

Tatiana Helena Rech^{1,2}, Geisiane Custódio¹,
Leonardo Viliano Kroth³, Sabrina Frighetto
Henrich⁴, Édison Moraes Rodrigues Filho^{2,5},
Daisy Crispim^{1,6}, Cristiane Bauermann Leitão^{1,6}

A liberação de citocinas induzida pela morte cerebral não está associada à disfunção primária do enxerto: um estudo de coorte

Brain death-induced cytokine release is not associated with primary graft dysfunction: a cohort study

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre (RS), Brasil.
2. Unidade de Terapia Intensiva, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre (RS), Brasil.
3. Unidade de Transplante Renal, Hospital São Lucas - Porto Alegre (RS), Brasil.
4. Unidade de Terapia Intensiva, Hospital São Vicente de Paulo - Passo Fundo (RS), Brasil.
5. Unidade de Terapia Intensiva, Hospital Dom Vicente Scherer - Porto Alegre (RS), Brasil.
6. Divisão de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre (RS), Brasil.

RESUMO

Objetivo: Examinar a associação entre os níveis de citocinas no plasma do doador e o desenvolvimento de disfunção primária do enxerto de órgãos transplantados a partir de doadores falecidos.

Métodos: Foram incluídos no estudo de forma prospectiva 17 doadores falecidos e os respectivos 47 pacientes receptores de transplante. Os receptores foram divididos em dois grupos: grupo 1, de pacientes que desenvolveram disfunção primária do enxerto, e grupo 2, de pacientes que não desenvolveram disfunção primária do enxerto. Os níveis de TNF, IL-6, IL-1 β , e IFN- γ , avaliados por meio de ELISA, foram comparados entre os grupos.

Resultados: Obtiveram-se 69 órgãos, sendo realizados 48 transplantes. Os níveis plasmáticos de citocinas nos doadores não diferiram entre os grupos

(em pg/mL): TNF no grupo 1, com 10,8 (4,3 - 30,8) *versus* no grupo 2, com 8,7 (4,1 - 33,1), com valor de $p = 0,63$; IL-6 no grupo 1: 1.617,8 (106,7 - 5.361,7) *versus* no grupo 2: 922,9 (161,7 - 5.361,7), com $p = 0,56$; IL-1 β , no grupo 1: 0,1 (0,1 - 126,1) *versus* no grupo 2: 0,1 (0,1 - 243,6), com $p = 0,60$; e IFN- γ , no grupo 1: 0,03 (0,02 - 0,2) *versus* no grupo 2: 0,03 (0,02 - 0,1), $p = 0,93$). Obtivemos resultados similares ao examinar separadamente os casos de transplante renal.

Conclusão: Nesta amostra de receptores de transplante, os níveis plasmáticos das citocinas TNF, IL-6, IL-1 β e IFN- γ nos doadores não se associaram com o desenvolvimento de disfunção primária do enxerto.

Descritores: Morte encefálica; Inflamação; Citocinas; Disfunção primária do enxerto; Cadáver; Transplantes

Conflitos de interesse: Nenhum.

Submetido em 19 de junho de 2018
Aceito em 10 de dezembro de 2018

Autor correspondente:

Tatiana Helena Rech
Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Rua Ramiro Barcelos, 2.350, prédio 12, 4º andar
CEP: 90035-903 - Porto Alegre (RS), Brasil
E-mail: threch@hcpa.edu.br

Editor responsável: Glauco Adrieno Westphal

DOI: 10.5935/0103-507X.20190009

INTRODUÇÃO

A morte encefálica (ME) leva a uma condição inflamatória associada com desfechos desfavoráveis no transplante de órgãos, tanto em condições experimentais^(1,2) quanto clínicas.⁽³⁾ É conhecido que enxertos oriundos de doadores vivos com baixa compatibilidade de HLA apresentam melhor desempenho do que os obtidos de doadores falecidos.⁽³⁾ A atividade inflamatória induzida pela ME se caracteriza pela suprarregulação de citocinas plasmáticas, conforme se demonstrou em estudos prévios publicados por nosso grupo⁽⁴⁻⁶⁾ e, juntamente de outros importantes fatores, desempenha papel importante no desenvolvimento de disfunção primária do enxerto (DPE). Este processo inflamatório afeta de forma adversa a função dos órgãos e é uma das vias possivelmente associadas com os desfechos clínicos de transplantes.^(7,8) Kusaka et al. utilizaram modelos em ratos para comparar animais com ME e controles, e demonstraram denso infiltrado inflamatório nos túbulos glomerulares dos animais com ME.⁽⁹⁾



Conforme estes achados, Contreras et al. demonstraram que a atividade inflamatória induzida pela ME teve impacto negativo na função de ilhotas de ratos, aumentando o apoptose de células beta.⁽¹⁰⁾

A DPE é uma complicação comum no transplante de órgão de doadores falecidos. A ocorrência desta disfunção se associa com maior risco de perda do enxerto nos primeiros 36 meses de seguimento, assim como com maior tempo de permanência no hospital⁽¹¹⁾ e custos mais elevados.⁽¹²⁾ A associação entre ME e DPE, entretanto, ainda não foi completamente elucidada. Supõe-se que, ao ativar a cascata inflamatória, a ME pode ser um componente-chave para lesão de isquemia-reperusão, um efeito que pode ser ainda mais pronunciado em órgãos de doadores com critérios expandidos. É interessante observar que existe associação para o desenvolvimento de DPE entre órgãos transplantados a partir de um mesmo doador.⁽¹³⁾

O presente estudo objetivou examinar a associação entre os níveis plasmáticos no doador de fator de necrose tumoral (TNF), interleucina (IL) 6 (IL-6), IL-1 β e interferon gama (IL- γ) e o desenvolvimento de DPE de órgãos transplantados a partir de doadores falecidos.

MÉTODOS

Doadores falecidos e receptores de transplante

O protocolo deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética (número 13-060) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, em Porto Alegre (RS), e pelos Comitês de Ética de três outros centros de transplante participantes: Hospital São Lucas e Hospital Dom Vicente Scherer, ambos em Porto Alegre, e o Hospital São Vicente de Paulo, de Passo Fundo (RS), em conformidade com a declaração de Helsinque, de 1975. Obtiveram-se assinaturas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de representantes de todos os pacientes participantes. A ME foi avaliada independentemente por dois médicos, baseando-se nos seguintes critérios: coma com completa ausência de resposta, ausência de reflexos de tronco cerebral, teste de apneia e teste confirmatório com ausência de fluxo sanguíneo cerebral, em conformidade com a legislação brasileira.⁽¹⁴⁾ No período compreendido entre novembro de 2010 e dezembro de 2011, pacientes com ME e idade acima de 18 anos, admitidos à unidade de terapia intensiva do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, foram incluídos de forma prospectiva no estudo após um primeiro exame clínico compatível com ME. Colheram-se amostras de sangue quando da entrada no estudo. Os receptores de órgãos foram identificados a partir de uma lista de cruzamento entre

doadores e receptores, fornecida pelo centro regional de distribuição de órgãos. Os dados dos exames laboratoriais foram registrados tanto para os doadores com ME quanto para os receptores de transplante.

As definições utilizadas para caracterizar disfunção do aloenxerto foram: (1) renal: necessidade de diálise durante a primeira semana após o transplante;⁽¹⁵⁾ (2) fígado: ausência primária de função durante a primeira semana após o transplante, levando a novo transplante ou óbito, ou função deficiente inicial caracterizada por níveis de aspartato aminotransferase acima de 2.000UI/L, bilirrubina sérica acima de 10mg/dL, ou tempo de protrombina acima de 16 segundos, dentro de um período entre 2 e 7 dias após o transplante;⁽¹⁶⁾ (3) pulmão: desenvolvimento de hipoxemia grave, edema pulmonar e opacidades radiográficas compatíveis com síndrome da angústia respiratória aguda durante os primeiros 3 dias após o transplante;⁽¹⁷⁾ e (4) coração: necessidade de suporte mecânico, como dispositivo externo para assistência ventricular, bomba aórtica de contrapulsção e oxigenação por membrana extracorpórea nos primeiros 3 dias após o transplante, ou retransplante/óbito durante os primeiros 30 dias.⁽¹⁸⁾

Quantificação dos níveis plasmáticos de TNF, IL-6, IL-1 β e IFN- γ

Procedeu-se à coleta de 20mL de sangue total em um tubo com revestimento em silicone (Vacutainer®) para cada doador falecido. A amostra foi centrifugada a 2.500g por 10 minutos a 4°C. O plasma foi separado e, então, imediatamente armazenado a -80°C até a análise. Avaliaram-se os níveis circulantes de TNF, IL-6, IL-1 β e IFN- γ , por meio de ensaio de imunoadsorção ligada a enzima (ELISA) utilizando *kits* com anticorpos policlonais comercialmente disponíveis, em conformidade com as instruções do fabricante (níveis de detecção para TNF: 0,7 - 518pg/mL; IL-6: 20 - 5000pg/mL; IL-1 β : 0,35 - 1166pg/mL; e IFN- γ : 0,03 - 30pg/mL; Biosource Europe S.A., Nivelles, Bélgica).

Análise estatística

As variáveis categóricas foram expressas como porcentagens. Os dados quantitativos foram expressos como média e desvio padrão (DP) se normalmente distribuídos. Variáveis com distribuição não normal foram submetidos a log transformação antes da análise, e expressos como mediana e mínimo-máximo. Os grupos foram comparados com uso do teste *t* de Student, teste qui quadrado ou teste exato de Fischer, conforme apropriado. Utilizou-se o teste de correlação de Spearman para avaliar correlações entre

diferentes variáveis quantitativas. Calculou-se um tamanho necessário da amostra de 32 receptores de órgãos (16 pacientes com DPE e 16 sem DPE) para detectar diferença de pelo menos um DP nos níveis de TNF $\log_4^{(4)}$ considerando poder estatístico de 80% e erro alfa de 5%. Os valores foram considerados estatisticamente significantes quando o valor de p foi inferior a 0,05. Todas as análises estatísticas foram conduzidas com utilização do programa *Statistical Package for Social Science* (SPSS), versão 18.0 (Chicago, IL).

RESULTADOS

Obtiveram-se, no total, 69 órgãos, de 17 doadores falecidos (média de 4,05 órgãos por doador): 34 rins, 17 pâncreas, 13 fígados, 4 pulmões e 1 coração. Todos os pâncreas foram utilizados para fins de pesquisa, e um fígado e dois pulmões foram descartados em razão de problemas técnicos. Conduziram-se 48 transplantes em 47 pacientes (um paciente foi submetido a transplante simultâneo de rim e fígado). As características dos 38 receptores de transplante (não existiam dados disponíveis sobre 9 pacientes) e 17 doadores falecidos incluídos no estudo são resumidos na tabela 1. Resumidamente, 70% dos doadores eram homens com idade média \pm DP de 54 ± 11 anos; acidente vascular cerebral foi a principal causa de ME (76,5%) seguido por encefalopatia anóxica (23,5%). Todos os doadores falecidos demandaram utilização de suporte com vasopressores, e sepse estava presente DPE em 52,6% dos receptores de transplante. Com a finalidade de analisar as características do doador potencialmente relacionadas com DPE, dividimos os receptores em dois grupos: no grupo 1, incluíram-se os pacientes que desenvolveram DPE e, no grupo 2, os que não desenvolveram DPE. Obtiveram-se amostras de sangue dos doadores dentro de um tempo mediano em 41%.

Ocorreu de 12 horas (10 - 18 horas) e, então, os valores das citocinas plasmáticas foram comparados entre os dois grupos de receptores de transplante, com a finalidade de avaliar os efeitos da atividade inflamatória induzida pela ME no desfecho dos transplantes. Os resultados foram os seguintes: TNF no grupo 1: $10,8 (4,3 - 30,8)$ versus no grupo 2: $8,7 (4,1 - 33,1)$ pg/mL, com $p = 0,63$; IL-6 no grupo 1: $1617,8 (106,7 - 5361,7)$ versus no grupo 2: $922,9 (161,7 - 5361,7)$ pg/mL, com $p = 0,56$; IL-1 β no grupo 1: $0,1 (0,1 - 126,1)$ versus no grupo 2: $0,1 (0,1 - 243,6)$ pg/mL, com $p = 0,60$; e IFN- γ no grupo 1: $0,03 (0,02 - 0,2)$ versus no grupo 2: $0,03 (0,02 - 0,1)$ pg/mL, com $p = 0,93$. Os valores dos níveis plasmáticos de citocinas não diferiram entre os grupos (Figura 1). Ao avaliar

separadamente os transplantes renais ($n = 28$), a idade do doador (grupo 1: $58 \pm 9,6$ versus grupo 2: $48 \pm 13,1$ anos, $p = 0,035$), a duração do suporte ventilatório (grupo 1: $96 [48 - 240]$ horas versus grupo 2: $48 [9 - 114]$ horas, $p = 0,003$) e o tempo de permanência no hospital antes do diagnóstico de ME (grupo 1: $5,5 [2 - 14]$ horas versus grupo 2: $2 [1 - 9]$ horas, $p = 0,019$) foram diferentes entre os dois grupos, porém os níveis plasmáticos de sódio (grupo 1: $156 \pm 8,4$ mEq/L versus grupo 2: $158 \pm 12,4$ mEq/L, $p = 0,6$) e creatinina final (grupo 1: $1,3 \pm 0,6$ mg/dL versus grupo 2: $1,3 \pm 0,4$ mg/dL, $p = 0,6$) não foram diferentes. Além disto, os níveis plasmáticos de citocinas não foram diferentes entre os grupos: TNF, grupo 1: $10,8 (4,3 - 30,8)$ pg/mL versus grupo 2: $15,5 (5,2 - 33,0)$ pg/mL, $p = 0,32$; IL-6, grupo 1: $2312,7 (106 - 5361,7)$ pg/mL versus grupo 2: $922,9 (161,7 - 5000)$ pg/mL, $p = 0,63$; IL-1 β , grupo 1: $0,1 (0,1 - 126,1)$ pg/mL versus grupo 2: $0,1 (0,1 - 243,6)$ pg/mL, $p = 0,70$; e IFN- γ , grupo 1: $0,04 (0,02 - 0,21)$ pg/mL versus grupo 2: $0,06 (0,02 - 0,11)$ pg/mL, $p = 0,29$. A taxa de retardo no funcionamento do enxerto (RFE) em receptores de transplante renal foi de 60,7%.

Subsequentemente, dividimos os pacientes em dois grupos, com valores de citocinas plasmáticas acima e abaixo do valor mediano (mediana de TNF = $9,8$ pg/mL; mediana de IL-6 = 923 pg/mL; mediana de IL-1 β = $0,1$ pg/mL; e mediana de IFN- γ = $0,04$ pg/mL), e testamos a associação com desenvolvimento de DPE. Entretanto, não se detectou qualquer associação (TNF, $p = 0,63$; IL-6, $p = 0,59$; IL-1 β , $p = 0,50$; e IFN- γ , $p = 0,85$). Além disto, utilizamos o nível de 193 pg/mL como ponto de corte para IL-6, porém não encontramos diferenças em termos de desenvolvimento de DPE ($p = 0,62$).

Em um modelo de regressão logística com DPE como fator dependente e idade do doador, duração do suporte ventilatório, tempo de isquemia fria, TNF e IL-6 como cofatores, o tempo de isquemia fria foi a única variável associada com desenvolvimento de DPE (*odds ratio* - OR = $0,85$; intervalo de confiança de 95% - IC95%: $0,74 - 0,98$; $p = 0,032$).

Testamos também as correlações entre o nível plasmático de citocinas no doador e variáveis clínicas. Houve moderada correlação positiva entre TNF, IL-6 e IL-1 β e idade do doador (TNF: $r = 0,35$, $p = 0,021$; IL-6: $r = 0,45$, $p = 0,002$; e IL-1 β : $r = 0,41$, $p = 0,006$). Além disto, identificamos moderada correlação positiva entre os níveis plasmáticos de sódio e TNF ($r = 0,36$, $p = 0,018$), porém não houve qualquer correlação com outras citocinas (IL-6: $r = 0,28$, $p = 0,07$; IL-1 β : $r = -0,16$, $p = 0,29$; e IFN- γ : $r = 0,12$, $p = 0,1$).

Tabela 1 - Características basais de doadores falecidos e receptores de transplante de órgãos

Características	Todos receptores de transplante (n = 38)	Com disfunção do enxerto (n = 20)	Sem disfunção do enxerto (n = 18)	Valor de p
Características do doador				
Idade (anos)	54 ± 11	56 ± 11,2	50 ± 11,4	0,09
Sódio plasmático (mEq/L)	158 ± 9,7	156 ± 8,2	158 ± 12,1	0,54
Creatinina final (mg/dL)	1,2 ± 0,5	1,2 ± 0,6	1,2 ± 0,4	0,92
Duração do suporte ventilatório (dias)	3 (1 - 10)	4 (1 - 10)	2 (1 - 10)	0,07
Tempo de permanência antes do diagnóstico de ME (dias)	4 (1 - 14)	5,5 (1 - 14)	2,5 (1 - 13)	0,09
Características do receptor				
Idade (anos)	53 ± 14	56 ± 10	49 ± 17	0,15
Masculino	30 (79)	17 (44,7)	13 (34,3)	0,43
Órgão transplantado	28 rins, 9 fígados, 1 coração	17 rins, 3 fígados, 0 coração	11 rins, 6 fígados, 1 coração	0,14*
Tempo de isquemia fria (horas)	17 ± 7,6	19 ± 6,8	14 ± 8,1	0,07
Permanência após o transplante (dias)	23 (1 - 92)	25 (1 - 92)	22 (1 - 86)	0,74
Sobrevivência do enxerto após 12 meses	30 (81)	16 (44)	14 (37)	0,69
Sobrevivência do paciente após 12 meses	25 (67,5)	11 (29,7)	14 (37,8)	0,29
Mortalidade total	6 (16,2)	3 (8,1)	3 (8,1)	1,0

ME - morte encefálica. Os valores de p se referem a pacientes com disfunção de enxerto *versus* pacientes sem disfunção de enxerto. * O valor de p se refere aos transplantes renais. Resultados expressos por média ± desvio padrão, mediana e mínima e máxima ou n (%).

DISCUSSÃO

Nesta amostra de receptores de transplantes de órgãos de doadores falecidos, a liberação plasmática de citocinas induzida pela ME não se associou com DPE, uma vez que os níveis plasmáticos de TNF, IL-6, IL-1 β e IFN- γ não foram diferentes entre receptores de transplante que desenvolveram DPE e os que não desenvolveram a complicação.

A DPE é uma complicação séria do transplante que resulta de lesão por isquemia-reperfusão, um processo desencadeado pelo estado inflamatório sistêmico do doador.⁽²⁰⁾ Pacientes que morreram dentro de 30 dias após transplante pulmonar apresentaram níveis elevados de IL-6 nas biópsias antes da implantação.⁽²¹⁾ Igualmente, a expressão miocárdica de mRNA durante a remoção do órgão foi preditiva de disfunção ventricular direita em receptores de transplante cardíaco.⁽⁸⁾ Mais ainda, biópsias hepáticas de doadores falecidos mostraram níveis mais elevados de infiltração de CD4 e CD8 do que as biópsias de doadores vivos.⁽²²⁾ Quando considerados em conjunto, estes estudos sugerem associação entre maior inflamação tissular do órgão e a DPE. Contudo, nosso estudo não mostrou associação entre os níveis plasmáticos de citocina no doador e o desenvolvimento de DPE. Uma explicação possível para a ausência de associação entre os níveis sistêmicos de citocinas e DPE, de forma contrastante com os achados relatados em relação aos níveis tissulares, é que o grau de

inflamação tissular é maior do que o medido no plasma, sugerindo que os níveis de inflamação tissular podem ser melhor preditor de DPE do que os níveis plasmáticos de indicadores inflamatórios. Mais ainda, a elevada taxa de DPE em receptores de rins (60,7%) observada em nossa amostra de pacientes, o que é coerente com o relatado em outro estudo realizado no Brasil,⁽¹¹⁾ pode ter prejudicado nossa possibilidade de detectar diferença entre os grupos.

Murugan et al. recrutaram 30 doadores falecidos e analisaram os desfechos referentes aos 78 receptores de transplantes oriundos desses doadores. Nesta coorte de pacientes, níveis plasmáticos mais elevados antes da retirada do órgão de IL-6, porém não os níveis de TNF e de IL-10, correlacionaram-se com tendência à menor sobrevivência em 6 meses sem hospitalização dos receptores.⁽¹⁹⁾ Assim, utilizamos o valor de corte de IL-6 sugerido nesse estudo (193pg/mL), porém não encontramos qualquer associação com DPE para valores acima ou abaixo desse limite, o que sugere que os níveis de IL-6 podem não ser bons preditores de desfechos precoces, como DPE. Em curto prazo, o tempo de isquemia fria e a idade do doador pareceram ser melhores preditores do desfecho, conforme previamente demonstrado^(11,23,24) e apoiado por nossos achados.

Em estudo prévio, demonstramos a existência de suprarregulação dos níveis plasmáticos de TNF e IL-6 em doadores falecidos em comparação a controles.⁽⁴⁾ É interessante observar que, no estudo de Murugan et al., as

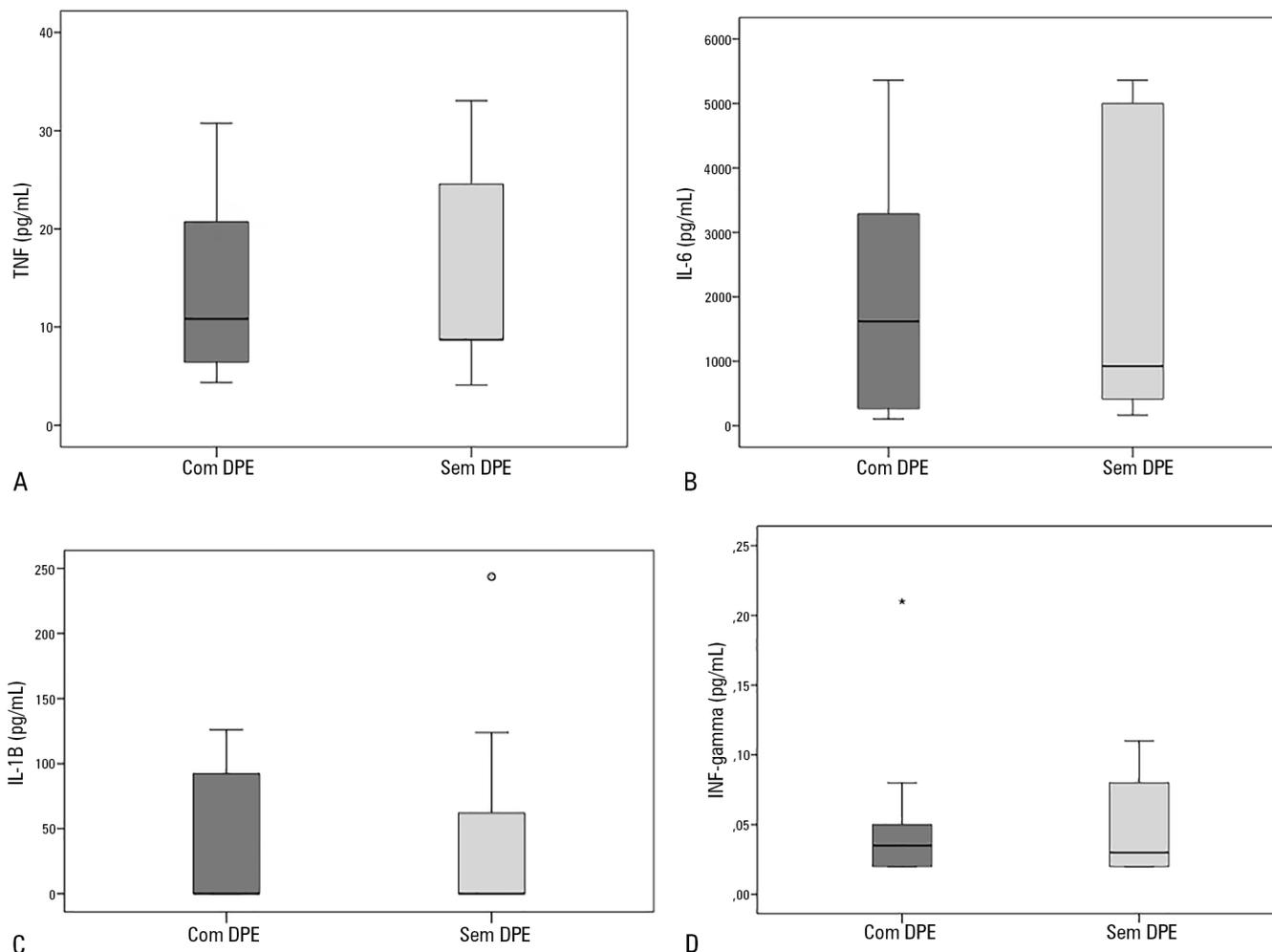


Figura 1 - Níveis plasmáticos de citocinas em doadores falecidos avaliados por ELISA em receptores de transplante com e sem disfunção primária do enxerto. (A) Fator de necrose tumoral (pg/mL). (B) Interleucina 6 (pg/mL). (C) Interleucina 1 β (pg/mL). (D) Interferon gama (pg/mL). Utilizou-se um teste *t* para análise estatística. Os gráficos representam a mediana com variação interquartil. Pontos e asteriscos representam valores *outliers*. TNF - fator de necrose tumoral; DPE - disfunção primária do enxerto. IL-6 - interleucina 6; IL-1 β - Interleucina 1 β ; IFN - interferon.

concentrações plasmáticas de IL-6 imediatamente antes da remoção do órgão foram mais baixas nos doadores tratados com corticosteroides do que nos doadores não tratados.⁽¹⁹⁾ Igualmente, Kotsch et al., em estudo randomizado e controlado, demonstraram que o tratamento com metilprednisolona em doadores falecidos reduz a inflamação no fígado do doador e melhora o desfecho após o transplante hepático.⁽²⁵⁾ Entretanto, não encontramos associação entre os níveis plasmáticos de citocinas e DPE de fígado.

Níveis elevados de IL-6 foram associados com prognóstico pior em variedade de condições críticas⁽²⁶⁻²⁸⁾ e com possibilidade de órgãos disponíveis para transplante.⁽¹⁹⁾ Entretanto, até onde sabemos, este estudo é o primeiro a avaliar os níveis plasmáticos de TNF, IL-6, IL-1 β e IFN- γ no doador como preditores de desenvolvimento de DPE

em órgãos transplantados de doadores com ME. Este estudo teve diversas limitações. Primeiramente, o tamanho da amostra foi calculado em estudo prévio⁽⁴⁾ para detectar diferença de um DP em TNF log entre doadores com ME e pacientes controle, sem ME, o que pode ter resultado em falta de poder estatístico para detectar diferenças no desenvolvimento de DPE entre os grupos de pacientes receptores de transplante. Entretanto, quando se estima o tamanho de amostra necessário para detectar diferença no presente estudo, conclui-se que seria necessária uma amostra de pelo menos 770 pacientes receptores de transplante. Em segundo lugar, só medimos os níveis plasmáticos de citocinas por ocasião da remoção dos órgãos, o que pode ter sido um momento tardio no processo inflamatório, já que as citocinas apresentam seu pico precocemente após

a ME. Em terceiro lugar, cremos que um curso temporal com momentos mais precoces de avaliação, como 1, 2 e 6 horas, e até 12 horas, poderia proporcionar informações mais pertinentes sobre o processo inflamatório em doadores com ME e sua associação com o desenvolvimento de DPE.

CONCLUSÃO

A disfunção primária do enxerto após transplante é um preditor de desfechos desfavoráveis em curto e longo prazo. A este respeito, a detecção de variáveis clínicas e laboratoriais, que pudessem prever de forma precisa o desenvolvimento de disfunção primária do enxerto, seria clinicamente importante. Os níveis plasmáticos de citocinas podem ser medidos fácil e rapidamente, porém, o tamanho pequeno da amostra e o momento único de mensuração de citocinas plasmáticas em nosso estudo impedem uma conclusão com relação à associação dos níveis plasmáticos de TNF, IL-6, IL-1 β e IFN- γ no doador e o desenvolvimento de disfunção primária do enxerto. Então, o papel das citocinas inflamatórias como possível via associada ao desenvolvimento de disfunção primária do enxerto deve ser alvo de investigação em estudos de maior porte.

Contribuições dos autores

TH Rech participou da concepção e delineamento do estudo, aquisição dos dados, análise e interpretação dos dados, análise estatística, redação e revisão do manuscrito. G Custódio, LV Kroth, S Henrich e EM Rodrigues Filho tomaram parte na aquisição dos dados. D Crispim fez parte da concepção e delineamento do estudo, interpretação dos dados, análise estatística e revisou o manuscrito. TH Rech é a garantidora deste trabalho e, como tal, teve pleno acesso a todos os dados e assume responsabilidade pela integridade dos dados e precisão da análise dos mesmos.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho recebeu suporte financeiro do Fundo de Incentivo à Pesquisa e Ensino do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), edital FAPERGS/CNPq 12/2014 - PRONEX.

Daisy Crispim e Cristiane Bauermann Leitão recebem bolsas do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq PQ-1D).

Agradecemos ao centro regional de distribuição de órgãos, pelo fornecimento da lista de cruzamento entre doadores e receptores.

ABSTRACT

Objective: To examine the association between donor plasma cytokine levels and the development of primary graft dysfunction of organs transplanted from deceased donors.

Methods: Seventeen deceased donors and the respective 47 transplant recipients were prospectively included in the study. Recipients were divided into two groups: group 1, patients who developed primary graft dysfunction; and group 2, patients who did not develop primary graft dysfunction. Donor plasma levels of TNF, IL-6, IL-1 β , and IFN- γ assessed by ELISA were compared between groups.

Results: Sixty-nine organs were retrieved, and 48 transplants were performed. Donor plasma cytokine levels did not differ

between groups (in pg/mL): TNF, group 1: 10.8 (4.3 - 30.8) *versus* group 2: 8.7 (4.1 - 33.1), $p = 0.63$; IL-6, group 1: 1617.8 (106.7 - 5361.7) *versus* group 2: 922.9 (161.7 - 5361.7), $p = 0.56$; IL-1 β , group 1: 0.1 (0.1 - 126.1) *versus* group 2: 0.1 (0.1 - 243.6), $p = 0.60$; and IFN- γ , group 1: 0.03 (0.02 - 0.2) *versus* group 2: 0.03 (0.02 - 0.1), $p = 0.93$). Similar findings were obtained when kidney transplants were analyzed separately.

Conclusion: In this sample of transplant recipients, deceased donor plasma cytokines TNF, IL-6, IL-1 β , and IFN- γ were not associated with the development of primary graft dysfunction.

Keywords: Brain death; Inflammation; Cytokines; Primary graft dysfunction; Deceased donor; Transplantation

REFERÊNCIAS

1. Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Laskowski I, Tilney NL. A model of gradual onset brain death for transplant-associated studies in rats. *Transplantation*. 2000;69(3):427-30.
2. Li S, Korkmaz S, Loganathan S, Radovits T, Hegedüs P, Karck M, et al. Short- and long-term effects of brain death on post-transplant graft function in a rodent model. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2015;20(3):379-86.
3. Terasaki PI, Cecka JM, Gjertson DW, Takemoto S. High survival rates of kidney transplants from spousal and living unrelated donors. *N Engl J Med*. 1995;333(6):333-6.
4. Rech TH, Crispim D, Rheinheimer J, Barkan SS, Osvaldt AB, Grezzana Filho TJ, et al. Brain death-induced inflammatory activity in human pancreatic tissue: a case-control study. *Transplantation*. 2014;97(2):212-9.
5. Schwarz P, Custódio G, Rheinheimer J, Crispim D, Leitão CB, Rech TH. Brain death-induced inflammatory activity is similar to sepsis-induced cytokine release. *Cell Transplant*. 2018;27(10):1417-24.
6. Custódio G, Schwarz P, Crispim D, Moraes RB, Czepielewski M, Leitão CB, et al. Association between vitamin D levels and inflammatory activity in brain death: A prospective study. *Transpl Immunol*. 2018;48:65-9.
7. Fisher AJ, Donnelly SC, Hirani N, Haslett C, Strieter RM, Dark JH, et al. 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(1):259-65.
8. Birks EJ, Owen VJ, Burton PB, Bishop AE, Banner NR, Khaghani A, et al. Tumor necrosis factor-alpha is expressed in donor heart and predicts right ventricular failure after human heart transplantation. *Circulation*. 2000;102(3):326-31.
9. Kusaka M, Pratschke J, Wilhelm MJ, Ziai F, Zandi-Nejad K, Mackenzie HS, et al. Activation of inflammatory mediators in rat renal isografts by donor brain death. *Transplantation*. 2000;69(3):405-10.
10. Contreras JL, Eckstein C, Smyth CA, Sellers MT, Vilatoba M, Bilbao G, et al. Brain death significantly reduces isolated pancreatic islet yields and functionality in vitro and in vivo after transplantation in rats. *Diabetes*. 2003;52(12):2935-42.
11. Helfer MS, Vicari AR, Spuldaro F, Gonçalves LF, Manfro RC. Incidence, risk factors, and outcomes of delayed graft function in deceased donor kidney transplantation in a Brazilian center. *Transplant Proc*. 2014;46(6):1727-9.
12. Croome KP, Hernandez-Alejandro R, Chandok N. Early allograft dysfunction is associated with excess resource utilization after liver transplantation. *Transplant Proc*. 2013;45(1):259-64.
13. Oto T, Excell L, Griffiths AP, Levvey BJ, Bailey M, Marasco S, et al. Association between primary graft dysfunction among lung, kidney and heart recipients from the same multiorgan donor. *Am J Transplant*. 2008;8(10):2132-9.
14. Brasil. Presidência da República. Casa Civil. Subchefia para Assuntos Jurídicos. Lei nº 9434, de 4 de fevereiro de 1997. Dispõe sobre a remoção de órgãos, tecidos e partes do corpo humano para fins de transplante e tratamento e dá outras providências. Brasília (DF). 1997.
15. Saidi RF, Elias N, Kawai T, Hertl M, Farrell ML, Goes N, et al. Outcome of kidney transplantation using expanded criteria donors and donation after cardiac death kidneys: realities and costs. *Am J Transplant*. 2007;7(12):2769-74.
16. Coelho MP, Afonso RC, Hidalgo R, Felga G, Almeida MD, Della-Guardia B, et al. Results of retransplantation for primary nonfunction in a single center. *Transplant Proc*. 2011;43(1):174-6.
17. Lee JC, Christie JD. Primary graft dysfunction. *Clin Chest Med*. 2011;32(2):279-93.
18. Yusen RD, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Benden C, Dipchand AI, Goldfarb SB, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-second Official Adult Lung and Heart-Lung Transplantation Report--2015; Focus Theme: Early Graft Failure. *J Heart Lung Transplant*. 2015;34(10):1264-77.
19. Murugan R, Venkataraman R, Wahed AS, Elder M, Hergenroeder G, Carter M, Madden NJ, Powner D, Kellum JA; HlDonOR Study Investigators. Increased plasma interleukin-6 in donors is associated with lower recipient hospital-free survival after cadaveric organ transplantation. *Crit Care Med*. 2008;36(6):1810-6.
20. Avlonitis VS, Wigfield CH, Gollidge HD, Kirby JA, Dark JH. Early hemodynamic injury during donor brain death determines the severity of primary graft dysfunction after lung transplantation. *Am J Transplant*. 2007;7(1):83-90.
21. Kaneda H, Gutierrez C, Perrot M, Yamane M, Quadri S, Arenovich T, et al. Pre-implantation multiple cytokine mRNA expression analysis in donor lung grafts predicts survival after lung transplantation in humans. *Journal Heart Lung Transplant*. 2004;23(2 Suppl):S49-50.
22. Jassem W, Koo DD, Cerundolo L, Rela M, Heaton ND, Fuggle SV. Leukocyte infiltration and inflammatory antigen expression in cadaveric and living-donor livers before transplant. *Transplantation*. 2003;75(12):2001-7.
23. Debout A, Foucher Y, Trébern-Launay K, Legendre C, Kreis H, Mourad G, et al. Each additional hour of cold ischemia time significantly increases the risk of graft failure and mortality following renal transplantation. *Kidney Int*. 2015;87(2):343-9.
24. Sert I, Colak H, Tugmen C, Dogan SM, Karaca C. The effect of cold ischemia time on delayed graft function and acute rejection in kidney transplantation. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2014;25(5):960-6.
25. Kotsch K, Ulrich F, Reutzel-Selke A, Pascher A, Faber W, Warnick P, et al. Methylprednisolone therapy in deceased donors reduces inflammation in the donor liver and improves outcome after liver transplantation: a prospective randomized controlled trial. *Ann Surg*. 2008;248(6):1042-50.
26. Corrêa TD, Pereira AJ, Brandt S, Vuda M, Djafarzadeh S, Takala J, et al. Time course of blood lactate levels, inflammation, and mitochondrial function in experimental sepsis. *Crit Care*. 2017;21(1):105.
27. Calfee CS, Janz DR, Bernard GR, May AK, Kangelaris KN, Matthay MA, et al. Distinct molecular phenotypes of direct vs indirect ARDS in single-center and multicenter studies. *Chest*. 2015;147(6):1539-48.
28. Pfeiffer D, Roßmanith E, Lang I, Falkenhagen D. miR-146a, miR-146b, and miR-155 increase expression of IL-6 and IL-8 and support HSP10 in an in vitro sepsis model. *PLoS One*. 2017;12(6):e0179850.