

Utilización de órganos procedentes de donantes en parada cardíaca: Revisión de la patogenia del daño orgánico y los posibles mecanismos de prevención

J.V. Ferrer, J. Herrera, E. Balen, J. M. Lera

RESUMEN

Existe una desproporción evidente entre los pacientes en espera de trasplante renal y la disponibilidad de órganos procedentes de donantes por muerte cerebral. Diariamente fallecen un elevado número de pacientes por parada cardíaca, cuyos órganos podrían ser utilizados para ser trasplantados si se siguen unos cuidados específicos.

Aunque existen centros donde están implantados estos métodos de extracción, los problemas del daño orgánico aún no están resueltos, puesto que todavía se pierden 1/3 de los órganos, además del incremento de la necesidad de diálisis precoz y del número de injertos disfuncionantes a los dos años del trasplante, cuando se utilizan este tipo de órganos.

Cada vez se conoce con más detalle la patogenia del daño orgánico tras parada cardíaca y reanimación, así como del daño tras la conservación y reimplante del riñón. Es de crucial importancia para no desechar órganos indebidamente conocer el tiempo máximo de isquemia caliente que puede soportar un órgano. Además, los cada vez más amplios conocimientos sobre la fisiopatología del estrés oxidativo nos pueden facilitar la posibilidad de, mediante el uso de antioxidantes, intentar mejorar el aprovechamiento de los órganos y disminuir la incidencia de disfunciones y rechazos.

Palabras clave: Donantes. Parada-cardíaca. Estrés oxidativo. Determinantes viabilidad.

ANALES Sis San Navarra, 20 (1): 47-55, 1997.

ABSTRACT

There is an evident imbalance between the number of patients awaiting a kidney transplant and the availability of organs proceeding from donors with brain death. A high number of patients die each day from heart failure, whose organs could be used for transplants if specific care is employed.

Although centres do exist where these methods of extraction are established, the problems of organic damage have yet to be resolved, since one third of the organs are still lost, besides the increase in the need for early dialysis, and the number of dysfunctioning grafts two years after the transplant, when this type of organ is employed.

There is increasingly detailed knowledge of the pathogenesis of organic damage following heart failure and reanimation, as well as of the damage following the conservation and reimplantation of the kidney. Knowledge of the maximum time of hot ischemic that an organ can withstand is of crucial importance if organs are not to be unduly discarded. Besides, the increasing understanding of the physiopathology of oxidative stress could make it possible for us, through the use of antioxidants, to attempt to improve the utilisation of the organs and diminish the incidence of dysfunctions and rejections.

Key words: Donors. Heart failure. Oxidative stress. Viability determinants.

Servicio de Cirugía General y Digestiva. Hospital de Navarra.

Aceptado para su publicación el 28 de febrero de 1997.

Correspondencia:

D. José Vicente Ferrer
Unidad de Investigación Biomédica
Irunlarrea, 3
31008 Pamplona
Tfno. (948) 422186

INTRODUCCIÓN

La desproporción entre el número de los pacientes en espera de trasplante renal y el de órganos disponibles obtenidos de donantes en muerte cerebral, ha aumentado el interés por la obtención de órganos para trasplante procedentes de donantes en parada cardíaca (Non-heart-beating-donors NHBD). La utilización de nuevos agentes inmunosupresores junto a la mejora en la estrategia para el uso de riñones provenientes de NHBD, ha mejorado el resultado de los mismos. La preocupación de la comunidad transplantadora internacional por la escasez de órganos llevó a promover una conferencia de consenso en Mastrich, cuyas conclusiones han sido publicadas en *Transplantation Proceedings* (Volumen XXVIII, octubre 1995). En la actualidad existen varios grupos nacionales y extranjeros con programas activos de trasplante en NHBD, con resultados aceptables^{1,2}. Sin embargo, todavía se desechan hasta 1/3 de los injertos. Los problemas fundamentales de los riñones procedentes de un NHBD son^{4,5}:

1. Un aumento de la proporción de riñones que precisan diálisis precoz.
2. Persistencia más prolongada de niveles altos de creatinina postoperatoria.
3. Un incremento del número de injertos renales disfuncionantes, a los 2 años del trasplante.
4. Un aumento del número de riñones no trasplantables, con respecto a los provenientes de donantes por muerte cerebral.

La solución de estos problemas supone una gran reto para la comunidad científica, y supondría un considerable incremento de órganos disponibles para trasplantar, así como la optimización de la viabilidad de éstos.

PATOGENIA DEL DAÑO ORGÁNICO TRAS PARADA CARDÍACA

El órgano procedente de un paciente que ha sufrido parada cardíaca sufre dis-

tintos procesos⁶, que podrían clasificarse como sigue:

1. Isquemia caliente: Correspondería al período de asistolia más la reanimación cardiopulmonar. La prolongación de este período parece ser la principal causa del daño que se produce en riñones procedentes de NHBD. Se supone que el tiempo máximo que condiciona la viabilidad de un riñón es entre 30 y 60 minutos⁷.

2. Isquemia fría: Corresponde al lavado del órgano con la solución de preservación. Se ha demostrado que, por encima de las 24 horas de este período, comienza a disminuir la viabilidad del injerto, así como que la solución de preservación Universidad de Wisconsin (U.W.) mejora la proporción de supervivencias y disminuye la de fallos renales, estancia hospitalaria..., con respecto al Euro Collins (E.C.)^{8,9}.

3. Reperusión: Corresponde al reimplante del órgano. Los radicales libres de oxígeno (RLO) que se liberan durante la reperusión, y que actúan sobre células cuyo metabolismo se encuentra mermado por el período isquémico, parecen ser la principal causa del daño durante este período.

Se ha demostrado una disminución de la concentración de ATP en la corteza renal, que se inicia en los primeros segundos de la isquemia, y que parece proporcional al tiempo de la misma¹⁰. Este déficit energético celular induce a alteraciones en el funcionalismo de la ATP-asa de membrana con vacuolización celular y alteración del citoesqueleto¹¹, que induciría la adhesión de polimorfonucleares al endotelio y finalmente migración leucocitaria⁶. Parece que la reperusión es causante de la activación de los polimorfonucleares, induciéndoles a la eliminación de RLO y enzimas proteolíticas¹². Por otro lado, la degradación de ATP supone un exceso de producción de hipoxantina que transformada en xantina se convierte en el sustrato de la enzima xantino-oxidasa, que se activa en el riñón durante los períodos isquémicos y de cuya reacción bioquímica se producen RLO¹⁰.

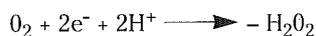
Bioquímica del estrés oxidativo

Gran parte del O_2 que llega a las células es reducido en el interior de las mitocondrias por el sistema de la citocromo-oxidasa ($O_2 + 4e^- + 4H^+ = 2H_2O$). Una pequeña proporción de oxígeno queda reducido parcialmente, presentando un electrón desapareado que lo convierte en una molécula inestable y altamente reactiva, denominada genéricamente RLO. Los principales RLO son: el anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH^\bullet) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Otras fuentes conocidas de RLO son: la vía sintética del ácido úrico en el paso de hipoxantina a xantina, mediado por la xantina deshidrogenasa, y la producción de O_2^- y H_2O_2 por los polimorfonucleares¹³.

El anión superóxido (O_2^-) se originaría al adquirir el O_2 un electrón, convirtiéndose en $O_2^{\bullet -}$.



El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) se originaría por adquirir el O_2 dos electrones y dos hidrogeniones, o por los enzimas superóxido dismutasa (SOD), D-aminoácido oxidasa y amino-oxidasa.



El radical hidroxilo (OH^\bullet) se originaría por la interacción del H_2O_2 con el O_2^- , o bien por la reducción parcial del H_2O_2 con Fe^{++}



Existe una protección celular contra los RLO, mediada por sistemas enzimáticos o antioxidantes específicos, y por antioxidantes inespecíficos o scavengers.

Reacción de la Superóxido Dismutasa (SOD):

Cataliza la destrucción del radical superóxido. Se encuentra principalmente en el citosol.



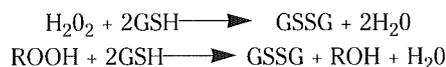
Reacción de la Catalasa:

Cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno. Se encuentra en los peroxisomas.



Reacción de la glutatión peroxidasa (GSHpx):

Cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno y de los hidroperóxidos orgánicos. Se encuentra en las mitocondrias y en el citosol:



Scavengers (Vitamina C, Beta-carotenos y Alfa-tocoferol): son productos naturales capaces de inactivar RLO sin generar otros. Mitigan las reacciones en cadena.

La vía de óxido-reducción del glutatión es el sistema enzimático más importante ya que, además de inactivar directamente los RLO, es la única capaz de reparar daños oxidativos recientes sobre proteínas estructurales. Sin embargo, su funcionamiento depende del aporte de hidrogeniones en forma de NADPH que proporciona la vía de las pentosas, y del aporte de precursores sintéticos del glutatión, especialmente de cisteína^{11,14} (Fig. 1). El consumo de glutatión reducido (GSH), en situaciones de stress oxidativo, puede compensarse con el aporte de cisteína en forma de N-Acetilcisteína. En el cristalino se ha podido demostrar que la capacidad "protectora" de esta molécula se debe a que se incorpora en la cadena sintética sobrepasando la enzima cistationasa, que es limitante en dicha síntesis, y que se altera en situaciones de estrés oxidativo¹⁵ (Fig. 2). A la vez, es fundamental el adecuado estatus energético para el funcionamiento de este sistema redox (medible en concentración de ATP), cuya carencia puede ser desencadenante de daño celular por RL.

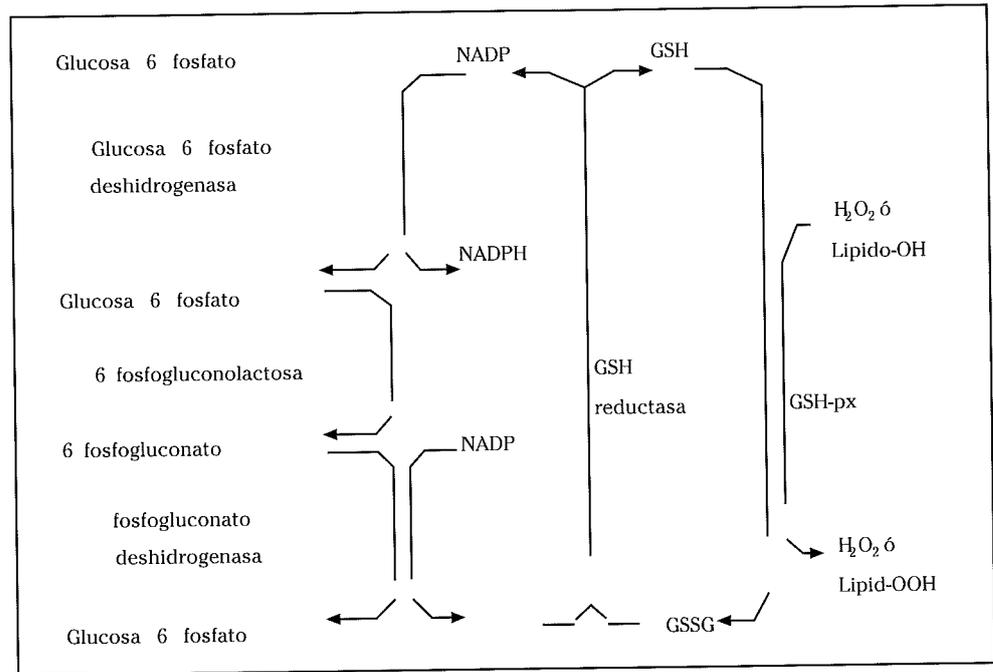


Figura 1. Vía de las pentosas y su relación con la vía óxido-reductora del glutatión y la neutralización de RLO. (Modificado de Newsholme, 1986).

Mecanismos de toxicidad de los RLO

La unión de H₂O₂ y O₂^{-•} produce un radical hidroxilo, capaz de crear una reacción en cadena. Los RLO actúan sobre el DNA produciendo peroxidación y modificación química de sus bases nitrogenadas, produciendo mediadores, algunos con capacidad cocarcinogénica. Producen oxidación los grupos sulfhidrilos de las proteínas, formando puentes -SS- que alteran su estructura. Sobre los lípidos inducen la formación de peróxidos lipídicos, que son potentes inhibidores enzimáticos¹⁶. Los peróxidos lipídicos pueden medirse como malondialdehído (MDA), representando el daño celular por RLO¹⁷.

Múltiples grupos de investigación han realizado estudios en riñón, sobre la fisiopatología del daño por isquemia-reperfusion, obteniendo resultados similares a otros tejidos. Así, Defraigne y colaborado-

res (1995)¹⁸ han observado una disminución de la concentración de GSH hasta un 16% y de Vitamina E hasta un 19% en riñones sometidos a isquemia reperfusion¹⁸. Estudios similares realizan Pincemail y colaboradores (1995)¹⁹, observando en la corteza renal una disminución de la concentración de GSH del 42% y de Vitamina E del 49% en riñones sometidos a isquemia-reperfusion; no encuentran cambios, sin embargo, en la actividad de catalasa y GSHpx. Maessen y colaboradores (1988)¹⁰, observan una disminución de ATP en la corteza renal, proporcional al tiempo de isquemia. Otros autores^{8,20} han podido observar un incremento de MDA, tanto en el suero como en orina de pacientes sometidos a trasplante renal, proponiendo además el establecimiento de esta técnica para centros especializados en trasplante de órganos, por su presumible utilidad como factor pronóstico de viabilidad del

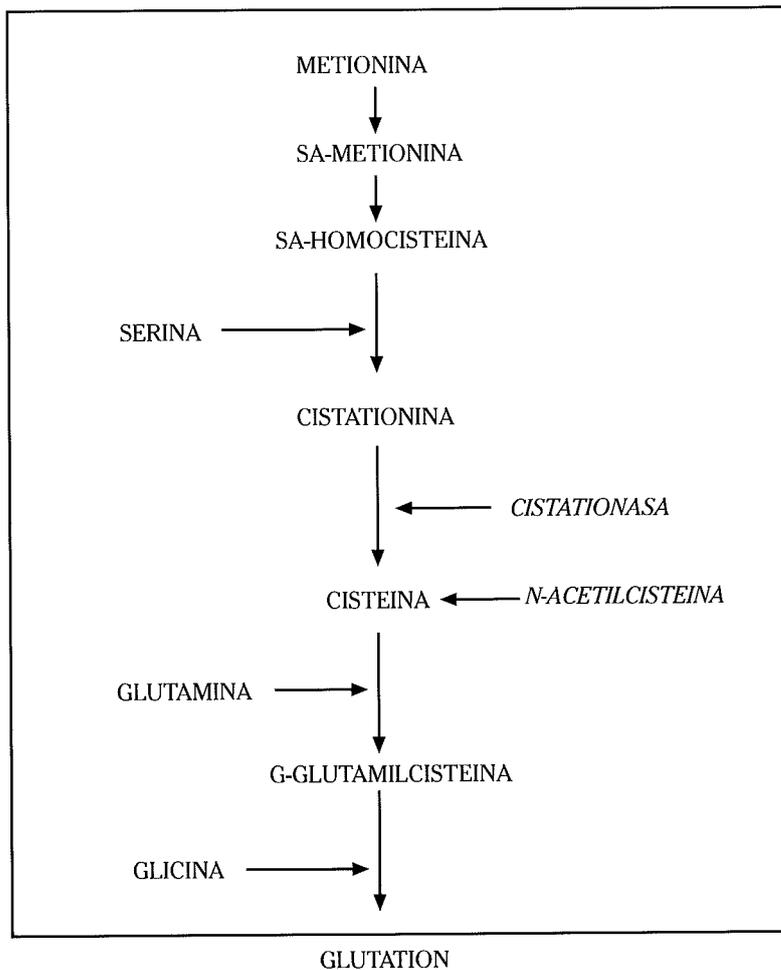


Figura 2. Vía de síntesis del glutatión. (Modificado de Newsholme, 1986).

órgano trasplantado. En conjunto podría hablarse de que la isquemia-reperfusión induciría un déficit energético (ATP) y de GSH, disminuyendo la capacidad de defensa de los tejidos frente a los RLO, y por ello daño celular, demostrable por un incremento de MDA en el riñón, plasma y orina.

Esto no sería un hecho aislado en la homeóstasis orgánica. Muchos autores han observado interacciones con las células mediadoras del proceso inflamatorio, y con el metabolismo de las prosta-

glandinas, del óxido nítrico y del ácido úrico entre otros. Laight y colaboradores (1994)²¹ demuestran, mediante la técnica de la mieloperoxidasa (MPO), enzima existente en los gránulos de secreción de neutrófilo, el aumento del atrapamiento de polimorfonucleares en el riñón sometido a isquemia reperfusion. Se ha observado, durante la isquemia glomerular, un incremento en plasma del factor de agregación plaquetar (PAF)²², así como es conocida la existencia de receptores para

la misma en el túbulo proximal. En este punto el óxido nítrico juega un papel crucial, evitando la transformación de anión superóxido en peróxido de hidrógeno, que en presencia de hierro es capaz de transformar los fosfolípidos en leucotrie-

nos B4 (LTB₄), el cual gracias a la PAF induciría localmente la adhesión leucocitaria^{23,24} (Fig. 3). La activación leucocitaria induciría no sólo su migración, sino la eliminación de H₂O₂, alterando la estructura endotelial²⁵.

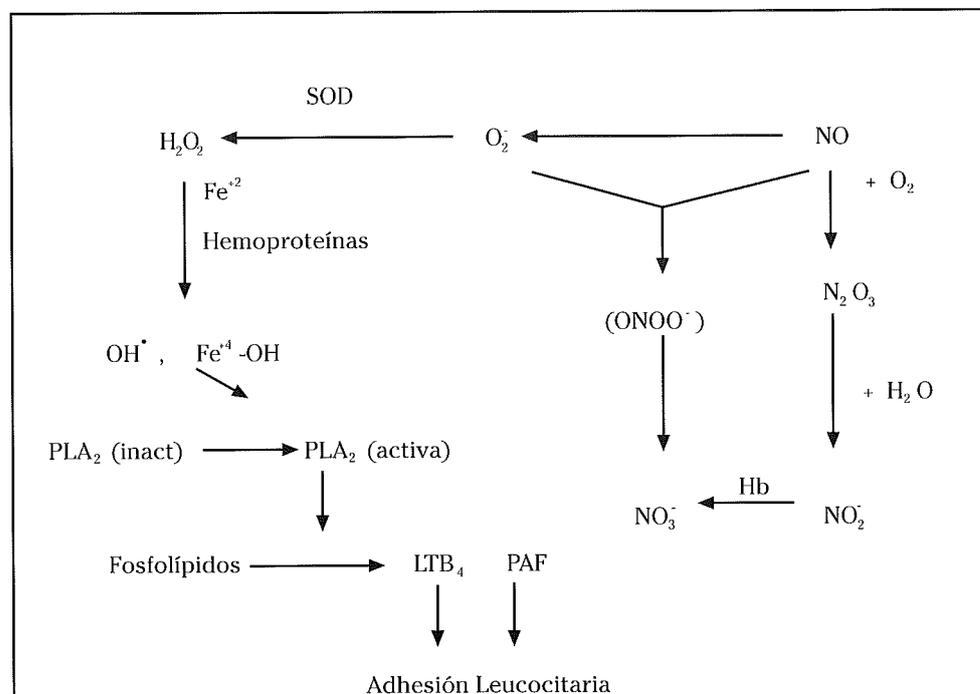


Figura 3. Interacción entre el Óxido Nítrico y el Anión Superóxido. En condiciones normales, existe equilibrio entre la aparición de O₂⁻ y la producción de NO[•], sintetizándose NO₃⁻ sin consecuencias patológicas. El exceso de O₂⁻ o la disminución en la síntesis de NO[•], en presencia de Fe⁺², activa la fosfolipasa A₂ (PLA₂), que es sustrato para la síntesis de lípidos mediadores de inflamación como LTB₄ y PAF. Los leucocitos aportan abundante H₂O₂, cerrando el círculo patogénico. (Modificado de Grishman, 1995).

REPRODUCIBILIDAD EN UN MODELO ANIMAL: PROBLEMAS POR RESOLVER

El modelo humano de NHBD no ha sido reproducido exactamente en el laboratorio. En un donante en parada cardíaca, el riñón sufre isquemia caliente hasta el comienzo de las maniobras de reanimación cardiopulmonar (RCP), momento en

el que el órgano es reperfundido con sangre hiperoxigenada (Ventilación mecánica con O₂ al 100%), sufriendo nuevamente isquemia caliente. Se considera que la duración mínima de las maniobras de RCP debe de ser de al menos 30 minutos. Si pasado este tiempo, el equipo de reanimación considera al paciente fallecido, se canulan los vasos femorales y se realiza enfriamiento "in situ", induciendo isque-

mia fría. Una vez conseguidos los permisos familiar y judicial se extraen los órganos de manera convencional. Habitualmente, tras 24 horas son trasplantados y por lo tanto revascularizados, induciendo nuevamente un daño de reperfusión. Por lo tanto un injerto de un NHBD acumula las siguientes agresiones teóricas desde el punto de vista de la isquemia-reperfusión:

1. Isquemia caliente desde la parada cardíaca hasta la RCP.
2. Reperfusión con sangre hiperoxigenada durante la RCP.
3. Preservación e isquemia fría (perfu-sión, extracción y almacenamiento)
- 4.- Reperfusión convencional (al revas-cularizar el injerto).

Es necesario conocer exactamente el daño inducido por cada una de estas fases y la duración límite con respecto a la viabilidad del injerto.

Cuando obtenemos un órgano de un NHBD deberíamos poder responder a estas preguntas:

1. ¿Cuál es el período de isquemia caliente limitante de la viabilidad del injerto, teniendo en cuenta las lesiones que posteriormente inducirán las maniobras de RCP, la preservación y revascularización del injerto una vez trasplantado?

2. ¿Qué daño por isquemia-reperfusión ha sufrido este órgano? ¿Afectará a su viabilidad?

En este sentido, la disponibilidad de un parámetro de daño celular por estrés oxidativo, que se pudiese correlacionar con la incidencia de fallo orgánico o incluso rechazo después del trasplante, sería crucial. Se apunta que las lesiones estructurales inducidas por los RLO serían facilitadores de la activación del sistema inmunológico del receptor contra el órgano.

POSIBLES MECANISMOS DE PREVENCIÓN DEL DAÑO CELULAR POR R.L.O. EN ÓRGANOS PROCEDENTES DE NHBD.

La posibilidad de poder prevenir o incluso tratar el daño celular que se produce por isquemia-reperfusión, durante la

extracción y trasplante del órgano, abre muchas puertas a la investigación.

Estudios recientes de diversos autores demuestran que la perfusión hipotérmica con solución de U.W. previene de manera considerable la disminución de la concentración de ATP que se produce durante la isquemia. Gran parte de este efecto beneficioso se consiguió al incluir en la solución cantidades suficientes de glucosa, cisteína y glutatión^{10,26}. Esto podría justificar la necesidad de un aporte suplementario al paciente, tanto de glucosa como de precursores sintéticos del glutatión, como la N-acetilcisteína, cuya utilidad ha sido ya demostrada.

El uso de antagonistas de los canales lentos de calcio, como el verapamil, también es capaz de proteger la integridad de la estructura tubular²⁷, aunque no se ha ensayado su uso terapéutico.

Estudios con alopurinol, inhibidor de la xantina-oxidasa²⁸, han mostrado un efecto beneficioso en la prevención de la disfunción del injerto, que justificaría el uso del mismo, y que debería realizarse mediante administración intravenosa durante los períodos de isquemia y de reperfusión.

Sustancias como la desferroxiamina, inhibidores de la PAF²², serían capaces de prevenir en parte estas lesiones; además, el aporte de antioxidantes puede prevenir el déficit de óxido nítrico^{29,30}, evitando el paso de anión superóxido a peróxido de hidrógeno como desencadenante de la reacción comentada²³.

Una utilización conjunta y bien organizada de todas las armas preventivas y terapéuticas de las que disponemos probablemente disminuiría la tasa de complicaciones en los órganos procedentes de NHBD. Parece que el aporte adecuado de precursores de la síntesis de GSH y ATP, así como el tratamiento con alopurinol IV, durante el período de isquemia caliente y la reperfusión, y por tanto al donante y al receptor, parecen las mejores opciones terapéuticas. El uso de catalasas y SOD no ha demostrado su utilidad³¹.

Los autores de este trabajo estamos realizando, en la Unidad de Investigación

Biomédica del SNS, un estudio de isquemia-reperusión renal en un modelo animal de injertos de donantes en parada cardíaca, con la intención de conocer factores determinantes de viabilidad, los tiempos máximos de isquemia caliente, o el estudio de MDA en orina del riñón trasplantado como parámetro de daño postreperusión, que esperamos puedan responder a algunas de las cuestiones planteadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. BOOSTER M, WIJNEN R, VROEMEN J, HOFF J, KOOTSTRA G. In situ preservation of kidneys from non-heart-beating donors: A proposal for a standardized protocol. *Transplantation* 1993; 56:613-617.
2. KOOTSTRA G, WIJNEN RMH, VAN HOOF JJP, VAN DER LIJN. Twenty percent more kidneys through a non-heart-beating donors program. *Transplant Proc* 1991; 23: 910-915.
3. ORLOFF M, REED A, ERTURK E, KRUK R, PAPROCKI S, CÍMBALO S et al. Nonheartbeating cadaveric organ donation. *Ann Surg* 1994;220:578-585.
4. D'ALESSANDRO A, HOFFMANN R, KNECHTLE S, ECKHOFF D, LOVE R, KALAYOGLU M et al. Successful extrarenal transplantation from non-heart-beating donors. *Transplantation* 1995;59:977-982.
5. TROPFMANN CH, GILLINGHAM K, BENEDETTI E, ALMOND S, GRUENESSNER R, NAJARIAN J et al. Delayed graft function, acute rejection, and outcome after cadaver renal transplantation. *Transplantation* 1995; 59:962-968.
6. JOHNSON KJ, WIENBERG JM. Postischemic renal injury due to oxygen radicals. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1993;2(4):625-635
7. HOSHINO T, MALEY W, BULKLEY G, MELVILLE W. Ablation of free radical-mediated reperfusion injury for the salvage of kidneys taken from non heartbeating donors. *Transplantation* 1988;45:284-289.
8. LLEDÓ E, HERNÁNDEZ C, ESCRIBANO G, VERDÚ F, MONCADA Y, HERRANZ F et al. Functional and economic impact of the use of Wisconsin University conservation solution versus Eurocollins in relation to the period of cold ischemia in renal transplantation of cadaveric donor. *Actas Urol Esp* 1994;18:953-960.
9. SAKAGAMI K, TAKASU S, KAWAMURA T, SAITO S, HAISA M, OIWA T et al. A comparison of University of Wisconsin and Euro-Collins solutions for simple storage in non-heart-beating cadaveric kidney transplantation. *Transplantation* 1989; 49: 824-826.
10. MAESSEN JG, VAN DER VUSSE GJ, VORK M, COUMANS WA, KOOTSTRA G. Determination of warm ischemia time at donor nephrectomy. *Transplantation* 1988;45:147-152.
11. VIÑA J, VIÑA JR, GUILLERMO TS. Glutathione: metabolism and physiological functions. *Lyfe Chemistry Reports* 1986;4:1-35.
12. MENGER MD. Microcirculatory disturbances secondary to ischemia-reperfusion. *Transplant Proc* 1995; 27: 2863-2865.
13. NEWSHOLME EA, LEECH AR. Toxicidad del oxígeno. En: *Bioquímica Médica* editores. Interamericana, 1986: 127-139.
14. SIES H. Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie* 1986; 25: 1058-1071.
15. FERRER JV, GASCÓ E, SASTRE J, PALLARDÓ FV, ASENSI M, VIÑA J. Age-related changes in glutathione synthesis in the eye lens. *Biochem J* 1990;269:531-534.
16. SLATER TF. Lipid peroxidation. *Biochem Soc Trans* 1982; 10:70-71.
17. AUER T, KHOSCHSORUR GA, RABL H, IBERER F et al. Detection of lipid peroxidation products by malondialdehyde (MDA-TBA reaction) in organ transplantation. *Transplant Proc* 1995;25:2749-2751.
18. DEFRAIGNE JO, PINCEMAIL J, DETRY O, FRANSSSEN C, MEURISSE M, LIMET R. Variations of glutathione and vitamin E concentrations after hypotermic storage in Euro-Collins solution and reperfusion of the rabbit kidney. *Transplant Proc* 1995; 27: 2783-2785.
19. PINCEMAIL J, DETRY O, PHILIPART C, DEFRAIGNE JO, FRANSSSEN C, BURHOP K et al. Diaspirin crosslinked hemoglobin (DCLHb): absence of increased free radical generation following administration in a rabbit model of renal ischemia and reperfusion. *Free Radic Biol Med* 1995; 19: 1-9.
20. DAVENPORT A, HOPTON M, BOLTON C. Measurement of malondialdehyde as a marker of oxygen free radical production during renal allograft transplantation and the effect on early graft function. *Clin Transplant* 1995; 9: 171-175.
21. LAIGHT DW, LAD N, WOODWARD B, WATERFALL JF. Assessment of myeloperoxidase activity in renal tissue after ischemia reperfusion. *Eur J Pharmacol* 1994 ; 292: 81-88.
22. YIN M, KURVERS HAJM, BUURMAN WA, TANGELDER GJ, TIEBOSCH ATM, DAEMEN JHC et al. Platelet-activating factor antagonist TCV-309 protects rat kidneys against ischemia-reper-

- fusion injury. *Transplant Proc* 1995; 27: 2844-2846.
23. GRISHAM MB. Interaction between nitric oxide and superoxide: role in modulating leukocyte adhesion in the postischemic microvasculature. *Transplant Proc* 1995; 27: 2842-2843.
 24. DAVIES MG, FULTON GJ, HAGEN PO. Clinical biology of nitric oxide. *Br J Surg* 1995; 82: 1598-1610.
 25. MENDER MD. Microcirculatory disturbances secondary to ischemia-reperfusion. *Transplant Proc* 1995; 27: 2863-2865
 26. STUBENITSKY BM, AMETANI M, DANIELEWICK R, SOUTHARD JH, BELZER FO. Regeneration of ATP in kidney slices after warm ischemia and hypothermic preservation. *Transplant Int* 1995; 8: 293-297.
 27. ÁLVAREZ A, MARFUL E, VEIGA F, FORTEZA J. Functional, histologic and ultrastructural study of the protective effects of verapamil in experimental ischemic acute renal failure in the rabbit. *Renal Fail* 1994; 16: 193-207.
 28. LÓPEZ NEBLINA F, TOLEDO PEREYRA LH, SUZUKI S, MIRMIRAN R. Protective effect of combined allopurinol and verapamil given at reperfusion in severe renal ischemia. *J Invest Surg* 1995; 8: 57-63.
 29. LÓPEZ-NEBLINA F, PÁEZ AJ, TOLEDO-PEREYRA LH. Modulation of neutrophil infiltration through nitric oxide in the ischemic rat kidney. *Transplant Proc* 1995; 27: 1883-1885.
 30. KIN S, SASAKI T, GU K, NAKAYAMA K, TAMURA K, NAKAI Y, OKA T. The cytoprotective role of nitric oxide in ischemia-reperfusion injury in the rat kidney. *Transplant Proc* 1995; 27: 754-756.
 31. PALLER MS, EATON JW. Hazards of antioxidant combinations containing superoxide dismutase. *Free Radic Biol Med* 1995; 18: 883-890.