	33,611	11,883	81,28	137,47
iNO recep	20	120,55	25,599	5,724	108,57	132,53
control	20	152,55	16,395	3,666	144,88	160,22
Total	48	132,02	29,401	4,244	123,48	140,56

Tabla 65: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.		Resistencia Vascular Pulmonar 12h
4,206	,021	Kruskal-Wallis	Sig. asintót. .000

Tabla 66: Descriptivo Relación RVP 12h/dpi

	disfuncion primaria implante	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Resistencia Vascular Pulmonar 12h	no	30	113,89	24,738	4,761
	si	19	155,33	14,881	3,247

Tabla 67: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-Whitney

	Prueba de Levene		Resistencia Vascular Pulmonar 12h
	F	Sig.	
Resistencia Vascular Pulmonar 12h	9,063	,004	U de Mann-Whitney 33,500 Z Sig. asintót. (bilateral) -5,198 .000

Tabla 68: Descriptivos RVP 24h/grupo de estudio

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	8	110,00	24,883	8,797	89,20	130,80
iNO recep	20	124,00	23,573	5,271	112,97	135,03
control	20	152,80	21,289	4,760	142,84	162,76
Total	48	133,67	28,124	4,059	125,50	141,83

Tabla 69: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
,038	,963	Inter-grupos	13671,467	6835,733	,000
		Intra-grupos	23503,200	522,293	
		Total	37174,667		

Tabla 70: Descriptivo RVP 24h/dpi

	disfuncion primaria implante	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Resistencia Vascular Pulmonar 24h	no	30	116,00	20,012	3,851
	si	19	156,38	19,366	4,226

Tabla 71: Prueba T de muestras independientes RVP 24h/dpi

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias					
		Sig.	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
						Superior	Inferior
Resistencia Vascular Pulmonar 24h	,818	,000	-40,381	5,742	-51,938	-28,824	

Tabla 72: Descriptivo RVP 48h/grupo de estudio

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	8	107,88	31,430	11,112	81,60	134,15
iNO recep	20	111,40	21,419	4,789	101,38	121,42
control	20	142,45	14,351	3,209	135,73	149,17
Total	48	123,75	25,932	3,743	116,22	131,28

Tabla 73: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.	Kruskal-Wallis	Resistencia Vascular Pulmonar 48h
2,886	,066	Sig. asintót.	,000

Tabla 74: Descriptivo RVP 48h/dpi

	disfuncion primaria implante	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Resistencia Vascular Pulmonar 48h	no	30	109,26	22,010	4,236
	si	19	142,38	17,394	3,796

Resultados

Tabla 75: Prueba T de muestras independientes RVP 48h/dpi

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias				
	Sig.	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Superior	Inferior
Resistencia Vascular Pulmonar 48h	,232	,000	-33,122	5,858	-44,913	-21,330

Tabla 76: Descriptivo y prueba de Wilcoxon para IL-6 en BAL de donante

	N	Media	Desviación típica
IL-6 en BAL donante basal	4	,8892	,57443
IL-6 en BAL donante 3h iNO	4	,7198	,54855

Wilcoxon	IL-6 en BAL donante 3h iNO - IL-6 en BAL donante basal
Z	-,365
Sig. asintót. (bilateral)	,715

Tabla 77: Descriptivo y prueba de Wilcoxon para IL-6 en sangre de donante

	N	Media	Desviación típica
IL-6 Sangre donante basal	5	142,200	97,62530
IL-6 Sangre donante 3h iNO	5	147,000	90,62284

Wilcoxon	IL-6 Sangre donante 3h iNO - IL-6 Sangre donante basal
Z	-,405
Sig. asintót. (bilateral)	,686

Tabla 78: Descriptivo Diferencia IL-6 BAL 12h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	4	1,4432	1,47916	,73958	-,9104	3,7969
iNO recep	18	2,6550	2,48424	,58554	1,4196	3,8904
control	8	5,4466	3,49907	1,23711	2,5213	8,3719
Total	30	3,2379	2,96653	,54161	2,1301	4,3456

Tabla 79: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.		Diferencia IL-6 BAL 12h
2,588	,094	Sig. asintót.	,072

Tabla 80: Descriptivo Diferencia IL-6 SANGRE 12h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	4	134,7500	102,41216	51,20608	-28,2106	297,7106
iNO recep	16	110,8750	85,65814	21,41453	65,2310	156,5190
control	9	254,4444	117,22213	39,07404	164,3395	344,5494
Total	29	158,7241	115,39463	21,42825	114,8304	202,6179

Tabla 81: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
,498	,613	Inter-grupos	121393,071	60696,535	,006
		Intra-grupos	251452,722	9671,259	
		Total	372845,793		

Tabla 82: Descriptivo Diferencia IL-6 BAL 12 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-6 BAL 12h	no	16	1,8707	1,35857	,33964
	si	14	4,8003	3,54576	,94764

Tabla 83: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-

Whitney

	Prueba de Levene		Diferencia IL-6 BAL 12h
	Sig.	U de Mann-Whitney	58,000
Diferencia IL-6 BAL 12h	,000	Z	-2,245
		Sig. asintót. (bilateral)	,025

Tabla 84: Descriptivo Diferencia IL-6 SANGRE 12 horas/dpi

dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-6 SAN 12h no	15	116,6667	88,19108	22,77084
si	14	203,7857	126,79431	33,88720

Tabla 85: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-Whitney

	Prueba de Levene		Diferencia IL-6 SAN 12h
	Sig.	U de Mann-Whitney	54,000
		Z	-2,227
		Sig. asintót. (bilateral)	,026
Diferencia IL-6 SAN 12h	,011		

Tabla 86: Descriptivo Diferencia IL-6 BAL 24h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	5	2,2748	,65417	,29255	1,4626	3,0871
iNO recep	13	3,6903	2,16212	,59966	2,3838	4,9969
control	3	5,5754	5,06204	2,92257	-6,9994	18,1502
Total	21	3,6226	2,54598	,55558	2,4637	4,7815

Tabla 87: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.	Kruskal-Wallis	Diferencia IL-6 BAL 24h
9,346	,002	Sig. asintót.	,319

Tabla 88: Descriptivo Diferencia IL-6 SANGRE 24h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	5	40,2000	25,87856	11,57325	8,0675	72,3325
iNO recep	14	72,5714	43,29632	11,57143	47,5729	97,5700
control	6	124,5000	94,91417	38,74855	24,8937	224,1063
Total	25	78,5600	62,12023	12,42405	52,9180	104,2020

Tabla 89: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.		Diferencia IL-6 SAN 24h
8,280	,002	Sig. asintót.	,182

Tabla 90: Descriptivo Diferencia IL-6 BAL 24 horas/dpi

disfuncion primaria implante	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-6 BAL 24h no	10	3,0567	1,63952	,51846
si	11	4,1371	3,15173	,95028

Tabla 91: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-Whitney

	Prueba de Levene		Diferencia IL-6 BAL 24h
	Sig.	U de Mann-Whitney	45,000
Diferencia IL-6 BAL 24h	,074	Z	-,704
		Sig. asintót. (bilateral)	,481

Tabla 92: Descriptivo Diferencia IL-6 SANGRE 24h/dpi

disfuncion primaria implante	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-6 SAN 24h no	14	73,5714	64,23840	17,16843
si	11	84,9091	61,78747	18,62962

Tabla 93: Prueba T de muestras independientes Dif. IL-6 Sangre 24h

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias				
	Sig.	Sig. (bilateral)	Dif de medias	Error típ.	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
Diferencia IL-6 SAN 24h	,861	,660	-11,33766	25,45700	Superior	Inferior
					-64,0010	41,32569

Tabla 94: Descriptivo Diferencia IL-6 BAL 48h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	1	,1295
iNO recep	6	,9570	,76842	,31370	,1506	1,7634
control	2	,9997	,80199	,56709	-6,2059	8,2053
Total	9	,8745	,72653	,24218	,3161	1,4330

Tabla 95: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
,077(a)	,791	Inter-grupos	,627	,314	,617
		Intra-grupos	3,596	,599	
		Total	4,223		

Tabla 96: Descriptivo IL-6 en Sangre receptor 48h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	5	19,8000	30,35128	13,57350	-17,8861	57,4861
iNO recep	13	32,7692	42,65004	11,82899	6,9961	58,5424
control	4	57,5000	45,80029	22,90015	-15,3785	130,3785
Total	22	34,3182	40,84860	8,70895	16,2069	52,4294

Tabla 97: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
,135	,875	Inter-grupos	3234,665	1617,333	,398
		Intra-grupos	31806,108	1674,006	
		Total	35040,773		

Tabla 98: Descriptivo Diferencia IL-6 BAL 48 horas/dpi

dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-6 BAL 48h no	2	1,4418	,79466	,56191
si	7	,7125	,67871	,25653

Tabla 99: Prueba T de muestras independientes

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias				
	Sig.	Sig. (bilat)	Dif de medias	Error típ.	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Superior	Inferior
Diferencia IL-6 BAL 48h	,990	,233	,72931	,55841	-,59111	2,04973

Tabla 100: Descriptivo Diferencia IL-6 SANGRE 48 horas/dpi

dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-6 SAN 48h no	12	31,8333	45,15596	13,03540
si	10	37,3000	37,19035	11,76062

Tabla 101: Prueba T de muestras independientes

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias				
	Sig.	Sig. (bilat)	Dif de medias	Error típ.	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Superior	Inferior
Diferencia IL-6 SAN 48h	,709	,763	-5,46667	17,88052	-42,7647	31,8314

Tabla 102: Descriptivo y prueba de Wilcoxon para IL-8 en BAL de donante

	N	Media	Desv. típica	Mínimo	Máximo		IL-8 BAL donante 3h iNO - IL-8 BAL donante basal
IL-8 BAL donante basal	6	6,0686	2,70992	3,03	10,09	Wilcoxon	
IL-8 BAL donante 3h iNO	6	4,8864	2,51954	2,34	8,53	Z	-2,201
						Sig. asintót. (bilat)	.028

Tabla 103: Descriptivo y prueba de Wilcoxon para IL-8 en Sangre de donante

	N	Media	Desv. típica	Mínimo	Máximo		IL-8 Sangre donante 3h iNO - IL-8 Sangre donante basal
IL-8 Sangre donante basal	7	160,85	93,35671	15,00	315,00	Wilcoxon	
IL-8 Sangre donante 3h iNO	7	127,57	62,95728	39,00	202,00	Z	-1,863
						Sig. asintót. (bilat)	,063

Resultados

Tabla 104: Descriptivo Diferencia IL-8 BAL 12h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	6	,3398	,64156	,26192	-,3334	1,0131
iNO recep	16	,6579	1,13157	,28289	,0549	1,2609
control	12	2,4804	2,52960	,73023	,8731	4,0876
Total	34	1,2450	1,91007	,32757	,5785	1,9115

Tabla 105: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.	Kruskal-Wallis	Diferencia IL-8 BAL 12h
3,957	,029	Sig. asintót.	,017

Tabla 106: Descriptivo Diferencia IL-8 SANGRE 12 horas/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	7	59,2857	46,15450	17,44476	16,5999	101,9715
iNO recep	18	70,9444	87,85246	20,70702	27,2564	114,6324
control	13	160,4615	125,63745	34,84556	84,5396	236,3835
Total	38	99,4211	104,97300	17,02887	64,9173	133,9248

Tabla 107: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.	Kruskal-Wallis	Diferencia IL-8 SAN 12h
2,062	,142	Sig. asintót.	,011

Tabla 108: Descriptivo Diferencia IL-8 BAL 12 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-8 BAL 12h	no	18	,6326	,95720	,22562
	si	16	1,9340	2,45593	,61398

Tabla 109: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-

Whytney

	Prueba de Levene	Diferencia IL-8 BAL 12h
	Sig.	U de Mann-Whitney
Diferencia IL-8 BAL 12h	,025	96,000
		Sig. asintót. (bilateral)
		,009

Tabla 110: Descriptivo Diferencia IL-8 SANGRE 12 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-8 SAN 12h	no	21	67,2857	94,19349	20,55471
	si	17	139,1176	106,59261	25,85251

Tabla 111: Prueba T de muestras independientes

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias					
		Sig.	Sig. (bilat)	Dif. de medias	Error típ.	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
						Superior	Inferior
Diferencia IL-8 SAN 12h	,151	,034	-71,83193	32,59108	-137,929	-5,73415	

Tabla 112: Descriptivo Diferencia IL-8 BAL 24h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	7	1,3532	,69777	,26373	,7079	1,9985
iNO recep	10	2,2511	2,15291	,68081	,7110	3,7912
control	8	6,0882	5,61228	1,98424	1,3962	10,7801
Total	25	3,2275	3,89825	,77965	1,6184	4,8366

Tabla 113: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.	Kruskal-Wallis	Diferencia IL-8 BAL 24h
6,562	,006	Sig. asintót.	,005

Tabla 114: Descriptivo Diferencia IL-8 SANGRE 24h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	7	42,5714	24,40531	9,22434	20,0003	65,1426
iNO recep	17	15,7647	35,13817	8,52226	-2,3017	33,8311
control	12	65,5833	63,91963	18,45201	24,9707	106,1959
Total	36	37,5833	49,55423	8,25904	20,8166	54,3501

Tabla 115: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.	Kruskal-Wallis	Diferencia IL-8 SAN 24h
2,540	,094	Sig. asintót.	,009

Tabla 116: Descriptivo IL-8 BAL 24 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-8 BAL 24h	no	14	1,8651	1,86176	,49758
	si	11	4,9615	5,10486	1,53917

Tabla 117: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-Whitney

	Prueba de Levene		Diferencia IL-8 BAL 24h
	Sig.	U de Mann-Whitney	40,000
Diferencia IL-8 BAL 24h	,019	Sig. asintót. (bilateral)	,043

Tabla 118: Descriptivo Diferencia IL-8 SANGRE 24 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-8 SAN 24h	no	21	29,2857	44,91230	9,80067
	si	15	49,2000	54,85982	14,16474

Tabla 119: Prueba T de muestras independientes

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias				
	Sig.	Sig. (bilat)	Dif de medias	Error típ.	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
Diferencia IL-8 SAN 24h	,539	,240	-19,91429	16,65030	Superior	Inferior
					-53,7517	13,9232

Tabla 120: Descriptivo Diferencia IL-8 BAL 48 horas/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	2	,6697	,67692	,47865	-5,4122	6,7515
iNO recep	4	,8639	1,16931	,58466	-,9967	2,7245
control	2	1,0606	,08571	,06061	,2905	1,8307
Total	8	,8645	,82117	,29033	,1780	1,5510

Tabla 121: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
,740(a)	,438	Inter-grupos	,139	,070	,942
		Intra-grupos	4,560	1,140	
		Total	4,699		

Tabla 122: Descriptivo Diferencia IL-8 SANGRE 48 horas/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	7	24,5714	32,53130	12,29568	-5,5150	54,6579
iNO recep	16	24,3750	32,46511	8,11628	7,0756	41,6744
control	10	59,5000	57,37450	18,14341	18,4568	100,5432
Total	33	35,0606	43,42950	7,56011	19,6612	50,4600

Tabla 123: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
1,940	,161	Inter-grupos	8569,915	4284,957	,101
		Intra-grupos	51785,964	1726,199	
		Total	60355,879		

Tabla 124: Descriptivo Diferencia IL-8 BAL 48 horas/dpi

dpi	N	Media	Desviación tip.	Error típ. de la media
Diferencia IL-8 BAL 48h no	5	,7293	1,05642	,47244
si	2	1,1348	,01918	,01356

Tabla 125: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-Whitney

	Prueba de Levene	Diferencia IL-8 BAL 48h
	Sig.	
Diferencia IL-8 BAL 48h	,118	U de Mann-Whitney 4,000 Z -,387 Sig. asintót. (bilateral) ,699

Tabla 126: Descriptivo Diferencia IL-8 SANGRE 48 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-8 SAN 48h	no	18	36,7778	51,06577	12,03632
	si	15	33,0000	33,70884	8,70358

Tabla 127: Prueba T de muestras independientes

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias					
		Sig.	Sig. (bilat)	Dif. de medias	Error típ.	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
						Superior	Inferior
Diferencia IL-8 SAN 24h	,354	,808	3,77778	15,41110	-27,6533	35,20891	

Tabla 128: Descriptivo y prueba de Wilcoxon para IL-10 en BAL de donante

	N	Media	Desviación típica
IL-10 BAL donante basal	4	,4445	,37593
IL-10 BAL donante 3h iNO	4	,0921	,05686

Wilcoxon	IL-10 BAL donante 3h iNO - IL-10 BAL donante basal
Z	-1,826
Sig. asintót. (bilateral)	,068

Tabla 129: Descriptivo y prueba de Wilcoxon para IL-10 en SANGRE de donante

	N	Media	Desviación típica
IL-10 Sangre donante basal	7	160,8571	93,35671
IL-10 Sangre donante 3h iNO	7	127,5714	62,95728

	IL-10 Sangre donante 3h iNO - IL-10 Sangre donante basal
Z	-1,863(a)
Sig. asintót. (bilateral)	,064

Tabla 130: Descriptivo Diferencia IL-10 BAL 12h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	4	,7198	,96426	,48213	-,8145	2,2542
iNO recep	17	,5972	,56461	,13694	,3069	,8875
control	12	1,5576	1,29156	,37284	,7370	2,3783
Total	33	,9613	1,01540	,17676	,6013	1,3214

Tabla 131: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
,222	,650	Inter-grupos	,412	,206	,200
		Intra-grupos	,830	,104	
		Total	1,242		

Tabla 132: Descriptivo Diferencia IL-10 SANGRE 12h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	7	75,0000	65,61250	24,79919	14,3186	135,6814
iNO recep	18	76,5000	66,80195	15,74537	43,2802	109,7198
control	13	156,4615	109,99365	30,50675	89,9930	222,9300
Total	38	103,5789	90,36671	14,65942	73,8761	133,2817

Tabla 133: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
1,113	,340	Inter-grupos	55271,532	27635,766	,029
		Intra-grupos	246875,731	7053,592	
		Total	302147,263		

Tabla 134: Descriptivo Diferencia IL-10 BAL 12 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-10 BAL 12h	no	17	,5574	,51391	,12464
	si	16	1,3905	1,23956	,30989

Tabla 135: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-Whitney

	Prueba de Levene	Diferencia IL-10 BAL 12h
	Sig.	U de Mann-Whitney
Diferencia IL-10 BAL 12h	,000	80,000
		Z
		-2,017
		Sig. asintót. (bilateral)
		,044

Tabla 136: Descriptivo Diferencia IL-10 SANGRE 12 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-10 Sangre 12h	no	22	78,3182	63,71393	13,58386
	si	16	138,3125	110,62171	27,65543

Tabla 137: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-

Whitney

		Prueba de Levene		
		Sig.	U de Mann-Whitney	Diferencia IL-10 Sangre 12h
Diferencia IL-10 Sangre 12h		,119	Z	-1,819
			Sig. asintót. (bilateral)	,069

Tabla 138: Descriptivo Diferencia IL-10 BAL 24h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	4	,1194	,10885	,05443	-,0538	,2926
iNO recep	13	,3199	,24281	,06734	,1732	,4666
control	11	,9624	,69858	,21063	,4931	1,4317
Total	28	,5437	,57486	,10864	,3207	,7666

Tabla 139: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.	Kruskal-Wallis	Diferencia IL-10 BAL 24h
32,410	,000	Sig. asintót.	,027

Tabla 140: Descriptivo Diferencia IL-10 Sangre 24h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	7	32,5714	25,14529	9,50403	9,3159	55,8269
iNO recep	16	33,4375	33,31660	8,32915	15,6843	51,1907
control	11	89,8182	57,49055	17,33405	51,1955	128,4409
Total	34	51,5000	48,42191	8,30429	34,6048	68,3952

Tabla 141: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.		Diferencia IL-10 Sangre 24h
2,393	,108	Kruskal-Wallis	
		Sig. asintót.	,012

Tabla 142: Diferencia IL-10 BAL 24 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-10 BAL 24h	no	12	,2862	,17874	,05160
	si	16	,7368	,69180	,17295

Tabla 143: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-

Whitney

	Prueba de Levene		IL-10 en BAL receptor 24h
	Sig.	U de Mann-Whitney	36,500
		Z	-,988
Diferencia IL-10 BAL 24h	,000	Sig. asintót. (bilateral)	,323

Tabla 144: Descriptivo Diferencia IL-10 SANGRE 24 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-10 Sangre 24h	no	19	36,5263	28,72546	6,59007
	si	15	70,4667	61,45017	15,86637

Tabla 145: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-

Whitney

	Prueba de Levene		Diferencia IL-10 Sangre 24h
	Sig.	U de Mann-Whitney	96,000
		Z	-1,613
Diferencia IL-10 Sangre 24h	,042	Sig. asintót. (bilateral)	,107

Tabla 146: Descriptivo Diferencia IL-10 BAL 48h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	1	,0596
iNO recep	8	,1919	,27232	,09628	-,0358	,4195
control	2	,2381	,15207	,10753	-1,1282	1,6044
Total	11	,1883	,23746	,07160	,0287	,3478

Tabla 147: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
,197	,669	Inter-grupos	,022	,011	,855
		Intra-grupos	,542	,068	
		Total	,564		

Tabla 148: Descriptivo Diferencia IL-10 Sangre 48h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	7	26,0000	30,72458	11,61280	-2,4155	54,4155
iNO recep	14	18,9286	24,18030	6,46246	4,9673	32,8899
control	9	39,6667	48,79549	16,26516	2,1591	77,1742
Total	30	26,8000	34,57865	6,31317	13,8881	39,7119

Tabla 149: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
,874	,429	Inter-grupos	2361,871	1180,936	,386
		Intra-grupos	32312,929	1196,775	
		Total	34674,800		

Tabla 150: Descriptivo Diferencia IL-10 BAL 48 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-10 BAL 48h	no	4	,1225	,12043	,06021
	si	7	,2258	,28671	,10836

Tabla 151: Prueba T de muestras independientes

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias				
	Sig.	Sig. (bilat)	Dif. de medias	Error típ.	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Superior	Inferior
Diferencia IL-10 BAL 48h	,282	,517	-,10330	,15306	-,44954	,24295

Tabla 152: Descriptivo Diferencia IL-10 SANGRE 48 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia IL-10 Sangre 48h	no	17	21,7059	24,85650	6,02859
	si	13	33,4615	44,50771	12,34422

Tabla 153: Prueba T de muestras independientes

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias				
	Sig.	Sig. (bilat)	Dif. de medias	Error típ.	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Superior	Inferior
Diferencia IL-10 Sangre 48h	,308	,365	-11,75566	12,77384	-37,92169	14,41038

Tabla 154: Descriptivo y prueba de Wilcoxon para TNF en BAL de donante

	N	Media	Desviación típica
TNF BAL donante basal	7	3,5460	2,25926
TNF BAL donante 3h iNO	7	2,3839	1,22537

Wilcoxon	TNF BAL donante 3h iNO - TNF BAL donante basal
Z	-1,521
Sig. asintót. (bilateral)	,128

Tabla 155: Descriptivo y prueba de Wilcoxon para TNF en Sangre de donante

	N	Media	Desviación típica
TNF en Sangre donante basal	8	254,5000	99,62788
TNF en Sangre donante 3h iNO	8	221,1250	94,10547

Wilcoxon	TNF Sangre donante 3h iNO - TNF Sangre donante basal
Z	-1,262
Sig. asintót. (bilateral)	,207

Tabla 156: Descriptivo Diferencia TNF BAL 12h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	7	2,6048	3,90376	1,47548	-1,0056	6,2152
iNO recep	18	2,0221	1,68245	,39656	1,1854	2,8587
control	18	6,8847	6,35837	1,49868	3,7228	10,0467
Total	43	4,1525	5,02301	,76600	2,6066	5,6983

Tabla 157: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.	Kruskal-Wallis	Diferencia TNF BAL 12h
25,962	,000	Sig. asintót.	,007

Tabla 158: Descriptivo Diferencia TNF SANGRE 12h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	8	61,1250	34,52303	12,20573	32,2630	89,9870
iNO recep	16	72,3750	39,37491	9,84373	51,3936	93,3564
control	19	126,3684	94,81632	21,75236	80,6684	172,0684
Total	43	94,1395	73,91359	11,27172	71,3923	116,8868

Tabla 159: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.	Kruskal-Wallis	Diferencia TNF SAN 12h
14,815	,000	Sig. asintót.	,138

Tabla 160: Descriptivo Diferencia TNF BAL 12 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia TNF BAL 12h	no	24	3,1715	4,64928	,94903
	si	19	5,2863	5,31492	1,21933

Tabla 161: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-

Whitney

	Prueba de Levene		Diferencia TNF BAL 12h
	Sig.	U de Mann-Whitney	174,000
		Z	-1,321
Diferencia TNF BAL 12h	,082	Sig. asintót. (bilateral)	,187

Tabla 162: Descriptivo Diferencia TNF Sangre 12 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia TNF SAN 12h	no	24	72,6250	51,85332	10,58451
	si	19	121,3158	88,96694	20,41042

Tabla 163: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-

Whitney

	Prueba de Levene	Diferencia TNF SAN 12h
	Sig.	U de Mann-Whitney
Diferencia TNF SAN 12h	,004	154,500
		Z
		Sig. asintót. (bilateral)
		-1,798
		,045

Tabla 164: Descriptivo Diferencia TNF BAL 24h /grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	3	2,1828	1,71358	,98934	-2,0740	6,4396
iNO recep	8	1,9435	1,16686	,41255	,9680	2,9190
control	12	6,8648	5,32313	1,53666	3,4827	10,2470
Total	23	4,5424	4,58534	,95611	2,5595	6,5252

Tabla 165: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.	Kruskal-Wallis	Diferencia TNF BAL 24h
8,502	,002	Sig. asintót.	,047

Tabla 166: Descriptivo Diferencia TNF SANGRE 24h/grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	8	75,5000	37,14066	13,13121	44,4496	106,5504
iNO recep	16	81,0000	43,95301	10,98825	57,5791	104,4209
control	17	117,5294	84,06926	20,38979	74,3050	160,7538
Total	41	95,0732	64,52185	10,07662	74,7076	115,4388

Tabla 167: Prueba de homogeneidad de varianzas y Kruskal-Wallis

Estadístico de Levene	Sig.	Kruskal-Wallis	Diferencia TNF SAN 24h
5,225	,010	Sig. asintót.	,352

Resultados

Tabla 168: Descriptivo Diferencia TNF BAL 24 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia TNF BAL 24h	no	9	2,5573	1,70529	,56843
	si	14	5,8185	5,41388	1,44692

Tabla 169: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-

Whitney

	Prueba de Levene	TNF en BAL receptor 24h
	Sig.	U de Mann-Whitney
Diferencia TNF BAL 24h	,002	64,000
		Z
		Sig. asintót. (bilateral)
		-,960
		,337

Tabla 170: Descriptivo Diferencia TNF SANGRE 24 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia TNF SAN 24h	no	24	84,5417	52,75454	10,76848
	si	17	109,9412	77,49715	18,79582

Tabla 171: Prueba T de muestras independientes

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias					
		Sig.	Sig. (bilat)	Dif. de medias	Error típ.	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
						Superior	Inferior
Diferencia TNF SAN 24h	,263	,219	-25,39951	20,31090	-66,4821	15,6831	

Tabla 172: Descriptivo Diferencia TNF BAL 48h

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	2	2,2333	1,35177	,95585	-9,9119	14,3785
iNO recep	8	2,2223	2,24966	,79537	,3416	4,1031
control	4	4,2439	5,09984	2,54992	-3,8710	12,3589
Total	14	2,8015	3,12472	,83512	,9973	4,6057

Tabla 173: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
1,939	,190	Inter-grupos	11,652	5,826	,589
		Intra-grupos	115,279	10,480	
		Total	126,931		

Tabla 174: Descriptivo Diferencia TNF SANGRE 48h /grupo

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
iNO don/recep	7	98,1429	20,16125	7,62024	79,4968	116,7889
iNO recep	15	91,6667	84,68148	21,86466	44,7716	138,5617
control	16	106,5000	73,75364	18,43841	67,1995	145,8005
Total	38	99,1053	70,92775	11,50600	75,7919	122,4186

Tabla 175: Prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA

Estadístico de Levene	Sig.	ANOVA	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Sig.
1,803	,180	Inter-grupos	1711,388	855,694	,851
		Intra-grupos	184426,190	5269,320	
		Total	186137,579		

Tabla 176: Descriptivo Diferencia TNF BAL 48 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia TNF BAL 48h	no	6	2,2711	2,33802	,95449
	si	8	3,1993	3,71570	1,31370

Tabla 177: Prueba T de muestras independientes

	Prueba de Levene	Prueba T para la igualdad de medias					
		Sig.	Sig. (bilat)	Dif. de medias	Error típ.	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
						Superior	Inferior
Diferencia TNF BAL 48h	,534	,603	-,92818	1,73589	-4,71037	2,85401	

Tabla 178: Descriptivo Diferencia TNF SANGRE 48 horas/dpi

	dpi	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diferencia TNF SAN 48h	no	21	89,0476	40,81235	8,90598
	si	17	111,5294	96,20169	23,33234

Tabla 179: Prueba de homogeneidad de varianzas y U de Mann-

Whitney

	Prueba de Levene		Diferencia TNF SAN 48h
	Sig.	U de Mann-Whitney	171,500
		Z	-,206
		Sig. asintót. (bilateral)	,837
Diferencia TNF SAN 48h	,016		

DISCUSIÓN

En este estudio hemos pretendido observar la inevitable activación de la cascada inflamatoria que se produce en el contexto del trasplante pulmonar. Conocidas las graves consecuencias, inmediatas y a medio/largo plazo, que supone el desarrollo de la disfunción primaria del injerto sobre el implante pulmonar, comparado con otros órganos trasplantados, pensamos que es una “obligación preferente” estudiar a fondo este proceso para entender mejor su fisiopatología y poder así minimizarla al máximo en la medida de lo posible.

Así pues, en el presente trabajo hemos analizado una serie consecutiva de 49 trasplantes pulmonares desde Mayo de 2005 hasta Noviembre de 2007, durante este período se perdieron 13 pacientes, tres de ellos por tratarse de un trasplante cardiopulmonar y el resto por no obtenerse las muestras basales de los donantes ó receptores. Estas muestras basales de BAL y Sangre son fundamentales ya que los cálculos de las citocinas están realizados mediante la diferencia entre los niveles de los distintos tramos horarios con respecto a los valores basales, de esta forma evitamos cometer sesgos ya que un donante ó receptor en el momento del trasplante está sometido a una situación de stress ó con un proceso inflamatorio/infeccioso incipiente y presentar previamente niveles de citocinas elevados.

Según el protocolo del ensayo se mantuvo el iNO durante las primeras 48 horas posteriores a la reperfusión del injerto pulmonar pero esta premisa no se cumplió en todos los casos ya que sólo el 28,5% de los pacientes permanecían intubados transcurridos dos días del implante, por lo que las muestras de BAL de ese tramo horario sólo se pudieron extraer en estos enfermos y así el análisis comparativo entre los grupos fue más reducido y limitado en la medición de citocinas en BAL a las 48 horas.

Para ello, y teniendo en cuenta que los mecanismos que conducen a la dpi son complejos y que aún no han sido totalmente comprendidos, lo que parece estar muy claro es el desarrollo de una reacción inflamatoria con secuestro de neutrófilos polimorfonucleares en el pulmón injertado a los pocos minutos de la reperfusión, con la consecuente liberación de enzimas y radicales libres de oxígeno. Las citocinas parecen jugar un importante papel en la regulación de las interacciones entre los leucocitos circulantes y el parénquima pulmonar durante el daño producido en la reperfusión del injerto³²⁰.

La disfunción primaria del injerto (grado III de la ISHLT) apareció de forma global, en nuestra serie, en 19 de los 49 casos estudiados (38,8%). Porcentaje bastante elevado teniendo en cuenta que estamos evaluando el grado severo de dpi y que en las distintas series se manejan cifras entre el 11-57%³⁰⁻³³.

La particular sensibilidad del pulmón a las injurias producidas por la muerte cerebral del donante³²¹, la ventilación mecánica³²², tromboembolismos³²³, isquemia del órgano³²⁴, etc. derivan en la dpi.

La escasez de donantes con la resultante mortalidad de los pacientes en lista de espera precisa de la utilización creciente de órganos subóptimos y/o tiempos de isquemia prolongados que potencialmente incrementan la incidencia de dpi.

Daud y cols³²⁵ estudiaron 334 trasplantes pulmonares y encontraron una asociación entre la dpi y el desarrollo posterior de rechazo crónico (BOS)

con independencia del rechazo agudo, la bronquitis linfocítica y las infecciones virales, además esta asociación estaba muy relacionada con el grado de severidad de la disfunción. Fisher y cols^{96,97} certifican estos hallazgos.

Varias estrategias terapéuticas han sido empleadas en un intento de incrementar el período de isquemia del órgano, reducir la dpi, mejorar la función pulmonar y disminuir la morbi/mortalidad. Además de la prostaglandinas E1¹¹⁵, pentoxifilina²⁹⁴, etc., el iNO ha sido utilizado como profilaxis de la dpi por su efecto sobre los polimorfonucleares al inhibir la quimiotaxis, adherencia y activación leucocitaria³²⁶.

Nuestro **PRIMER OBJETIVO** era analizar, mediante el estudio comparativo de los grupos, si la adición de óxido nítrico al donante pulmonar previene la aparición de la disfunción primaria del injerto.

Para ello se determinaron los niveles de citocinas (IL-6, IL-8, IL10, TNF) en BAL y Sangre de donante en situación basal (Donante basal) y tras tres horas de tratamiento con óxido nítrico inhalado (Donante +3h iNO) previo a la extracción de los órganos. De esta forma podríamos comprobar si el pre-acondicionamiento del donante con iNO disminuía la cascada inflamatoria y el posterior desarrollo de dpi.

Para la IL-6 no existieron diferencias estadísticamente significativas ni para las muestras de BAL ($p = 0,715$), ni para las muestras de Sangre ($p = 0,686$).

Para la IL-8 se observan diferencias con una menor cifra en BAL tras tres horas de tratamiento con iNO ($p = 0,028$), en cambio no se demuestra ningún cambio de las cifras en Sangre ($p = 0,063$).

Para la IL-10, pese a que se reducen los valores tras tres horas de iNO, tampoco existen diferencias significativas en los valores tanto en BAL (0,068) como en Sangre (0,064).

Por último, las cifras de TNF permanecen prácticamente igual en BAL ($p = 0,128$) y en Sangre ($p = 0,207$) aunque los donantes hayan sido tratados con iNO.

En resumen, de las 8 comparativas de IL en BAL y Sangre en los donantes con el pre-acondicionamiento inicial con iNO, sólo existen diferencias significativas en el valor de IL-8 en BAL.

Por consiguiente no podemos afirmar que se reduzca la cascada inflamatoria de forma precoz con esta profilaxis y descartamos, según nuestra serie, un beneficio inmediato de la administración de iNO al donante en lo que concierne a la producción de citocinas pro y antiinflamatorias.

Quizás no se puede evaluar si existe atenuación de la reacción inflamatoria cuando todavía no se ha producido el trauma quirúrgico y de reperusión.

Posteriormente se compararan estos donantes que han recibido iNO con el resto de grupos (receptores con iNO y grupo control) para observar si existen diferencias en los distintos tramos horarios.

Diversos autores han estudiado la posibilidad de realizar un pre-acondicionamiento del pulmón donante en aras de mejorar la posterior función del injerto, la limitación de estos estudios fue la experimentación con animales.

Así el grupo de Bacha y Murakami^{327,328}, desde hace dos décadas, ya describían cómo el tratamiento con iNO en donantes (ratas y cerdos) con asistolia, prevenía la vasoconstricción pulmonar generada en la dpi y la adhesión de polimorfonucleares al endotelio.

Trabajos posteriores han corroborado estos hallazgos en animales³²⁹⁻³³³.

Okabayashi y cols³³⁴ sostienen que la terapia con iNO mejora la función incluso en pulmones con seis horas de almacenamiento/isquemia previo al implante.

El único artículo discordante data de 1996, donde Hausen y cols³³⁵ afirmaron que el iNO empeora la función en comparación con la prostaciclina cuando se administra de forma profiláctica previamente a la extracción de los pulmones en ratas.

Este tema sigue de plena actualidad, así se confirma por los estudios de Waldow, de este mismo año, en los que observa como el pre-acondicionamiento con iNO previene la dpi incluso en condiciones de hiperoxia³³⁶ en ratas y cerdos^{337,338}.

También Kandilci y cols³³⁹ llegaron recientemente a las mismas conclusiones.

Nuestro **SEGUNDO OBJETIVO** fue determinar, mediante el estudio comparativo de los grupos, si la administración de óxido nítrico al receptor pulmonar durante el intra y postoperatorio previene la aparición de la disfunción primaria del injerto.

En el grupo que fue tratado con iNO el donante y receptor (iNO don/recep) aparecieron sólo 2 casos de dpi (22,2%) frente a 7 casos sin dpi (77,8%).

El grupo que recibió iNO sólo el receptor (iNO recep) presentó 5 casos de dpi (25%) frente a 15 sin dpi (75%).

En el grupo donde no se administró iNO ni al donante ni al receptor (control) se observaron 12 casos de dpi (60%) frente a 8 sin dpi (40%).

Estas diferencias entre los tres grupos observados (iNO don/recep, iNO recep, control) son estadísticamente significativas con $p=0,040$.

Como se aprecia no existen diferencias entre el grupo iNO don/recep con respecto al grupo iNO recep ($p = 0,871$). Lo cual ratifica la conclusión a la que se llegó anteriormente: No obtienen beneficios administrando iNO de forma profiláctica al donante, si posteriormente también se pauta al receptor desde el inicio del implante.

Si agrupamos estos dos grupos (iNO don/recep, iNO recep) en uno, podemos llamarle grupo iNO, que englobará a aquellos pacientes que hayan recibido iNO al menos desde el inicio del trasplante y hasta 48 horas después.

Si ahora comparamos el grupo iNO respecto al control, aún encontramos mayor diferencia con respecto a la dpi ($p = 0,011$) con un Riesgo estimado de desarrollar dpi OR = 4,714 veces superior en el grupo control.

Por consiguiente, sí que existe un gran beneficio, en nuestra serie, al administrar iNO al receptor pulmonar porque parece estar relacionado con una disminución significativa de la incidencia de dpi severa.

Contrastando nuestros resultados con los artículos publicados al respecto, encontramos una gran disparidad de conclusiones. Los diversos autores consultados no se mantienen unánimes en afirmar ó rechazar que la inhalación de óxido nítrico pueda evitar y/o mejorar la dpi tras el implante pulmonar.

Así pues, la controversia persigue a este fármaco y son difíciles de demostrar sus efectos beneficiosos al tratarse de un tipo de trasplante donde múltiples factores entran en juego además del sistema inmunológico.

Kubes y cols³⁴⁰ en 1991 ya aseguran que el óxido nítrico modula la adhesión leucocitaria.

Tibballs y cols³⁴¹ ya cuentan con el iNO como una estrategia terapéutica en el trasplante pulmonar.

En 1994, el grupo de Adatia y cols¹¹⁰ ya afirman que mejora la hipertensión pulmonar y el intercambio gaseoso en el postoperatorio del trasplante pulmonar.

Macdonald y cols¹¹¹ junto a Date y cols¹⁰⁹ observan una mejoría significativa cuando se administra iNO en la dpi establecida.

Myles y cols³⁰⁰ demuestran que el uso de iNo en el trasplante pulmonar reduce la necesidad de entrada en CEC.

Estos hallazgos preliminares, aumentan el interés por el tema y se multiplican los ensayos en animales³⁴²⁻³⁴⁵, con resultados realmente alentadores.

Meyer y cols³⁴⁶ en 1998 publican en la revista Chest el potencial terapéutico que tiene el iNO en el contexto del trasplante pulmonar, basándose en su fisiología.

El grupo de trasplante pulmonar de Munich³⁴⁷ publica en 1998 un estudio en pacientes con dpi tras implante pulmonar a los que se les administra dosis bajas de iNO obteniéndose mejoría en los parámetros de oxigenación (aumentando la relación PO₂/FiO₂) y disminuyendo la HTP. La limitación del estudio fue el escaso número de pacientes (8 casos) y la ausencia de comparación con un grupo control.

Bigatello y cols³⁴⁸ defienden su uso en la HTP, TP y SDRA aunque se necesitan más ensayos clínicos para confirmarlo.

Fruto de la controversia existente, se publica en Diciembre de 2001 en el mismo número de la Journal Cardiothoracic Vascular Anesthesia, los argumentos a favor del uso rutinario del iNO en el trasplante pulmonar (Lang y cols³⁴⁹) y los argumentos en contra (McQuitty y cols³⁵⁰).

Thabut y cols²⁹⁴ en 2001 publican un ensayo muy parecido a nuestro estudio. Ellos administraron iNO a 10 ppm + pentoxifilina durante la reperfusión de 23 trasplantes pulmonares comparándolos con un grupo control extenso que no recibió ningún fármaco, de forma retrospectiva. Sus resultados son muy parecidos a los observados por nosotros con una diferencia significativa, a favor del grupo iNO, en la incidencia de dpi (26% vs 56%), la relación PO₂/FiO₂, los días de ventilación mecánica y la mortalidad a los dos meses.

Por tanto, dados los resultados, concluyen que el iNO y la Pentoxifilina protegen frente a la dpi en el postoperatorio inmediato del trasplante pulmonar.

Ardehaly y cols²⁹⁸ describen, ese mismo año, un estudio sobre 28 trasplantes pulmonares consecutivos que recibieron iNO 20 ppm desde el momento de la reperfusión y fue retirado en períodos de 15 minutos a las 6 y a las 12 horas con medición de los parámetros respiratorios y hemodinámicos.

El 18% de los pacientes desarrolló dpi (una diferencia no significativa con respecto a sus porcentajes habituales sin iNO) y se mantuvo el iNO hasta el fin de la ventilación mecánica.

La retirada del iNO, durante 15 minutos, provocó un aumento en la PAPm y un descenso de las oxemias de forma significativa. Ningún paciente de este grupo precisó CEC y la mortalidad precoz fue del 20%.

Así pues, se concluye, que el iNO no previene la aparición de dpi del trasplante pulmonar en humanos pero sí que mejora el intercambio gaseoso y reduce la HTP en aquellos pacientes que sufren una dpi.

Posteriormente, Karamsetty y cols³⁵¹, aseguran que el iNO es más que un simple vasodilatador en el trasplante pulmonar porque reduce todos los efectos dañinos que produce la lesión por isquemia/reperfusión tales como el daño endotelial, el aumento de la resistencia vascular pulmonar, la activación de polimorfonucleares con liberación de citocinas y la apoptosis, alteraciones que a largo plazo favorecerán la presencia de rechazo.

Cornfield y cols³⁵² afirman, tras tratar a 14 trasplantados pulmonares con iNO 20 ppm, respecto a un grupo control histórico que, aunque no se modifica la incidencia de dpi sí que se aprecia una disminución ostensible de la incidencia de rechazo a las 4 semanas con una menor estancia hospitalaria. Por tanto le atribuyen un efecto inmunomodulador.

Taylor y cols²⁴³ sostienen que la administración de iNO mejora las oxemias pero no aporta beneficios en la duración de la ventilación mecánica ni en la mortalidad.

Varios artículos de revisión^{215,234,353} coinciden en señalar el iNO como una terapia útil sobre todo en aquellos casos de dpi con hipoxemia y/o HTP.

Por último, dentro de los defensores del uso del iNO en el trasplante pulmonar se encuentran George y cols³⁵⁴ que realizaron un estudio sobre 376 pacientes tratados con iNO y que fueron sometidos a trasplante cardíaco, pulmonar, cirugía cardíaca ó presentaban hipoxemia por enfermedad respiratoria crónica. Se evidenció que el mayor descenso en la mortalidad, al aplicar esta terapia, se produjo en los grupos de trasplante cardíaco y pulmonar.

Otros autores han dudado del efecto beneficioso del iNO en el trasplante pulmonar como profilaxis y/o tratamiento de la dpi y así Eppinger y cols¹¹³, ya en 1995 estudian en ratas los efectos del iNO y afirman que podría ser tóxico en la reperfusión precoz por su interacción con el superóxido pero que puede tener un efecto protector a partir de las 4 horas de reperfusión porque revierte la hipoperfusión pulmonar postisquemia y reduce el secuestro de neutrófilos.

Meade y cols²⁹⁹ publican en 2003 el artículo más serio y demoledor en contra del uso del iNO para prevenir la dpi en el trasplante pulmonar.

Realizaron un ensayo doble ciego, comparativo con placebo, sobre 84 pacientes, con administración de iNO (20 ppm) 10 minutos tras la reperfusión y hasta 6 horas después, donde observaron ausencia de beneficios en porcentaje de dpi severa (22%iNO vs 19%control), oxigenación, tiempo de extubación y mortalidad a los 30 días.

Como puntos débiles del estudio se encuentra la demora de 10 minutos desde el inicio de la reperfusión según las hipótesis de Eppinger¹¹³ (quizás este tiempo fue suficiente para iniciar la cascada inflamatoria), la dosis empleada de iNO pudo ser demasiado alta y parece que el uso de bajas dosis mejora el rendimiento del fármaco³⁵⁵, el ensayo no fue ciego totalmente y además la relación $PO_2/FiO_2 < 150$, empleada para definir la dpi severa difiere de la consensuada por los expertos^{1,2} ($PO_2/FiO_2 < 200$).

Valiño y cols³⁵⁶ observan que el uso del iNO tras el trasplante pulmonar resulta perjudicial para el surfactante pulmonar y empeora la oxigenación arterial.

Perrin y cols³⁵⁷, recientemente describen que el uso de iNO desde la reperfusión del implante pulmonar no mejora las cifras de agua pulmonar extravascular ni las cifras de oxigenación por lo que concluyen que la utilización de este fármaco no previene ni mejora el edema pulmonar.

Otros autores han buscado, recientemente, medidas profilácticas y terapéuticas distintas como el uso de aprotinina^{125,358} que parece mejorar los resultados postoperatorios y reducir la incidencia de dpi.

También se publicó hace poco la necesidad de emplear una ventilación y reperfusión “protectora” para evitar el daño con volúmenes bajos y sostenidos³⁵⁹.

El monóxido de Carbono también ha sido empleado recientemente como tratamiento de la HTP³⁶⁰ y podría reducir la incidencia de dpi en ratas³⁶¹.

Nuestro **TERCER OBJETIVO** era: Constatar, mediante el estudio comparativo de los grupos, si existen diferencias en los parámetros hemodinámicas pulmonares y sistémicos.

Encontramos diferencias muy significativas al comparar la **PAPm** a las 12 horas, según si habían recibido iNO (25,29±2,853) ó grupo control (30,85±2,739) con p=**0,000**. También hubo mucha diferencia en este período entre los que habían sufrido dpi (29,71±3,552) respecto a los que no (25,96±3,425) con p=**0,001**.

Las diferencias en las cifras de PAPm a las 24 horas fueron similares al tramo horario anterior y así para el grupo iNO (24,45±2,252) vs control (28,75±2,381) con p=**0,000**, y con respecto a la dpi (28,10±2,587) vs no dpi (24,89±3,030) con p=**0,000**.

A las 48 horas encontramos para la PAPm del grupo iNO ($23,43 \pm 2,686$) vs control ($27,30 \pm 2,055$) con $p=0,000$, y para la dpi ($26,57 \pm 2,204$) vs no dpi ($23,85 \pm 3,195$) con $p=0,001$.

Así pues podemos concluir que, en nuestra serie, sí hubo beneficio al administrar iNO como vasodilatador pulmonar específico al reducir los valores de PAPm en todos los tramos horarios.

Además se comprueba que durante la dpi existe un daño pulmonar con edema que eleva la PAPm de forma significativa.

Los niveles de **RVP** a las 12 horas en el grupo iNO fueron ($117,36 \pm 27,937$) vs el control ($152,55 \pm 16,395$) con $p=0,000$, y para la dpi ($113,89 \pm 24,738$) vs no dpi ($155,33 \pm 14,881$) con $p=0,000$.

A las 24 horas la RVP en iNO ($120,00 \pm 24,352$) vs el control ($152,80 \pm 21,289$) con $p=0,000$, y para la dpi ($116,00 \pm 20,012$) vs no dpi ($156,38 \pm 19,366$) con $p=0,000$.

La RVP a las 48 horas en el grupo iNO ($110,39 \pm 24,116$) vs el control ($142,45 \pm 14,351$) con $p=0,000$, y para la dpi ($109,26 \pm 22,010$) vs no dpi ($142,38 \pm 17,394$) con $p=0,000$.

Por lo tanto se aprecia en nuestro estudio cómo las RVP son inferiores en el grupo iNO con respecto al control de forma significativa.

También aparece la RVP superior en el grupo que desarrolla dpi de forma lógica.

En cambio, no encontramos diferencias en la comparación del Gasto Cardíaco según el grupo de estudio ni según la dpi, estos hallazgos confirman el carácter local sobre la vasculatura pulmonar que ejerce el iNO.

Estos resultados vienen a refrendar los obtenidos por multitud de investigadores^{110,215,234,283-286,298,327,328,347,348,351,353,362} sobre el papel que ejerce el iNO como vasodilatador pulmonar específico sobre la PAPm y RVP en el perioperatorio del trasplante pulmonar u otra patología respiratoria.

El **CUARTO OBJETIVO** consistía en: Comprobar, mediante el estudio comparativo de los grupos, si hay cambios en el intercambio gaseoso si se administra óxido nítrico.

La relación **PO₂/FiO₂** a las 12 horas del grupo iNO fue significativamente superior que la encontrada en el grupo control (p=**0,003**).

A las 24 horas la PO₂/FiO₂ de iNO también se mostró muy inferior al grupo control (p=**0,002**).

En cambio a las 48 horas no encontramos diferencias en los valores de PO₂/FiO₂ entre el grupo iNO y el control (p=0,18).

Por lo tanto, la administración de iNO, en nuestra serie, aumentó la relación PO₂/FiO₂ en el grupo que recibió iNO de forma significativa al menos durante las primeras 24 horas tras la reperusión.

No realizamos el estudio comparativo entre el grupo que sufrió dpi y el que no la presentó ya que por definición esta patología requiere una relación PO₂/FiO₂ baja.

El nivel de monóxido de Carbono (CO₂) fue analizado a las 12 horas comparando el grupo iNO y el control, sin encontrar diferencias valorables (p=0,61).

A las 24 horas las cifras de CO₂ con iNO fueron significativamente inferiores a las del grupo control (p=0,016).

Transcurridas 48 horas también aparece menores cifras de CO₂ al recibir iNO que en el control (p=0,023).

Comparando ahora los valores de CO₂ dependiendo si se desarrolla dpi encontramos que existe relación entre hipercapnia y dpi a las 24 horas (p=0,001) y a las 48 horas (p=0,009), pero no a las 12 horas (p=0,161).

Se demuestra así, según nuestros resultados, que el iNO mejora la oxigenación y el intercambio gaseoso al reducir las cifras de CO₂ a partir de las primeras 24 horas.

También comprobamos como en la dpi existe una tendencia a la hipercapnia a partir de las primeras 24 horas.

Cuantiosos son los artículos^{110,215,234,243,288-291,294-298,302-305,308-313,347,348,353,356} que atribuyen al uso de iNO una mejoría inmediata en las oxemias por lo que su uso en la insuficiencia respiratoria global está más que justificado

tanto en el trasplante pulmonar como en el distress respiratorio del adulto ó cualquier otra patología que curse con hipoxemias.

El **QUINTO OBJETIVO** fue: Cuantificar, mediante el estudio comparativo de los grupos, los niveles de citocinas pro y antiinflamatorias para observar si el óxido nítrico reduce o no esta cascada.

Para ello se determinaron los niveles de citocinas en BAL y Sangre de los receptores a las 12, 24 y 48 horas posteriores a la reperfusión del injerto. Estas cifras ($\mu\text{g}/\text{ml}$ en caso de niveles en sangre y $\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína en caso de BAL) fueron ajustadas por la diferencia respecto a los niveles basales que presentaban en el momento de la intubación, antes de iniciar el trasplante.

Se calcularon los valores dependiendo del grupo (iNOdon/recep, iNO recep, control) y el desarrollo o no de dpi.

En todos los casos, existió una gran significación ($p < 0,001$) cuando se compararon los valores basales respecto a las distintas muestras horarias en todas las citocinas estudiadas, respecto a todos los grupos y desarrollaran o no dpi. Esto se debe a la gran respuesta inmunitaria que conlleva la realización de un implante pulmonar.

Para la **IL-6** se detectó una diferencia estadísticamente significativa, con niveles inferiores en los grupos que fueron tratados con iNO respecto al control ($p = 0,006$) de las muestras de Sangre a las 12 horas.

El resto de tramos horarios en BAL y Sangre no evidenció significación ($p < 0,05$) aunque los valores de IL-6 en los grupos tratados con iNO fueron inferiores siempre al grupo control.

Estos hallazgos preliminares fueron publicados¹⁵¹ en 2007 en la revista *Transplantation*.

En lo que respecta a la dpi, se hallaron valores significativamente superiores en los niveles de IL-6 en Sangre ($p = 0,026$) y BAL ($p = 0,025$) a las 12 horas.

A las 24 y 48 horas no hubo diferencias según el desarrollo de dpi.

Podemos concluir que, en nuestro estudio, el empleo de iNO redujo la producción de IL-6 en Sangre y BAL durante todo el tiempo de administración (con máxima diferencia en sangre a las 12 horas).

El pico de liberación de IL-6 declinó a partir de las primeras 24 horas en BAL y a las 12 horas en Sangre de todos los grupos.

El grupo que desarrolló dpi presentó valores más elevados de IL-6 tanto en BAL como en Sangre especialmente a las 12 horas, lo cual confirma que la liberación de esta citocina aumenta la inflamación y el daño tisular que se produce durante la dpi.

La IL-6 demuestra ser un excelente marcador de la “respuesta inflamatoria generalizada precoz” que se produce durante el trasplante pulmonar y con mayor virulencia si se desarrolla una dpi.

En la **IL-8** se apreciaron valores inferiores en los grupos iNO a las 12 horas en BAL ($p=0,017$) y Sangre ($p=0,011$), y también a las 24 horas en BAL ($p=0,005$) y Sangre ($p=0,009$).

A las 48 horas no se detectaron diferencias entre los grupos analizados.

Se aprecia claramente como la IL-8 se comporta como una citocina local y sistémica con máxima liberación en Sangre a las 12 horas y BAL a las 24 horas sobre todo si no se administra iNO.

Los pacientes que sufrieron dpi presentaron una diferencia suficiente en las cifras de IL-8, respecto al grupo sin dpi, en las muestras de BAL ($p=0,009$) y Sangre ($p=0,034$) a las 12 horas y BAL ($p=0,043$) a las 24 horas.

Por tanto, la presencia de niveles elevados de IL-8 se correlaciona con el desarrollo de dpi al menos hasta las primeras 24 horas de la reperfusión. Se demuestra así que está implicada en el desarrollo de la dpi por su capacidad en el reclutamiento de neutrófilos en las vías aéreas y su acción mediadora en la producción de otras citocinas.

Los valores de **IL-10** fueron inferiores en los grupos con iNO a las 12 horas en Sangre ($p=0,029$), y también a las 24 horas en Sangre ($p=0,012$) y BAL ($p=0,027$).

En el resto de horarios también existieron niveles más bajos para el grupo iNO aunque no fueron significativos.

El pico máximo de liberación de IL-10 se produjo a las 12 horas en todos los grupos.

La valoración de esta citocina es compleja debido a su carácter anti-inflamatorio. Su máxima liberación se produce en respuesta a una agresión con activación del sistema inmunitario por lo que si se detectan valores más bajos, no es que no exista respuesta, si no que quizás esta agresión ha quedado atenuada por la administración de un fármaco como el iNO.

La comparación de cifras de IL-10 con respecto a la dpi, destacó una diferencia con valores más altos en el grupo de disfunción a las 12 horas en Sangre ($p=0,044$) y también en el resto de horarios en Sangre y BAL aunque sin significación.

Estos datos refrendan el carácter anti-inflamatorio con liberación dirigida a paliar la respuesta a la disfunción incipiente.

Por último, los valores de **TNF-RI** detectados fueron inferiores para los grupos con iNO en BAL a las 12 horas ($p=0,007$) y a las 24 horas ($p=0,047$).

Esta citocina pro-inflamatoria inespecífica presentó un carácter local con un pico máximo a las 12 horas y un posterior declive exponencial.

Los grupos que recibieron iNO presentaron niveles más bajos de TNF-RI especialmente en BAL.

En cambio, las cifras de TNF-RI resultaron significativamente superiores en el grupo que presentó dpi a las 12 horas en Sangre ($p=0,045$) y también en BAL aunque sin diferencia suficiente.

Encontramos menos diferencia en esta citocina quizás por su carácter más inespecífico de inflamación generalizada.

En conclusión, para los análisis de citocinas en general, podemos decir que: existe una elevación de de las mismas durante las primeras horas posteriores a la reperfusión y este ascenso está relacionado con la administración de iNO y el posterior desarrollo de dpi.

Diversos autores han relacionado la dpi con la liberación de mediadores inmunitarios desde hace tiempo. Si el iNO reduce o no esta cascada ha sido objeto de abierta polémica y aún se precisan estudios más amplios para demostrar esta teórica y lógica acción, dado su mecanismo de acción.

En 1992, Pham y cols¹⁶⁶ dividen a los trasplantados pulmonares en dos grupos según sus niveles de IL-6 en Sangre a las 4 y 24 horas tras la reperfusión. El grupo I, que representaba a aquellos con mayores niveles de IL-6, presentó una intubación más prolongada, una menor relación PO₂/FiO₂ y mayor presencia de dpi con menor supervivencia del injerto.

Posteriormente, Serrick y cols¹⁶⁵ demuestran que la reperfusión de un pulmón isquémico produce una rápida liberación de citocinas en BAL a las 4 horas, incluyendo IL-2, TNF- α e Interferón- γ .

Sekido y cols³⁶³ previnieron la dpi en conejos con un anticuerpo monoclonal contra la IL-8, demostrando la gran liberación de ésta en el daño de isquemia/reperfusión.

El grupo de Whitehead y cols³⁶⁴ estudiaron las distintas citocinas liberadas en BAL tras el implante pulmonar y su relación con el rechazo y la infección.

Cuthbertson y cols³⁶⁵ comprobaron como la combinación de iNO y superóxido disminuían los valores de IL-8 que aparecía aumentada si existe daño pulmonar.

Meldrum y cols³⁶⁶ aseguran en 1998 que el óxido nítrico disminuye la producción de citocinas inflamatorias por los macrófagos alveolares según un estudio realizado en animales.

Mal y cols³⁶⁷ encontraron una elevación significativa de citocinas en aquellos trasplantes pulmonares que desarrollaron un bajo gasto hemodinámico precoz en el postoperatorio.

En 2001, el estudio de Fisher y cols⁵³ fue muy interesante porque determinó los niveles de IL-8 en BAL y biopsia pulmonar de 26 donantes pulmonares y evidenció una mayor incidencia de dpi y mayor mortalidad en los receptores si las cifras de IL-8 en el donante eran elevadas.

de Perrot y cols⁵² analizaron diversas citocinas en 18 trasplantes pulmonares consecutivos y observaron como la elevación de la IL-8 tras la

reperfusión estaba relacionada con peores resultados en la PO₂/FiO₂, las presiones en la vía aérea, APACHE, tiempo de estancia en UCI...

En varios estudios^{170,368} se demostró que la adición de fármacos que inhiban la adhesión leucocitaria, durante el implante pulmonar, disminuye la liberación de IL-8 y con ello mejora la función pulmonar.

En 2005, Gómez y cols⁴ estudiaron a 22 trasplantes pulmonares en cerdos que asignaron en dos grupos. En el primero se administró iNO 20 ppm treinta minutos previo a la extracción y esta terapia mejoró la hemodinámica pulmonar, el intercambio gaseoso y además se relacionó con menores niveles de IL-8 y dpi con respecto al grupo control.

Este mismo año los grupos de Miyajima y cols³⁶⁹ y Hodge y cols³⁷⁰ cuantifican la respuesta de citocinas tras el implante pulmonar y su relación con el régimen de inmunosupresión.

Mathur y cols³⁷¹ publican en 2006 la relación entre el desarrollo de dpi y los niveles de citocinas en sangre basales y a las 4, 8 y 24 horas tras la reperfusión del trasplante pulmonar. Las concentraciones de TNF α , IL-6, IL-8 e IL-10 fueron determinadas en estos tramos horarios.

Y así, encontraron que los pacientes que desarrollaron grados más severos de dpi presentaban niveles de citocinas significativamente superiores, especialmente la IL-6. La toma de muestras tanto en sangre arterial sistémica como en sangre de arteria pulmonar permitió comprobar cómo el origen de la producción de citocinas era pulmonar.

Últimamente, varios autores han relacionado la liberación de diversas citocinas como la IL-15³⁷² ó la IL-17³⁷³ en la aparición de Rechazo Agudo en el postoperatorio del trasplante pulmonar.

Por último, Botha y cols³⁷⁴ realizan un estudio sobre 20 trasplantes pulmonares a los que se administra iNO 20 ppm ó una mezcla de gases anestésicos desde el comienzo de la ventilación.

Se practicaron BAL inmediatamente antes del implante y 30 minutos tras la reperfusión.

Se concluyó, mediante el análisis comparativo de los grupos, que el grupo que recibió iNO 30 minutos tras la reperfusión no presentó menor incidencia de dpi ni mejor intercambio gaseoso. No se modificó tampoco el secuestro pulmonar de neutrófilos ni los niveles de IL-8.

Este estudio está limitado, además del escaso número de pacientes, por el hecho de que transcurridos los primeros 30 minutos de terapia o no con iNO, la continuación de este tratamiento quedaba a criterio de los anestesiistas responsables lo que motivó que a 8 pacientes (del total de 10) en el grupo control se les administrará iNO lo que se traduce en una distorsión de los resultados en lo que respecta a la aparición o no de dpi que hay que observarla con un margen de 72 horas.

La profilaxis de la dpi con sólo 30 minutos de iNO tras la reperfusión parece insuficiente para prevenir la disfunción, mejorar la oxigenación y/o rebajar los niveles de IL-8.

El **SEXTO OBJETIVO** consistía en: Estudiar, mediante el estudio comparativo de los grupos, aquellos factores de riesgo que incrementan la aparición de dpi y comprobar que no existe ninguna variable de confusión en el análisis de estos datos.

Al margen de las citocinas, pensamos que sería interesante determinar cuáles son los factores de riesgo asociados, que favorecen la aparición de dpi, durante el transcurso del implante pulmonar para intentar actuar sobre ellos.

Para ello, se enumeraron todas aquellas variables que habían mostrado una relación significativa respecto al desarrollo de dpi en el análisis simple:

- Pacientes tratados con iNO vs control,
- CEC (si ó no),
- Tiempo de Isquemia 1º pulmón (punto de corte = media aritmética = 216 minutos,
- Tiempo de intubación (punto de corte = media aritmética = 43 horas),
- Exitus(si o no),

Se introdujeron en una regresión logística binaria para determinar el riesgo de dpi, descartando aquellas que el análisis multivariante no muestran significación, con resultado de:

- 1) El grupo no tratado con iNO presentó 51 veces mayor riesgo de sufrir una dpi que el grupo control.
- 2) Los pacientes que precisaron el empleo de CEC durante el trasplante tienen 137 veces mayor riesgo de desarrollar una dpi.
- 3) Un tiempo de isquemia del primer pulmón injertado mayor de 216 minutos supuso 14 veces mayor riesgo de padecer una dpi postoperatoria.

$$\text{Logit}(p) = -0,347 + 3,949x(\text{grupoiNO}) + 4,922x(\text{CEC}) + 2,670x(\text{TIsquem})$$

Así pues, este modelo de predicción posee un poder de discriminación del 93% según el área bajo la curva.

Estos resultados nos muestran cómo estos tres factores de riesgo, en nuestra serie, resultaron claramente relacionados con el posterior desarrollo de dpi.

La administración de iNO es posible durante el implante pulmonar y los primeros días postoperatorios y la reducción del tiempo de isquemia se puede lograr si se coordinan mejor los equipos de extracción y los pulmones donantes no vienen de demasiado lejos.

En cambio sobre la necesidad de entrada en CEC es difícil actuar dada la inestabilidad hemodinámica que presentan estos pacientes durante la ventilación unipulmonar.

Múltiples autores han buscado estos factores de riesgo asociados a la aparición de dpi y así, Thabut y cols³⁷ observaron que el tiempo de isquemia, la edad, la relación PO₂/FiO₂ y el fallo hemodinámico estaban relacionados con la disfunción.

Christie y cols³¹ establecieron que el diagnóstico de HTP, raza del donante afro-americana, sexo mujer del donante y edad del donante estaban independientemente asociadas con el desarrollo de dpi.

Para Whitson y cols³⁷⁵, según un estudio retrospectivo, las variables de riesgo son la edad del donante, la HTP del receptor y los trasplantes realizados en una era anterior.

Recientemente Prekker y cols³⁷⁶ concluyeron que en aquellos casos de dpi severa en el momento de ingreso en UCI, si no existe una mejoría en la

relación $PO_2/FiO_2 > 20\%$ durante las primeras 12 horas, se correlaciona con peores resultados.

Saitoh y cols³⁷⁷ reconocen que el uso de CEC tiene efectos negativos sobre el injerto pero, si se usa ultrafiltración durante el by pass, se reduce la respuesta inflamatoria.

El **SÉPTIMO OBJETIVO** fue: Calcular, mediante el estudio comparativo de los grupos, la mortalidad y observar mediante análisis de supervivencia su relación con el tratamiento con iNO y la dpi.

En nuestra serie encontramos una mayor supervivencia en el grupo iNO (65,5%) con respecto al control (45%) sobre un total de 57,1%. Nuestro estudio presentó, por tanto, una mortalidad global del 42,9% a los 36 meses de seguimiento. La curva de supervivencia del grupo iNO siempre se mantuvo superior al grupo control desde el momento del implante hasta el final del período de seguimiento.

Por lo tanto se aprecia cómo la terapia con iNO no sólo tuvo efectos inmediatos de mejoría en la oxigenación, hemodinámica pulmonar, reducción de la cascada inflamatoria y prevención de la dpi, si no que mejoró la supervivencia a largo plazo.

Se observó una mayor supervivencia en el grupo sin dpi (66,7%) con respecto al que sufrió dpi (42,1%) sobre un total de 57,1%. La curva de supervivencia del grupo que sufrió dpi siempre se mantuvo inferior con respecto al grupo sin dpi, desde el momento del implante hasta la finalización del período de seguimiento.

Ante lo cual se confirman los efectos nocivos inmediatos y a largo plazo que supone la aparición de la dpi en el trasplante pulmonar.

Diversos autores han analizado el ascenso en la mortalidad debido a la dpi y así el grupo de Christie³⁴ concluye que la dpi tiene un significativo impacto en la mortalidad, tiempo de estancia hospitalario y duración de la ventilación mecánica tras el implante pulmonar. Además sostienen que los supervivientes de una dpi tienen un elevado riesgo de muerte durante el primer año post-trasplante.

Por último, Whitson y cols³⁷⁵ manifiestan que el desarrollo de dpi severa en el postoperatorio precoz afecta de forma negativa a la supervivencia a largo plazo, al tiempo libre de Rechazo crónico y a la función pulmonar de los trasplantados pulmonares que sobreviven al periodo peri-operatorio.

Nuestro **OCTAVO OBJETIVO** era: Observar, mediante el estudio comparativo de los grupos, si éstos son homogéneos y se distribuyen normalmente.

Para ello contábamos con el hándicap importante de tener tres grupos de estudio con distinto número de individuos: iNO don/recep (9), iNO recep (20) y control (20). Por esto, tuvimos que realizar pruebas de normalidad e igualdad de varianzas para cada variable y determinar según estos tests, el análisis estadístico más preciso en cada caso.

Cabe destacar que los datos demográficos se distribuyen de forma homogénea entre los grupos lo que conlleva evitar sesgos y variables confusoras en los análisis a realizar.

Las variables que no mostraron diferencia alguna entre los grupos tanto en la terapia o no con iNO o el desarrollo o no de dpi fueron: el sexo, la edad >/< 50 años, la etiología de la insuficiencia respiratoria y el tipo de trasplante.

Es importante destacar que no hubo diferencia entre los grupos que recibieron iNO y el control con respecto a la entrada en CEC y el tiempo de isquemia del primer pulmón, y que sí la hubo muy significativa con respecto a la dpi.

Así se demuestra que no existía ningún factor de riesgo, en nuestra serie, que marcara “a priori” una mayor probabilidad de dpi entre los grupos en los que se estudió la terapia con iNO.

LIMITACIONES DE ESTE ESTUDIO

Nunca es fácil realizar estudios en trasplantes, sobre todo si quieres recoger muestras tanto en el donante como en el receptor. Esto supone un gran esfuerzo humano, de colaboración y compañerismo.

El carácter de urgencia, para reducir en lo posible las horas de isquemia y la apatencia por el horario nocturno, hacen del trasplante pulmonar uno de los más duros pero a la vez apasionante.

Con todo esto quiero decir que, pese a la intención inicial de recoger todos los datos de las distintas variables y todas las muestras de todos los tramos horarios, no se pudo conseguir al 100%, y existen algunas cifras perdidas.

La pérdida de datos correspondió fundamentalmente a las muestras de BAL correspondientes al período de 48 horas tras la reperfusión. En este tramo horario la mayoría de pacientes ya permanecían extubados y no se pudieron extar las secreciones respiratorias.

Se consideró requisito indispensable para incluir a un paciente en el estudio la obtención completa de los niveles basales para poder así estudiar su diferencia respecto a cada tramo horario.

Como ya hemos comentado previamente, aunque los tres grupos no tenían igual número de pacientes, esta circunstancia fue corregida realizando test estadísticos no paramétricos en algunas ocasiones. En el estudio de supervivencia se agrupó a los pacientes en dos grupos según recibieran los receptores iNO o no.

El presente estudio no fue randomizado ni multicéntrico ni doble ciego aunque sí fue prospectivo, de grupos paralelos, controlado y de diseño abierto.

La elevación de los niveles de citocinas y su posible relación con el desarrollo de dpi podría estar confundida por la aparición de otros factores que también activan la cascada inflamatoria tales como la presencia de Rechazo Agudo y/o infección.

Para evitar estos factores de interacción se rechazaron varios pacientes con infección activa o sospecha elevada de rechazo agudo (aunque la clínica de este síndrome es difícil de diferenciar de la dpi y su diagnóstico certero requiere de biopsia bronquial).

La definición de dpi es algo inespecífica en lo referente a la presencia de infiltrados en la RX de torax, no discierne entre un grado ligero o severo, unilateral o bilateral.

Nosotros incluimos en el mismo estudio tanto los trasplantes unipulmonares como los bipulmonares teniendo en cuenta que se encuentran distribuidos entre los grupos de forma homogénea y tampoco existen diferencias respecto al desarrollo de dpi.

La dosis elegida de terapia con iNO es 10 ppm, es una dosis en el límite inferior para un efecto eficaz y suficiente. Evitando así los posibles efectos adversos que pudieran aparecer si la elevamos. La retirada fue gradual evitando el efecto rebote.

Cada concentración de citocina fue corregida por su nivel basal expresando el resultado en $\mu\text{g/ml}$ en las muestras de Sangre y $\mu\text{g/mg}$ de proteína en las muestras de BAL para distinguir entre muestras diluidas y concentradas.

El análisis de supervivencia se realizó a largo plazo para observar la evolución en el tiempo de los distintos grupos aunque en la gráfica también se aprecian los resultados precoces tras el implante. Estos resultados deben valorarse de manera cautelosa porque pueden existir circunstancias ajenas e

independientes de exitus como por ejemplo una hemorragia cerebral. Aunque a largo plazo está demostrado que el desarrollo de dpi supone mayor riesgo de presentar Rechazo Crónico que finalmente es la causa principal de mortalidad en el tiempo.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en nuestro estudio sobre el uso de iNO en donantes y receptores pulmonares concluimos que:

1. Descartamos, según nuestra serie, un beneficio inmediato de la administración profiláctica de iNO al **donante** en lo que concierne a la producción de citocinas pro y antiinflamatorias.
2. Sí que existe un gran beneficio, en nuestro estudio, al administrar iNO al **receptor** pulmonar porque está relacionado con una disminución significativa de la incidencia de dpi severa con respecto al grupo control.
3. También se observó en el grupo de receptores con iNO menores cifras en la PAPm, la RVP, el CO₂ y aumento de la relación PO₂/FiO₂ con respecto al grupo control.
4. El empleo de iNO redujo la producción de IL-6 en Sangre a las 12 horas. El grupo con dpi presentó valores más elevados de IL-6 en BAL y Sangre especialmente a las 12 horas.
5. La IL-8 presentó máxima liberación en Sangre a las 12 horas y en BAL a las 24 horas en los receptores sin iNO. La presencia de niveles elevados de IL-8 se correlacionó con el desarrollo de dpi al menos hasta las primeras 24 horas de la reperfusión.
6. Los valores de IL-10 fueron inferiores en los grupos con iNO a las 12 horas en Sangre y también a las 24 horas en Sangre y BAL. Con

respecto a la dpi, destacó una diferencia con valores más altos en el grupo de disfunción a las 12 horas en Sangre.

7. Los grupos que recibieron iNO presentaron niveles más bajos de TNF-RI especialmente en BAL a las 12 y 24 horas. Las cifras de TNF-RI resultaron significativamente superiores en el grupo que presentó dpi a las 12 horas en Sangre.
8. En nuestra serie encontramos una mayor supervivencia en el grupo iNO con respecto al control. Se observó una mayor supervivencia en el grupo sin dpi con respecto al que sufrió dpi.

En definitiva, hemos evidenciado cómo el empleo de iNO en el receptor de trasplante pulmonar aporta importantes beneficios en la inhibición de la cascada inflamatoria y en la evolución clínica a corto y medio plazo por lo que parece razonable su uso protocolizado como componente del tratamiento habitual de estos pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Christie JD, Van Raemdonck D, de Perrot M, Barr M, Keshavjee S, Arcasoy S, Orens J; ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction part I: introduction and methods. *J Heart Lung Transplant*. 2005 Oct;24:1451-1453.
2. Christie JD, Carby M, Bag R, Corris P, Hertz M, Weill D; ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction part II: definition. A consensus statement of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2005 Oct;24:1454-1459.
3. George I, Xydas S, Topkara VK, Ferdinando C, Barnwell EC, Gableman L. Clinical indication for use and outcomes after inhaled nitric oxide therapy. *Ann Thorac Surg*. 2006 Dec;82:2161-2169.
4. Gómez CB, del Valle HF, Bertolotti A, Negroni JA, Cuniberti L, Martínez V. Effects of short-term inhaled nitric oxide on interleukin-8 release after single-lung transplantation in pigs. *J Heart Lung Transplant*. 2005 Jun;24:714-722.
5. International guidelines for the selection of lung transplant candidates. The American Society for Transplant Physicians (ASTP) / American Thoracic Society (ATS) / European Respiratory Society/ (ERS) / International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158: 335-339.
6. Salvatierra A. y Grupo de Trasplante Pulmonar Reina Sofía de Córdoba. Trasplante pulmonar en España. *Arch Bronconeumol* 2004;40:41-48.
7. Organización Nacional de Trasplantes. Ministerio de Sanidad y consumo (España). Estadística de donación y trasplantes. Disponible en: <http://www.msc.es>

8. Calvo V. Selección y mantenimiento del donante pulmonar. En: Calvo V, editor. El trasplante pulmonar. Valencia: Generalitat Valenciana. Consellería de Sanitat, 2001. p. 33-44.
9. Maurer Jr, Frost AE, Estenne M, Higenbottam T, Glanville AR. International guidelines for the selection of lung transplant candidates. The International Society for Heart and Lung Transplantation, the American Thoracic Society, the American Society of Transplant Physicians, the European Respiratory Society. *Transplantation* 1998;66:951-956.
10. Smith CM. Patient selection, evaluation and preoperative management for lung transplant candidates. *Clin Chest Med* 1997;18:183-197.
11. Patterson GA. Indications. Unilateral, bilateral, heart-lung and lobar transplant procedures. *Clin Chest Med* 1997;18:225-230.
12. Minai OA, Maurer JR, Kesten S. Comorbidities in end-stage lung disease. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:89-93.
13. Kanasky WF, Anton SD, Rodrigue JR. Impact of body weigh on long-term survival alter lung transplantation. *Chest* 2002;121:401-406.
14. Trulock EP, Edwards LB, Taylor DO, Boucek MM, Mohacsi PJ, Keck BM. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twentieth official adult lung and heart-lung transplant repot-2003. *J Heart Lung Transplant* 2003; 22: 625-635.
15. Clelland C, Higenbottam T, Stewart S, Otulana B, Wreghitt T, Gray J. Bronchoalveolar lavage and transbronchial lung biopsy during acute rejection and infection in heart-lung transplant patients. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147:1386-1392.
16. Rodríguez NS, Barrasa JL, González MA, García AL, Caballero JA, García AT. Assessment of ischemia-reperfusion injury and early acute rejection in

- experimental lung transplantation after prolonged ischemia. Arch Bronconeumol. 2007 Jul;43:373-377.
17. De Hoyos A, Maurer JR. Complications following lung transplantation. Semin Thorac Cardiovasc Surg 1995;110:540-544.
 18. Chaparro C, Maurer JR, Chamberlain D, De Hoyos A, Winton T, Westney G. Causes of death in lung transplant recipients. J Heart Lung Transplant 1994;13:758-766.
 19. Bando K, Paradis IL, Komatsu K, Konishi H, Matsushima M, Keena RJ. Analysis of time-dependent risks for infection, rejection, and death after pulmonary transplantation. J Thorac Cardiovasc Surg 1995;109:49-57.
 20. Ettinger NA, Bailey TC, Trulock EP, Storch GA, Anderson D, Raab S. Cytomegalovirus infection and pneumonitis. Impact after isolated lung transplantation. Washington University Lung Transplant Group. Am Rev Respir Dis 1993;147:1017-1023.
 21. Yeldandi V, Laghi F, McCabe MA, Larson R, O'Keefe P, Husain A. Aspergillus and lung transplantation. J Heart Lung Transplant 1995;14:883-890.
 22. Scott JP, Peters SG, McDougall JC, Beck KC, Midthun DE. Posttransplantation physiologic features of the lung and obliterative bronchiolitis. Mayo Clin Proc 1997;72:170-174.
 23. Fertel DP, Qi X, Pham SM. Treatment strategies for obliterative bronchiolitis. Curr Opin Transplant 2001;6: 231-238.
 24. Solé A. El rechazo pulmonar agudo y crónico. En: Calvo V, editor. El trasplante pulmonar. Valencia: Generalitat Valenciana. Conselleria de Sanitat, 2001. p. 127-139.

25. Cagle PT, Brown RW, Frost A, Kellar C, Yousem SA. Diagnosis of chronic lung transplant rejection by transbronchial biopsy. *Mod Pathol.* 1995;8:137-142.
26. Bando K, Paradis IL, Similo S, Konishi H, Komatsu K, Zullo TG. Obliterative bronchiolitis after lung and heart-lung transplantation. An analysis of risk factors and management. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;110:4-13.
27. Sharples LD, McNeil K, Stewart S, Wallwork J. Risk factors for bronchiolitis obliterans: A systematic review of recent publications. *J Heart Lung Transplant* 2002;21: 271-281.
28. Revell MP, Lewis ME, Llewellyn-Jones CG. Conservation of small-airway function by tacrolimus/cyclosporine conversion in the management of bronchiolitis obliterans following lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2000;19: 1219-1223.
29. Brems JJ. Ischemia-reperfusion: putting the pieces of the puzzle together. *Crit Care Med.* 2006 May;34:1570-1571.
30. Christie JD, Bavaria JE, Palevsky HI, Litzky L, Blumenthal NP, Kaiser LR. Primary graft failure following lung transplantation. *Chest* 1998;114:51-60.
31. Christie JD, Kotloff RM, Pochettino A, Arcasoy SM, Rosengard BR, Landis JR. Clinical risk factors for primary graft failure following lung transplantation. *Chest* 2003;124:1232-1241.
32. King RC; Binns OA, Rodriguez F, Kanithanon RC, Daniel TM, Spotnitz WD. Reperfusion injury significantly impacts clinical outcome after pulmonary transplantation. *Ann Thorac surg* 2000;69:1681-1685.
33. Khan SU, Salloum J, O'Donovan PB, Mascha EJ, Mehta AC, Matthay MA. Acute pulmonary edema after lung transplantation: the pulmonary reimplantation response. *Chest* 1999;116:187-194.

34. Christie JD, Sager JS, Kimmel SE, Ahya VN, Gaughan C, Blumenthal NP. Impact of primary graft failure on outcomes following lung transplantation. *Chest* 2005;127:161-165.
35. Zaas D, Palmer SM. Respiratory failure after lung transplantation: now that we know the extent of the problem, what are the solutions? *Chest* 2003;123:14-16.
36. Arcasoy SM, Kotloff RM. Lung Transplantation. *N Engl J Med* 1999;340:1081-1091.
37. Thabut G, Vinatier I, Stern JB, Lesèche G, Loirat P, Fournier M. Primary Graft Failure Following Lung Transplantation. Predictive factors of mortality. *Chest*. 2002;121:1876-1882.
38. Boujoukos AJ, Martich GD, Vega JD, Keenan RJ, Griffith BP. Reperfusion injury in single-lung transplant recipients with pulmonary hypertension and emphysema. *J Heart Lung Transplant* 1997;16:439-448.
39. Marom EM, Choi YW, Palmer SM, DeLong DM, Stuart MD, McAdams HP. Reperfusion edema after lung transplantation: effect of daclizumab. *Radiology* 2001;221:508.
40. Chatilla WM, Furukawa S, Gaughan JP, Criner GJ. Respiratory failure after lung transplantation. *Chest* 2003;123:165-173.
41. Sommers KE, Griffith BP, Hardestry RL, Keenan RJ. Early lung allograft function in twin recipients from the same donor:risk factor analysis. *Ann Thorac Surg* 1996;62:784-790.
42. Gabbay E, Williams TJ, Griffiths AP. Maximizing the utilization of donor organs offered for lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:265-271.

43. Sundaresan S, Semenkovich J, Ochoa L. Successful outcome of lung transplantation is not compromised by the use of marginal donor lungs. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;109:1075-1079.
44. Bhorade SM, Vigneswaran W, McCabe MA, Garrity ER. Liberalization of donor criteria may expand the donor pool without adverse consequence in lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2000;19:1199-1204.
45. Novick RJ, Bennet LE, Meyer DM, Hosenpud JD. Influence of graft ischemic time and donor age on survival after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:425-431.
46. Pierre AF, Sekine Y, Hutcheon MA, Waddell TK, Keshavjee SH. Marginal donor lungs: a reassessment. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;123:421-423.
47. de Perrot M, Waddell TK, Shargall Y. Lung transplantation with donors 60 years of age and older. *J Heart Lung Transplant* 2003;22:87.
48. Oto T, Griffiths AP, Levvey B. A donor history of smoking affects early but not late outcome in lung transplantation. *Transplantation* 2004;78:559-606.
49. de Perrot M, Weder W, Patterson GA, Keshavjee S. Strategies to increase limited donor resources. *Eur Respir J* 2004;23:477-482.
50. Avlonitis VS, Fisher AJ, Kirby JA, Dark JH. Pulmonary transplantation: the role of brain death in donor lung injury. *Transplantation* 2003;75:1928-1933.
51. Fisher AJ, Donnelly SC, Hirani N, Burdick MD, Strieter RM, Dark JH. Enhanced pulmonary inflammation in organ donors following fatal non-traumatic brain injury. *Lancet* 1999;353:1412-1413.
52. de Perrot M, Sekine Y, Fischer S, Waddell TK, McRae K, Liu M. Interleukin-8 release during early reperfusion predicts graft function in human lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:211-215.

53. Fisher AJ, Donnelly SC, Hirani N, Haslett C, Strieter RM, Dark JH. Elevated levels of interleukin-8 in donor lungs is associated with early graft failure after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:259-265.
54. Pennefather SH, Bullock RE, Mantle D, Dark JH. The effect of fluid therapy on alveolar arterial oxygen gradient in brain-dead organ donors. *Transplantation* 1993;56:1418-1422.
55. Albes JM, Fischer F, Bando T, Heinemann MK, Scheule A, Wahlers T. Influence of the perfusate temperature on lung preservation: is there an optimum? *Eur Surg Res* 1997;29:5-11.
56. Steen S, Sjoberg T, Massa G, Ericsson L, Lindberg L. Safe pulmonary preservation for 12 hours with low-potassium-dextran solution. *Ann Thorac Surg* 1993;55:434-440.
57. Tanaka H, Chiba Y, Sasaki M, Matsukawa S, Muraoka R. Relationship between flushing pressure and nitric oxide production in preserved lungs. *Transplantation* 1998;65:460-464.
58. Haniuda M, Hasegawa S, Shiraishi T, Dresler CM, Cooper JD, Patterson GA. Effects of inflation volume during lung preservation on pulmonary capillary permeability. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;112:85-93.
59. Martin DR, Scott DF, Downes GL, Belzer FO. Primary cause of unsuccessful liver and heart preservation: cold sensitivity of the ATPase system. *Ann Surg* 1972;175:111-117.
60. Fisher AB, Dodia C, Tan Z, Ayene I, Eckenhoff RG. Oxygen-dependent lipid peroxidation during lung ischemia. *J Clin Invest* 1991;88:674-679.
61. Rabanal JM, Ibañez AM, Mons R, Gonzalez AM, Carbajo M, Ortega J. Influence of preservation solution on early lung function (Euro-Collins vs Perfadex). *Transplant Proc* 2003;35:1938-1939.

62. Thabut G, Vinatier I, Brugiere O, Lesèche G, Loirat P, Bisson A. Influence of preservation solution on early graft failure in clinical lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1204-1208.
63. Chen CZ, Gallager RC, Ardery P, Dyckman W, Donabue S, Low HB. Retrograde flush and cold storage for twenty-two to twenty-five hours lung preservation with and without prostaglandin E1. *J Heart Lung Transplant* 1997;16:658-666.
64. Ueno T, Snell GI, Williams TJ, Kotsimbos TC, Smith JA, Rabinov M. Impact of graft ischemic time on outcomes after bilateral sequential single-lung transplantation. *Ann thorac Surg* 1999;67:1577-1582.
65. Boucek MM, Edwards LB, Keck BM, Trulock EP, Taylor DO, Mohacsi PJ. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: fifth official pediatric report. *J heart Lung Transplant* 2002;21:827-840.
66. Kanasky WF Jr, Anton SD, Rodrigue JR, Perri MG, Szwed T, Baz MA. Impact of body weight on long-term survival after lung transplantation. *Chest* 2002;121:401-406.
67. Madill J, Gutierrez C, Grossman J, Allard J, Chan C, Hutcheon M. Nutritional assessment of the lung transplant patient: body mass index as a predictor of 90-day mortality following transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2001;20:288-296.
68. Foreman MG, Mannino DM, Moss M. Cirrhosis as a risk factor for sepsis and death: analysis of the National Hospital Discharge Survey. *Chest* 2003;124:1016-1020.
69. Kawut SM, Horn EM, Berekashvili KK, Garofano RP, Goldsmith RL, Widlitz AC. New predictors of outcome in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Am J Cardiol* 2005;95:199-203.

70. Patel VS, Palmer SM, Messier RH, Davis RD. Clinical outcome after coronary artery revascularization and lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 2000;69:1520-1524.
71. Scornik JC, Zander DS, Baz MA, Donnelly WH, Staples ED. Susceptibility of lung transplants to preformed donor-specific HLA antibodies as detected by flow cytometry. *Transplantation* 1999;68:1542-1546.
72. Meyers BF, Lynch JP, Battafarano RJ, Guthrie TJ, Trulock EP, Cooper JD. Lung transplantation is warranted for stable, ventilator-dependent recipients. *Ann Thorac Surg* 2000;70:1675-1678.
73. Hirt SW, Rahimi A, Moller F, Hein M, Bottcher H, Cremer J. Does previous thoracic surgery increase perioperative risk in lung transplantation? *Transplant Proc* 2001;33:3572-3573.
74. Dudek SM, Garcia JG. Cytoskeletal regulation of pulmonary vascular permeability. *J Appl Physiol* 2001;91:1487-1500.
75. Halldorsson A, Kronon MT, Allen BS, Rahman S, Wang T. Lowering reperfusion pressure reduces the injury after pulmonary ischemia. *Ann Thorac Surg* 2000;69:198-203.
76. Bhabra MS, Hopkinson DN, Shaw TE, Onwu N, Hooper TL. Controlled reperfusion protects lung grafts during a transient early increase in permeability. *Ann Thorac Surg* 1998;65:187-192.
77. Bando K, Keenan RJ, Paradis IL, Konishi H, Komatsu K, Hardesty RL. Impact of pulmonary hypertension on outcome after single-lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 1994;58:1336-1342.
78. Franke U, Wiebe K, Harringer W, Franke T, Wittwer T, Wahlers T. Ten years experience with lung and heart-lung transplantation in primary and secondary pulmonary hypertension. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000;18:447-452.

79. Huerd SS, Hodges TN, Grover FL, Mault JR, Mitchell MB, Campbell DN. Secondary pulmonary hypertension does not adversely affect outcome after single lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;119:458-465.
80. Triantafillou AN, Pasque MK, Huddleston CB, Pond CG, Cerza RF, Forstot RM. Predictors, frequency, and indications for cardiopulmonary bypass during lung transplantation in adults. *Ann Thorac Surg* 1994;57:1248-1251.
81. de Boer WJ, Hepkema BG, Loeff BG, van der Bij W, Verschuuren EA, de Vries HJ. Survival benefit of cardiopulmonary bypass support in bilateral lung transplantation for emphysema patients. *Transplantation* 2002;73:1621-1627.
82. Wan S, LeClere JL, Vincent JL. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass: mechanism involved and possible therapeutic strategies. *Chest* 1997;112:676-692.
83. Butler J, Rocker GM, Westaby S. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993;55:552-559.
84. Downing SW, Edmunds LH Jr. Release of vasoactive substances during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1992;54:1236-1243.
85. Aeba R, Griffith BP, Kormos RL, Armitage JM, Gasior TA, Fuhrman CR. Effect of cardiopulmonary bypass on early graft dysfunction in clinical lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 1994;57:715-722.
86. Gammie JS, Cheul Lee J, Pham SM, Keenan RJ, Weyant RJ, Hattler BG. Cardiopulmonary bypass is associated with early allograft dysfunction but not death after double-lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998;115:990-997.
87. Sheridan BC, Hodges TN, Zamora MR, Lynch DL, Brown JM, Campbell DN. Acute and chronic effects of bilateral lung transplantation without

- cardiopulmonary bypass on the first transplanted lung. *Ann Thorac Surg* 1998;66:1755-1758.
88. Rutledge R, Sheldon GF, Collins ML. Massive transfusion. *Crit Care Clin* 1986;2:791-805.
89. Peterson KL, DeCampi WM, Feeley TW, Starnes VA. Blood loss and transfusion requirements in cystic fibrosis patients undergoing heart-lung or lung transplantation. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1995;9:59-62.
90. Ross SD, Tribble CG, Gauguier JR Jr, Shockey KS, Parrino PE, Kron IL. Reduced neutrophil infiltration protects against lung reperfusion injury after transplantation. *Ann Thorac Surg* 1999;67:1428-1433.
91. Bhabra MS, Hopkinson DN, Shaw TE, Hooper TL. Critical importance of the first 10 minutes of lung graft reperfusion after hypothermic storage. *Ann Thorac Surg* 1996;61:1631-1635.
92. Ardehali A, Laks H, Russell H, Levine M, Shpiner R, Lackey S. Modified reperfusion and ischemia-reperfusion injury in human lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:1929-1934.
93. Schnickel GT, Ross DJ, Beygui R, Shefizadeh A, Laks H, Saggari R. Modified reperfusion in clinical lung transplantation: the result of 100 consecutive cases. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006 Jan;131:218-223.
94. Halloran PF, Homik J, Goes N, Lui SL, Urmson J, Ramassar V. The "injury response": a concept linking nonspecific injury, acute rejection, and long-term transplant outcomes. *Transplant Proc* 1997;29:79-81.
95. Sekine Y, Waddell TK, Matte-Martyn A, Pierre AF, de Perrot M, Fischer S. Risk quantification of early outcome after lung transplantation: donor, recipient, operative, and post-transplant parameters. *J Heart Lung Transplant* 2004;23:96-104.

96. Fiser SM, Tribble CG, Long SM, Kaza AK, Kern JA, Jones DR. Ischemia-reperfusion injury after lung transplantation increases risk of late bronchiolitis obliterans syndrome. *Ann Thorac Surg* 2002;73:1041-1047.
97. Fisher AJ, Wardle J, Dark JH, Corris PA. Non-immune acute graft injury after lung transplantation and the risk of subsequent bronchiolitis obliterans syndrome (BOS). *J Heart Lung Transplant* 2002;21:1206-1212.
98. Snell G, Klepetko W. Perioperative lung transplant management. *Eur Respir Mon* 2003;26:130-142.
99. Goudarzi BM, Bonvino S. Critical care issues in lung and heart transplantation. *Crit Care Clin* 2003;19:209-231.
100. Chakinata MM, Kollef MH, Trulock EP. Critical care aspects of lung transplant patients. *J Intensive Care Med* 2002;17:8-33.
101. Marili JJ. Evolving concepts in the ventilatory management of acute respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med* 1996;17:555-575.
102. Malarkkan N, Snook NJ, Lumb AB. New aspects of ventilation in acute lung injury. *Anaesthesia* 2003;58:647-667.
103. Imai Y, Parodo J, Kajikawa O, de Perrot M, Fischer S, Edwards V. Injurious mechanical ventilation and end-organ epithelial cell apoptosis and organ dysfunction in an experimental model of acute respiratory distress syndrome. *JAMA* 2003;289:2104-2112.
104. Slutsky AS. Basic science in ventilator-induced lung injury: implications for the bedside. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:599-600.

105. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2000;342:1301-1308.
106. Kopp R, Huhlen R, Max M, Rossaint R. Evidence-based medicine in the therapy of the acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 2002;28:244-255.
107. Pelosi P, Tubiolo D, Mascheroni D, Vicardi P, Crotti S, Valenza F. Effects of the prone position on respiratory mechanism and gas exchange during acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:387-393.
108. Gattinoni L, Tognoni G, Pesenti A, Taccone P, Mascheroni D, Labarta V. Effect prone position on the survival of patients with acute respiratory failure. *N Engl J Med* 2001;345:568-573.
109. Date H, Triantafillou AN, Trulock EP, Pohl MS, Cooper JD, Patterson GA. Inhaled nitric oxide reduces human lung allograft dysfunction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;111:913-919.
110. Adatia I, Lillehei C, Arnold JH, Thompson JE, Palazzo R, Fackler JC. Inhaled nitric oxide in the treatment of postoperative graft dysfunction after lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 1994;57:1311-1318.
111. MacDonald P, Mundy J, Rogers P, Harrison G, Branch J, Glanville A. Successful treatment of life-threatening acute reperfusion injury after lung transplantation with inhaled nitric oxide. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;110:861-863.
112. Garat C, Jayr C, Eddahibi S, Laffon M, Meignan M, Adnot S. Effects of inhaled nitric oxide or inhibition of endogenous nitric oxide formation on hypoxic lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1957-1964.
113. Eppinger MJ, Ward PA, Jones ML, Bolling SF, Deeb GM. Disparate effects of nitric oxide on lung ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1995;60:1169-1176.

114. Chiang CH, Wu K, Yu CP, Yan HC, Perng WC, Wu CP. Hypothermia and prostaglandin E(1) produce synergistic attenuation of ischemia-reperfusion lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1319-1323.
115. Aoe M, Trachiotis GD, Okabayashi K, Manchester JK, Lowry OH, Cooper JD. Administration of prostaglandin E1 after lung transplantation improves early graft function. *Ann Thorac Surg* 1994;58:655-661.
116. de Perrot M, Fischer S, Liu M, Jin R, Bai XH, Waddell TK. Prostaglandin E1 protects lung transplants from ischemia-reperfusion injury: a shift from pro- to anti-inflammatory cytokines. *Transplantation* 2001;72:1505-1512.
117. Novick RJ, Gilpin AA, Gehman KE, Ali IS, Veldhuizen RA, Duplan J. Mitigation of injury in canine lung grafts by exogenous surfactant therapy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997;113:342-353.
118. Koletsis E, Chatzimichalis A, Fotopoulos V, Kokkinis K, Papadimitriou E, Tiniakos D. Donor lung pretreatment with surfactant in experimental transplantation preserves graft hemodynamics and alveolar morphology. *Exp Biol Med* 2003;228:540-545.
119. Strueber M, Cremer J, Harringer W, Hirt SW, Costard-Jäckle A, Haverich A. Nebulized synthetic surfactant in reperfusion injury after single lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;110:563-564.
120. Strueber M. What is the role of surfactant and inhaled nitric oxide in lung transplantation? *Crit Care* 2002;6:186-187.
121. Pierre AF, Xavier AM, Liu M, Cassivi SD, Lindsay TF, Marsh HC. Effect of complement inhibition with soluble complement receptor 1 on pig allotransplant lung function. *Transplantation* 1998;66:723-732.

122. Wittwer T, Grote M, Oppelt P, Franke U, Schaefer HJ, Wahlers T. Impact of PAF antagonist BN 52021 (Ginkgolide B) on post-ischemic graft function in clinical lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2001;20:358-363.
123. Fisher S, Maclean AA, Liu M, Kalirai B, Keshavjee SH. Inhibition of angiotensin-converting enzyme by captopril: a novel approach to reduce ischemia-reperfusion injury after lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;120:573-580.
124. Salvatierra A, Guerrero R, Rodriguez M, Alvarez A, Soriano F, Lopez-Pedraza R. Antithrombin III prevents early pulmonary dysfunction after lung transplantation in the dog. *Circulation* 2001;104:2975-2980.
125. Bittner HB, Richter M, Kuntze T, Rahmel A, Dahlberg P, Hertz M. Aprotinin decreases reperfusion injury and allograft dysfunction in clinical lung transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2006 Feb;29:210-5.
126. Stolar CJH, Snedecor SM, Bartlett RH. Extracorporeal membrane oxygenation and neonatal respiratory failure: experience from the extracorporeal life support organization. *J Pediatr Surg* 1991;26:563-571.
127. Kolla S, Awad SS, Rich PB, Schreiner RJ, Hirschl RB, Bartlett RH. Extracorporeal life support for 100 adult patients with severe respiratory failure. *Ann Surg* 1997;226:544-566.
128. Meyers BF, Sundt TM III, Henry S, Trulock EP, Guthrie T, Cooper JD. Selective use of extracorporeal membrane oxygenation is warranted after lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;120:20-26.
129. Glassman LR, Keenan RJ, Fabrizio MC, Sonett JR, Bierman MI, Pham SM. Extracorporeal membrane oxygenation as an adjunct treatment for primary graft failure in adult lung transplant recipients. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;110:723-727.

130. Ball JW Jr, Noon GP, Short HD, Sheinin SA. Extracorporeal membrane oxygenation for early graft dysfunction in lung transplantation: a case report. *J Heart Lung Transplant* 1997;16:468-471.
131. Wekerle T, Klepetko W, Wisser W, Senbaklavaci O, Moidl R, Hiesmayer M. Lung retransplantation: institutional report on a series of twenty patients. *J Heart Lung Transplant* 1996;15:182-189.
132. Schäfers HJ; Hausen B, Wahlers T, Fieguth HG, Jurmann M, Borst HG. Retransplantation of the lung. A single center experience. *Eur J Cardiothorac Surg* 1995;9:291-296.
133. Haverich A, Hirt SW, Wahlers T, Schäfers HJ, Zink C, Borst HG. Functional results after lung retransplantation. *J Heart Lung Transplant* 1994;13:48-55.
134. Novick RJ, Stitt L. Pulmonary retransplantation. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 1998;10:227-236.
135. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Human chemokines: an update. *Annu Rev Immunol.* 1997;15:675-705.
136. Alvarez-Mon M, Kehrl JH, Fauci AS. A potential role for adrenocorticotropin in regulating human B lymphocytic functions. *J Immunol.* 1985; 135: 3823-3826.
137. Mosmann TR, Coffman RL. Th1 and Th2 cells: Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol.* 1989; 7:145-173.
138. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol.* 1986; 136:2348-2357.
139. Fukaura H, Kent SC, Pietrusewicz MJ, Khoury SJ, Weiner HL, Hafler DA. Induction of circulating myelin basic protein and proteolipid protein-specific

transforming growth factor beta1-secreting Th3 T cells by oral administration of myelin in MS patients. *J Clin Invest* 1996;98:70-77.

140. Kelso A, Trout AB, Maraskovsky E, Gough NM, Morris L, Pech MH, Thomsom JA. Heterogeneity in lymphokine profiles of CD4+ and CD8+ T cells and clones activated in vivo and in vitro. *Immunol rev* 1991;123:85-114.
141. Assenmacher M, Schmitz J, Radbruch A. Flow cytometric determination of cytokines in activated murine T helper lymphocytes: expresion of interleukin-10 in interferon-gamma and in interleukin-4-expressing cells. *Eur J Immunol* 1994;24:1097-1101.
142. Kelso A. Th1 and Th2 subsets: paradigms lost? *Immunology Today*. 1995;16: 374-379.
143. Mosmann TR, Dad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 1996;17:138-145.
144. Liblau RS, Singer SM, McDevitt HO. Th1 and Th2 CD4+ T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases. *Inmunol Today* 1995;16:34-38.
145. Premack, BA, Schall TJ. Chemokine receptors: Gateways to inflammation and infection. *En Nature Medicine* 1996;11: 1174-1178.
146. Kishimoto T, Taga T, Akira S. Cytokine signal transduction. *Cell* 1994;76:253-262.
147. Alfredo Prieto, Marco Jondee, Leticia Muñoz, Esperanza Perucha, Melchor Alvarez-Mon. Citocinas. En *Inmunología Curso 2006/07*. Departamento de Medicina, Universidad de Alcalá y Servicio de Enfermedades del Sistema Inmune y Oncología. Hospital Universitario “Príncipe de Asturias” Universidad de Alcalá.

Bibliografía

148. Suárez A., Mozo L, Gutiérrez Martín C. 09 Citocinas y Quimiocinas. En Inmunología-online 2003. Coordinador: José Peña Martínez.
149. Dinarello CA, Wolf SM. The role of Interleukin-1 in disease. N Eng J Med. 1993; 328: 106-113.
150. Vamvakopoulos JE, Taylor CJ, Green C, McNeil K, Wallwork J, Goodman R, Metcalf SM. Interleukin 1 and chronic rejection: possible genetic links in human heart allografts. Am J Transplant. 2002 Jan;2:76-83.
151. Moreno I, Vicente R, Ramos F, Vicente JL, Barberá M. Determination of interleukin-6 in lung transplantation: association with primary graft dysfunction. Transplant Proc. 2007 Sep;39:2425-2426.
152. Hirano. "Interleukin 6", En The Cytokine handbook 2nd ed. Academic press, New York 1994 p.145-166.
153. Riise GC. On interleukin-8, neutrophil activation, and bronchiolitis obliterans syndrome in lung transplantation. Transplantation 2000 Jul 27;70:265-6.
154. Mosmann TR. Properties and functions of Interleukin 10. Adv Immunol 1994; 56: 1-26.
155. Oishi H, Okada Y, Kikuchi T, Sado T, Oyaizu T, Hoshikawa Y. Lipid-mediated transbronchial human interleukin-10 gene transfer decreases acute inflammation associated with allograft rejection in a rat model of lung transplantation. Transplant Proc. 2007 Jan-Feb;39:283-285.
156. Hultén LM, Lindmark H, Scherstén H, Wiklund O, Nilsson FN, Riise GC. Butylated hydroxytoluene and N-acetylcysteine attenuates tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) secretion and TNF-alpha mRNA expression in alveolar macrophages from human lung transplant recipients in vitro. Transplantation 1998 Aug 15;66:364-369.

157. Lega M, Dauber JH, Urch SE, Banas R, Whiteside TL, Griffith BP. Tumor necrosis factor-alpha production by alveolar macrophages in heart-lung transplant recipients. *Am Rev Respir Dis.* 1992 May;145:1036-41.
158. Pacanowski MA, Amsden GW. Interferon gamma-1b in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *Ann Pharmacother.* 2005 Oct;39:1678-86.
159. Britton J. Interferon gamma-1b therapy for cryptogenic fibrosing alveolitis. *Thorax.* 2000 Aug;55:37-40.
160. Sweet SC, De La Morena MT, Shapiro SD, Mendeloff EN, Huddleston CB. Interleukin-2-receptor blockade with daclizumab decreases the incidence of acute rejection in pediatric lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant.* 2001 Feb;20:221-222.
161. Gu Y, Takao M, Kai M, Lu L, Shimamoto A, Onoda K. The role of cyclosporine A and interleukin-2 in obliterative airway disease in a rat tracheal transplant model. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2000 Aug;6:224-31.
162. Vassalli P. The pathophysiology of tumor necrosis factor. *Annu Rev Immunol.* 1992; 10 :411-53.
163. Daddi N, Kanaan SA, Suda T, Tagawa T, D'Ovidio F, Grapperhaus K. Recipient intramuscular administration of naked plasmid TGF-beta1 attenuates lung graft reperfusion injury. *J Heart Lung Transplant.* 2003 Dec;22:1323-34.
164. Hodge G, Hodge S, Chambers D, Reynolds PN, Holmes M. Acute lung transplant rejection is associated with localized increase in T-Cell IFNgamma and TNFalpha proinflammatory cytokines in the airways. *Transplantation.* 2007 Dec 15;84:1452-8.
165. Serrick C, Adoumie R, Giaid A, Shennib H. The early release of interleukin-2, tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma after ischemia reperfusion injury in the lung allograft. *Transplantation* 1994;58:1158-1162.

166. Pham SM, Yoshida Y, Aeba R, Hattler BG, Iwaki Y, Zeevi A. Interleukin-6, a marker of preservation injury in clinical lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 1992 Nov-Dec;11:1017-24.
167. de Perrot M, Liu M, Wabdell TK, Keshavjee S. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Resp Crit Care Med* 2003;167: 490-511.
168. Rodríguez R, Martínez E, Santana M, Rodríguez Huertas E. Stress response under continuous infusion of remifentanil compared to bolus doses of fentanyl assessed by levels of cytokines, C-reactive protein, and cortisol during and after abdominal hysterectomy. *Rev Esp Anestesiología Reanim*. 2007 Apr;54:221-226.
169. Harada A, Sekido N, Akahoshi T, Wada T, Mukaida N, Matsushima K. Essential involvement of interleukin-8 (IL-8) in acute inflammation. *J Leukoc Biol*. 1994 Nov;56:559-64.
170. Rao JN, Clark SC, Ali S, Kirby J, Flecknell PA, Dark JH. Improvements in lung compliance after pulmonary transplantation: correlation with interleukin 8 expression. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2003 Apr;23:497-502.
171. Verleden GM, Vanaudenaerde BM, Dupont LJ, Van Raemdonck DE. Azithromycin reduces airway neutrophilia and interleukin-8 in patients with bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006 Sep 1;174:566-570.
172. Bharat A, Fields RC, Steward N, Trulock EP, Patterson GA, Mohanakumar T. CD4+25+ regulatory T cells limit Th1-autoimmunity by inducing IL-10 producing T cells following human lung transplantation. *Am J Transplant*. 2006 Aug;6:1799-1808.
173. Bianco AM, Solari N, Miserere S, Pellegrini C, Vitulo P, Pozzi E. The frequency of interleukin-10- and interleukin-5-secreting CD4+ T cells correlates to tolerance of transplanted lung. *Transplant Proc*. 2005 Jun;37:2255-6.

174. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-376.
175. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric Oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 542-526.
176. Culotta F, Icosland DR. Molecula of the year. NO news is good news. *Science* 1992; 258:1862-1865.
177. Lancaster, J. R. Nitric oxide in cells. *American Scientist* 1992;80:248-259.
178. Stamler JS, Singel DJ y Loscalzo J. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. *Science* 1992;258:1898-1902.
179. John R, Vane E. Regulatory Functions of the Vascular Endothelium. *The New England Journal of Medicine* 1990;323:27-35.
180. Durner J y Klessig DF. "Nitric oxide as a signal in plants". *Current Opinion in Plant Biology*. 1999;2:369-374.
181. Lamattina L, García-Mata C, Graziano M. y Pagnussat G. "Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule". *Annual Review of Plant Biology* 2003;54: 109-136.
182. Solomon H, Snyder and Daviss. Biological Roles of Nitric Oxide. *Scientific American*, p.28-35, 1992.
183. Merrit WT. Nitric Oxide: An Important Bioregulator. *Transplant Proc.* 1993;25:2014-2016,.
184. Ruan VL, Arredondo R. Oxido nítrico un héroe disfrazado de villano. En: *Elementos ciencia y cultura*, marzo-mayo, año 2004/vol. 11, número 053. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México, pp. 11-17.

185. Ignarro LJ. Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1990; 30: 535-560.
186. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-142.
187. Moncada S, Higgs A, Furchgott R. International Union of Pharmacology Nomenclature in Nitric Oxide Research. *Pharmacol Rev* 1997; 49:137-142.
188. López I, Carrillo A, Alcaráz A. Óxido Nítrico. Editorial *An Esp Pediatr* 1994; 41:293-308.
189. López J, Morán A, Reviejo K. Óxido Nítrico: teoría y práctica. En: *Canarias Pediátrica*, 1999, vol. 22 - nº 2: 27-32.
190. Esposito E, Cuzzocrea S. The role of nitric oxide synthases in lung inflammation. *Curr Opin Investig Drugs*. 2007 Nov;8:899-909.
191. Kobzik L, Reid MB, Brecht DS, Stamler JS. Nitric oxide in skeletal muscle. *Nature* 1994; 372: 546-548.
192. Kobzik L, Brecht DS, Lowenstein CJ, Drazen J, Gaston B, Sugarbaker D. Nitric oxide synthase in human and rat lung: immunocytochemical and histochemical localization. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993; 9: 371-377.
193. Dinerman JL, Dawson TM, Schell MJ, Snowman A, Snyder SH. Endothelial nitric oxide synthase localized to hippocampal pyramidal cells: implication for synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 4214-4218.
194. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 5193-5197.

195. Oswald LP, Eltoun I, Wynn TA, Schwartz B, Caspar P, Paulin D. Endothelial cells are activated by cytokine treatment to kill an intravascular parasite, *Schistosoma mansoni*, through the production of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 999-1003.
196. Rairigh RL, Storme L, Parker TA, Le Cras TD, Markham N, Jakkula M. Role of neuronal nitric oxide synthase in regulation of vascular and ductus arteriosus tone in the ovine fetus. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2000 Jan;278:105-110.
197. Salerno L, Sorrenti V, Di Giacomo C, Romeo G, Siracusa MA. Progress in the development of selective nitric oxide synthase (NOS) inhibitors. *Curr Pharm Des*. 2002;8:177-200.
198. Vallance P, Leone A, Calver J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339: 572-575.
199. Gross BB, Jaffe EA, Levi R, Kilbourn RG. Cytokine activated endothelial cells express an isotype of nitric oxide synthase which is tetrahydrobiopterin-dependent, calmodulin-independent and inhibited by arginine analogs with a rank-order of potency characteristic of activated macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 170: 823-829.
200. Lambert LE, French JF, Whitten JP, Baron BM, McDonald IA. Characterization of cell selectivity of two novel inhibitors of nitric oxide synthase. *Eur J Pharmacol* 1992; 216: 131-134.
201. Stuehr DJ, Griffith OW. Mammalian nitric oxide synthases. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 1992; 65: 287-346.
202. Knowles RG, Palacios M, Palmer RMJ, Moncada S. Formation of nitric oxide from L-arginine in the central nervous system: an induction mechanism for stimulation of the soluble guanylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 89: 5159-5162.

203. Gross SS, Stuehr DJ, Aisaka K, Jaffe EA, Levi R, Griffith OW. Macrophage and endothelial nitric oxide synthesis: cell type selective inhibition by N^G-aminoarginine, N^G-nitroarginine and N^G-methyl-arginine. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 170: 96-103.
204. Fukutto JM, Wood KS, Byrns RE, Ignarro LJ. N^G-amino-L-arginine: a new potent antagonist of L-arginine-mediated endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 168: 458-465.
205. McCall TS, Feelisch M, Palmer RMJ, Moncada S. Identification of N-iminoethyl-L-ornithine as an irreversible inhibitor of nitric oxide synthase in phagocyte cells. *Br J Pharmacol* 1991; 102: 234-238.
206. Pollock JS, Förstermann U, Mitchell JA, Warner TD, Schmidt HHHW, Nakane M. Purification and characterization of particulate endothelium-derived relaxing factor synthase from cultured and native bovine aortic endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 10480-10484.
207. Moore PK, Al-Swayeh OA, Chong NSW, Evans R, Gibson A. L-N^G-nitroarginine, a novel L-arginine-reversible inhibitor of endothelium-dependent vasodilation in vitro. *Br J Pharmacol* 1989; 99: 408-412.
208. Handy RLC, Moore PHK. A comparison of the effects of L-NAME, 7-NI and L-NIL on carrageenan-induced hindpaw oedema and NOS activity. *Br J Pharmacol* 1998; 123: 1119-1126.
209. Brown GC, Borutaite V. Nitric oxide, cytochrome c and mitochondria. *Biochem Soc Symp.* 1999;66:17-25.
210. Liaudet L, Soriano FG, Szabo C. Biology of nitric oxide signaling. *Crit Care Med* 2000;28:37-52.

211. Murad F, Ishi K, Förstermann U, Gorsky L, Kervin JF Jr, Pollock J. EDRF is an intracellular second messenger and autacoid to regulate cyclic GMP synthesis in many cells. *Second Messenger Phosphoprotein Res* 1990; 24: 441-445.
212. Vanhoutte PM. Endothelium and control of vascular function. *Hypertension* 1989; 13: 658-667.
213. Furchgott RF. Studies on endothelium-dependent vasodilation and the endothelium-derived relaxing factor. *Acta Physiol Scand* 1990; 139: 257-270.
214. Luscher TF. Endothelium-derived nitric oxide: the endogeneous nitrosodilator in the human cardiovascular system. *Eur Heart J* 1991; 12: 2-11.
215. Griffiths M, Timothy W. Inhaled Nitric Oxide Therapy in Adults. *N Engl J Med* 2005;353:2683-95.
216. McCleverty JA. Chemistry of nitric oxide relevant to biology. *Chem Rev* 2004;104:403-18.
217. Irihura K, Maynard KL, Lee WS, Moskowitz NA. L-NNA decreases cortical hyperemia and brain cGMP levels following CO₂ inhalation in Sprague-Dawley rats. *Am J Physiol* 1994; 257: 837-843.
218. Moro MA, De Alba J, Leza JC, Lorenzo P, Fernández AP, Bentura ML. Neuronal expression of inducible nitric oxide synthase after oxygen and glucose deprivation in rat forebrain slices. *Eur J Neurosci* 1998; 10: 445-456.
219. Wood PL, Choksi S, Bocchini V. Inducible microglial nitric oxide synthase: a large membrane pool. *Neuroreport* 1994; 5: 977-980.
220. Rubbo H, Radi R, Trujillo R, Ralysnaraman B, Barnes S, Kirk M. Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation. Formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives. *J Biol Chem* 1994; 269: 26066-26075.

221. Henry Y, Lepoivre M, Drapier JC, Ducrocq C, Boucher JL, Guissani A. EPR characterization of molecular target for NO in mammalian cells and organelles. *FASEB J* 1993; 7: 1224-1234.
222. Forslund T, Sundquist T. Nitric oxide reduces hydrogen peroxide production from human polymorphonuclear neutrophils. *Eur J Clin Invest* 1995;25:9-14.
223. Kerwin JF Jr, Lancaster JR, Feldman PL. Nitric oxide: a new paradigm for second messengers. *J Med Chem* 1996; 38: 4343-4463.
224. Guidot DM, Hybertson BM, Kitlowski RP, Repine JE. Inhaled NO prevents IL-1 induced neutrophil accumulation and associated acute edema in isolated rat lungs. *Am J Physiol* 1996;271:1225-1229.
225. Gorocica P, Chávez R. Oxido Nítrico una molécula multifuncional. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex.* Octubre/Diciembre, 1999 12:300-304.
226. Lanas A, Bajador E. Nitrovasodilatadors, Low-Dose Aspirin, Other Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs, and the Risk of Upper Gastrointestinal Bleeding. *The New England Journal of Medicine* 2000;343: 834-839.
227. Ferrer VD, Jorge FC, García RR, Martínez AP. Óxido nítrico. Importancia biológica y participación en algunas funciones cardiovasculares y hematológicas. *Medisan* 1998; 2:45-50.
228. Rimar S, Gillis CN. Selective pulmonary vasodilation by inhaled nitric oxide is due to hemoglobin inactivation. *Circulation* 1993; 88:2884-2887.
229. Lundin S, Mang H, Smithies M, Stenqvist O, Frostell C. Inhalation of nitric oxide in acute lung injury: results of a European multicentre study. The European Study Group of Inhaled Nitric Oxide. *Intensive care Med* 1999; 25:911-919.

230. Bigatello L, Hurford W, Kacmarek R, Roberts J, Zapol W. Prolonged inhalation of low concentrations of nitric oxide in patients with severe adult respiratory distress syndrome. Effects on pulmonary hemodynamics and oxygenation. *Anesthesiology* 1994;80:761-770.
231. Young J, Brampton W, Knighton J, Finfer S. Inhaled nitric oxide in acute respiratory failure in adults. *Br J Anaesth* 1994;73:499-502.
232. Troncy E, Collet J, Shapiro S, Guimond J, Blair L, Ducruet T. Inhaled nitric oxide in acute respiratory distress syndrome : a pilot randomized controlled study. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1483-1488.
233. Dellinger R, Zimmerman J, Taylor R, Straube C, Hauser D, Criner G. Effects of inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome: results of a randomized phase II trial. Inhaled Nitric Oxide in ARDS Study Group. *Crit care Med* 1998;26:15-23.
234. Germann P, Braschi A, Della Rocca G, Dinh-Xuan AT, Falke K, Frostell C. Inhaled nitric oxide therapy in adults: European expert recommendations. *Intensive Care Med.* 2005 Aug;31:1029-41.
235. Frostell C, Fratacci MD, Wain JC, Jones R, Zapol WM. Inhaled nitric oxide. A selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Circulation* 1991;83:2038-2047.
236. Pepke-Zaba J, Higenbottam TW, Dinh-Xuan AT, Stone D, Wallwork J. Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilatation in pulmonary hypertension. *Lancet* 1991; 338:1173-1174.
237. Francoeur C, Denis M. Nitric oxide and interleukin-8 as inflammatory components of cystic fibrosis. *Inflammation* 1995;19:599-610.
238. Roberts J, Lang L, Bigatello G, Vlahakes G, Zapol W. Inhaled nitric oxide in congenital heart disease. *Circulation* 1993;87:447-453.

239. Dupuy P, Shore S, Drazen J, Frostell C, Hill W, Zapol W. Bronchodilatador action of inhaled nitric oxide in guinea pigs. *J Clin Invest* 1992;90:421-428.
240. Hogman M, Frostell C, Hedenstrom H, Hedenstierna G. Inhalation of nitric oxide modulates adult human bronchial tone. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:1474-1478.
241. Rossaint R, Falke K, Lopez F, Slama K, Pison U, Zapol W. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress síndrome. *N Engl J Med* 1993;328:399-405.
242. Gerlach H, Rossaint R, Pappert D, Falke K. Time-course and dose-response of nitric oxide inhalation for systemic oxygenation and pulmonary hypertension in patients with adult respiratory distress syndrome. *Eur J Clin Invest* 1993;23:499-502.
243. Taylor R, Zimmermann J, Dellinger R, Straube R, Criner G, Davis K. Low-dose inhaled nitric oxide in patients with acute lung injury: a randomized controlled trial. *Jama* 2004;291:1603-1609.
244. Finer N, Barrington K. Nitric oxide for respiratory failure in infants born at or near term. *Cochrane Database Syst Rev* 2000:CD000399.
245. McLaughlin D, Badesch S, Abman, Gerald S, Lewis J. Medical Therapy for Pulmonary Arterial Hypertension: Updated ACCP Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2007;131;1917-1928.
246. Lowson S. Inhaled alternatives to nitric oxide. *Anesthesiology* 2002;96:1504-1513.
247. Nakamurak M. Nitric Oxide and Anesthesia. *Anesthesia and Analgesia*. 1993;Vol.77:877-879.
248. Imanaka H, Hess D, Kirmse M, Bigatello LM, Kacmarek RM, Steudel W. Inaccuracies of nitric oxide delivery systems during adult mechanical ventilation.

- Anesthesiology 1997; 86:676-688.
249. Mourgeon E, Gallart L, Rao GS, Lu Q, Law-Koune JD, Puybasset L. Distribution of inhaled nitric oxide during sequential and continuous administration into the inspiratory limb of the ventilator. *Intensive Care Med* 1997;23:849-858.
250. Westfelt UN, Lundin S, Stenqvist O. Safety aspects of delivery and monitoring of nitric oxide during mechanical ventilation. *Acta Anaesthesiol Scand* 1996; 40:302-310.
251. Young JD, Dyar O, Xiong L, Howell S. Methaemoglobin production in normal adults inhaling low concentrations of nitric oxide. *Intensive Care Med* 1994; 20:581-584.
252. Hine CH, Meyers FH, Wright RW. Pulmonary changes in animals exposed to nitrogen dioxide, effects of acute exposures. *Toxicol Appl Pharmacol* 1970; 16:201-213.
253. Nguyen T, Brunson D, Crespi CL, Penman BW, Wishnok JS, Tannenbaum SR. DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:3030-3034.
254. Gries A, Herr A, Motsch J, Holzmann A, Weimann J, Taut F. Randomized, placebo-controlled, blinded and cross-matched study on the antiplatelet effect of inhaled nitric oxide in healthy volunteers. *Thromb Haemost* 2000; 83:309-315.
255. Atz AM, Adatia I, Wessel DL. Rebound pulmonary hypertension after inhalation of nitric oxide. *Ann Thorac Surg* 1996; 62:1759-1764.
256. Cueto E, Lopez-Herce J, Sanchez A, Carrillo A. Life-threatening effects of discontinuing inhaled nitric oxide in children. *Acta Paediatr* 1997; 86:1337-1339.
257. Verma S, Anderson T. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation* 2000;102:1718-1723.

258. Bocchi EA, Bacal F, Auler Junior JO, Carmone MJ, Bellotti G, Pileggi F. Inhaled nitric oxide leading to pulmonary edema in stable severe heart failure. *Am J Cardiol* 1994;74:70-72.
259. Rich G, Murphy G, Roos C, Johns R. Inhaled nitric oxide. Selective pulmonary vasodilation in cardiac surgical patients. *Anesthesiology* 1993;78:1028-1035.
260. Galie N, Seeger W, Naeije R, Simmoneau G, Rubin L. Comparative analysis of clinical trials and evidence-based treatment algorithm in pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:81-88.
261. Hoeper M, Schwarza M, Ehlerding S, Adler-Schuermeyer A, Spiekerkoetter, Niedermeyer J. Long-term treatment of primary pulmonary hypertension with aerosolized iloprost, a prostacyclin analogue. *N Engl J Med* 2000;342:1866-1870.
262. Simonneau G, Galie N, Rubin L, Langleben D, Seeger W, Domenigueti G. Clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:5-12.
263. Ghofrani H, Rose F, Schermuly R, Olschewski H, Wiedemann R, Kreckel A. Oral sildenafil as long-term adjunct therapy to inhaled iloprost in severe pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:158-164.
264. Wilkens H, Guth A, Konig J, Forestier N, Cremers B, Hennen B. Effect of inhaled iloprost plus oral sildenafil in patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation* 2001;104:1218-1222.
265. Loscalzo J. Nitric oxide insufficiency, platelet activation and arterial thrombosis. *Circ Res* 2001;88:756-762.
266. Gries A, Bottiger BW, Dorsam J, Bauer H, Weimann J, Bode C. Inhaled nitric oxide inhibits platelet aggregation after pulmonary embolism in pigs. *Anesthesiology* 1997; 86:387-393.

267. Schenk P, Mittermayer C, Ratheiser K. Inhaled nitric oxide in a patient with severe pulmonary embolism. *Ann Emerg Med* 1999; 33:710-714.
268. Schenk P, Pernerstorfer T, Mittermayer C, Kranz A, Frommel M, Birsan T. Inhalation of nitric oxide as a life-saving therapy in a patient after pulmonary embolectomy. *Br J Anaesth* 1999; 82:444-447.
269. Imanaka H, Miyano H, Takeuchi M, Kumon K, Ando M. Effects of nitric oxide inhalation after pulmonary thromboendarterectomy for chronic pulmonary thromboembolism. *Chest* 2000;118:39-46.
270. Bunn H. Pathogenesis and treatment of sickle cell disease. *N Engl J Med* 1997;337:762-769.
271. Martinez-Ruiz R, Montero-Huerta P, Hromi J, Head CA. Inhaled nitric oxide improves survival rates during hypoxia in a sickle cell (SAD) mouse model. *Anesthesiology* 2001;94:1113-1118.
272. Atz A, Wessel D. Inhaled nitric oxide in sickle cell disease with acute chest syndrome. *Anesthesiology* 1997;87:988-990.
273. Oppert M, Jorres A, Barckow D, Eckardt K, Frei U, Kaisers U. Inhaled nitric oxide for ADRS due to sickle cell disease. *Swiss Med wkly* 2004;134:165-167.
274. Naeije R, Barbera J. Pulmonary hipertensión associated with COPD. *Crit Care* 2001;5:286-289.
275. Ashutosh K, Phadke K, Jackson J, Steele D. Use of nitric oxide inhalation in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2000;55:109-113.
276. Vonbank K, Ziesche R, Higenbottam T, Stiebellehner, Petkov V, Schenk P. Controlled prospective randomised trial on the effects on pulmonary

- haemodynamics of the ambulatory long term use of nitric oxide and oxygen in patients with severe COPD. *Thorax* 2003;58:289-293.
277. Haydar A, Malhere T, Mauriat P, Journois D, Pouard P, Denis N. Inhaled nitric oxide for postoperative pulmonary hypertension in patients with congenital heart defects. *Lancet* 1992;340:8834-8835.
278. Stobierska-Dzierzek B, Awad H, Michler R. The evolving management of acute right-sided failure in cardiac transplant recipients. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:923-931.
279. Solina A, Ginsberg S, Papp D, Pantin E, Denny J, Ghandivel I. Response to nitric oxide during adult cardiac surgery. *J Invest Surg* 2002;15:5-14.
280. DeRose J, Argenziano J, Sun B, Reemtsma K, Oz M, Rose E. Implantable left ventricular assist devices: an evolving long-term cardiac replacement therapy. *Ann Surg* 1997;226:461-468;discussion 468-470.
281. Kavarana M, Pessin-Minsley M, Urtecho J, Catanese K, Flannery M, Oz C. Right ventricular dysfunction and organ failure in left ventricular assist device recipients:a continuing problem. *Ann Thorac Surg* 2002;73:745-750.
282. Macdonald P, Keogh A, Mundy J, Rogers P, Nicholson A, Harrison G. Adjunctive use of inhaled nitric oxide during implantation of a left ventricular assist device. *J Heart Lung Transplant* 1998;17:312-316.
283. Argenziano M, Choudhri A, Moazami N, Rose E, Smith C, Levin H. Randomized,double-blind trial of inhaled nitric oxide in LVAD recipients with pulmonary hipertensión. *Ann Thorac Surg* 1998;65:340-345.
284. Coe P. managing pulmonary hipertensión in Heart transplantation:meeting the challenge. *Crit Care Nurse* 2000;20:22-28

285. Ardehali A, Hugues K, Sadegui A, Esmailian F, Marelli D, Moriguchi J. Inhaled nitric oxide for pulmonary hypertension after heart transplantation. *Transplantation* 2001;72:638-641.
286. Rajek A, Pernerstofer T, Kastner J, Mares P, Grabenwoger M, Sessler D. Inhaled nitric oxide reduces pulmonary vascular resistance more than prostaglandin E1 during heart transplantation. *Anesth Analg* 2000;90:523-530.
287. Benumof J. One-lung ventilation and hypoxic pulmonary vasoconstriction: implications for anesthetic management. *Anesth Analg* 1985;64:821-833.
288. Cohen G. One lung ventilation: prospective from an interested observer. *Minerva Anesthesiol* 1999;65:275-283.
289. Wilson WC, Kapelanski DP, Benumof JL, nd JW, Johnson FW, Channick RN. Inhaled nitric oxide (40 ppm) during one-lung ventilation, in the lateral decubitus position, does not decrease pulmonary vascular resistance or improve oxygenation in normal patients. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1997; 11:172-176.
290. Fradj K, Samain E, Delefosse D, Farah, Marty J. Placebo-controlled study of inhaled nitric oxide to treat hypoxemia during one-lung ventilation. *Br J Anaesth* 1999;82:208-212.
291. Schwarzkopf K, Klein U, Schreiber T, Preussetaler NP, Bloos F, Helfritsch H. Oxygenation during one-lung ventilation: the effects of inhaled nitric oxide and increasing levels of inspired fraction of oxygen. *Anesth Analg* 2001; 92:842-847.
292. Williams E, Quinlan G, Goldstraw P, Gothard J, Evans T. Postoperative lung injury and oxidative damage in patients undergoing pulmonary resection. *Eur Respir J* 1998;11:1028-1034.
293. Liu M, Tremblay L, Cassivi SD, Bai XH, Mourgeon E, Pierre AF. Alterations of nitric oxide synthase expression and activity during rat lung transplantation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;278:1071-1081.

294. Thabut G, Brugiere G, Leseche J, Stern J, Fradj K, Herve P. Preventive effect of inhaled nitric oxide and pentoxifylline on ischemia/reperfusion injury after lung transplantation. *Transplantation* 2001;71:1295-300.
295. Hermle G, Schütte H, Walmrath D, Geiger K, Seeger W, Grimminger F. Ventilation-perfusion mismatch after lung ischemia-reperfusion. Protective effect of nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999 Oct;160:1179-87.
296. Glanville AR. Inhaled nitric oxide after lung transplantation: no more cosmesis? *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Jun 1;167:1483-9.
297. Bacha EA, Sellak H, Murakami S, Mazmanian GM, Détruit H, de Montpreville V. Inhaled nitric oxide attenuates reperfusion injury in non-heartbeating-donor lung transplantation. *Transplantation* 1997; 63:1380-6.
298. Ardehali A, Laks H, Levine M, Shpiner R, Ross D, Watson LD. A prospective trial of inhaled nitric oxide in clinical lung transplantation. *Transplantation* 2001;72:112-5.
299. Meade MO, Granton JT, Matte-Martyn A, McRae K, Weaver B, Cripps P. A randomized trial of inhaled nitric oxide to prevent ischemia-reperfusion injury after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:1483-9.
300. Myles P, Venema H. Avoidance of cardiopulmonary bypass during bilateral sequential lung transplantation using inhaled nitric oxide. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1995;9:571-574.
301. Ware L, Matthay M. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl Med* 2000;342:1334-1349.
302. Okamoto K, Kukita I, Hamaguchi M, Kikuta K, Matsuda K, Motoyama T. Combination of inhaled nitric oxide therapy and inverse ratio ventilation in

- patients with sepsis-associated acute respiratory distress syndrome. *Artificial Organs* 2000;24:902-908.
303. Gerlach H, Keh D, Semmerow A, Busch T, Lewandowski K, Pappert DM. Dose-response characteristics during long-term inhalation of nitric oxide in patients with severe acute respiratory distress syndrome: a prospective, randomized, controlled study. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:1008-15.
304. Rossaint R, Gerlach H, Schmidt-Ruhnke H, Pappert D, Lewandowski K, Steudel W. Efficacy of inhaled nitric oxide in patients with severe ARDS. *Chest* 1995; 107:1107-1115.
305. Young J, Brampton W, Knighton J, Finfer S. Inhaled nitric oxide in acute respiratory failure in adults. *Br J Anesth* 1994;73:499-502.
306. The National Heart, Lung, and Blood Institute ARDS Clinical Trials Network. Higher versus lower positive end-expiratory pressures in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2004;351:327-36.
307. Pelosi P, Brazzi L, Gattinoni L. Prone position in acute respiratory distress syndrome. *Eur Respir J*. 2002 Oct;20:1017-28.
308. Sokol J, Jacobs SE, Bohn D. Óxido nítrico inhalado para la insuficiencia respiratoria aguda hipoxémica en niños y adultos. En: *La Biblioteca Cochrane Plus*, 2005 Número 2. Oxford: Update Software Ltd.:CD002787.
309. Dellinger RP, Zimmerman JL, Taylor RW, Straube RC, Hauser DL, Criner GJ. Inhaled Nitric Oxide in ARDS Study Group. Effects of inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome: Results of a randomized phase II trial. *Crit Care Med* 1998;26:15-23.
310. Dobyns EL, Cornfield DN, Anas NG, Fortenberry JD, Tasker RC, Lynch A. Multicenter randomised controlled trial of the effects of inhaled nitric oxide

- therapy on gas exchange in children with acute hypoxemic respiratory failure. *J Pediatr* 1999;134:406-12.
311. Lundin S, Mang H, Smithies M, Stenqvist O, Frostell C. Inhalation of nitric oxide in acute lung injury: results of a European multicentre study. *Intensive Care Med* 1999;25:911-9.
312. Michael JR, Barton RG, Saffle JR, Mone M, Markewitz BA, Hillier K. Inhaled nitric oxide versus conventional therapy: effect on oxygenation in ARDS. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1372-80.
313. Troncy E, Collet JP, Shapiro S, Guimond JG, Blair L, Ducruet T. Inhaled nitric oxide in acute respiratory distress syndrome: a pilot randomized controlled study. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1483-8.
314. GENOA group. Group d'Etude sur le NO inhale au cours de l'ARDS (GENOA). Inhaled NO in ARDS: Presentation of a double blind randomized multicentric study. *Am J Resp Crit Care Med* 1996 ;1531996:A590.
315. Padilla J. La obtención y preservación del órgano. En: Calvo V, editor. *El trasplante pulmonar*. Valencia: Generalitat Valenciana. Consellería de Sanitat, 2001. p. 45-59.
316. Vicente R. La anestesia en el trasplante pulmonar. En: Calvo V, editor. *El trasplante pulmonar*. Valencia: Generalitat Valenciana. Consellería de Sanitat, 2001. p. 61-68.
317. Ramos F. Cuidados postoperatorios en el trasplante pulmonar. En: Calvo V, editor. *El trasplante pulmonar*. Valencia: Generalitat Valenciana. Consellería de Sanitat, 2001. p. 107-114.
318. Castella J, Ancochea J, Llorente L, Puzo C, Sanchis J, Sueiro A. Bronchoalveolar lavage. *Arch Bronconeumol*. 1997 Nov;33:515-26.

319. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol. Chem.* 1951;193:265.
320. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133-1138.
321. Avlonitis VS, Fisher AJ, Kirby JA, Dark JH. Pulmonary transplantation: the role of brain death in donor lung injury. *Transplantation* 2003;75:1928-1933.
322. Gajic O, Dara SI, Mendez JL, Adesanya AO, Festic E, Caples SM. Ventilator-associated lung injury in patients without acute lung injury at the onset of mechanical ventilation. *Crit Care Med* 2004;32:1817-1824.
323. Ware LB, Fang X, Wang Y, Babcock WD, Jones K, Matthay MA. High prevalence of pulmonary arterial thrombi in donor lungs rejected for transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005;24:1650-1656.
324. Thabut G, Mal H, Cerrina J, Darteville P, Dromer C, Velly JF. Graft ischemic time and outcome of lung transplantation: a multicenter analysis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171:786-91.
325. Daud SA, Yusen RD, Meyers B, Chakinala MM, Walter MJ, Aloush AA. The impact of immediate primary lung allograft dysfunction on bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2007 Mar 1;175:507-13..
326. Fujino S, Nagahiro I, Triantafillou AN, Boasquevisque CH, Yano M, Cooper JD. Inhaled nitric oxide at the time of harvest improves early lung allograft function. *Ann Thorac Surg* 1997;63:1383-1389.
327. Murakami S, Bacha EA, Hervé P, Détruit H, Chapelier AR, Darteville PG. Prevention of reperfusion injury by inhaled nitric oxide in lungs harvested from non-heart-beating donors. Paris-Sud University Lung Transplantation Group. *Ann Thorac Surg.* 1996 Dec;62:1632-8.

328. Murakami S, Bacha EA, Hervé P, Détruit H, Chapelier AR, Darteville PG. Inhaled nitric oxide and pentoxifylline in rat lung transplantation from non-heart-beating donors. The Paris-Sud University Lung Transplantation Group. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1997 May;113:821-9.
329. Luh SP, Tsai CC, Shau WY, Shiau SY, Jan IS, Kuo SH. Protective effects of inhaled nitric oxide and gabexate mesilate in lung reperfusion injury after transplantation from non-heart-beatdonors. *J Heart Lung Transplant.* 2002 Feb;21:251-9.
330. Schütte H, Witzenrath M, Mayer K, Rosseau S, Seeger W, Grimminger F. Short-term "preconditioning" with inhaled nitric oxide protects rabbit lungs against ischemia-reperfusion injury. *Transplantation.* 2001 Oct 27;72:1363-70.
331. Yoshikawa T, Date H, Yamashita M, Nagahiro I, Aoe M, Shimizu N. Inhaled nitric oxide ameliorates postoperative acute graft dysfunction after living-donor lobar lung transplantation. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000 Nov;48:742-5.
332. Ueda K, Date H, Fujita T, Oto T, Nagahiro I, Aoe M. Effects of inhaled nitric oxide in a canine living-donorlobar lung transplant model. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000 Nov;48:693-9.
333. Takashima S, Date H, Aoe M, Yamashita M, Andou A, Shimizu N. Short-term inhaled nitric oxide in canine lung transplantation from non-heart-beating donor. *Ann Thorac Surg.* 2000 Nov;70:1679-83.
334. Okabayashi K, Triantafillou AN, Yamashita M, Aoe M, DeMeester SR, Cooper JD. Inhaled nitric oxide improves lung allograft function after prolonged storage. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1996 Aug;112:293-9.
335. Hausen B, Muller P, Bahra M, Ramsamooj R, Hewitt CW. Donor pretreatment with intravenous prostacyclin versus inhaled nitric oxide in experimental lung transplantation. *Transplantation.* 1996 Dec 27;62:1714-9.

336. Waldow T, Witt W, Ulmer A, Janke A, Alexiou K, Matschke K. Preconditioning by inhaled nitric oxide prevents hyperoxic and ischemia/reperfusion injury in rat lungs. *Pulm Pharmacol Ther.* 2008;21:418-29.
337. Waldow T, Alexiou K, Witt W, Wagner FM, Kappert U, Knaut M. Protection of lung tissue against ischemia/reperfusion injury by preconditioning with inhaled nitric oxide in an in situ pig model of normothermic pulmonary ischemia. *Nitric Oxide.* 2004 Jun;10:195-201.
338. Waldow T, Alexiou K, Witt W, Wagner FM, Guliemos V, Matschke K. Attenuation of reperfusion-induced systemic inflammation by preconditioning with nitric oxide in an in situ porcine model of normothermic lung ischemia. *Chest.* 2004 Jun;125:2253-9.
339. Kandilci HB, Gumusel B, Topaloglu E, Ucar G, Korkusuz P, Ugur Y. Effects of ischemic preconditioning on rat lung: role of nitric oxide. *Exp Lung Res.* 2006 Aug;32:287-303.
340. Kubes S, Suzuki M, Granger DN. Nitric Oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:4651-4655.
341. Tibballs J. Clinical applications of gaseous nitric oxide. *Anaesth Intensive Care.* 1993 Dec;21:866-71.
342. Lindberg L, Sjöberg T, Ingemansson R, Steenb S. Inhalation of nitric oxide after lung transplantation. *Ann Thorac Surg.* 1996 Mar;61:956-62.
343. Bhabra MS, Hopkinson DN, Shaw TE, Hooper TL. Low-dose nitric oxide inhalation during initial reperfusion enhances rat lung graft function. *Ann Thorac Surg.* 1997 Feb;63:339-44.
344. Fukahara K, Murakami A, Watanabe G, Kotoh K, Misaki T. Inhaled nitric oxide after lung ischemia reperfusion; effect on hemodynamics and oxygen free radical scavenger system. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1997 Feb;11:343-9.

345. Ishibe Y, Liu R, Ueda M, Mori K, Miura N. Role of inhaled nitric oxide in ischaemia-reperfusion injury in the perfused rabbit lung. *Br J Anaesth*. 1999 Sep;83:430-5.
346. Meyer KC, Love RB, Zimmerman JJ. The therapeutic potential of nitric oxide in lung transplantation. *Chest*. 1998 May;113:1360-71.
347. Kemming GI, Merkel MJ, Schallerer A, Habler OP, Kleen MS, Haller M. Inhaled nitric oxide (NO) for the treatment of early allograft failure after lung transplantation. Munich Lung Transplant Group. *Intensive Care Med*. 1998 Nov;24:1173-80.
348. Bigatello LM. Nitric oxide: modulation of the pulmonary circulation. *Minerva Anesthesiol*. 2000 May;66:307-13.
349. Lang JD Jr, Lell W. Pro: Inhaled nitric oxide should be used routinely in patients undergoing lung transplantation. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2001 Dec;15:785-9.
350. McQuitty CK. Con: Inhaled nitric oxide should not be used routinely in patients undergoing lung transplantation. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2001 Dec;15:790-2.
351. Karamsetty MR, Klinger JR. NO: more than just a vasodilator in lung transplantation. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2002 Jan;26:1-5.
352. Cornfield DN, Milla CE, Haddad IY, Barbato JE, Park SJ. Safety of inhaled nitric oxide after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2003 Aug;22:903-7.
353. Kleen M, Zwissler B. Intra-operative use of inhaled vasodilators: are there indications? *Curr Opin Anaesthesiol*. 2002 Feb;15:79-83.
354. George I, Xydas S, Topkara VK, Ferdinando C, Barnwell EC, Gableman L. Clinical indication for use and outcomes after inhaled nitric oxide therapy. *Ann Thorac Surg*. 2006 Dec;82:2161-9.

355. Murakami S, Bacha EA, Mazmanian GM, Détruit H, Chapelier A, Dartevielle P. Effects of various timings and concentrations of inhaled nitric oxide in lung ischemia-reperfusion. The Paris-Sud University Lung Transplantation Group. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997 Aug;156:454-8.
356. Valiño F, Casals C, Guerrero R, Alvarez L, Santos M, Sáenz A. Inhaled nitric oxide affects endogenous surfactant in experimental lung transplantation. *Transplantation.* 2004 Mar 27;77:812-8.
357. Perrin G, Roch A, Michelet P, Reynaud-Gaubert M, Thomas P, Doddoli C. Inhaled nitric oxide does not prevent pulmonary edema after lung transplantation measured by lung water content: a randomized clinical study. *Chest.* 2006 Apr;129:1024-30.
358. Bittner HB, Binner C, Dahlberg P, Mohr FW. Reducing ischemia-reperfusion injury in clinical lung transplantation. *Transplant Proc.* 2007 Mar;39:489-92.
359. Singh RR, Laubach VE, Ellman PI, Reece TB, Unger E, Kron IL. Attenuation of lung reperfusion injury by modified ventilation and reperfusion techniques. *J Heart Lung Transplant.* 2006 Dec;25:1467-73.
360. Zuckerbraun BS, Chin BY, Wegiel B, Billiar TR, Czimadia E, Rao J. Carbon monoxide reverses established pulmonary hypertension. *J Exp Med.* 2006 Sep 4;203:2109-19.
361. Kohmoto J, Nakao A, Stolz DB, Kaizu T, Tsung A, Ikeda A. Carbon monoxide protects rat lung transplants from ischemia-reperfusion injury via a mechanism involving p38 MAPK pathway. *Am J Transplant.* 2007 Oct;7:2279-90.
362. Yung G. Lung Transplantation and Pulmonary Hypertension. *Seminars in Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, June 1, 2007; 11: 149-156.

363. Sekido N, Mukaida N, Harada A, Nakanishi I, Watanabe Y, Matsushima K. Prevention of lung reperfusion injury in rabbits by a monoclonal antibody against interleukin-8. *Nature*. 1993 Oct 14;365:654-657.
364. Whitehead BF, Stoehr C, Wu CJ, Patterson G, Burchard EG, Theodore J. Cytokine gene expression in human lung transplant recipients. *Transplantation*. 1993 Oct;56:956-961.
365. Cuthbertson BH, Galley HF, Webster NR. Effect of exogenous nitric oxide and superoxide on interleukin-8 from human polymorphonuclear leucocytes. *Br J Anaesth*. 1997 Jun;78:714-7.
366. Meldrum DR, Shames BD, Meng X, Fullerton DA, Mc Intyre RC Jr, Grover FL. Nitric oxide downregulates lung macrophage inflammatory cytokine production. *Ann Thorac Surg*. 1998 Aug;66:313-7.
367. Mal H, Dehoux M, Sleiman C, Boczkowski J, Lesèche G, Pariente R. Early release of proinflammatory cytokines after lung transplantation. *Chest*. 1998 Mar;113:645-51.
368. Lin HC, Wang CH, Yu CT, Hwang KS, Kuo HP. Endogenous nitric oxide inhibits neutrophil adherence to lung epithelial cells to modulate interleukin-8 release. *Life Sci*. 2001 Aug 3;69:1333-1344.
369. Miyajima K, Nakajima S, Masahiko T, Hayashi A, Naohiro K, Osamu U. Cytokine responsiveness in cultured human small airway epithelial cells in relation to lung transplantation. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2005;11:374-381.
370. Hodge G, Hodge S, Reynolds P, Holmes M. Up-regulation of interleukin-8, interleukin-10, monocyte chemoattractant protein-1, and monocyte chemoattractant protein-3 in peripheral blood monocytes in stable lung transplant recipients: are immunosuppression regimens working? *Transplantation*. 2005 Feb 27;79:387-91.

371. Mathur A, Maher B, Denmark S, Bonnell M, Speckman J, Hess P. Cytokine profile after lung transplantation: correlation with allograft injury. *Ann Thorac Surg* 2006;81:1844-1850.
372. Bhorade SM, Yu A, Vigneswaran WT, Alex CG, Garrity ER. Elevation of interleukin-15 protein expression in bronchoalveolar fluid in acute lung allograft rejection. *Chest*. 2007 Feb;131:533-8.
373. Vanaudenaerde BM, Dupont LJ, Wuyts WA, Verbeken EK, Meyts I, Bullens DM. The role of interleukin-17 during acute rejection after lung transplantation. *Eur Respir J*. 2006 Apr;27:779-87.
374. Botha P, Jeyakanthan M, Rao J, Fisher A, Prabhu M, Dark J. Inhaled nitric oxide for modulation of ischemia-reperfusion injury in lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2007 Nov;26:1199-205.
375. Whitson BA, Nath DS, Johnson AC, Walker AR, Prekker ME, Radosevich DM. Risk factors for primary graft dysfunction after lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006 Jan;131:73-80.
376. Prekker ME, Herrington CS, Hertz MI, Radosevich DM, Dahlberg PS. Early Trends in PaO₂/fraction of inspired oxygen ratio predict outcome in lung transplant recipients with severe primary graft dysfunction. *Chest* 2007 Sep;132(3):991-7.
377. Saitoh M, Tsuchida M, Koike T, Satoh K, Haga M, Aoki T. Ultrafiltration attenuates cardiopulmonary bypass-induced acute lung injury in a canine model of single-lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006 Dec;132(6):1447-54.