Ítalo Valle Cortez

**Análise histomorfométrica do pênis de coelhos submetidos
à terapia com ondas de choque, estudo *in vivo***

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Urologia
Orientador: Prof.Dr. Antônio Marmo Lucon

São Paulo

2008

À minha esposa **Nayra**, que dedicou um tempo muito precioso de sua vida para me acompanhar e apoiar durante o desenvolvimento deste trabalho, confortando-me com muito carinho e amor, em todas as dificuldades.

Ao meu filho **Victor**, que nos momentos mais difíceis me fez sorrir e chorar de emoção demonstrando sua felicidade, ingenuidade e sinceridade nos pequenos atos e palavras. Apesar de pouco tempo de que disponho para compartilhar com você, meu amor por você é imensurável.

Aos meus pais, **César e Graça**, pelo amor, pela amizade, pela incomparável educação que souberam nos dar, pelos aconselhamentos e pelo amparo nos momentos mais difíceis. Nada que eu possa fazer retribuirá tudo que vocês fizeram por mim.

Aos meus irmãos, **Márcio e Thayza**, pelo incentivo freqüente, união e amor que sempre tivemos uns pelos outros. Pela felicidade de poder estar compartilhando deste momento tão importante.

A você, meu irmão **Marcelo** (*in memoriam*), com muitas saudades, dedico esta tese como sinal do amor que sinto e tenha certeza que sempre lembrarei de você como uma pessoa honesta, sincera e feliz, que neste momento está descansando ao lado dos anjos e do Nosso Senhor. Amém!

A **DEUS**, pelo dom da vida.

Ao **Prof.Dr. Miguel Srougi**, pela oportunidade de poder cursar esta pós-graduação e pelos ensinamentos que obtive durante este período na Clínica Urológica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Ao **Prof.Dr. Antônio Marmo Lucon** que gentilmente me aceitou como pós-graduando e muito contribuiu para que este trabalho fosse finalizado com coerência e exatidão.

Ao **Prof.Dr. Joaquim Francisco de Almeida Claro**, pela simplicidade e gentileza de sempre e pelos aconselhamentos durante a realização deste trabalho o que muito contribuiu com sua vasta experiência.

Ao amigo **Dr. Enrico Ferreira Martins de Andrade**, pela orientação e pela dedicação dispensada para que este trabalho se concretizasse, pelo incentivo nos momentos mais difíceis e pela paciência nos ensinamentos para a pesquisa. Meu reconhecimento e gratidão.

Ao **Dr. Marcos Dall'Oglio**, por acreditar no meu interesse pela pós-graduação e me apoiar durante este período de aprendizado sempre incentivando a área de pesquisa e publicação.

Ao **Dr. Mário Paranhos**, pela amizade e receptividade no grupo de Medicina Sexual e pelo apoio freqüente durante este período de suma importância para minha formação acadêmica.

À **Dra. Kátia Ramos Leite**, pelo acolhimento sempre muito gentil e polido e pelos ensinamentos em Patologia durante a realização deste trabalho.

Ao **Dr. Eduardo Pompeu**, pela colaboração durante a realização desta pesquisa no Biotério da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual de São Paulo.

Ao **Dr. Edson Sarkis Gonçalves**, pelo incentivo de realizar o terceiro ano de minha residência médica em Urologia na Clínica Urológica da FMUSP, o que me propiciou realizar esta pós-graduação simultaneamente.

Aos **Drs. Ricardo Borra e Priscila Andrade Borra**, pelo grandioso auxílio no ensinamento do método e pela disponibilização do *software* de histomorfometria para a realização deste trabalho.

Às **Doutoras Walcy Rosalia Teodoro e Ana Paula Pereira Velosa**, pela gentileza de me ajudar na aquisição das imagens das lâminas histológicas.

A toda a minha **família**, incluindo **avó, tios, tias, primos e primas** que sempre estiveram ao meu lado, estimulando e contribuindo indiretamente para minha formação.

Aos meus sogros, **Dr. Edward Costa Junior e Yeda Luzia Maciel Costa**, pela confiança que depositaram em mim, pela amizade, compreensão e carinho com que me acolheram como parte de sua família.

Aos amigos e cunhados, **Carolina Talhari Cortez, Edward Costa Netto, João Paulo Maciel Costa e Walfran da Silva Miranda Braga**, pela amizade e pelos auxílios nos momentos de necessidade.

Ao amigo **Márcio Ribeiro Kzam**, pela amizade de longa data e sempre presente nos momentos de alegria e também de dificuldade, pelo incentivo freqüente e pela inteligência ao tomar decisões corretas nos momentos mais importantes de nossas formações. Meu reconhecimento e gratidão.

Aos amigos **Cristiano Silveira Paiva, Giuseppe Figliuolo, Wallid Kallil e Petrus Oliva de Souza**, pelo constante incentivo na formação acadêmica e profissional e por acreditarem na formação deste grupo coeso e com futuro promissor.

Aos colegas **Leonardo Messina e Oskar Kaufmann**, pela ajuda dispensada durante o programa de pós-graduação no grupo de Medicina Sexual.

À **Adriana Sañudo**, pela dedicação na análise estatística desta trabalho.

A **Fernando Rafael Domingos da Costa**, pelo auxílio na edição das imagens digitalizadas neste trabalho.

A todos os funcionários da Divisão de Clínica Urológica da FMUSP pela receptividade e solicitude sempre presentes e a **Elisa de Arruda Cruz, Inisabete Salles da Silva, Maria Tereza dos Santos Souza, Maria Iones Souza Vancini e Rafles Cabral da Silva** a quem dedico especial atenção pelo maior convívio.

SUMÁRIO

Resumo

Summary

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	5
3 OBJETIVO.....	18
4 MÉTODOS.....	20
4.1 Amostra.....	20
4.2 Exposição às ondas de choque	22
4.3 Aquisição e preparo histológico.....	23
4.4 Histologia e histomorfometria.....	27
4.5 Método estatístico.....	30
5 RESULTADOS.....	32
5.1 Resultados da avaliação macroscópica e microscópica com coloração em hematoxilina e eosina.....	32
5.2 Resultados da histomorfometria para avaliação das fibras de colágeno com a coloração de picrosírius.....	39
5.3 Resultados da histomorfometria para avaliação das fibras musculares lisas com a coloração de Masson.....	42
5.4 Resultados da histomorfometria para avaliação da área da túnica albugínea e dos corpos cavernosos com a coloração de picrosírius.....	43
6 DISCUSSÃO.....	46
7 CONCLUSÃO.....	54
8 ANEXOS.....	56
9 REFERÊNCIAS.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

LIM - Laboratório de Investigação Médica

FMUSP - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

ESWT - Extracorporeal Shockwaves

Micra - Plural de micrômetros

ON - Óxido nítrico

POTABA - Para-aminobenzoato de potássio

MAO - Monoamino oxigenase

F1 - Foco 1

F2 - Foco 2

TGF- β - Transforming growth factor beta

HSL - Hue-saturation-luminosity

mg - Miligramas

cm - Centímetros

mm - Milímetros

g - Gramas

KV - kilovolts

Kg - kilogramas

ml - Mililitros

Mhz - Megahertz

% - Porcentagem

RESUMO

Introdução: A terapia com ondas de choque tem sido proposta como forma de tratamento para doença de Peyronie, mesmo não se conhecendo exatamente qual o mecanismo de ação das ondas de choque na placa fibrótica desta doença. A principal hipótese postulada para o mecanismo de ação é a neovascularização estimulada pelas ondas de choque, com conseqüente liberação de óxido nítrico e diminuição dos fatores inflamatórios através da ação dos macrófagos. Alguns estudos em humanos mostraram resultados favoráveis na melhora da dor peniana e do desempenho sexual após utilização da terapia com ondas de choque, no entanto até o momento não existe nenhum trabalho demonstrando a existência de lesões no tecido peniano adjacente à placa fibrótica, ou até mesmo se há formação de novas placas. **Objetivo:** O objetivo deste estudo é determinar a existência de lesões estruturais teciduais no pênis de coelhos, após a utilização da terapia com ondas de choque. **Métodos:** Para o estudo foram utilizados vinte e cinco coelhos machos adultos da linhagem New Zealand White, divididos em três grupos: Grupo I: Controle - Composto por cinco animais, que foram submetidos a três sessões de ondas de choque, com dois mil disparos cada, de intensidade de 15 KV; neste grupo, foi colocada uma placa protetora de borracha entre o equipamento de litotripsia e o pênis. Os animais foram sacrificados sete dias após a última sessão. Grupo II: Tratado com avaliação precoce - Composto por dez animais que foram submetidos a três sessões de ondas de choque, com dois mil disparos, de intensidade de 15 KV,

diretamente sobre o pênis. Os animais foram sacrificados após sete dias da última sessão. Grupo III: Tratado com avaliação tardia - Composto por dez animais que foram submetidos a três sessões de ondas de choque, com dois mil disparos, de intensidade de 15 KV, diretamente sobre o pênis. Os animais foram sacrificados noventa dias após a última sessão para análise histológica e morfométrica. **Resultados:** Macroscopicamente foram observados hematomas, petéquias e equimoses em 100% e uretrorragia em 57,9% dos animais dos grupos tratados, sintomas esses que regrediram após 48 horas. Microscopicamente foram observadas lesões como degeneração da camada basal somente no grupo tratado com avaliação precoce em 55,6%, papilomatose e acantose nos dois grupos tratados em 22,2%, congestão da derme em 100% dos animais do grupo tratado com avaliação precoce e 80% dos animais do grupo tratado com avaliação tardia e espessamento da túnica albugínea em 80% dos animais do grupo tratado com avaliação tardia. A histomorfometria da túnica albugínea mostrou média de 16,6% de fibras de colágeno no grupo controle, 20,9% no tratado com avaliação precoce e 49,1% no tratado com avaliação tardia ($p < 0,001$) causando desorganização e remodelamento da túnica. Não houve diferença estatística na porcentagem de fibras musculares nos corpos cavernosos entre os grupos, sendo a média no grupo controle de 54,6%, no grupo tratado com avaliação precoce de 56,1% e no grupo tratado com avaliação tardia de 47,8% ($p = 0,214$). **Conclusão:** A terapia com ondas de choque é um método que produz lesões teciduais em todos os planos do pênis com aumento da quantidade das fibras de colágeno na túnica albugínea e

provocando assim um remodelamento e desorganização da túnica albugínea.

Descritores: 1- Induração peniana, 2- Ondas de choque de alta energia, 3- Colágeno, 4- Técnicas histológicas, 5- Coelhos.

SUMMARY

Introduction: Extracorporeal shockwaves have been proposed as a treatment for Peyronie's disease. The mechanism of action in the fibrotic plaque is not exactly known. Hypotheses have been made on the stimulation of revascularization by the extracorporeal shockwaves, followed by the release of nitrous oxide and decreased inflammatory factors by the macrophages action. Also, it may seem to have an effect on penile pain during erection and on the improvement of sexual function. Nevertheless, until now there is no evidence of the presence of damage to the normal penile tissue around the fibrotic plaque neither the new onset of other plaques on the top of the tunica albuginea.

Objective: The aim of this study is to determine whether there is any injury to the normal penile tissue during extracorporeal shockwaves in rabbits. **Methods:**

Twenty-five adult male *New Zealand White* rabbits undergone to three sessions of extracorporeal shockwaves with 2,000 pulses each of 15 KV. They were divided into three groups: Group I (no shock) - five animals were subjected to three sessions but a rubber plaque was placed between the equipment and the animal to protect the penis. These animals were sacrificed seven days after the last session of extracorporeal shockwaves. Group II (Short-term effect) - ten animals were sacrificed seven days following the last session. Group III (Long-term effect) - ten animals evaluated ninety days after the last session. The penile tissue was analyzed. **Results:** The penile evaluation showed, macroscopically, the presence of hematomas, petechias and equimosis in 100% of the treated animals. 57,9% rabbit's presented with urethral bleeding just after the extracorporeal shockwaves sessions until after 48 hours.

Histological evaluation demonstrated the presence of basal cell degeneration in 55,6% in group II, 22,2% of all animals treated presented with papilomathosis and acanthosis. The presence of skin congestion was a rule (100%) in the short-term but only present in 80% at long-term evaluation. Fibrosis of the albuginea was observed as a long-term effect in 80% of the animals. The morphometric analysis showed that 16,8% of the normal rabbits had the presence of collagen fibers, 20,9% in group II and 49,1% in group III ($p<0,001$). These collagen fiber may be a result of disorganization and remodeling of the albuginea caused by the extracorporeal shockwaves. We also analysed the amount of smooth muscle fibers present in the corpus cavernosum showing that the mean amount in the Group I was 54,6%, in group II was 56,1% and in group III was 47,8% ($p=0,214$). **Conclusion:** Our results demonstrate that extracorporeal shockwaves produce injury in all tissues of the penis, provoking disorganization and remodelation of tunica albuginea.

Descriptors: 1- Penile induration, 2- High-energy shock wave, 3- Collagen, 4- Histological techniques, 5- Rabbits.

1. INTRODUÇÃO

A Doença de Peyronie é caracterizada por tortuosidade peniana, acompanhada de dor e seguida de disfunção erétil progressiva. O desenvolvimento desta doença é determinado pela substituição do tecido normal da túnica albugínea composto por colágeno e fibras elásticas por uma placa fibrosa¹. Trauma externo no pênis, diabetes mellitus, gota, doença de Paget, utilização de alfa-bloqueadores, fenitoína e antecedentes de cirurgias de instrumentação uretral são relatados como fatores associados à etiologia da doença de Peyronie^{2,3}. A causa mais aceita é o microtrauma da túnica albugínea, quando ocorre curvatura excessiva durante a relação sexual ou o trauma sobre o pênis ereto resulta em sangramento entre o espaço existente entre as duas camadas da túnica albugínea e forma-se a placa de fibrose^{3,4,5}.

A incidência de pacientes sintomáticos com doença de Peyronie é estimada entre 3,7% e 7,1% mas sua prevalência parece ser maior em pacientes mais idosos, chegando a 10,9% nos homens com 70 anos⁶.

O tratamento da doença de Peyronie depende do estágio em que a doença é diagnosticada. Na fase aguda utiliza-se o tratamento conservador, com medicações orais e intralesionais e no estágio de estabilização da placa que varia de 12 a 16 meses, utiliza-se o tratamento cirúrgico para correção da deformidade e da disfunção erétil, quando associada, o que ocorre em 15,8% dos casos^{1,7}. Os tratamentos com medicações orais e intralesionais

não têm demonstrado resultados satisfatórios e nos estudos onde são comparados ao placebo, os resultados mostram valores semelhantes ou inferiores ao placebo. Com isso uma série de novas medicações tem surgido nos últimos anos na tentativa de curar ou estabilizar a doença de Peyronie de maneira mais rápida que a sua evolução natural.

O estudo da evolução natural da doença de Peyronie realizado por Gelbard mostrou que 13% dos doentes evoluem espontaneamente para cura, 47% têm melhora leve dos sintomas ou não sofrem evolução e 40% têm evolução com piora dos sintomas⁸. Teloken et al, em seu estudo duplo-cego e controlado utilizando tamoxifeno na dosagem de 20mg duas vezes ao dia versus placebo, concluíram que não houve vantagem do tamoxifeno em relação ao placebo⁹. Resultado semelhante foi obtido por Scott e Scardino quando utilizaram a Vitamina E versus placebo em 60 pacientes, na dosagem de 200mg ao dia e verificaram que não houve vantagem desta vitamina em relação ao placebo; no entanto, apesar da falta de evidências científicas, a vitamina E tem sido amplamente utilizada no tratamento da doença de Peyronie e uma das explicações para isto se deve à cobrança dos pacientes em utilizar alguma medicação para sua doença e à ausência de efeitos adversos desta vitamina¹⁰.

Em se tratando da correção cirúrgica da doença de Peyronie, existe uma gama de variações com resultados bem diferentes. A técnica de Nesbit, que causa encurtamento peniano de 2 centímetros em média, ainda é a técnica cirúrgica mais usada para correção dos casos graves de tortuosidade peniana na doença de Peyronie, apesar de não ser uma técnica

aceita por muitos pacientes^{11,12}. Outras técnicas cirúrgicas com ressecção da placa e interposição de tecidos sintéticos ou autólogos têm sido utilizadas e teriam a vantagem de não encurtarem o pênis, mas podem provocar disfunção erétil e outras deformidades no corpo peniano, incluindo herniações do enxerto e acotovelamentos em forma de ampulhetas^{13,14}. Contudo o tratamento cirúrgico da doença de Peyronie também não apresenta resultados satisfatórios.

Na falta de um tratamento efetivo para doença de Peyronie, diversas terapias alternativas têm surgido, dentre elas o emprego de ondas de choque. A terapia com ondas de choque tem sido descrita como efetiva sobre a melhora da dor peniana durante a ereção, restabelecendo o desempenho sexual mais rápido que a evolução natural da doença¹⁵. Alguns destes trabalhos têm demonstrado também efeito de redução do tamanho da placa e melhora da curvatura peniana. Contudo não existem trabalhos experimentais que mostrem os efeitos causados pelas ondas de choque que atingem o espaço ao redor da placa de fibrose incluindo os corpos cavernosos e a túnica albugínea.

Por este motivo foi desenvolvido um trabalho experimental em coelhos para estudar as lesões estruturais causadas pela terapia com ondas de choque em pênis de coelhos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A Doença de Peyronie foi inicialmente observada por Fallopius e Vesalius, no ano de 1561 e posteriormente descrita em 1743 por François Gigot de La Peyronie. Tem a característica de provocar tortuosidade peniana, acompanhada de dor e progressiva disfunção erétil ou estabilizar-se como uma placa com pequena curvatura encontrada no exame físico. Esta alteração é determinada pela substituição do tecido normal da túnica albugínea, que é composto por colágeno e fibras elásticas, por uma placa de fibrose¹.

Os principais sintomas da doença de Peyronie são a dor peniana, a deformidade peniana, o encurtamento peniano e a disfunção erétil. No exame físico os pacientes têm uma placa definida ou área de endurecimento, geralmente, localizada na face dorsal do pênis. O grau de curvatura provocada pela placa de fibrose é o determinante para o impedimento da penetração vaginal^{1,4}. A dor geralmente ocorre no estágio inflamatório inicial da doença, e não é muito severa, mas interfere na relação sexual. A melhora da dor ocorre quando o processo de fibrose é estabelecido⁴.

A disfunção erétil é um sintoma progressivo nos pacientes com doença de Peyronie e é responsável por significativo e profundo comprometimento da qualidade de vida do homem e de suas parceiras⁴.

A incidência de pacientes sintomáticos com doença de Peyronie é estimada entre 3,7% e 7,1%, mas a prevalência da doença deve ser maior tendo em vista a relutância dos homens em relatar esta condição para seus médicos, por desconhecimento, razões culturais e psicológicas⁶.

Pacientes com doença de Peyronie são acometidos em uma larga faixa de idade, entre 20 e 84 anos, com incidência de 87% entre a 4ª e a 6ª década de vida^{6,16}.

A doença de Peyronie está associada aos pacientes com trauma externo no pênis, diabetes *mellitus*, gota, doença de “*Paget*”, em pacientes que utilizam medicações como alfa-bloqueadores, fenitoína e também em pacientes submetidos a cirurgias uretrais^{2,3,4}.

A túnica albugínea é uma estrutura bilaminar em toda sua circunferência composta por uma camada em circular e outra longitudinal, sendo os corpos cavernosos separados por um septo incompleto. A espessura da túnica albugínea varia de 1,5mm a 3mm dependendo da posição na circunferência. A maioria dos pacientes com a doença de Peyronie apresenta lesões na face dorsal do pênis pela maior probabilidade de impacto por algumas posições durante as relações sexuais. Como a túnica albugínea é bilaminar, após o trauma ocorre delaminação das camadas e formação da placa entre elas⁵.

Uma das causas mais prováveis para a doença de Peyronie é o trauma mecânico, microvascular ou ambos associados. Se houver curvatura excessiva durante a relação sexual ou o trauma sobre o pênis ereto, isso resulta em sangramento no espaço existente entre as duas camadas da

túnica albugínea, com acúmulo de fluidos e fibrinogênio formando a placa de fibrose por deposição de macrófagos e neutrófilos^{3,4,5}. As células responsáveis pela formação do coágulo liberam uma variedade de citocinas, fatores vasoativos que levam à formação da placa de fibrose. Geralmente, este trauma ocorre no intercurso sexual quando a mulher está sobre o pênis, gerando uma pressão sobre a junção do septo na túnica albugínea^{17,18,19}.

A formação da placa de fibrose citada anteriormente também está relacionada com o TGF- β 1 e foi demonstrada no primeiro modelo experimental em doença de Peyronie realizado por El-Sakka e colaboradores²⁰. O TGF- β 1 é sintetizado como um peptídeo inativo e latente através de uma variedade de células, incluindo plaquetas, macrófagos e fibroblastos²⁰. Na ativação, o TGF- β 1 se agrega ao receptor específico de uma célula, provocando a síntese de tecido conectivo e a inibição da collagenase^{20,21}. O papel do TGF- β 1 na patogênese da doença de Peyronie foi confirmado em estudos, que verificaram um aumento da expressão de TGF- β 1, TGF- β 2 e TGF- β 3 quando comparados aos tecidos normais. Todos os casos analisados com doença de Peyronie tinham aumento do TGF- β 1²².

A evolução natural da doença de Peyronie foi pouco estudada até os dias atuais e apenas quatro trabalhos foram encontrados na literatura mostrando resultados diferentes e cada vez mais convincentes sobre a necessidade da utilização de alguma forma de tratamento, tendo em vista que a resolução espontânea é pouco comum e normalmente os pacientes evoluem com piora da sintomatologia. O primeiro artigo a ser publicado foi

em 1970 quando William e Thomas avaliaram um pequeno número de pacientes e mostraram que mais de 50% tinham evolução espontânea da doença²³. Posteriormente, porém, este estudo serviu de base para, duas décadas mais tarde, Gelbard e colaboradores estudarem mais 97 pacientes com a doença de Peyronie e chegarem à conclusão de que 13% tiveram resolução espontânea ou utilizaram vitamina E, 47% tiveram estabilização dos sintomas e 40% tiveram piora dos sintomas necessitando de alguma forma de tratamento⁸. Em 2002 Kadioglu mostrou que mais de 30% dos pacientes com doença de Peyronie tinham progressão dos sintomas com necessidade de tratamento durante um período de oito meses²⁴. Mais recentemente, em 2006, Mulhall e colaboradores realizaram o maior estudo até o momento avaliando a evolução natural da doença de Peyronie em 246 pacientes prospectivamente, dos quais 89% tiveram resolução da dor, porém, em relação à curvatura, apenas 12% tiveram melhora, ao passo que 48% pioraram da curvatura e 40% permaneceram estáveis²⁵.

O tratamento não cirúrgico da doença de Peyronie está em constante evolução, consistindo atualmente em medicações orais, injetáveis e aplicação de terapia por ondas de choque extracorpórea. Um grande número de drogas tem sido proposto para o tratamento da doença de Peyronie, mas nenhuma droga tem mostrado resultados melhores em relação ao uso de placebo²⁶. A procarbazina, que tem um efeito na inibição da proliferação dos fibroblastos, e foi inicialmente utilizada em 1970, porém, um estudo comparando a procarbazina e a vitamina E, demonstrou que a vitamina E teve melhores resultados que a procarbazina, apresentando

melhora da curvatura peniana em 37% dos pacientes enquanto a procarbazina apresentou melhora em apenas 9%. Atualmente a procarbazina não é utilizada devido aos seus efeitos colaterais^{27,28,29}. A vitamina E tem propriedades antioxidantes e acredita-se ter alguns benefícios no tratamento da doença de Peyronie. Apesar de não ter sido comprovada sua efetividade na doença, tal droga tem sido largamente utilizada pelo seu baixo custo e segurança¹⁰. O para-aminobenzoato de potássio (POTABA) é um membro do complexo de vitaminas B, e seu papel no tratamento da doença de Peyronie não é totalmente conhecido, porém, acredita-se que provoque um aumento da concentração de oxigênio no tecido fibrótico e da atividade da monoamino oxigenase (MAO) e, com o aumento da concentração desta enzima, há diminuição do processo de fibrose. A dosagem do POTABA é preconizada em 12g diários divididos em quatro ou cinco doses e deve ser ingerido com quantidade aumentada de líquidos pelos efeitos colaterais que causa incluindo náuseas, febre e eritema cutâneo³⁰. Os resultados obtidos em estudos utilizando POTABA no tratamento da doença de Peyronie mostram vantagem apenas na estabilização da doença e não progressão da curvatura peniana³⁰. Em um estudo multicêntrico com 60 pacientes seguidos durante 12 meses, o POTABA foi utilizado na dosagem de 4g por dia e comparado ao placebo e ao final não apresentou vantagem em relação ao placebo quando o parâmetro utilizado foi a dor³¹.

A colchicina também é utilizada para o tratamento da doença de Peyronie; trata-se de um derivado do fenantreno utilizada no tratamento da

gota, atuando na diminuição da resposta inflamatória e na fagocitose. Esta droga possui quatro mecanismos de ação, sendo o primeiro através da ligação com a tubulina, despolimerizando-a e subsequente inibindo a sua mobilidade e adesão com os leucócitos. Atua também na inibição da mitose celular. A colchicina bloqueia a lipoxigenase e o metabolismo do ácido araquidônico, diminuindo assim a resposta inflamatória. Exerce igualmente uma ação na movimentação transcelular do colágeno. Apesar de todos esses mecanismos de ação, não há evidência científica do benefício da colchicina no tratamento da doença de Peyronie³². As demais formas conservadoras de tratamento são as medicações intralesionais, dentre as quais as mais utilizadas são o interferon e o verapamil. O verapamil é um bloqueador dos canais de cálcio e o seu uso no tratamento da doença de Peyronie está baseado no sucesso terapêutico de seu uso *in vitro*. A dosagem varia de 10mg a 20mg injetados perilesionais com intervalos semanais ou a cada duas semanas conforme estudo realizado por Levine em 1994, onde mostrou resultados de melhora da dor em 91% dos casos, da curvatura peniana em 42% e na melhora da função sexual em 58%³³.

Sendo estudados desde 1990, os interferons têm sido apresentados em alguns pequenos estudos com resultados favoráveis e o último estudo multicêntrico mostrou resultado objetivo positivo na curvatura peniana com diminuição de 49,9 graus para 36,4 graus nos pacientes tratados com interferon- α -2b. A melhora da dor neste mesmo grupo foi de 67,7% ao passo que no grupo que utilizou placebo a melhora foi em apenas 28,1%³⁴.

O tratamento cirúrgico da doença de Peyronie teve um grande avanço em 1977 com a cirurgia de Nesbit e até os dias atuais ainda tem um papel importante, sendo a técnica cirúrgica mais usada para correção dos casos graves de tortuosidade peniana na doença de Peyronie¹². Diversas técnicas modificadas surgiram ao longo dos anos, cujo princípio ainda é o mesmo, ou seja, provocar o encurtamento da túnica albugínea no lado contralateral à placa, sendo este encurtamento no pênis a principal desvantagem de tal técnica. Outras técnicas cirúrgicas com ressecção da placa e interposição de tecidos sintéticos ou autólogos têm surgido com o objetivo de não encurtarem o pênis^{13,14}. Egydio et al demonstraram em seu estudo que ao utilizar a técnica de incisão da placa fibrótica mais interposição de enxerto de pericárdio bovino, foi possível corrigir a tortuosidade em 87,9% dos 33 pacientes operados e todos mantiveram a função sexual prévia, além de haver um aumento do tamanho peniano em 2,21cm (1 a 4 cm) no intra-operatório^{35,36}. Apesar destes bons resultados obtidos por Egydio et al, outros autores têm relatado que as técnicas de enxertia podem provocar disfunção erétil e outras deformidades no corpo peniano, incluindo herniações do enxerto e acotovelamentos em forma de ampolhetas^{13,14}.

A litotripsia extracorpórea é um procedimento no qual os cálculos do trato urinário são pulverizados em pequenos fragmentos através de ondas de choque para que estes fragmentos possam ser eliminados espontaneamente³⁷. Este procedimento não invasivo permite que os pacientes sejam tratados sem a necessidade de intervenção cirúrgica ou procedimento endoscópico. Os equipamentos de litotripsia extracorpórea

são compostos de: gerador de ondas de choque, focalizador das ondas de choque e sistema de imagem para localização do cálculo urinário. Os geradores são baseados no princípio geométrico de uma elipse. As ondas de choque são criadas, no primeiro ponto focal da elipsóide (F1 - no centro da elipse), e são direcionadas para o segundo ponto focal (F2), dentro do paciente. A zona focal da área F2 é o local onde há a concentração máxima das ondas de choque (Figura 1).

Figura 1 – Localizador focal do aparelho de ondas de choque

Todas as máquinas requerem um mecanismo de focalização para alinhar, direcionar e concentrar a energia produzida no ponto F2 (no cálculo) (Figura 1). O sistema de visualização e localização dos cálculos urinários é utilizado para identificar o cálculo no ponto F2. A fluoroscopia e o ultra-som são utilizados para a localização do cálculo³⁷.

Existem três tipos primários de geradores de ondas de choque: eletrohidráulico, eletromagnético e piezoelétrico³⁷.

No tipo eletrohidráulico, a onda de choque é gerada por um dispositivo de energia composta por dois eletrodos que recebem uma corrente elétrica de alta voltagem e é disparada sob uma bolsa de água, gerando uma explosão vaporizada na água e conseqüentemente emite ondas de choque do tipo esféricas. O sistema de gerador eletromagnético é caracterizado por emitir ondas de choque de forma plana ou cilíndricas que serão transformadas em ondas esféricas através de um jogo de lentes acústicas. A disposição do gerador de energia é diferente na sua composição, que é formada por duas lâminas planas separados por uma fina camada de ar sobre um condutor de energia que uma vez disparado, gera um campo magnético entre as lâminas e as move em direção à água, gerando as ondas. O método piezoelétrico, também produz ondas de choque planas que convergem para o foco direcionado. Neste caso o gerador de energia é composto por um mosaico de pequenas peças de cerâmica, polarizadas e policristalizadas que são acionadas rapidamente ao receberem um pulso de alta energia. Os elementos piezoelétricos são dispostos dentro de um disco esférico que permite convergir para o foco desejado.

A terapia com ondas de choque também está sendo utilizada para tratamentos de doenças ortopédicas, como: esporão de calcâneo, tendinite calcárea úmero escapular, tendinite calcárea do cotovelo e pseudoartroses. Os efeitos benéficos na área ortopédica têm sido decorrentes do aumento da vascularização e da maior reabsorção da calcificação dissolvida pela litotripsia extracorpórea^{38,39}. Nas doenças ortopédicas inflamatórias o efeito

decorre da liberação de óxido nítrico (NO) no tecido tratado com as ondas de choque, visto que esta substância com papel antiinflamatório importante é responsável pelo aumento da vascularização⁴⁰.

Talvez com o objetivo de alcançar os princípios citados anteriormente, alguns trabalhos foram desenvolvidos utilizando a terapia com ondas de choque na doença de Peyronie e demonstraram efeito na redução do tamanho da placa de fibrose, melhorando assim a curvatura peniana provocada por esta doença, como mostram os estudos de Hamm et al que relataram diminuição do tamanho da placa em 64% dos pacientes e Husain et al que obtiveram 47% de melhora dos pacientes tratados por essa terapia com ondas de choque^{41,42}. Esta ação teria uma similaridade com os efeitos da terapia com ondas de choque nos pacientes tratados para doenças ortopédicas³⁹.

Outros trabalhos também surgiram em nosso meio com o mesmo objetivo e no trabalho publicado por Claro et al, os resultados foram favoráveis, mostrando que 16 de 25 pacientes tratados com 3 a 6 sessões de ondas de choque com intervalos semanais, utilizando de 3 a 4 mil disparos, tiveram melhora da curvatura peniana com diminuição de até 21 graus (10 a 40) e oito deles relataram também a melhora da ereção durante a relação sexual. Claro também demonstrou que as alterações macroscópicas teciduais foram mínimas e tiveram resolução espontânea nos primeiros dias após o tratamento^{43,44}.

Hiroshi et al constataram desaparecimento da placa fibrótica em 25% dos pacientes, sendo que em 75% houve diminuição das mesmas quando

avaliadas por ultra-sonografia. Neste estudo todos os pacientes referiram desaparecimento da dor e melhora da curvatura peniana⁴⁵.

Husian et al também obtiveram resultados favoráveis após sessões de ondas de choque em todos os parâmetros avaliados: 47% de melhora da angulação do pênis, 60% de melhora da dor e todos referiram apenas alterações mínimas da pele do pênis após o tratamento, sem maiores efeitos colaterais⁴¹.

Apesar de alguns trabalhos mostrarem a eficiência deste método, o seguimento da terapia com ondas de choque deve ser realizado com parâmetros objetivos que envolvem a avaliação da placa e a curvatura peniana e por parâmetros subjetivos que são avaliados pela dor e pela função sexual. Utilizando estes parâmetros, foi realizada uma meta-análise com 17 trabalhos publicados em literatura reconhecida a respeito da terapia com ondas de choque e observou-se que a redução da curvatura peniana variou de 0-74%, diminuição da placa de 0-68%, diminuição da dor de 56-100% e melhor desempenho da função sexual de 12-80%. O resultado desta meta-análise demonstrou que as ondas de choque diminuem a dor peniana durante a ereção, porém a curvatura peniana e o tamanho da placa tiveram resultados bem menos expressivos. Mesmo não apresentando maiores efeitos colaterais com este método, o estudo concluiu que a terapia com ondas de choque não está baseada em evidências científicas para ser utilizada como método seguro e eficaz para o tratamento da doença de Peyronie, sugerindo que mais estudos sejam realizados e que incluam maiores casuísticas e com longos seguimentos¹⁵.

Dois anos após a realização desta meta-análise, surgiram alguns estudos com seguimentos e casuísticas maiores como o trabalho de Hatzichristodoulou et al que analisaram 102 pacientes em um estudo prospectivo, randômico, placebo-controlado e simples-cego que foram submetidos a seis sessões de ondas de choque com 2 mil disparos, a intervalos semanais e observaram que houve diminuição apenas da dor com significância estatística $p=0,013$, porém sem melhora da curvatura peniana, deixando assim evidente que realmente o papel da terapia com ondas de choque é limitado e que ainda não se comprovou a sua utilidade em todos os sintomas da doença⁴⁶.

Até o ano de 2002 apenas um trabalho em modelo experimental foi realizado tentando demonstrar que a terapia com ondas de choque pode provocar alteração na hemodinâmica do pênis de ratos e alterações teciduais macroscópicas, porém alterações microscópicas não foram bem estabelecidas e tampouco foram utilizadas colorações específicas para as possíveis alterações das fibras de colágeno que são parte fundamental da placa de fibrose da doença de Peyronie⁴⁷.

Devido à patogenia desta doença ser desencadeada pelo trauma microvascular e este iniciar a formação do tecido fibrótico peniano e ao fato de haver dúvidas no tratamento da doença de Peyronie com a terapia com ondas de choque, foi proposto o modelo experimental em coelhos para verificar se a terapia com ondas de choque causa efeitos nocivos ao tecido peniano normal e até mesmo se provoca novas alterações semelhantes à placa de fibrose da doença de Peyronie na túnica albugínea normal.

3. OBJETIVO

O objetivo deste estudo é verificar a existência de lesões estruturais teciduais no pênis de coelhos, quantificando-as pelos métodos de histologia e histomorfometria, após a utilização da terapia com ondas de choque.

4. MÉTODOS

Um estudo experimental de intervenção, controlado, foi desenvolvido no Laboratório de Investigação Médica (LIM 55) da Disciplina de Urologia e no biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), no período de janeiro de 2007 a fevereiro de 2008. O projeto de pesquisa foi previamente submetido à análise da comissão de ética em pesquisa da FMUSP e aprovado para sua realização sob número 0305/07 em 30/05/07.

4.1 - AMOSTRA

Para o estudo foram selecionados vinte e cinco (25) coelhos machos adultos da linhagem *New Zealand White* com boa saúde animal, fornecidos pelo biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os animais foram divididos em três grupos: controle, tratado com avaliação precoce e tratado com avaliação tardia.

Grupo I: Controle - Composto por cinco (05) animais, que foram previamente anestesiados e submetidos a três sessões de ondas de choque com intervalos semanais, com interposição de placa isolante de borracha entre o pênis e o equipamento de litotripsia extracorpórea. Os animais foram sacrificados, dois deles sete dias após o tratamento e três, noventa dias, para análise estrutural do pênis.

Grupo II: Tratado com avaliação precoce - Composto por dez (10) animais que foram previamente anestesiados e submetidos a três sessões de terapia por ondas de choque com intervalos semanais, cada sessão com dois mil disparos na intensidade de 15 KV. Após as três sessões os animais foram mantidos no cativeiro recebendo alimentação e higiene habitual por um período de sete dias, quando foram sacrificados para análise aguda das possíveis lesões teciduais no pênis.

Grupo III: Tratado com avaliação tardia - Composto por dez (10) animais que foram previamente anestesiados e submetidos a três sessões de terapia por ondas de choque com intervalos semanais, cada sessão com dois mil disparos na intensidade de 15 KV. Após as três sessões os animais foram mantidos no cativeiro recebendo alimentação e higiene habitual por um período de noventa dias, quando foram sacrificados para análise tardia das possíveis lesões teciduais no pênis.

O peso dos animais foi avaliado antes da realização do primeiro procedimento e variou no grupo controle de 3900 kg a 5100 kg, no grupo tratado com avaliação precoce a variação de peso foi de 3400 kg a 4700 kg e no grupo tratado com avaliação tardia o peso variou de 3700 kg a 5500 kg (Tabela 1).

A idade dos animais também foi avaliada no início das atividades antes da primeira aplicação com ondas de choque e variou no grupo controle de 5 a 7 meses, no grupo tratado com avaliação precoce a variação foi de 5 a 6 meses e no grupo tratado com avaliação tardia a idade variou de 5 a 6 meses (Tabela 1).

Tabela 1 - Mediana dos pesos e idades dos grupos de coelhos submetidos à terapia com ondas de choque.

	Controle (n = 5)	Tratado Avaliação Precoce (n = 9)	Tratado Avaliação Tardia (n = 10)	p-valor [‡]
Peso (kg)	4200	4200	5100	0,060
Q1-Q3	4000-4800	4150-4350	4375-5500	
Idade (meses)	6	5	6	0,281
Q1-Q3	5-7	5-6	5,75-6	

[‡] Kruskal-Wallis

4.2 - EXPOSIÇÃO ÀS ONDAS DE CHOQUE

Para a aplicação das ondas de choque nos pênis dos coelhos foi desenvolvido um sistema de sustentação dos animais frente ao aparelho de litotripsia (Figura 2). O aparelho de litotripsia utilizado no experimento é da marca Stonelith, usado para pulverização de cálculos no sistema urinário.

Figura 2 – Dispositivo de fixação do pênis dos coelhos submetidos à terapia com ondas de choque.

Cada animal foi anestesiado previamente com quetamina na dosagem de 50mg/kg e xilasina na dosagem de 10mg/kg utilizando a via intramuscular para administração, sendo constantemente monitorizado pelo veterinário responsável pela técnica anestésica. A seguir, a região perineal dos animais foi tricotomizada e então o pênis era exposto e fixado ao redor de sua base de forma que todo o seu comprimento fosse exposto ao ponto focal do aparelho de litotripsia.

4.3 - AQUISIÇÃO E PREPARO HISTOLÓGICO DO TECIDO

PENIANO

Decorrido o tempo preestabelecido de sete e noventa dias, os animais foram anestesiados, a base do pênis foi circundada por fio de nylon para que não houvesse fuga venosa dos corpos cavernosos e facilitasse a análise das fibras musculares lisas e das fibras de colágeno. A secção completa do pênis foi realizada na sua base com lâmina fria e o tecido foi conservado em formol a 10% até o preparo da peça.

Os espécimes foram processados rotineiramente e incluídos em parafina e três colorações foram realizadas incluindo Hematoxilina e Eosina, Tricômio de Masson e Picrosírius.

A técnica para coloração de Tricômio de Masson utilizou as seguintes soluções:

- Hematoxilina Férrica de Weigert
 - Hematoxilina pó = 1g
 - Álcool 95% = 100ml
 - Solução aquosa de cloreto férrico a 29% = 04ml
 - Água destilada = 95ml
 - Ácido clorídrico concentrado = 01ml
- Solução de Escarlata de Biebrich
 - Solução aquosa de Escarlata de Biebrich 1% = 90ml
 - Solução aquosa de Fucsina ácida 1% = 10ml
 - Ácido acético glacial = 01 ml
- Solução ácida Fosfotungstica-Fosfomolibdica
 - Ácido Fosfotungstico = 2,5g
 - Ácido Fosfomolibdico = 2,5g
 - Água destilada = 100ml
- Solução de azul de anilina
 - Azul de anilina = 2,5g
 - Ácido acético glacial = 02ml
 - Água destilada = 100ml
- Solução de água-ácido
 - Água destilada = 100ml
 - Ácido acético glacial = 01ml

O procedimento iniciou-se com a desparafinização e hidratação do material, seguido de lavagem com água corrente por cinco minutos. O material foi mordentado em solução de Bouin por uma hora na estufa a 60 graus e em seguida lavado em água corrente até o desaparecimento da coloração amarela deixado pela solução de Bouin. A seguir foi passado em água destilada e logo corado pela solução de hematoxilina férrica de Weigert por 10 minutos e novamente lavado em água corrente. Em seguida foi corado pela solução de Escarlata de Biebrich por 5 minutos e lavado em água destilada; a solução seguinte foi de Ácido fosfotungstico-fosfomolibidico por 10 minutos e novamente lavagem em água destilada. As duas últimas soluções utilizadas foram de azul de anilina e ácido acético glacial 1% cada uma corada por 5 minutos e lavada em água destilada e no final desidratada, diafanizada e montada em resina.

Os tecidos ficaram corados da seguinte forma:

- Núcleo = preto
- Citoplasma, queratina e fibras intercelulares – vermelho
- Colágeno e muco = azul

A técnica de Picrosirius utilizou duas soluções específicas:

- Solução de Picrosirius
 - Sirius red-F3 B200 = 0,1g
 - Solução aquosa saturada de ácido picrico = 100ml
- Solução de Hematoxilina de Carazzi
 - Hematoxilina = 0,5g
 - Água destilada = 400ml
 - Glicerina = 100ml
 - Iodato de Potássio = 0,1g
 - Sulfato de alumínio e potássio = 25g

A técnica de realização das lâminas iniciou-se com a desparafinização e hidratação e em seguida foi corada pela solução de picrosirius por 15 minutos, lavada em água corrente e aplicada solução de hematoxilina de Carazzi por 5 minutos. O último passo foi desidratar o material em álcool 96%, absoluto e xilol e em seguida montar.

4.4 - HISTOLOGIA E HISTOMORFOMETRIA

As lâminas foram analisadas em cada uma das colorações descritas anteriormente utilizando diferentes aumentos e procurando identificar as alterações teciduais de acordo com a especificidade de cada coloração conforme a descrição abaixo.

Na coloração de hematoxilina e eosina a análise foi feita em aumentos de 40x para observação geral do tecido, incluindo pele, tecido subdérmico, albugínea, corpos cavernosos e uretra. As avaliações incluíram a presença de hemorragia, edema e congestão. Posteriormente, foi realizada análise em aumentos de 100x e 400x para caracterização de alterações celulares específicas como degeneração da camada basal, acantose, papilomatose e fibrose.

Nas lâminas com coloração de Masson foram analisadas as alterações das fibras musculares dos corpos cavernosos no aumento de 40x e também a análise panorâmica com óptica específica para cálculo da área da albugínea e dos corpos cavernosos.

Na coloração de Picrosírius, foram avaliadas as quantidades de fibras de colágeno da túnica albugínea e dos corpos cavernosos sendo necessária a utilização do microscópio *Olympus BX 51* com polarização. A aquisição das imagens foi realizada com o auxílio de uma câmera da marca *Olympus Q Color 5* acoplada em um computador Pentium 3 300Mhz. Para análise da

túnica albugínea foi utilizado aumento de 100x e nos corpos cavernosos o aumento de 200x.

A aquisição das imagens para análise histomorfométrica foi realizada em cinco campos distintos de cada lâmina e para se evitar a duplicidade na aquisição das imagens, foi estabelecido um plano de leitura dos campos que seguia sempre a ordem do quadrante superior esquerdo para o direito e de cima para baixo. A média dos cinco campos utilizados para quantificação dos espécimes foi considerada como resultado das análises das variáveis.

A quantificação dos espécimes estudados foi realizada pelo software ImageLab 3000 ® (Diracom Bio-Informática Ltda – Vargem Grande do Sul – SP/Brasil). Todo o estudo de quantificação foi realizado pelo mesmo pesquisador que proporcionou uma padronização de todas as etapas do procedimento de forma que não houvesse viés de análise. A quantificação foi realizada seguindo-se os princípios de segmentação e subtração da imagem segundo WATT & POLICARPO (1998) E GONZALEZ & WOODS (1992). As imagens eram mantidas em suas cores originais, e transformadas em gráficos com as cores representadas no sistema *hue-saturation-luminosity (HSL)*, matiz, saturação e luminosidade (segmentação de imagem).

Os cálculos das áreas da túnica albugínea e dos corpos cavernosos foram realizados por meio da seleção da área de interesse nas imagens (Figura 3) e representados na unidade pixel. A conversão para *micra* (unidade de medida padronizada pela literatura para análise microscópica)

foi possível pela comparação de imagens adquiridas com a fotografia de uma régua padrão no mesmo microscópio utilizado.

Figura 3 – Cálculo da área da túnica albugínea do pênis de coelhos submetidos à terapia com ondas de choque. **a** – antes da marcação pelo software ImageLab 3000. **b** – após a marcação pelo software para cálculo da área.

4.5 - MÉTODO ESTATÍSTICO

Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão quando os dados apresentavam distribuição Gaussiana. Caso contrário optou-se por representá-los como mediana (variação interquartil Q1-Q3) bem como os valores de mínimo e máximo.

1- Análise de variância por postos Kruskal-Wallis com a finalidade de comparar os três grupos de estudo em relação ao peso e idade.

2- Análise de variância com um fator fixo (ANOVA-ONEWAY) para análise das médias dos grupos estudados em relação à área da túnica albugínea, área dos corpos cavernosos, porcentagem de colágenos nos corpos cavernosos e na túnica albugínea, além da quantidade de fibras musculares nos corpos cavernosos. Nos casos em que não houve homogeneidade da variabilidade utilizou-se a correção de Brown-Forsythe.

3- Comparações múltiplas de Tukey após ANOVA para comparar as médias, 2 a 2 de colágeno na túnica albugínea, entre os grupos.

O nível de significância foi fixado em 5% ($\alpha = 0,05$), ou seja, foram consideradas como estatisticamente significantes os resultados que apresentaram p-valor inferior a 5% ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS

Foram avaliados no total vinte e quatro animais, dispostos em três grupos: controle – com cinco animais, tratado com avaliação precoce – com nove animais, devido à morte inesperada e sem causa aparente do animal de número cinco e tratado com avaliação tardia – com dez animais.

5.1 - RESULTADOS DA AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA E MICROSCÓPICA COM A COLORAÇÃO EM HEMATOXILINA E EOSINA

Grupo controle

Os primeiros resultados obtidos no estudo foram as avaliações macroscópicas e microscópicas em coloração com hematoxilina e eosina, sendo que o grupo controle não apresentou lesões macroscópicas e nem microscópicas.

Grupo tratado com avaliação precoce

As alterações macroscópicas foram bem evidentes até as primeiras 48 horas de tratamento, quando foram observadas áreas de petéquias intercaladas com áreas de hemorragia no tecido peniano em todos os animais do grupo tratado, além de uretrorragia imediata em 66,7% (6/9) dos animais tratados com ondas de choque (Figuras 4a e 4b). Apenas o animal de número sete do grupo tratado com avaliação precoce, apresentava ao final de uma semana uma pequena área de equimose na face dorsal do pênis (Figura 5), mostrando assim que as alterações teciduais

macroscópicas desapareceram de forma espontânea nos primeiros dias após o tratamento.

Figura 4 – Pênis de coelho do grupo tratado com avaliação precoce
a - antes da aplicação da terapia com ondas de choque. **b** - após aplicação da terapia com ondas de choque.

Figura 5 – Equimose na face dorsal do pênis do coelho após sete dias da aplicação da terapia com ondas de choque (avaliação precoce).

No grupo tratado com avaliação precoce a análise histológica observou alterações no epitélio de revestimento, com degeneração das células da camada basal em 55,6% (5/9) dos animais e formação de clivagem dermo-epidérmica em 66,7% (6/9) (Figuras 6 e 7). Acanthose e papilomatose ocorreram em 22,2% (2/9) dos animais deste grupo, congestão da derme e dos corpos cavernosos ocorreu em 100% (9/9) e 55,6% (5/9) respectivamente (Figura 8). A intensa congestão dos vasos da derme em todos os animais deste grupo, além de lesão erosiva em região de epitélio de revestimento caracterizam a terapia com ondas de choque como agudamente lesiva ao tecido peniano.

Figura 6 – Fotomicrografia do pênis de coelhos do grupo tratado com avaliação precoce após aplicação da terapia com ondas de choque, evidenciando a degeneração das células da camada basal da pele.

Figura 7 – Fotomicrografia do pênis de coelhos do grupo tratado com avaliação precoce após aplicação da terapia com ondas de choque, evidenciando a formação de clivagem dermo-epidérmica da pele.

Grupo tratado com avaliação tardia

No grupo tratado com avaliação tardia não foram identificadas alterações macroscópicas ao final dos noventa dias em nenhum dos animais. As alterações microscópicas foram observadas principalmente pela coloração de picrosírius, evidenciando espessamento da túnica albugínea ao redor dos corpos cavernosos em 100% dos animais avaliados deste grupo, com desorganização e remodelamento da túnica (Figura 9). Outra característica microscópica importante deste grupo foi a diminuição da quantidade de fibras musculares nos corpos cavernosos evidenciado pela coloração de Masson (Figura 8 e Tabela 2).

Tabela 2 – Avaliação histológica do pênis de coelhos submetidos à terapia com ondas de choque

Avaliação Histológica										
Epitélio de Revestimento		Derme							Corpos cavernosos	
	Erosão da Epiderme	Degeneração da camada basal	Acantose	Papilomatose	Hemorragia	Congestão	Fibrose	Edema	Congestão	Espessamento Túnica Albugínea
Controle 1	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
Controle 2	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Controle 3	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Controle 4	-	-	-	-	-	+	-	-	++	-
Controle 5	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
Precoce 1	-	-	-	-	+	++	-	-	-	-
Precoce 2	-	+	-	-	-	++	-	+	+	-
Precoce 3	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-
Precoce 4	-	+	-	-	-	++	-	-	-	-
Precoce 6	-	-	+	+	-	++	-	++	+	-
Precoce 7	-	-	+	+	-	++	-	-	+	-
Precoce 8	+	+	-	-	-	++	+	-	+	-
Precoce 9	-	++	-	-	-	++	-	-	-	-
Precoce 10	-	+	-	-	-	++	-	-	+	-
Tardio 1	-	-	-	-	-	++	-	+	+	+
Tardio 2	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-
Tardio 3	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
Tardio 4	-	-	-	-	-	++	-	-	+	+
Tardio 5	-	-	-	-	-	++	-	-	+	-
Tardio 6	-	-	-	-	-	++	-	-	+	+
Tardio 7	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
Tardio 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Tardio 9	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+
Tardio 10	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+

- ausente, + leve, ++ moderada, +++ intensa

Figura 8 – Fotomicrografias nas colorações de hematoxilina e eosina e Tricômio de Masson do pênis de coelhos submetidos à terapia com ondas de choque. Comparação entre os três grupos estudados onde as fotomicrografias superiores na coloração de hematoxilina e eosina mostram alterações na pele e tecido subcutâneo do pênis (aumento de 40x) e as fotomicrografias inferiores mostram alterações nos corpos cavernosos em relação às alterações das fibras musculares (aumento de 200x).

Figura 09 – Fotomicrografias na coloração de Picrosírius do pênis de coelhos submetidos à terapia com ondas de choque. Comparação entre os três grupos estudados em relação à distribuição de fibras de colágenos, onde as fotomicrografias superiores mostram as alterações da túnica albugínea (aumento de 100x) e as fotomicrografias inferiores mostram alterações nos corpos cavernosos (aumento de 200x).

5.2 - RESULTADOS DA HISTOMORFOMETRIA PARA AVALIAÇÃO DE FIBRAS COLÁGENAS COM A COLORAÇÃO DE PICROSÍRIUS

A quantidade média de fibras de colágeno na túnica albugínea no grupo controle foi de 16,6% $\pm$ 1,6%, no grupo tratado com avaliação precoce foi de 20,9% $\pm$ 4,1% e no grupo tratado com avaliação tardia foi de 49,1% $\pm$ 3,9%.

De acordo com a tabela 3, pode-se observar que os grupos não se mostraram homogêneos em relação à porcentagem de fibras de colágeno na túnica albugínea ($p < 0,001$). Prosseguiu-se a análise através de comparações múltiplas de Tukey e pode-se verificar que os grupos controle e tratado com avaliação precoce não se diferenciam estatisticamente em termos de média de fibras de colágenos na túnica albugínea ($p = 0,116$), porém o grupo tratado com avaliação tardia apresentou média de porcentagem de fibras de colágeno na túnica albugínea estatisticamente maior do que a apresentada pelos dois grupos anteriores ($p < 0,001$).

Tabela 3 - Porcentagem de fibras de colágeno na túnica albugínea do pênis de coelhos submetidos à terapia com ondas de choque.

	Controle (n = 5)	Tratado Avaliação Precoce (n = 9)	Tratado Avaliação Tardia (n =10)
Animal 1	15,8	15,8	46,9
Animal 2	14,2	28,2	45,7
Animal 3	18,5	17,6	45,8
Animal 4	17,7	17,7	53,2
Animal 5	16,8	Morte	51,5
Animal 6	-	21,6	51,6
Animal 7	-	26,2	54,2
Animal 8	-	18,7	47,6
Animal 9	-	22,6	42,4
Animal 10	-	20	52,3
Média	16,6	20,9	49,1
Desvio padrão	±1,6	±4,1	±3,9

ANOVA c/1fator
($p < 0,001$)*

Nos corpos cavernosos a média de fibras de colágeno no grupo controle foi de 14,9% $\pm$ 0,5%, e nos grupos tratados com avaliação precoce e tardia as médias foram respectivamente 15,4% $\pm$ 4,0% e 15,0% $\pm$ 2,9%. Através da tabela 4 pode-se observar que os três grupos avaliados mostraram-se homogêneos de acordo com a porcentagem de fibras de colágeno nos corpos cavernosos ($p>0,05$).

Tabela 4 - Porcentagem de fibras de colágeno nos corpos cavernosos do pênis de coelhos submetidos à terapia com ondas de choque.

	Controle (n = 5)	Tratado Avaliação Precoce (n = 9)	Tratado Avaliação Tardia (n =10)
Animal 1	14,8	22,4	17,7
Animal 2	15,3	18,1	15,6
Animal 3	15,4	18,3	18,5
Animal 4	14,9	17,7	18,9
Animal 5	14,1	Morte	12,7
Animal 6	-	14,4	17,5
Animal 7	-	12,7	13,9
Animal 8	-	9,0	11,7
Animal 9	-	13,0	12,2
Animal 10	-	13,1	11,7
Média	14,9	15,4	15,0
Desvio padrão	$\pm$0,5	$\pm$4,0	$\pm$2,9

ANOVA c/1fator
($p=0,951$)*

5.3 - RESULTADOS DA HISTOMORFOMETRIA PARA AVALIAÇÃO DE FIBRAS MUSCULARES LISAS COM A COLORAÇÃO DE MASSON

A média de fibras musculares lisas dentro dos corpos cavernosos no grupo controle foi de 54,6% $\pm$ 7,7%, no grupo tratado com avaliação precoce foi de 56,1% $\pm$ 6,2% e no grupo tratado com avaliação tardia foi de 47,8% $\pm$ 13,9%. De acordo com a tabela 5 observa-se que, em média, os três grupos avaliados mostraram-se homogêneos em relação à quantidade de fibras musculares dos corpos cavernosos ($p>0,05$).

Tabela 5 - Porcentagem de fibras musculares nos corpos cavernosos do pênis de coelhos submetidos à terapia com ondas de choque.

	Controle (n = 5)	Tratado Avaliação Precoce (n = 9)	Tratado Avaliação Tardia (n =10)
Animal 1	55,5	60,3	39,8
Animal 2	51,3	64,8	30,7
Animal 3	43,1	59,7	58,8
Animal 4	61,0	59,5	49,3
Animal 5	62,0	Morte	77,1
Animal 6	-	59,7	32,6
Animal 7	-	54,1	35,6
Animal 8	-	47,9	52,8
Animal 9	-	46,1	50,6
Animal 10	-	53,3	50,4
Média	54,6	56,1	47,8
Desvio padrão	$\pm$ 7,7	$\pm$ 6,2	$\pm$ 13,9

ANOVA c/1fator
($p=0,214$)*

5.4 - RESULTADOS DA HISTOMORFOMETRIA PARA AVALIAÇÃO DA ÁREA DA TÚNICA ALBUGÍNEA E DOS CORPOS CAVERNOSOS COM A COLORAÇÃO DE MASSON

Na avaliação da área da túnica albugínea, a média do grupo controle foi de 4015 micras $\pm$ 322 micras, no grupo tratado com avaliação precoce a área foi de 4001 micras $\pm$ 791 micras e no grupo tratado com avaliação tardia a área foi de 4483 micras $\pm$ 640 micras. Não houve diferença estatisticamente significativa na média da área da túnica albugínea entre os três grupos avaliados ($p>0,05$ - Tabela 6).

Tabela 6 – Área em micras (μ m) da túnica albugínea do pênis de coelhos submetidos à terapia com ondas de choque.

	Controle (n = 5)	Tratado Avaliação Precoce (n = 9)	Tratado Avaliação Tardia (n =10)
Animal 1	4068	4263	3701
Animal 2	3979	3854	4154
Animal 3	3747	3026	5127
Animal 4	4532	5603	5005
Animal 5	3750	Morte	4327
Animal 6	-	3503	5095
Animal 7	-	3525	4249
Animal 8	-	3871	3298
Animal 9	-	3534	4896
Animal 10	-	4833	4982
Média	4015	4001	4483
Desvio padrão	$\pm$322	$\pm$791	$\pm$640

ANOVA c/1fator
($p=0,240$)*

Na avaliação da área dos corpos cavernosos a média no grupo controle foi de 3348 micras $\pm$ 369 micras, no grupo tratado com avaliação precoce foi de 3332 micras $\pm$ 301 micras e no grupo tratado com avaliação tardia foi de 3538 micras $\pm$ 615 micras. Os três grupos estudados mostraram-se homogêneos de acordo com a área dos corpos cavernosos conforme mostra a tabela 7 ($p>0,05$).

Tabela 7 – Área em micras (μ m) dos corpos cavernosos do pênis de coelhos submetidos à terapia com ondas de choque.

	Controle (n = 5)	Tratado Avaliação Precoce (n = 9)	Tratado Avaliação Tardia (n =10)
Animal 1	3081	3327	3238
Animal 2	3560	3311	3505
Animal 3	3834	3045	5015
Animal 4	3354	3621	4085
Animal 5	2911	Morte	3474
Animal 6	-	3529	3410
Animal 7	-	2861	3241
Animal 8	-	3769	3103
Animal 9	-	3485	3501
Animal 10	-	3042	2812
Média	3348	3332	3538
Desvio padrão	$\pm$369	$\pm$301	$\pm$615

ANOVA c/1fator
($p=0,597$)*

6. DISCUSSÃO

Os corpos cavernosos são compostos pelos tecidos que fazem parte da anátomo-fisiologia da ereção peniana, através da musculatura lisa trabecular, matriz intersticial, vasos e das terminações nervosas. A túnica albugínea é composta por uma trama fina de fibras de colágeno entremeadas com musculatura lisa de forma organizada, sendo responsável pelo mecanismo de relaxamento da musculatura lisa trabecular dos corpos cavernosos e pelo mecanismo de veno-oclusão facilitando assim a ereção como demonstram os trabalhos publicados por Goldstein et al e Persson et al^{48,49}. Devido à grande importância destes dois tecidos na ereção peniana se tem estudado cada vez mais a sua formação e as possíveis alterações que possam acontecer com determinadas formas de tratamento na doença de Peyronie.

A avaliação da quantidade e do tipo de fibras de colágeno na túnica albugínea e nos corpos cavernosos foi estudada por Melman na *Albert Einstein College*, o qual concluiu, após comparar grupos de homens com disfunção erétil severa que necessitaram de implante de prótese peniana, com homens que tinham doença de Peyronie e outros que sofreram um episódio de priapismo, que o grupo de homens com disfunção erétil apresentava uma quantidade de colágeno na túnica albugínea bem menor do que os grupos que apresentavam doença de Peyronie ou que tiveram episódio de priapismo, compondo respectivamente 47%, 68% e 73% de

fibras de colágeno em cada grupo. A composição dos tipos de fibras foi principalmente do tipo I e IV nos corpos cavernosos e tipo III na túnica albugínea e não houve correlação no tipo de colágeno nas diferentes patologias⁵⁰.

Outros dois trabalhos tentando correlacionar a quantidade de fibras de colágeno com a doença de Peyronie e disfunção erétil foram realizados por Iacono F et al e por Penson DF et al; ambos avaliaram a quantidade de fibras de colágeno e de fibras musculares lisas da túnica albugínea em pacientes com doença de Peyronie e disfunção erétil e detectaram uma diminuição da quantidade de fibras musculares lisas e aumento significativo no número de fibras de colágeno que a partir de então se dispõem de forma desorganizada e dificultam o mecanismo de veno-oclusão pela túnica albugínea^{51,52}.

Similarmente ao que foi encontrado nos trabalhos realizados por Penson et al e Iacono et al, verificou-se neste estudo que após a terapia com ondas de choque no pênis de coelhos, houve um aumento da quantidade de fibras de colágeno principalmente na túnica albugínea, com desestruturação da mesma e substituição das fibras inicialmente finas e bem dispostas em camadas por fibras grossas e desorganizadas, sugerindo que estas fibras sejam de colágenos do tipo I e III. A média de fibras de colágeno nos grupos foi de 16,6% no grupo controle, 20,9% no grupo tratado com avaliação precoce e 49,1% no grupo tratado com avaliação tardia (Tabela 3). A análise estatística mostrou diferença significativa apresentando valor de $p < 0,001$ e observamos que a terapia com ondas de choque pode formar um processo

de fibrose, alterando a forma da túnica e a quantidade de colágeno em sua composição.

Na avaliação das fibras de colágeno nos corpos cavernosos não houve diferença significativa entre os grupos estudados e a média do número de fibras de colágeno foi de 14,9% no grupo controle, 15,4% no grupo tratado com avaliação precoce e 15,0% no grupo tratado com avaliação tardia ($p=0,951$); entretanto o tipo de fibra de colágeno é diferente entre os tecidos e nos corpos cavernosos há a predominância da fibra fina e puntiforme semelhante ao colágeno tipo III (Tabela 4).

O estudo quantitativo das fibras musculares lisas no interior dos corpos cavernosos, cuja importância já foi revelada, tem sido discutido por diversos autores com o objetivo de correlacionar sua diminuição com a presença de disfunção erétil.

Telöken estudou indivíduos sadios entre 18 e 26 anos e comparou a quantidade de fibras musculares nos corpos cavernosos com homens idosos entre 70 e 100 anos e encontrou respectivamente 37,57% e 34,03% de fibras musculares nos dois grupos, não mostrando diferença significativa e concluindo que o envelhecimento isolado não é fator para diminuição das fibras musculares lisas⁵³.

Em outro estudo realizado por Conti e Virag em 1989, os autores concluíram que a idade foi fator importante para diminuição das fibras musculares nos corpos cavernosos e que ao alcançar os 75 anos os homens têm uma diminuição de 25 a 30% desta estrutura⁵⁴.

No estudo realizado por Claro et al, foi analisada a quantidade de fibras musculares em cadáveres jovens (grupo I), pacientes com disfunção erétil e fluxo arterial normal ao duplex (grupo II) e pacientes com disfunção erétil e insuficiência arterial ao duplex (grupo III) e após análise histomorfométrica dos tecidos penianos, os autores chegaram à conclusão de que não houve diferença entre os grupos II e III, em que a média de fibras musculares foi respectivamente 27,2% e 25,7%; contudo, no grupo I, apesar de não ter sido usado como grupo controle por se tratar de cadáveres e não se conhecer sua história prévia, a quantidade média de fibras musculares foi de 41,2% mostrando que a idade e as comorbidades dos outros dois grupos influenciaram para diminuição do número de fibras musculares⁴⁴.

A explicação para valores tão diferentes e não consensualização sobre se a idade influencia ou não na diminuição do número de fibras musculares é dada principalmente pelas diferentes técnicas de análise histomorfométricas e a sua não padronização e pelos grupos tão diversos de pacientes estudados.

No presente estudo não podemos comparar os dados de idade e de peso com os trabalhos anteriormente citados, pois estamos tratando de um estudo experimental em animais, no entanto calculamos estatisticamente estes dados e ao avaliar a idade dos animais, tivemos um grupo homogêneo com mediana de 6 meses para os grupos controle e tratado com avaliação tardia e 5 meses no grupo tratado com avaliação precoce ($p=0,281$). Ao avaliar o peso dos animais esta variável também não mostrou diferença estatística significativa quando comparamos os três grupos estudados

($p > 0,060$); daí a utilidade de trabalhos com amostragem homogênea facilitando a análise e diminuindo o risco de vieses em nossa seleção de animais.

A análise quantitativa das fibras musculares no interior dos corpos cavernosos foi uma das variáveis estudada com o objetivo de esclarecer se a terapia com ondas de choque produz diminuição destas fibras. O resultado obtido foi que houve uma diminuição das fibras no grupo tratado com avaliação tardia com média de 47,8%, porém, nos grupos controle e tratado com avaliação precoce os números foram bem semelhantes, totalizando médias de 54,6% e 56,1% respectivamente ($p > 0,214$).

Apesar de quase dez anos de uso da terapia com ondas de choque para tratamento da doença de Peyronie, apenas um estudo experimental foi realizado em 2002 por Tefekli et al que analisaram a hemodinâmica peniana em ratos após o uso da terapia com ondas de choque. Foram avaliados vinte ratos divididos em três grupos e submetidos a ondas de choque com a máquina Siemens Lithostar Plus (Erlangen, Germany). O grupo I foi composto por seis animais que receberam mil disparos e foram avaliados imediatamente após as sessões. O grupo II tinha sete animais que foram submetidos a três sessões de mil disparos cada uma com intervalos de uma semana entre cada sessão e a avaliação hemodinâmica foi realizada um mês após a última sessão. O grupo III com sete animais não recebeu ondas de choque e foi considerado controle. O estudo constatou danos teciduais ao pênis, devido às alterações estruturais macroscópicas, podendo-se observar focos de hemorragias e petéquias. Porém, na análise histológica pelas

colorações de Masson e hematoxilina e eosina não houve diferença entre os grupos tratados, assim como também na relação entre as pressões intracavernosas e pressões arteriais médias dos estudos hemodinâmicos⁴⁷.

No presente estudo, o resultado da avaliação macroscópica no pênis foi semelhante, demonstrando que realmente o método da terapia com ondas de choque é uma forma de tratamento agressiva ao tecido, causando hemorragia do tecido peniano, uretrorragia, e até escarificação da camada de revestimento do pênis como foi observado em um caso do grupo tratado com avaliação precoce; no entanto estas alterações foram evidentes apenas nos primeiros dias após o tratamento e espontaneamente desapareceram. Na avaliação histológica pela coloração de hematoxilina e eosina, nossos resultados são diferentes, mostrando que houve realmente diferença entre os grupos, principalmente quando comparamos o grupo tratado com avaliação tardia, no qual houve espessamento da túnica albugínea em 80% dos animais, com os grupos controle e tratado com avaliação precoce, em que esta alteração não foi notada.

Em fevereiro de 2008, publicou-se um estudo realizado por Muller et al semelhante ao trabalho desenvolvido por nosso grupo; nele foi avaliada a proporção de fibras musculares e de fibras de colágeno nos corpos cavernosos de ratos quando utilizadas diferentes intensidades da terapia com ondas de choque e diferentes tempos de avaliação dos animais; os autores observaram que tanto nos grupos que receberam doses baixas de ondas de choque quanto nos grupos de doses elevadas de ondas de choque a quantidade de fibras musculares diminuiu e a quantidade de fibras de

colágeno aumentou, porém sem significância estatística⁵⁵. Estes resultados, no entanto, foram avaliados apenas após um período máximo de 28 dias, o que não caracteriza a fase final de fibrose que se completa em média aos 90 dias. Tais resultados são semelhantes aos de nosso estudo onde houve diminuição da quantidade de fibras musculares lisas e aumento das fibras de colágeno principalmente no grupo tratado com avaliação tardia e mostra que a terapia com ondas de choque tem papel agressivo ao pênis dos animais, causando remodelamento, espessamento e desorganização da túnica albugínea.

7. CONCLUSÃO

A terapia com ondas de choque produz lesões teciduais em todos os planos do pênis.

Macroscopicamente foram observadas petéquias intercaladas com áreas de hemorragia e uretrorragia. Microscopicamente foram constatadas alterações do epitélio de revestimento com degeneração das células da camada basal, clivagem dermo-epidérmica, acantose, papilomatose e congestão da derme. Histomorfometricamente houve aumento da quantidade das fibras de colágeno na túnica albugínea e diminuição das fibras musculares no grupo tratado com avaliação tardia, provocando assim um remodelamento, espessamento e desorganização da túnica albugínea.

8. ANEXOS

Anexo 1 - Porcentagem de fibras de colágeno na túnica albugínea.

	Medida 01	Medida 02	Medida 03	Medida 04	Medida 05	Média
Controle 01	16,0	15,3	14,9	15,8	16,8	15,8
Controle 02	13,6	13,8	13,1	14,8	15,8	14,2
Controle 03	17,9	18,9	17,4	19,6	18,7	18,5
Controle 04	18,7	16,9	17,8	17,6	17,5	17,7
Controle 05	17,5	15,8	16,6	17,0	16,9	16,8
Tratado com avaliação precoce 01	15,9	16,3	15,8	16,0	14,8	15,8
Tratado com avaliação precoce 02	29,6	27,5	28,7	26,9	28,2	28,2
Tratado com avaliação precoce 03	16,8	18,5	17,5	18,1	17,0	17,6
Tratado com avaliação precoce 04	17,9	18,1	18,2	16,8	17,4	17,7
Tratado com avaliação precoce 06	21,0	21,3	20,9	22,0	22,6	21,6
Tratado com avaliação precoce 07	26,3	26,4	25,9	24,9	27,4	26,2
Tratado com avaliação precoce 08	19,2	18,7	17,8	19,2	18,4	18,7
Tratado com avaliação precoce 09	22,2	21,8	23,0	21,7	24,2	22,6
Tratado com avaliação precoce 10	20,6	20,1	19,9	21,1	18,3	20,0
Tratado com avaliação tardia 01	45,4	47,6	48,4	46,1	47,1	46,9
Tratado com avaliação tardia 02	46,8	45,4	46,4	45,8	44,1	45,7
Tratado com avaliação tardia 03	45,9	44,2	48,1	46,2	44,8	45,8
Tratado com avaliação tardia 04	53,8	53,2	51,9	52,8	54,5	53,2
Tratado com avaliação tardia 05	51,0	52,1	50,9	51,8	51,8	51,5
Tratado com avaliação tardia 06	51,5	50,8	52,3	51,0	52,6	51,6
Tratado com avaliação tardia 07	53,7	53,5	55,6	54,3	54,1	54,2
Tratado com avaliação tardia 08	47,2	47,9	48,1	46,7	48,0	47,6
Tratado com avaliação tardia 09	42,7	41,7	41,8	43,1	42,8	42,4
Tratado com avaliação tardia 10	53,2	51,2	53,2	52,8	51,0	52,3

Anexo 2 - Porcentagem de fibras de colágeno nos corpos cavernosos.

	Medida 01	Medida 02	Medida 03	Medida 04	Medida 05	Média
Controle 01	14,8	15,2	15,3	13,8	14,8	14,8
Controle 02	16,8	17,3	14,8	13,2	14,3	15,3
Controle 03	16,2	15,3	15,8	14,7	15,2	15,4
Controle 04	16,4	15,3	14,8	15,2	13,0	14,9
Controle 05	15,7	14,2	12,8	16,8	11,2	14,1
Tratado com avaliação precoce 01	22,6	23,8	22,9	22,8	19,8	22,4
Tratado com avaliação precoce 02	17,1	18,2	17,4	19,3	18,5	18,1
Tratado com avaliação precoce 03	19,2	17,8	18,1	18,4	17,8	18,3
Tratado com avaliação precoce 04	18,5	16,4	19,1	18,3	16,3	17,7
Tratado com avaliação precoce 06	13,1	14,0	14,9	15,2	14,8	14,4
Tratado com avaliação precoce 07	11,7	13,8	12,3	11,8	14,0	12,7
Tratado com avaliação precoce 08	7,2	9,4	9,0	10,5	8,7	9,0
Tratado com avaliação precoce 09	13,5	11,8	12,5	13,0	14,1	13,0
Tratado com avaliação precoce 10	13,4	15,0	12,9	11,8	12,6	13,1
Tratado com avaliação tardia 01	16,7	17,2	18,8	17,9	17,8	17,7
Tratado com avaliação tardia 02	14,4	15,8	16,0	16,3	15,6	15,6
Tratado com avaliação tardia 03	17,8	18,1	19,4	19,1	18,0	18,5
Tratado com avaliação tardia 04	20,3	19,0	17,8	19,4	18,2	18,9
Tratado com avaliação tardia 05	9,3	13,5	14,5	14,2	11,8	12,7
Tratado com avaliação tardia 06	17,7	18,0	17,4	17,5	16,9	17,5
Tratado com avaliação tardia 07	13,2	14,4	13,8	15,1	12,8	13,9
Tratado com avaliação tardia 08	10,3	12,2	11,6	12,8	11,8	11,7
Tratado com avaliação tardia 09	11,8	12,8	12,0	13,1	11,2	12,2
Tratado com avaliação tardia 10	10,9	11,4	10,2	12,0	13,8	11,7

Anexo 3 - Porcentagem de Fibras Musculares nos Corpos Cavernosos.

	Medida 01	Medida 02	Medida 03	Medida 04	Medida 05	Média
Controle 01	50,2	60,2	40,9	62,9	63,2	55,5
Controle 02	50,6	48,1	52,8	56,4	48,8	51,3
Controle 03	44,8	50,6	42,8	44,8	32,6	43,1
Controle 04	64,3	67	61,8	62	49,8	61,0
Controle 05	63,6	60,9	57,2	66,4	62	62,0
Tratado com avaliação precoce 01	61,7	58,3	64,5	56,9	60,2	60,3
Tratado com avaliação precoce 02	67	63,4	65,1	70,2	58,3	64,8
Tratado com avaliação precoce 03	59	61,2	64	53,4	60,8	59,7
Tratado com avaliação precoce 04	63,2	60	58,4	59,1	56,8	59,5
Tratado com avaliação precoce 06	64,8	58,6	50,8	61,2	63,2	59,7
Tratado com avaliação precoce 07	56,3	55,9	50,8	52,4	55	54,1
Tratado com avaliação precoce 08	45,5	43,9	51,3	50	48,6	47,9
Tratado com avaliação precoce 09	45,4	43,1	48,9	42,8	50,1	46,1
Tratado com avaliação precoce 10	53,6	54,1	55	51,2	52,4	53,3
Tratado com avaliação tardia 01	39,3	41,2	38,9	39	40,8	39,8
Tratado com avaliação tardia 02	29,9	28,7	31,2	33	30,8	30,7
Tratado com avaliação tardia 03	58,8	59,3	62,1	57,9	55,8	58,8
Tratado com avaliação tardia 04	47,2	52,1	50,8	49,2	47	49,3
Tratado com avaliação tardia 05	77,5	78,9	74,5	77	77,4	77,1
Tratado com avaliação tardia 06	32,1	34,5	31,8	33,5	31,2	32,6
Tratado com avaliação tardia 07	35,3	37,6	34,2	35	36,1	35,6
Tratado com avaliação tardia 08	53	55	51,2	54,2	50,8	52,8
Tratado com avaliação tardia 09	51,4	50,3	48,5	52,1	50,7	50,6
Tratado com avaliação tardia 10	53	51,4	49,6	47	50,8	50,4

Anexo 4 - Área em micras da túnica albugínea.

	Medida 01	Medida 02	Medida 03	Medida 04	Medida 05	Média
Controle 01	4301	4002	3963	5502	2575	4068
Controle 02	5606	3756	2831	4100	3604	3979
Controle 03	5379	3642	3375	3720	2617	3747
Controle 04	6510	4893	4482	3629	3147	4532
Controle 05	4352	3755	3754	2768	4120	3750
Tratado com avaliação precoce 01	4964	4508	4265	4471	3109	4263
Tratado com avaliação precoce 02	4111	3909	3782	3720	3748	3854
Tratado com avaliação precoce 03	3098	3341	2995	2704	2994	3026
Tratado com avaliação precoce 04	6486	5405	5122	5651	5352	5603
Tratado com avaliação precoce 06	3936	3829	3141	3248	3360	3503
Tratado com avaliação precoce 07	4864	3492	2999	2577	3692	3525
Tratado com avaliação precoce 08	4485	4286	3720	3389	3475	3871
Tratado com avaliação precoce 09	4841	3227	3426	2619	3560	3534
Tratado com avaliação precoce 10	5385	4779	4896	4891	4214	4833
Tratado com avaliação tardia 01	4309	3942	3357	3310	3588	3701
Tratado com avaliação tardia 02	5479	4736	3453	3355	3748	4154
Tratado com avaliação tardia 03	6518	5274	4892	4439	4513	5127
Tratado com avaliação tardia 04	5905	5487	4579	4507	4545	5005
Tratado com avaliação tardia 05	4742	4242	4512	3749	4390	4327
Tratado com avaliação tardia 06	5492	5609	4925	3503	5947	5095
Tratado com avaliação tardia 07	4963	4299	3722	3746	4513	4249
Tratado com avaliação tardia 08	3755	3138	3075	3413	3108	3298
Tratado com avaliação tardia 09	5377	5238	3740	4853	5272	4896
Tratado com avaliação tardia 10	6296	5232	4436	4517	4428	4982

Anexo 5 - Área em micras dos corpos cavernosos.

	Medida 01	Medida 02	Medida 03	Medida 04	Medida 05	Média
Controle 01	2455	2914	3402	3426	3210	3081
Controle 02	4324	3396	3755	3293	3031	3560
Controle 03	4743	4547	4049	3222	2609	3834
Controle 04	3470	3259	3755	2995	3293	3354
Controle 05	2564	3368	2842	2986	2797	2911
Tratado com avaliação precoce 01	3666	3375	2766	3713	3113	3327
Tratado com avaliação precoce 02	4310	3720	2621	2848	3057	3311
Tratado com avaliação precoce 03	2580	2609	3379	3544	3113	3045
Tratado com avaliação precoce 04	3390	3736	3546	3586	3845	3621
Tratado com avaliação precoce 06	4370	3378	2995	3472	3428	3529
Tratado com avaliação precoce 07	3701	3153	1861	2972	2620	2861
Tratado com avaliação precoce 08	4730	2616	4631	3490	3379	3769
Tratado com avaliação precoce 09	4878	2688	3114	3456	3291	3485
Tratado com avaliação precoce 10	3371	3134	2585	3152	2969	3042
Tratado com avaliação tardia 01	3886	3033	3393	3261	2616	3238
Tratado com avaliação tardia 02	3805	3793	3526	3488	2914	3505
Tratado com avaliação tardia 03	4659	4897	5637	5557	4322	5015
Tratado com avaliação tardia 04	5120	4024	4363	3293	3624	4085
Tratado com avaliação tardia 05	3063	3335	2906	3813	4253	3474
Tratado com avaliação tardia 06	3623	3293	3167	3673	3293	3410
Tratado com avaliação tardia 07	3063	3673	2983	3616	2872	3241
Tratado com avaliação tardia 08	3576	2996	2707	2918	3317	3103
Tratado com avaliação tardia 09	3652	3525	3029	3924	3375	3501
Tratado com avaliação tardia 10	2435	2328	2758	3076	3462	2812

9. REFERÊNCIAS

- 1 - Ralph DJ, Minhas S. The management of Peyronie's disease. BJU Int. 2004;93(2):208-15.
- 2 - Lyles KW. Peyronie's disease is associated with Paget's disease of bone. J Bone Miner Res. 1997;12(6):929-34.
- 3 - Devine CJ. Proposal: trauma as the cause of the Peyronie's lesion. J Urol. 1997;157(1):285-90.
- 4 - Devine CJ, Horton CE. Peyronie's disease. Clin Plast Surg. 1998;15(3):405-9.
- 5 - Devine CJ, Somers KD, Ladaga LE. Peyronie's disease: pathophysiology. Prog Clin Biol Res. 1991;370:355-58.
- 6 - Lindsay MB, Schain DM, Grambsch P, Benson RC, Beard M, Kurkland T. The incidence of Peyronie's disease in Rochester, Minnesota, 1950 through 1984. J Urol. 1991;146(4):1007-9.
- 7 - Kadioglu A, Akman T, Sanli O, Gurkan L, Cakan M, Celtik M. Surgical treatment of Peyronie's disease: A Critical Analysis. Eur Urol. 2006;50(2):235-48.
- 8 - Gelbard M, Dorey F, James K. The natural history of Peyronie's disease. J Urol. 1990;144:1376-9.
- 9 - Teloken C, Rhoden EL, Grazziotin TM, Da Ros CT, Sogari PR, Souto CAV. Tamoxifen versus placebo in the treatment of Peyronie's disease. J Urol. 1999;162(6):2003-5.

- 10 - Scott W, Scardino P. A new concept in the treatment of Peyronie's disease. South Med J. 1998; 41:173-6.
- 11 - Andrews HO, Celine JH, Fielder M. The Nesbit operation for Peyronie's disease: an analysis of the failures. BJU Int. 2001;87(7):658-60.
- 12 - Savoca G. Long-term results with Nesbit's procedure as treatment of Peyronie's disease. Int J Impot Res. 2000;12(5):289-93.
- 13 - Knoll LD. Use of porcine small intestinal submucosal graft in the surgical management of tunical deficiencies with penile prosthetic surgery. Urology. 2002;59(5):758-61.
- 14 - Knoll LD. Use of small intestinal submucosa graft for the surgical management of Peyronie's disease. J Urol. 2007;178(6):2474-8.
- 15 - Hauck EW, Muller U, Bschleipfer T, Schmelz HU, Diemer T, Weidner W. Extracorporeal shock wave therapy for Peyronie's disease: exploratory meta-analysis of clinical trials. J Urol. 2004;171(2):740-5.
- 16 - Tefekli A, Kandirali E, Erol H, Alp T, Koksall T, Kadioglu A. Peyronie's disease in men under age 40: characteristics and outcome. Int J Impot Res. 2001;13(1):18-23.
- 17 - Diegelmann RF. Cellular and biochemical aspects of normal and abnormal wound healing: an overview. J Urol. 1997;157(1):298-302.
- 18 - Van de Water L. Mechanisms by which fibrin and fibronectin appear in healing wounds: implications for Peyronie's disease. J Urol. 1997;157(1):306-10.

- 19 - Somers KD, Dawson DM. Fibrin deposition in Peyronie's disease plaque. J Urol. 1997;157(1):311-5.
- 20 - El-Sakka AI, Hasan MU, Nunes L, Bhatnagar RS, Yen TSB. Histological and ultrastructural alterations in an animal model of Peyronie's disease. Br J Urol. 1998;81(3):445-52.
- 21 - El-Sakka AI, Hassoba HM, Pilarisetty RJ, Nunes L, Lue TF. An animal model of Peyronie's-like condition associated with an increase of transforming growth factor-beta mRNA and protein expression. J Urol. 1997;158(6):2284-90.
- 22 - El-Sakka AI, Hassoba HM, Pilarisetty RJ, Nunes L, Lue TF . Peyronie's disease is associated with an increase in transforming growth factor-beta protein expression. J Urol. 1997;158(4):1391-4.
- 23 - Williams JL, Thomas GG. The natural history of Peyronie's disease. J Urol. 1970;175:103.
- 24 - Kadioglu A, Tefekli A, Erol B, Oktar T, Tunc M, Tellaloglu S. A retrospective review of 307 men with Peyronie's disease. J Urol. 2002;168:1075.
- 25 - Mulhall J, Schiff J, Guhring P. An analyses of natural history of Peyrnoie's disease. J Urol. 2006;175:2115-8.
- 26 - Rajfer J. Opportunities and challenges in oral therapy. Int J Impot Res. 2000;12(4):59-61.
- 27 - Levine LA, Merrick PF, Lee RC. Review of current nonsurgical management of Peyronie's disease. Int J Impot Res. 2003;15(5):113-20.

- 28 - Levine LA, Elterman L. Peyronie's disease and its medical management. male infertility and sexual dysfunction. New York: Hellstrom; 1997. p.474-80.
- 29 - Morgan RJ, Pryor JP. Procarbazine (Natulan) in the treatment of Peyronie's disease. B J Urol. 1978;50(2):111-3.
- 30 - Shah PJR, Green NA, Adib RS. A multicentre double blind controlled clinical trial of potassium paraaminobenzoate(POTABA) in Peyronie's disease. Prog Reprod Biol Med. 1983;9:61-7.
- 31 - Weidner W, Hauck EW, Schnitker P. Potassium paraaminobenzoate (POTABA) in the treatment of Peyronie's disease: a prospective, placebo-controlled, randomized study. Eur Urol. 2005;47(4):530-5.
- 32 - Prieto Castro RM, Leva Vallejo ME, Regueiro Lopez JC. Combined treatment with vitamin E and colchicine in the early stages of Peyronie's disease. BJU Int. 2003;91(6):522-4.
- 33 - Levine LA, Merrick PF, Lee RC. Intralesional verapamil injection for the treatment of Peyronie's disease. J Urol. 1994;151(6):1522-4.
- 34 - Hellstrom WJ, Kendirci M, Matern R. Single-blind, multicenter, placebo controlled, parallel study to assess the safety and efficacy of intralesional interferon alpha-2 β for minimally invasive treatment for Peyronie's disease. J Urol. 2006;176(1):394-8.
- 35 - Egydio PH, Lucon AM, Arap S. Treatment of Peyronie's disease by incomplete circumferential incision of the tunica albuginea and plaque with bovine pericardium graft. Urology. 2002;59(4):570-4.

- 36 - Egydio PH, Lucon AM, Arap S. A single relaxing incision to correct different types of penile curvature: surgical technique based on geometrical principles. *BJU Int.* 2004;94(7):1147-57.
- 37 - Andrade E, Alarcon G, Pompeu E, Nardozza A, Claro J, Ortiz V, Srougi M. Development of a urinary lithiasis localizer mechanism to couple ultrasound and extracorporeal lithotripsy equipment in canine model. *Int Braz J Urol.* 2006;32(5):583-7.
- 38 - Cole C, Seto C, Gazewood J. Plantar fasciitis: evidence-based review of diagnosis and therapy. *Am Fam Physician.* 2005;72(11):2237-42.
- 39 - Kudo P, Dainty K, Clarfield M, Coughlin L, Lavoie P, Lebrun C. Randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial evaluating the treatment of plantar fasciitis with an extracorporeal shockwave therapy (ESWT) device: a North American confirmatory study. *J Orthop Res.* 2006;24(2):115-23.
- 40 - Mariotto S, Suzuki H. Extracorporeal shock waves: from lithotripsy to anti-inflammatory action by NO production. *Nitric Oxide.* 2005;12(2):89-96.
- 41 - Husain J, Lynn N, Jones D, O'Reilly C. Extracorporeal shock wave therapy in the management of Peyronie's disease: initial experience. *BJU Int.* 2000;86(4):466-8.
- 42 - Hamm R, McLarty E, Ashdown J, Natale S, Dickinson A. Peyronie's disease - the Plymouth experience of extracorporeal shockwave treatment. *BJU Int.* 2001;87(9):849-52.

- 43 - Claro J, Passerotti C, Neto A, Nardoza A, Ortiz V, Srougi M. An alternative non-invasive treatment for Peyronie's disease. *Int Braz J Urol.* 2004;30(3):199-204.
- 44 - Claro J, Aboim J, Andrade E, Srougi M. Histomorphometry of penile smooth muscle fiber in severe erectile dysfunction. *Sao Paulo Med J.* 2005;123(4):181-6.
- 45 - Hiroshi K, Yukihiro O, Koji A, Norio H, Jun M, Kenta M, Nobuki K. Extracorporeal shock wave treatment for Peyronie's disease using EDAP LT-02, preliminary results. *J Urol.* 2002;9:110-3.
- 46 - Hatzichristodoulou G, Meisner C, Liske P, Stenzel A, Lahme S. Efficacy of extracorporeal shock wave therapy in patients with Peyronie's disease: first results of a prospective, randomized, placebo-controlled, single-blind study. *J Urol.* 2006;175(Suppl):abstract 993.
- 47 - Tefekli A, Armagan A, Erol B. Effects of extracorporeal shock waves on penile hemodynamics and histopathology in rats. *Asian J Androl.* 2002;4(4):249-53.
- 48 - Goldstein AM, Padma-Nathan H. The microarchitecture of the intracavernosal smooth muscle and the cavernosal fibrous skeleton. *J Urol.* 1990;144(5):1144-6.
- 49 - Persson C, Diederichs W, Lue T. Correlation of altered penile ultrastructure with clinical arterial evaluation. *J Urol.* 1989;142(6):1462-8.

- 50 - Robert L, Scott R, Vinita A, Karen P, Girija B, Arnold M. Collagen alterations in the corpus cavernosum of men with sexual dysfunction. J Urol. 1992;148:467-71.
- 51 - Iacono F, De Rosa G, Boscaino A, Lotti T. Microstructural disorders of tunica albuginea in patients affected by Peyronie's disease with or without erection dysfunction. J Urol. 1993;150(6):1806-9.
- 52 - Penson DF, Seftel AD, Krane RJ, Frohrib D, Goldstien I. The hemodynamic pathophysiology of impotence following blunt trauma to the erect penis. J Urol. 1992;148(4):1171-80.
- 53 - Teloken C. Quantificação por análise de imagem computadorizada do percentual de músculo liso no corpo cavernoso de homens jovens e idosos, não portadores de doenças crônicas [dissertação]. Porto Alegre: Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre; 1997.
- 54 - Conti G, Virag R. Human penile erection and organic impotence: normal histology and histopathology. Urol Int. 1989;44(5):303-8.
- 55 - Muller A, Olugbade Y, Deveci S, Donohue J, Tal R, Kobilarz K, Palese M, Mulhall J. The impact of shock wave therapy at varied energy and dose levels on functional and structural changes in erectile tissue. Eur Urol. 2008;53(3):635-43.