

IMUNOSSUPRESSÃO COM TALIDOMIDA, CICLOSPORINA E DICLOFENACO NA SOBREVIDA DE ALOENXERTOS CUTÂNEOS

Immunosuppression with thalidomide, cyclosporine and diclofenac on survival of skin allograft

Diva Novy Barbosa Chaves, Andy Petroianu, Luiz Ronaldo Alberti

RESUMO

Objetivo: Verificar se a talidomida é capaz de evitar a rejeição de aloenxertos de pele em coelhos, como droga isolada ou melhorar a eficácia de doses subterapêuticas de ciclosporina, comparando seu efeito ao de doses terapêuticas da ciclosporina e também ao papel anti-inflamatório do diclofenaco de sódio. **Método:** Foram estudados 42 coelhos, distribuídos nos seguintes grupos (n=6): Grupo 1 – controle com autoenxerto; Grupo 2 – controle com aloenxerto; Grupo 3 – aloenxerto sob efeito de talidomida (100 mg/kg/dia); Grupo 4 – aloenxerto sob efeito de diclofenaco de sódio (2 mg/kg/dia); Grupo 5 – aloenxerto sob efeito de ciclosporina (10 mg/kg/dia); Grupo 6 – aloenxerto sob efeito de ciclosporina (5 mg/kg/dia); Grupo 7 – aloenxerto sob efeito de ciclosporina (5 mg/kg/dia) associada a talidomida (100 mg/kg/dia). Foram retirados enxertos circulares de pele total do dorso de uma das orelhas do animal. Os medicamentos foram administrados através de cateter orogástrico a partir do dia anterior ao transplante. Os enxertos foram trocados entre coelhos de raças diferentes. **Resultados:** A ciclosporina a 10 mg/kg/dia prolongou a sobrevida dos enxertos de pele, sendo seu efeito comparável ao obtido com ciclosporina em dose subterapêutica (5 mg/kg/dia) associada à talidomida a 100 mg/kg/dia. A talidomida isoladamente, mesmo em concentração de 100 mg/kg/dia e diclofenaco tiveram efeito mínimo na sobrevida média dos aloenxertos cutâneos. **Conclusão:** A talidomida pode ser uma droga útil para ser associada a baixas doses de ciclosporina no tratamento de aloenxertos cutâneos.

Descritores: Talidomida, Ciclosporina, Diclofenaco, Enxerto de pele, Sobrevida, Transplante Homólogo.

INTRODUÇÃO

A cobertura da superfície corpórea no menor prazo possível é fundamental para a sobrevida de pacientes com queimaduras extensas.^{1,2} Nos casos mais graves, o paciente não possui áreas doadoras de pele suficientes para a autoenxertia. Entre as alternativas terapêuticas para solucionar essa situação, destaca-se a utilização de transplantes homogêneos de pele. O aloenxerto tem sido considerado a melhor alternativa de transplante cutâneo por suas qualidades biológicas e disponibilidade nos bancos de pele.³ O desenvolvimento vascular nos aloenxertos ocorre de forma semelhante à dos autoenxertos; entretanto a resposta imunitária leva à rejeição desses transplantes em prazo geralmente inferior a vinte dias.⁴

Diversos estudos experimentais e clínicos em grandes queimados mostraram que drogas imunossupressoras são capazes de prolongar a sobrevida dos aloenxertos cutâneos até que ocorra a recuperação de áreas doadoras.^{4,5}

Instituição:

Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

Correspondência:

Prof. Andy Petroianu

Av. Afonso Pena, no 1626, Apto 1901 - CEP 30130-005, Belo Horizonte/MG

Tel/Fax: (31) 3274-7744

E-mail: petroian@gmail.com

Recebido em: 10.06.2011

Aceito em: 10.07.11

Entre os imunossuppressores, a ciclosporina, descoberta na década de 1970 foi um marco na obtenção de imunodepressão clínica. Atualmente, esse medicamento pertence à primeira linha terapêutica em transplantes. Estudos experimentais seguidos de investigações clínicas comprovaram sua eficácia na sobrevida de aloenxertos cutâneos.⁶

Por outro lado, a ciclosporina apresenta diversos efeitos colaterais, tais como nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, hiperplasia gengival, convulsões, hipertricose, osteoporose, infecções, oncogenicidade e outras complicações dose-dependentes.⁷ Além disso, a ciclosporina é um medicamento de alto custo.

Para reduzir a toxicidade da ciclosporina sem interferir na rejeição de aloenxertos têm sido tentadas doses subterapêuticas, associando essa droga a outros medicamentos como corticoides e anti-inflamatórios.⁸ Todavia, esses fármacos também apresentam efeitos colaterais.

Outros agentes imunossuppressores ou que possam ser associados aos já existentes para reduzir-lhes a toxicidade são continuamente pesquisados.⁸

Nessa linha de investigações em transplantes de tecidos, observou-se a partir de 1989 que a talidomida associada a doses subterapêuticas de ciclosporina é tão efetiva quanto a ciclosporina em doses terapêuticas no controle da rejeição e no aumento da sobrevida de transplantes cardíacos heterotópicos em coelhos.⁹ Resultados semelhantes a essa associação foram obtidos por Vogelsang e cols. em transplantes de medula óssea em ratos.¹⁰

Por seu mecanismo de ação diferente de muitos outros imunossuppressores, a talidomida oferece possibilidade de tratamento combinado a outros agentes sem superposição de suas toxicidades. As propriedades imunodepressoras da talidomida já foram documentadas em diversas condições autoimunes e inflamatórias. Seu uso foi inclusive autorizado em casos de reação do enxerto-contrá-hospedeiro em transplantes de medula óssea no Brasil. Contudo, sua utilização em trabalhos experimentais com enxertos homogêneos de pele mostrou resultados controversos.¹¹

Por seu custo reduzido e baixa toxicidade, é possível que a talidomida seja uma opção para aumentar a eficácia imunodepressora em aloenxertos de pele quando associada a doses menores de ciclosporina, reduzindo os efeitos adversos desse medicamento.

Os corticosteroides, que, além de imunossuppressores apresentam importante efeito anti-inflamatório, têm sido associados a outros imunossuppressores na doença do enxerto-contrá-hospedeiro.¹² Apesar de se conhecer o efeito benéfico dos anti-inflamatórios nos resultados de aloenxertos, o estudo desses medicamentos isoladamente em transplante de tecidos ainda é muito restrito.

Entre as drogas anti-inflamatórias, o diclofenaco é conhecido por sua potência terapêutica, mesmo não havendo relatos a respeito de seu efeito como droga isolada em presença de aloenxertos cutâneos.

O objetivo do presente trabalho foi verificar se a talidomida é capaz de evitar a rejeição de aloenxertos de pele em coelhos como droga isolada ou melhorar a eficácia de doses subterapêuticas de ciclosporina.

Para compreender melhor sua ação imunodepressora ou anti-inflamatória, comparou-se seu efeito ao de doses terapêuticas da ciclosporina e também ao papel anti-inflamatório do diclofenaco de sódio.

MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG). Todos os procedimentos envolvendo os animais seguiram os preceitos estabelecidos no Código Brasileiro de Experimentação Animal de 1988.¹³

Foram utilizados 42 coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) do sexo masculino, de idades semelhantes (cerca de dois meses), sendo 21 da raça Califórnia e 21 da raça Nova Zelândia Branco. Eles foram acomodados em gaiolas individuais no biotério, recebendo ração comercial específica e água ad libitum durante todo o período do experimento. O peso dos animais variou entre 1,6 e 2,4 kg, sendo a média de $1,9 \pm 0,2$ kg.

Os coelhos foram distribuídos em sete grupos de seis animais, sendo três de cada raça:

- Grupo 1 (n = 6): controle com autoenxerto.
- Grupo 2 (n = 6): controle com aloenxerto.
- Grupo 3 (n = 6): aloenxerto sob efeito de talidomida na dose de 100 mg/kg/dia.
- Grupo 4 (n = 6): aloenxerto sob efeito de diclofenaco na dose de 2 mg/kg/dia.
- Grupo 5 (n = 6): aloenxerto sob efeito de ciclosporina na dose de 10 mg/kg/dia.
- Grupo 6 (n = 6): aloenxerto sob efeito de ciclosporina na dose de 5 mg/kg/dia.
- Grupo 7 (n = 6): aloenxerto sob efeito de ciclosporina, na dose de 5 mg/kg/dia, associada a talidomida na dose de 100 mg/kg/dia.

Os aloenxertos foram trocados entre um coelho Califórnia e um coelho Nova Zelândia Branco, de forma que cada animal foi doador e ao mesmo tempo receptor de enxerto.

Os medicamentos foram administrados por cateter orogástrico no dia anterior à operação, imediatamente antes de iniciar o ato cirúrgico e em todos os dias pós-operatórios do período de acompanhamento, no mesmo horário. Esse procedimento foi facilitado pelo uso de caixa de contenção para coelhos.

Os coelhos foram anestesiados com injeção intramuscular na região glútea de cloridrato de quetamina a 5%, na dose de 35 mg/kg (0,7 ml/kg) associado a cloridrato de xilazina a 2%, na dose de 6 mg/kg (0,3 ml/kg) e a maleato de acepromazina a 1%, na dose de 2mg/kg (0,2 ml/kg). Quando necessário, foi aplicada adicionalmente metade da dose inicial dos anestésicos.

A antisepsia foi feita com solução de clorexidina a 2%, após tonsura da orelha a ser operada.

O procedimento cirúrgico, com técnica asséptica, foi realizado em dois coelhos de raças diferentes, obedecendo às seguintes etapas:

- Foram colocados os campos cirúrgicos esterilizados com exposição da orelha.
- Procedeu-se à incisão para a retirada de um enxerto circular de pele total, com 2,0 cm de diâmetro no dorso de uma das orelhas.
- Como de rotina nos enxertos de pele total, foi feito um desbaste da gordura hipodérmica no enxerto retirado e o mesmo foi colocado em solução de cloreto de sódio a 0,9% à temperatura ambiente.

- A área doadora foi recoberta com gaze umedecida em solução salina a 0,9%.
- Retirou-se o enxerto auricular do outro coelho seguindo a mesma técnica.
- O enxerto retirado do segundo coelho foi fixado à área doadora do primeiro coelho e o enxerto retirado do primeiro coelho foi colocado na área doadora do segundo coelho, ambos com sutura contínua utilizando fio de mononáilon 5-0.
- Não foram feitos curativos.

Após a operação, os coelhos foram observados em suas gaiolas até a recuperação da anestesia. No pós-operatório, eles continuaram recebendo água e ração sem restrições. Foram observados diariamente quanto ao seu estado geral e ao aspecto do enxerto, além de serem pesados semanalmente.

Para observar o aspecto de necrose total do aloenxerto ou após o trigésimo dia pós-operatório, o coelho era anestesiado com injeção intramuscular na região glútea com cloridrato de quetamina a 5% (35 mg/kg), cloridrato de xilazina a 2% (6 mg/kg) e maleato de acepromazina a 1% (2mg/kg). Fragmentos incluindo o enxerto e a pele normal adjacente eram retirados para exame histológico. Considerou-se necrose total do enxerto o aspecto de escurecimento e induração de toda a superfície tissular transplantada.

Os fragmentos de enxerto e pele íntegra adjacente, de cerca de 2,0 X 0,5 cm foram fixados em solução de formaldeído a 4% (formol a 10%). Em seguida, foram preparados para inclusão em parafina. Esses cortes foram corados com hematoxilina e eosina (HE) e utilizados para análise histológica.

Para comparar o peso inicial dos coelhos, o número de eosinófilos, o tempo decorrido entre o início da rejeição e a necrose total entre os grupos utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis. Os tempos até o início da rejeição do tecido e a necrose total do enxerto foram analisados pelo método de Kaplan-Meier, que estima de forma não paramétrica a sobrevida. As comparações entre os grupos foram feitas por meio do teste logrank. Os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão da média. Todos os resultados foram considerados significativos para uma probabilidade de significância superior a 95% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Todos os animais recuperaram-se espontaneamente da anestesia e apresentaram evolução pós-operatória sem intercorrências. Em relação ao peso inicial dos coelhos, não houve diferença entre os grupos ($p = 0,806$).

Houve diferenças entre os grupos no período entre a operação e a ocorrência dos primeiros sinais de rejeição ($p < 0,0001$ – teste de logrank). A rejeição foi mais rápida nos grupos 2 (controle com aloenxerto) e 6 (aloenxertos que receberam ciclosporina 5 mg/kg/dia). Os enxertos dos grupos 5 (aloenxertos que receberam ciclosporina a 10 mg/kg/dia) e 7 (que receberam ciclosporina 5 mg e talidomida 100 mg) permaneceram viáveis por mais tempo, sem diferença entre si.

Os resultados dos animais do Grupo 1 (controle com autoenxerto) foram excluídos da análise estatística, por não apresentarem o evento estudado (rejeição dos enxertos) até o trigésimo dia, sendo

considerados dados censurados pelo método de Kaplan-Meier. (Tabela 1)

Em relação ao tempo entre a operação e a necrose total dos enxertos, os coelhos do Grupo 5 (ciclosporina a 10 mg/kg/dia) permaneceram viáveis por mais tempo em relação aos demais grupos ($17,7 \pm 8,6$ dias). A diferença não foi significativa somente quando comparada com a média do Grupo 7 (ciclosporina associada à talidomida), que foi $9,4 \pm 2,7$ dias ($p = 0,34$).

Nesse período, todos os animais do Grupo 2 (controle com aloenxerto) já haviam apresentado necrose, que ocorreu em $6,8 \pm 1,3$ dias ($p < 0,0001$ – teste de logrank). (Tabela 1)

Tabela 1 - Média dos tempos (dias) entre a operação e o início da rejeição, entre a operação e a necrose total do enxerto e entre os primeiros sinais de rejeição e a necrose total dos enxertos em cada grupo de coelhos.

Grupos	Início Rejeição *1	Necrose total enxerto *2	Entre início rejeição e necrose *3
Aloenxerto	$4,7 \pm 0,8$	$6,8 \pm 1,3$	$2,2 \pm 1,5$
Talidomida (100mg/kg/dia)	$5,8 \pm 0,4$	$7,8 \pm 0,8$	$2,0 \pm 0,9$
Diclofenaco (2mg/kg/dia)	$5,3 \pm 0,5$	$7,5 \pm 1,0$	$2,2 \pm 1,0$
Ciclosporina (10mg/kg/dia)	$11,5 \pm 4,6$	$17,7 \pm 8,6$	$6,2 \pm 5,0$
Ciclosporina (5mg/kg/dia)	$4,3 \pm 0,5$	$9,0 \pm 3,7$	$4,7 \pm 3,7$
Ciclosporina (5mg/kg/dia) + Talidomida (100mg/kg/dia)	$6,8 \pm 0,8$	$9,4 \pm 2,7$	$2,6 \pm 2,5$

Obs: Nos animais do Grupo 1 (controle com autoenxerto) não houve rejeição, ficando os enxertos viáveis até o trigésimo dia.

*1: teste logrank ($p < 0,0001$): (Grupo 5 = Grupo 7) > (Grupo 3 = Grupo 4) > (Grupo 2 = Grupo 6)

*2: teste logrank ($p < 0,0001$): Grupo 5 > (Grupos 2, 3, 4 e 6) / Grupo 7 > Grupo 2

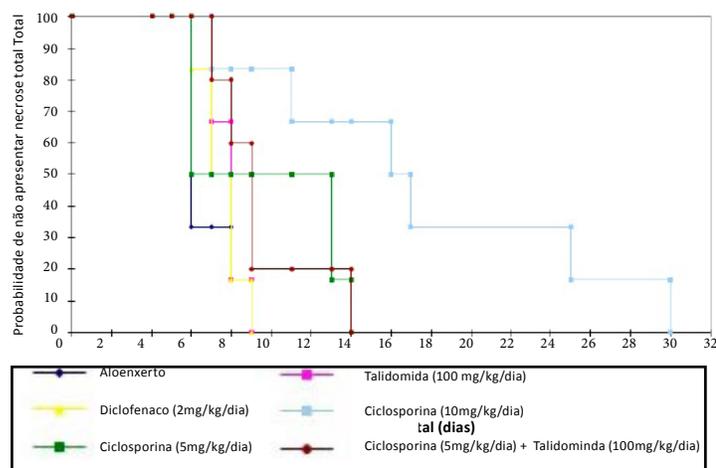
*3: $p = 0,534$ (teste de Kruskal-Wallis)

O coelho número 2 do Grupo 7 foi excluído da análise estatística, por ter sido encontrado morto no 13º dia após a operação, antes de apresentar necrose total do enxerto, sendo também considerado um dado censurado pelo método de Kaplan-Meier. Esse coelho ficou prostrado nos dias que antecederam sua morte, indicando que estava doente. A análise histológica do seu enxerto mostrou áreas de regeneração do epitélio transplantado. A necropsia não identificou a causa de sua morte.

Observou-se ainda que nos animais dos grupos 2, 3 e 4 a rejeição iniciou com escurecimento do enxerto seguido de necrose em bloco, enquanto nos animais dos grupos 5, 6 e 7 foi mais comum o aparecimento de úlceras ou manchas escuras que confluíam progressivamente até a necrose total.

Dois animais do Grupo 5 (ciclosporina 10 mg/kg/dia) com sobrevida de 25 e 30 dias apresentaram padrão de necrose diferente, com induração e contração do enxerto, sem escurecimento, sugerindo a ocorrência de rejeição lenta. (Gráfico 1)

Gráfico 1 - Curva de sobrevivência de Kaplan - Meier estimando a probabilidade de o tecido não apresentar necrose total ao longo do tempo (dias) em cada grupo de coelhos



Conclusão do teste logrank ($p < 0,0001$):

Grupo 5 > (Grupos 2, 3, 4 e 6) / Grupo 7 > Grupo 2

Após o 29º dia pós-operatório, o coelho número 3 do Grupo 5 mostrava sinais de dermatose submandibular, que pode ser atribuída ao uso prolongado da ciclosporina. Não foram observados outros efeitos colaterais das drogas estudadas.

Quanto ao tempo decorrido entre o início da rejeição do tecido e a necrose total do enxerto, não foram constatadas diferenças entre os grupos ($p = 0,534$). (Tabela 1)

Em relação à avaliação histológica, no Grupo 1 (controle com autoenxerto) o infiltrado inflamatório foi, em geral, mais escasso do que nos demais grupos. Em alguns casos, ocorreram poucos focos circunscritos de exsudato inflamatório ou grandes áreas de tecido do leito receptor sem infiltrado inflamatório significativo. Nesse grupo, todos os animais, após 30 dias, apresentaram fibrose bem desenvolvida, com a morfologia de cicatrização normal.

Em todos os fragmentos obtidos da área de enxertos com necrose total (grupos 2 a 7), observou-se infiltrado inflamatório moderado a intenso constituído por linfócitos, plasmócitos e polimorfonucleares, disperso em toda a derme e tecido subcutâneo do leito receptor, entremeado por focos hemorrágicos. No leito receptor e na derme da pele adjacente ao enxerto foi encontrada neoformação fibrosa de intensidade variável, em todos os casos com mais de oito dias de sobrevida. Nos casos em que os enxertos tiveram sobrevida menor (quatro a sete dias), a fibrose foi menos desenvolvida.

DISCUSSÃO

Nossas pesquisas com talidomida iniciaram-se em 1987, seguindo uma linha de pesquisa de transplante de órgãos.^{9,14-16} As pesquisas com coração, iniciadas em 1989 mostraram que a talidomida, isolada ou em associação com a ciclosporina, prolongava a sobrevida de transplantes cardíacos heterotópicos.⁹

A literatura referente ao efeito da talidomida em aloenxertos de pele é controversa. Hellman e cols observaram que a talidomida retardou a rejeição de aloenxertos, principalmente quando esses haviam sido incubados com a droga ou quando os animais doadores, além dos receptores, também foram tratados com talidomida.¹⁷

Vogelsang e cols relataram aumento na sobrevida de transplantes de pele com a administração da talidomida duas vezes ao dia.¹⁰ Já Playfair e cols e Floersheim observaram aumento na sobrevida de aloenxertos de pele em animais tratados com esse medicamento.^{18,19}

Vários trabalhos experimentais e clínicos já haviam mostrado que a ciclosporina prolonga a sobrevida de aloenxertos de pele.^{6,16} No entanto, não foram encontrados na literatura relatos quanto ao efeito do diclofenaco em aloenxertos cutâneos.

Optou-se pelo emprego de coelhos devido à facilidade para obtenção dos enxertos no dorso das orelhas, local pouco acometido por traumas decorrentes da manipulação do próprio animal ou de acidentes na gaiola. Essa região também pode ser examinada sem dificuldades. Em investigações preliminares, verificou-se que os enxertos de pele em ratos são muito trabalhosos, por causa da pilosidade cutânea e traumatismo do enxerto pelo próprio animal. Outro inconveniente é a necessidade de oclusão do enxerto e utilização de colete protetor no rato, que dificultam o exame diário.

As doses dos medicamentos foram definidas com base em outros trabalhos experimentais em que a talidomida e a ciclosporina foram utilizadas como imunossupressoras.^{7,8,16} No caso do diclofenaco, foi escolhida a dose diária máxima farmacologicamente recomendada. A administração dos medicamentos por meio de cateter orogástrico foi escolhida porque o método mostrou-se capaz de garantir a efetiva medicação dos animais em outros trabalhos experimentais.^{9,16}

A imunodepressão que ocorre no queimado grave é responsável por prolongar a sobrevida dos aloenxertos. Mesmo assim, a rejeição é certa e ocorre antes de três meses, com maior frequência nas três primeiras semanas.^{1,2} Como as áreas queimadas são extensas, a superfície cutânea íntegra é insuficiente, fato esse que requer a presença de aloenxertos vivos até a cicatrização das regiões queimadas.

O presente trabalho mostrou que a talidomida, como droga isolada, prolongou a sobrevida dos aloenxertos em relação ao grupo controle em cerca de 24 horas, o que concorda com relatos anteriores.^{9,17} Estatisticamente, seu efeito foi comparável ao do antiinflamatório diclofenaco. Tal ação, pequena e transitória, poderia até ser esperada, pois Floersheim já havia publicado que várias drogas não imunossupressoras podem aumentar a sobrevida de aloenxertos em 30% a 40%, por mecanismos não específicos.¹⁹ No caso da talidomida, pode-se destacar a redução da fagocitose e da quimiotaxia, reduzindo a resposta inflamatória do tecido transplantado.¹⁹

De acordo com Vogelsang e cols, o nível plasmático de 5 mg/ml de talidomida produz a resposta imunossupressora máxima na doença enxerto-contra-hospedeiro em transplantes de medula óssea.²⁰ Doses de 200 mg por via oral resultam em níveis médios de $1,2 \pm 0,2$ mg/ml.²⁰ Portanto, é admissível que doses maiores de talidomida possam prolongar por mais tempo a sobrevida dos aloenxertos.

O estudo da talidomida associada à ciclosporina para profilaxia da rejeição de aloenxertos cutâneos parece ter sido efetuado apenas na linha de pesquisa à qual pertence este trabalho. A associação de talidomida com doses subterapêuticas de ciclosporina resultou em sobrevida do aloenxerto comparável à obtida com a dose habitual de ciclosporina utilizada em transplantes. Essa constatação reforça a possibilidade de a talidomida atuar sinergicamente ou potencializar a função da ciclosporina. Outro efeito desejável dessa associação é a redução do custo terapêutico e a provável diminuição de suas

adversidades. O objetivo dessa associação na presente investigação não foi de aumentar a sobrevida dos enxertos, mas sim de conseguir uma imunossupressão adequada utilizando-se sinergicamente a talidomida e a ciclosporina em doses subterapêuticas.

O padrão de rejeição observado nos grupos de animais tratados com ciclosporina já havia sido descrito por Hellmann e cols. com o uso da talidomida em camundongos.¹⁷ A necrose foi mais lenta em alguns animais, ocorrendo em focos, com persistência de ilhas de tecido viáveis. Não observamos esse padrão com o uso isolado da talidomida, o que pode ser atribuído a um efeito espécie-específico.

Não foi possível a classificação da rejeição em níveis de intensidade, como é feito, por exemplo, na rejeição cardíaca,⁹ porque todos os enxertos foram biopsiados na fase de necrose total. A obtenção de biópsias seriadas dos aloenxertos antes da ocorrência de necrose poderia permitir essa classificação em cada animal, facilitando o estudo do efeito das drogas na reação inflamatória.

Também não foram encontradas diferenças entre os grupos em relação à fibrose dérmica e espessamento da camada íntima das artérias que permitissem a caracterização do padrão histológico de rejeição crônica nos enxertos com maior sobrevida.

Segundo Gutting e cols, o diclofenaco induz a uma reação linfonodal dependente de células T com aumento de IL-4 sem alterar o IFN-gama.²¹⁻²³ Esses resultados mostram que as interações entre as citocinas são complexas e maiores estudos são necessários para explicar a maior concentração de eosinófilos teciduais induzida pelo diclofenaco.

Talvez as citocinas imunomoduladoras liberadas pelos eosinófilos no local da inflamação expliquem a capacidade do diclofenaco em prolongar por 24 horas a sobrevida dos aloenxertos. Essa hipótese, no entanto, não encontra respaldo ao observar-se a eosinofilia tecidual no grupo tratado com ciclosporina em doses subterapêuticas e sua sobrevida, semelhante à dos controles de aloenxertos.

Embora a ciclosporina reduza a produção de IFN-gama, ela inibe a expressão de IL-5.²⁴ Esse paradoxo refletiu-se no encontro de maior ou menor eosinofilia nos grupos tratados com diferentes doses do medicamento, em relação ao grupo controle, sugerindo mecanismos de ação diversos e dose-dependentes.

Por outro lado, a ação da talidomida na produção de IFN-gama não está bem estabelecida, sendo descrito aumento, redução ou inalteração nos níveis dessa citocina.

Verificou-se que a talidomida apresenta efeitos dicotômicos e opostos na modulação de citocinas, dependendo do tipo de célula

alvo e das vias de ativação celular.²⁵

No presente estudo, foi observado que a associação de talidomida com ciclosporina levou à redução da concentração de eosinófilos teciduais e maior sobrevida dos enxertos. A associação entre menor eosinofilia e maior sobrevida de transplantes já foi verificada anteriormente.²¹

O uso do diclofenaco e da ciclosporina em doses subterapêuticas associou-se a maior eosinofilia no infiltrado inflamatório circunjacente ao aloenxerto de pele necrosado, enquanto a talidomida junto com ciclosporina acompanhou-se de menor eosinofilia local. Portanto, é pertinente supor que a combinação da talidomida com doses subterapêuticas de ciclosporina representa uma alternativa no tratamento medicamentoso da doença do enxerto-contra-hospedeiro em alotransplantes de pele.

É importante observar que, como em outros trabalhos da literatura,^{9,16} houve o tratamento de doadores e receptores em todos os grupos que receberam medicação, uma vez que a administração das drogas iniciou-se 24 horas antes da operação. A atuação das drogas pode ter ocorrido não só no animal receptor do enxerto, como também no próprio enxerto a partir do efeito das drogas nos doadores. A eventual redução do IFN-gama pela ciclosporina pode ter inibido a expressão de antígenos de superfície no tecido transplantado, reduzindo sua imunogenicidade.^{7,8}

Este trabalho mostra que drogas com efeito imunodepressor pequeno em uso isolado podem ser bons imunossupressores quando combinadas a outros medicamentos, como foi enfatizado em relação à talidomida nesta linha de pesquisa. Os resultados apresentados estimulam a pesquisa dessas associações medicamentosas, que trazem novas perspectivas nos transplantes em geral. Seria interessante estudar o efeito do diclofenaco associado à ciclosporina, pois os resultados apresentados sugerem a presença de atividade imunorreguladora desse antiinflamatório.

O melhor conhecimento das complexas interações entre citocinas e das diversas vias de ativação celular permitirá o desenvolvimento de drogas mais específicas e potentes, com menos efeitos adversos.

CONCLUSÃO

A talidomida associada a doses subterapêuticas de ciclosporina foi tão eficaz quanto a ciclosporina em doses terapêuticas na preservação de aloenxertos cutâneos em coelhos. A talidomida e o diclofenaco utilizados isoladamente são pouco eficazes para manter a sobrevida de aloenxertos cutâneos em coelhos.

ABSTRACT:

Purpose: The authors report the case of a 21 years old female patient diagnosed with Ochoa's Syndrome and chronic renal failure (CRF), who had a deceased donor kidney transplant and her post-transplantation evolution. Kidney transplant is a safe treatment for renal patients with Ochoa's Syndrome that evolve to Chronic Renal Failure, despite the increased risk of UTI after transplantation. The vesical magnification with or without external continent urinary diversion added to the vesicle intermittent catheterization should be recommended to prevent damage to the renal graft.

Keywords: Urinary Bladder, Neurogenic; Renal Insufficiency; Kidney Transplantation

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e FAPEMIG, pelos auxílios financeiros que permitiram a realização do presente trabalho.

REFERÊNCIAS:

1. Coruh A, Tosun Z, Ozbebit U. Close relative intermingled skin allograft and autograft use in the treatment of major burns in adults and children. *J Burn Care Rehabil.* 2005;26:471-7.
2. Wang YB, Kusumoto K, Kakudo N, Ogawa Y. The use of skin allograft with donor-specific tolerance in a rabbit model of full-thickness burn. *Burns.* 2006;32:737-43.
3. Koller J, Orsag M. Skin grafting options at the Burn and Reconstructive Surgery Department of the Faculty Hospital in Bratislava. *Acta Chir Plast.* 2006;48:65-71.
4. Elias BG, Meunier DI, Squifflet JP, Marot L, Weynand B, VanWijck RR, Bayet B. Immunologic tolerance to skin allograft after graft-versus-host disease. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119:40e-44e.
5. Earle SA, El-Haddad A, Patel MB, Ruiz P, Pham SM, Majetschak M. Prolongation of skin graft survival by exogenous ubiquitin. *Transplantation.* 2006; 82:1544-6.
6. Mindikoglu AN, Cetinkale O. Prolonged allograft survival in a patient with extensive burns using cyclosporin. *Burns* 1993;19:70-2.
7. Eldad A, Benmeir P, Weinberg A, Neuman A, Chaout M, Ben-Bassat H, Wexler MR. Cyclosporin A treatment failed to extend skin allograft survival in two burn patients. *Burns.* 1994;20:262-4.
8. Tamura f, Vogelsang GB, Reitz BA, Baumgartner Wa, Herskowitz A. Combination thalidomide and cyclosporine for cardiac allograft rejection. *Transplantation.* 1990;49:20-5.
9. Carvalho JBV, Petroianu A, Alberti LR. Effects of immunosuppression induced by thalidomide and cyclosporine in heterotopic heart transplantation in rabbits. *Transpl Proceed* 2007. (in press).
10. Vogelsang GB, Hess AD, Santos GW. Thalidomide for treatment of graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.* 1988;3:393-8.
11. Laffitte E. The revival of thalidomide: an old drug with new indications. *Rev Prat.* 2006;30;56:1977-83.
12. Van den Akker JM, Hene RJ, Hoitsma AJ. Inferior results with basis immunosuppression with sirolimus in kidney transplantation. *Neth J Med.* 2007;65:23-2.
13. Petroianu A. Pesquisa experimental. In: PETROIANU A. *Ética, Moral e Deontologia Médicas.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. p. 185-90.
14. Petroianu A. Interposição traqueal na reconstrução do esôfago cervical de cão. *Rev Col Bras Cir.* 1992;19:156-9.
15. Petroianu A. Transplante intestinal. *Revista de Cirurgia do Hospital Mater Dei.* 1988;1:1-2.
16. Petroianu A, Vasconcellos LS, Alberti LR, Castro LPF, Leite JMB. Natural pregnancy in rabbits that underwent oophorectomy and orthotopic allogeneic or autologous ovarian transplantation. *Fertil Steril.* 2002;77:1298-9.
17. Hellmann K, Duke DI, Tucker DF. Prolongation of skin homograft survival by thalidomide. *Br Med J.* 1965;2:687-9.
18. Playfair JHL, Leuchars E, Davies AJS. Effect of thalidomide on skin graft survival. *Lancet.* 1963;1:1003-4.
19. Floersheim GL. Another chance for thalidomide. *Lancet.* 1966;1:207.
20. Voegelsang GB, Farmer ER, Hess AD, Altamonte V, Beschorner WE, Jabs DA, Corio RL, Levin LS, Colvin OM, Wingard JR, Santos GW. Thalidomide for the treatment of chronic graft-versus-host disease. *N Engl J Med.* 1992;326:1055-8.
21. Lee A, Cooper M, Craig J, Knight J, Keneally J. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on postoperative renal function in adults with normal renal function. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007;18:CD002765.
22. Le Moine A, Flamand V, Demoor FX, Noel JC, Surquin M, Kiss R, Nahori MA, Pretolani M, Goldman M, Abramowicz D. Critical roles for IL-4, IL-5, and eosinophils in chronic skin allograft rejection. *J Clin Invest.* 1999;103:1659-67.
23. Gutting BW, Updyke LW, Amacher DE. Diclofenac activates T cells in the direct popliteal lymph node assay and selectively induces IgG and IgE against co-injected TNP-OVA. *Toxicol Lett.* 2002;131:167-80.
24. Martinez OM, Ascher NL, Ferrell L, Villanueva J, Lake J, Roberts JP, Krams SM. Evidence for a nonclassical pathway of graft rejection involving interleukin 5 and eosinophils. *Transplantation.* 1993;55:909-18.
25. Corral LG, Kaplan G. Immunomodulation by thalidomide and thalidomide analogues. *Ann Rheum Dis* 1999, 58 Suppl I:107-13