

## 1- INTRODUÇÃO

Doença de Peyronie (DP) é uma enfermidade definida como uma fibrose adquirida da túnica albugínea, podendo resultar em dor, tortuosidade e disfunção erétil.<sup>(1)</sup> Na DP, além da proliferação fibroblástica e das alterações na estrutura de elastina, há uma placa fibrosa que contém quantidades excessivas de colágeno. A placa na DP é inelástica resultando em deformidade peniana incluindo curvatura e encurtamento do pênis.<sup>(2)</sup>

A DP foi descrita pela primeira vez como *induratio plastica pennis*, em 1743, por François Gigot de la Peyronie, cirurgião do rei Luís XV da França.<sup>(3)</sup> DP, conhecida por muitos sinônimos, como, por exemplo, "fibromatose do pênis" e "induração plástica do pênis", continua a ser um dilema terapêutico para os médicos, embora tenha sido descrito inicialmente há mais de 250 anos.<sup>(3)</sup>

Existe controvérsia quanto à idade de manifestação da DP. Estudos sugerem que ela também ocorra em pacientes mais jovens, necessitando uma terapia mais agressiva. Estima-se que afete cerca de 0,3% a 13,1% de homens em todo o mundo. A prevalência pode aumentar ainda mais em homens submetidos à prostatectomia radical, podendo acometer até 16% dessa população.<sup>(4)</sup> No entanto a verdadeira prevalência pode estar subestimada, uma vez que muitos homens afetados não procuram atendimento médico por vergonha ou por acreditar que não há tratamento para o seu problema.<sup>(5)</sup> Na população brasileira, Romero et al. encontraram uma prevalência em adultos acima de 40 anos de 0,9%, sem diferenças significativas ao avaliar a etnia, escolaridade, presença de hipertensão arterial sistêmica e uretrite no passado. Evidenciaram também um aumento

no risco relativo em cerca de 4 vezes para homens acima de 60 anos e portadores de diabetes mellitus.<sup>(6)</sup>

Além do risco aumentado em portadores de diabetes, há uma associação com portadores da doença de Dupuytren(DD), que já foi relatada desde 1828 por Abernathy.<sup>(7)</sup> A literatura mostra uma coexistência entre DP e DD que varia entre 0,01% a 58,8%.<sup>(7)</sup> Há relatos da associação com uso de beta-bloqueadores, doença de Paget, disfunção erétil, uso excessivo de álcool, hipertensão, dislipidemia e tabagismo.<sup>(5,8)</sup>

A etiologia da DP é multifatorial e não é completamente compreendida.<sup>(9)</sup> A teoria mais prevalente implica em traumatismo do pênis, estando incluso tanto eventos traumáticos agudos com microtraumas repetitivos, como o que ocorre durante a relação sexual.<sup>(9)</sup> Além disso, alguns outros fatores parecem estar associados, como: uretrites, traumas iatrogênicos (cateterização uretral, cistoscopia) e hipogonadismo. Estudos ainda evidenciaram uma ligação entre DP e antígenos de histocompatibilidade, sugerindo uma predisposição genética.<sup>(9,10)</sup> Uma associação entre a forma autossômica dominante da DP e HLA-B7 foi observado, com HLA-B7 presente em 90% dos homens com DP.<sup>(9)</sup>

Alterações ultra-estruturais e histológicas na túnica albugínea foram descritas em modelos animais de DP, bem como em amostras de biópsia e de cadáveres de pacientes com DP.<sup>(9)</sup> Estas alterações incluem a deposição de colágeno em aglomerados anormalmente densos e fibras de elastina desordenadas, fragmentadas e dispersas.<sup>(9)</sup> No cenário do trauma peniano, o extravasamento de fibrina libera múltiplas citocinas, incluindo o TGF- $\beta$ , o qual estimula a diferenciação de fibroblasto em miofibroblasto. TGF- $\beta$  também estimula a síntese dos componentes da matriz extracelular, incluindo colágeno. Miofibroblastos sintetizam colágeno e são importantes na cicatrização. Em uma

cicatrização normal eles auxiliam na cicatrização e depois sofrem apoptose. A persistência de miofibroblastos em uma cicatrização anormal leva a um acúmulo de colágeno, causando a fibrose. Enquanto miofibroblastos são comuns em placas de DP de seres humanos e em modelos animais, eles raramente são vistos na túnica albugínea humana normal.<sup>(9)</sup>

Há relatos demonstrando mudanças nos tipos de colágeno da túnica albugínea de pacientes com DP.<sup>(11,12)</sup> Os tipos I e III apresentam uma expressão normal na túnica albugínea sadia, enquanto que na placa de Peyronie o tipo III é encontrado mais abundantemente.<sup>(13)</sup> Além disso há uma disposição desorganizada e difusa tanto do colágeno III como de elastina.<sup>(14)</sup>

A DP apresenta-se basicamente em 2 fases.<sup>(15)</sup> Inicia-se com a fase aguda inflamatória que dura aproximadamente 12 a 18 meses, apresentando-se, geralmente, com dor, que pode ocorrer durante a ereção ou com o pênis flácido.<sup>(16,17)</sup> Além disso, pode ocorrer uma deformidade progressiva no pênis ereto. Após o final da fase aguda, apenas 10% a 15% apresentarão resolução espontânea da deformidade.<sup>(15)</sup> A segunda fase é a crônica, que se inicia após esse período. Nessa fase, a dor geralmente some e ocorre estabilização da curvatura e da deformidade peniana. Nesse estágio, raramente a curvatura e a deformidade progridem.<sup>(16)</sup> Esse processo de estabilização é caracterizado por fibrose, calcificação e, raramente, ossificação.<sup>(15)</sup>

História clínica e exame físico geralmente são suficientes para o diagnóstico, sendo que os sintomas variam de acordo com a fase da doença. Dor está presente em 35%-45% dos pacientes na fase aguda. Curvatura também pode ser relatada e deve ser avaliada durante a ereção conforme recomendações da Sociedade Européia de

Urologia.<sup>(16)</sup>Disfunção erétil pode estar presente em 22%-54% dos homens acometidos pela DP, durante o curso natural da doença, podendo gerar efeitos psicossociais importantes, como: ansiedade e rejeição da parceria.<sup>(5)</sup>

Durante o exame físico, deve-se examinar o pênis para verificar a presença de placa durante a palpação. Avaliação com o pênis em ereção é importante para avaliar comprimento, rigidez e circunferência. A avaliação das extremidades à procura de deformidades sugestivas de outras colagenoses também faz parte do exame físico.<sup>(4,16)</sup>

Avaliação laboratorial não é necessária para o diagnóstico da DP e exames de imagem só serão necessários para o planejamento de procedimento cirúrgico. Ultrassonografia do pênis é o método de escolha para avaliar a placa calcificada. Em casos de disfunção erétil associada à DP, a ereção induzida com fármaco injetável durante a ultrassonografia auxilia na avaliação.<sup>(4)</sup>

O tratamento vai depender basicamente da fase da doença. Tratamento não-cirúrgico pode ser considerado para a fase aguda, enquanto procedimentos cirúrgicos estão tipicamente reservados para fase crônica.<sup>(16)</sup>Correção cirúrgica é basicamente o tratamento principal embora esteja associada com morbidades, como: infecção e hematoma no pós-operatório recente, encurtamento, disfunção erétil, recidiva e hipoestesia glandar no pós-operatório tardio.<sup>(18)</sup>

Existe uma ampla variedade de opções para o tratamento não-cirúrgico, porém os resultados são conflitantes e desapontadores.<sup>(2)</sup> Terapias medicamentosas orais apresentam uma limitada eficácia e podem causar um atraso desnecessário no tratamento definitivo. Terapias intralesionais são uma alternativa razoável, principalmente no uso de injeção de collagenase.<sup>(1)</sup>O uso da litotripsia extra-corpórea também é uma opção,

devendo ser realizado com a intenção de melhorar a dor, apresentando pouca melhora na curvatura e na redução da placa.<sup>(1,19)</sup> Medicamentos tópicos e dispositivos de tração não demonstraram eficácia.<sup>(1)</sup>

O estudo do efeito antifibrótico do Micofenolato Mofetil (MMF) na DP em modelo experimental justifica-se, pois representa opção terapêutica diante da falta de consenso sobre a eficácia de medicamentos utilizados no tratamento dessa enfermidade. MMF é uma droga imunossupressora utilizada na prevenção da rejeição de órgãos transplantados e tem demonstrado alguma eficácia também na prevenção de complicações de fibrose em doenças autoimunes. Ela apresenta uma diminuição na síntese e expressão do colágeno, além de diminuir a atividade do fibroblasto.<sup>(20)</sup> Essa droga apresentou resultado satisfatório em pacientes com fibrose retroperitoneal.<sup>(21,22)</sup> O TGF- $\beta$  apresenta um papel importante na produção de colágeno pelo fibroblasto, portanto a diminuição do fibroblasto pelo MMF pode auxiliar na parada do processo fibrótico.<sup>(16)</sup> Espera-se que a ação do MMF no presente estudo, à semelhança dos benefícios demonstrados nas condições clínicas mencionadas, possam ser reproduzidos e mensurados sobre a túnica albugínea do pênis nos ratos avaliados, podendo ser extrapolados no futuro em aplicações clínicas de portadores de DP, proporcionando uma opção terapêutica. Além disso, na literatura, não foram encontrados trabalhos com esse enfoque.

## **1.1- Objetivo**

Avaliar as alterações histológicas, histoquímicas e estereológicas provocadas pelo Micofenolato Mofetil (MMF) sobre a túnica albugínea do pênis de ratos submetidos à injeção de TGF- $\beta$  para indução da Doença de Peyronie.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material

Foram utilizados 20 ratos Wistar, machos adultos, pesando em média 469g, provenientes do Biotério da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (Famerp). Os animais foram mantidos em gaiolas individuais e alimentados com ração peletizada(Labina)<sup>®</sup>, e água *ad libitum* durante todo o período experimental. Os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal da mistura de ketamina (100mg/Kg) e xilazina (10mg/Kg).<sup>(23)</sup>

Os animais foram divididos em 4 grupos de 5 ratos. Grupo Controle: animais livres de manuseio experimental; Grupo 1 TGF- $\beta$ : animais que receberam a injeção intraperitoneal de TGF-  $\beta$ ; Grupo 2 MMF-7d: animais que receberam o tratamento com MMF após 7 dias de indução com TGF- $\beta$  e, Grupo 3 MMF-30d: animais que receberam o tratamento com MMF, na mesma dose, após 30 dias de indução com TGF- $\beta$ .

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Famerp (Anexo 1), protocolo CEUA no. 001-002734/2016.

## 2.2 Método

### 2.2.1 Indução da Doença de Peyronie

A indução da DP em ratos baseou-se em Castiglioni et al,<sup>(14)</sup>e Sakka et al.<sup>(24)</sup> Os ratos foram fixados pelos membros superiores e inferiores, em decúbito dorsal, a uma mesa cirúrgica após a pesagem e anestesia. A DP ou fibrose peniana foi induzida nos ratos dos Grupos 1,2 e 3 por meio de injeções intracavernosas repetidas de TGF- $\beta$  (*Sigma-Aldrich*) nos dias 0, 3º e 6º ao longo, de todo o pênis. Foram injetadas  $2,4 \times 10^{14}$  partículas de TGF- $\beta$  em cada rato após anestesia. Os animais foram mantidos em recuperação após o procedimento com dieta normossódica, normoprotéica e água *ad libitum*.

### 2.2.2 – Tratamento com Micofenolato Mofetil

No 7º dia após indução do processo fibrótico peniano com TGF- $\beta$ , os ratos do Grupo 2 receberam a droga MMF (30mg/kg) por gavagem durante 5 dias. Essa dosagem foi a mesma utilizada em estudo prévio para tratamento de fibrose pulmonar.<sup>(25)</sup> No 3º dia, após a última dose de MMF, os ratos foram novamente anestesiados, sendo avaliadas as curvaturas penianas através de imagens retiradas após exposição manual de cada pênis. Os animais foram submetidos a eutanásia com dose excessiva de tiopental, de acordo com padronizado pela American Veterinary Medical Association,<sup>(26)</sup> para retirada de tecido peniano, afim de realizar estudos histológicos.



No trigésimo dia após a mesma indução do processo fibrótico, os ratos do Grupo 3 também receberam a mesma dosagem de MMF (30mg/Kg) pelo método de gavagem durante 5 dias. O mesmo procedimento de avaliação da angulação peniana e coleta de tecido peniano, através da penectomia total, foi realizado no 3º dia após a última dose de MMF no Grupo 3, em todos os grupos restantes.

### **2.2.3 Mensuração da angulação peniana**

Antes da coleta do material para o processamento histológico, os pênis de todos os animais dos diferentes grupos experimentais foram fotografados e as imagens fotográficas foram transferidas para um programa de medida de angulação, no qual foram obtidos os dados métricos da angulação peniana. As análises foram feitas com o programa Adobe Photoshop CS6 Extended 13.0 (Adobe Systems Inc., San Jose).

### **2.2.4 Processamento histológico e análise Histoquímica**

Os pênis, depois de feitas as documentações para a medida de angulação, foram removidos e as peças foram fixadas em solução tamponada de paraformaldeído 2% - glutaraldeído 2% (fixador de Karnowski) por 24 horas, as quais foram submetidas ao processamento histológico ordinário. Todo o processamento histológico e análise histoquímica foram realizados no Laboratório de Microscopia e Microanálise do Departamento de Biologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE) da Universidade Estadual Paulista (UNESP). As peças penianas, devidamente lavadas em água destilada, foram desidratadas em etanol, clarificadas em xilol e, então, incluídas em

Paraplast (Sigma) de maneira a obter-se cortes transversais das peças penianas. Assim foram seccionadas em micrótomo rotativo automático Leica, entre 3-5  $\mu\text{m}$  e coradas pelas seguintes técnicas tintoriais:

1. Coloração pela Hematoxilina-Eosina (HE): para estudos morfológicos e histopatológicos gerais do órgão. <sup>(27)</sup>
2. Coloração pela Hematoxilina-Eosina, analisada em microscopia de fluorescência, para avaliação das fibras elásticas baseadas em metodologia descrita por de Carvalho e Taboga. <sup>(28)</sup>
3. Coloração pela Reticulina de Gömöri: para estudo das fibras reticulares e colágenas. <sup>(27)</sup>

### **2.2.5 Análise histológica e histoquímica**

Os cortes histológicos foram analisados em microscópio de luz convencional Olympus BX 60 e também em sistema de fluorescência acoplado ao mesmo aparelho. Imagens microscópicas foram obtidas para as devidas análises morfológicas e estereológicas.

### **2.2.6 Análise estereológica**

As análises estereológicas foram realizadas para a obtenção do volume relativo dos diferentes tipos de fibras conjuntivas da túnica albugínea peniana. Para isso, foram capturados 20 campos aleatórios de cada subgrupo a partir de lâminas nas diferentes

técnicas histoquímicas, através do Sistema Analisador de Imagens, com o programa Image-Pro-Plus 6.0 (Media Cybernetics, Inc., Washington DC). As medidas foram realizadas de acordo com o sistema de teste de multipontos M130 proposto por Weibel.<sup>(29)</sup> Assim, a partir dos dados obtidos para cada campo analisado, foi calculada a frequência relativa dos componentes fibrilares.

### **2.2.7. Análise estatística**

Os dados coletados de curvatura peniana e para as avaliações estereológicas foram expressos pelas médias  $\pm$  desvios padrão. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e o teste de hipóteses para comparações múltiplas utilizado para determinar a significância estatística foi o teste de Mann-Whitney. Todas as análises foram realizadas no software Graphpad Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego). Análise descritiva dos dados com medidas de tendência central e dispersão e testes para verificação da normalidade dos dados foi feita pelo teste Kolmogorov Smirnov. O nível de significância adotado para a presente análise foi de 5% ( $p \leq 0,05$ ).

### 3. RESULTADOS

Os resultados foram obtidos a partir da avaliação histológica, histoquímica e estereol de 20 ratos Wistar.

O resultado da análise da angulação peniana mostrou que, após indução da DP com TGF- $\beta$ , houve redução no valor médio do ângulo. Após sete dias do uso do MMF, observou-se aumento no valor médio do ângulo. Esse valor aumentou ainda mais, após 30 dias do uso dessa droga(Figura 1).

A análise histológica dos cortes transversais penianos em hematoxilina-eosina, revelou que todos os grupos experimentais apresentaram uma excelente preservação dos diferentes tecidos penianos, a saber: epiderme, derme, túnica albugínea, tecido erétil e uretra peniana. Contudo, não foram observadas diferenças no padrão de distribuição desses elementos e nos seus aspectos histológicos gerais (Figura 2).

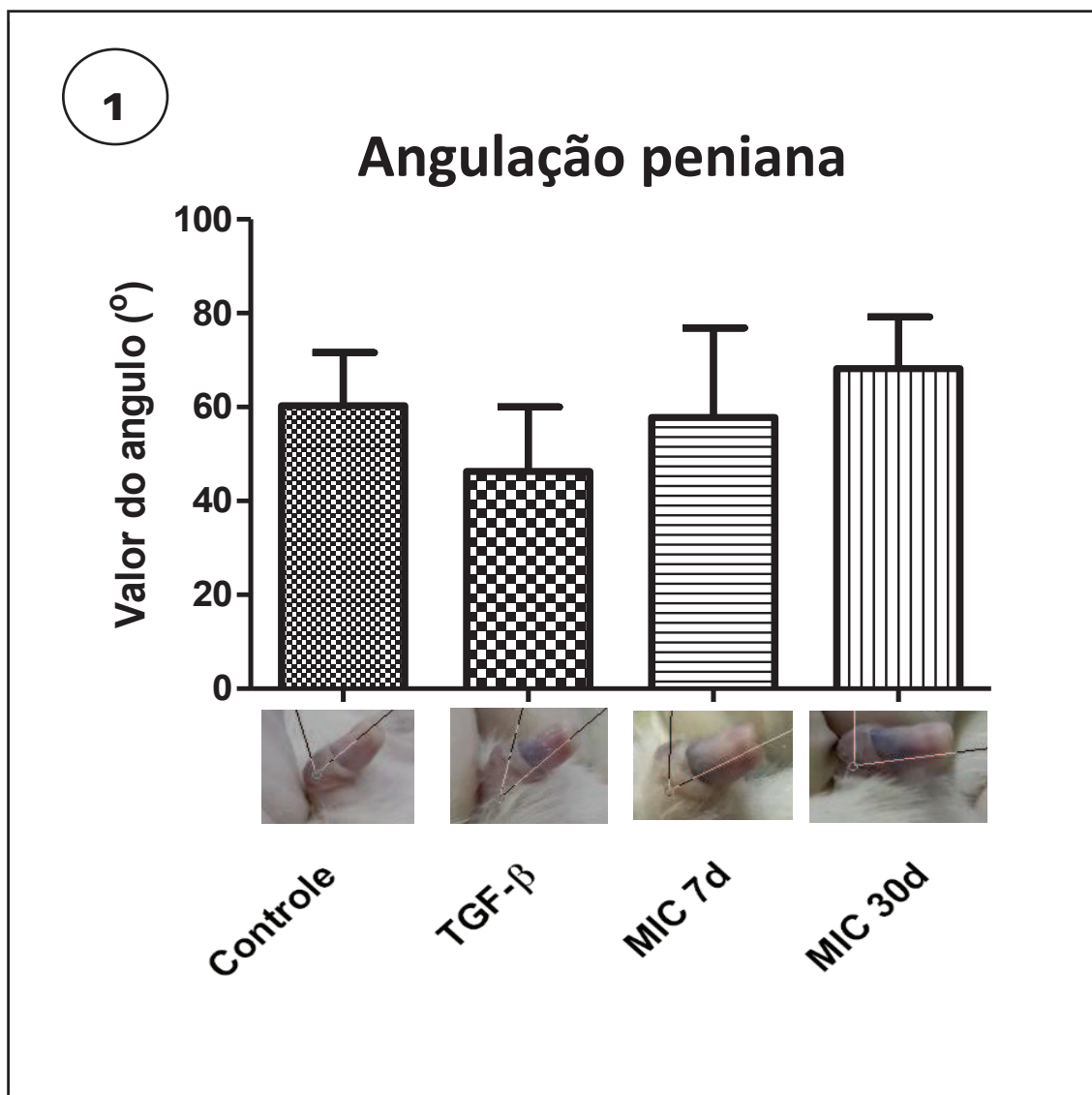


Figura 1 - Histograma dos valores médios  $\pm$  desvio padrão da angulação peniana ( $^{\circ}$ ) nos animais nas diferentes condições experimentais. Abaixo dos histogramas estão representados pelas fotografias de pênis com diferentes comportamentos de curvatura mais representativos nos grupos.

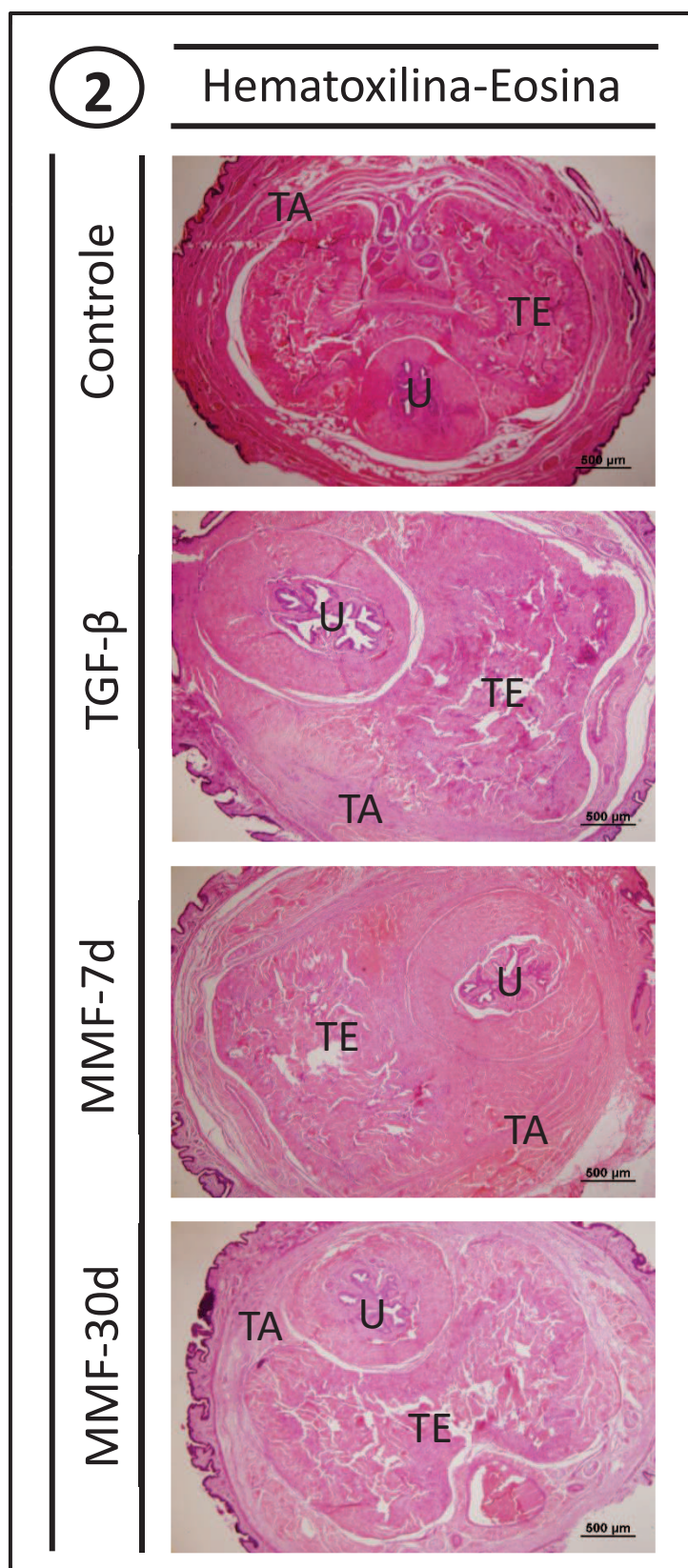


Figura 2 - Secções transversais em pênis de rato nas diferentes condições experimentais. Nas secções observam-se as diferentes localizações dos tecidos penianos: TA = túnica albugínea, TE = tecido erétil, U = uretra peniana.

Pela avaliação histoquímica nos diferentes métodos para estudo de fibras conjuntivas, observou-se um comportamento atípico da distribuição das fibras na região da túnica albugínea.

Pelo método da hematoxilina-eosina em microscopia de fluorescência, que evidencia a elastina, observou-se que, no grupo TGF- $\beta$ , houve uma degradação e fragmentação da elastina nessa região. Esse processo é incompletamente revertido no grupo MMF-7d, e quando se avalia o grupo MMF-30d, observa-se uma situação muito próxima à normalidade (Figura 3). Esses dados, avaliados pela estereologia, revelaram que as diferenças na frequência relativa de elementos fibrilares de elastina são significativas entre os principais grupos de teste, ou seja, entre o controle e TGF- $\beta$ , entre o controle e MMF-7d e entre MMF-7d e MMF-30d (Figura 4).



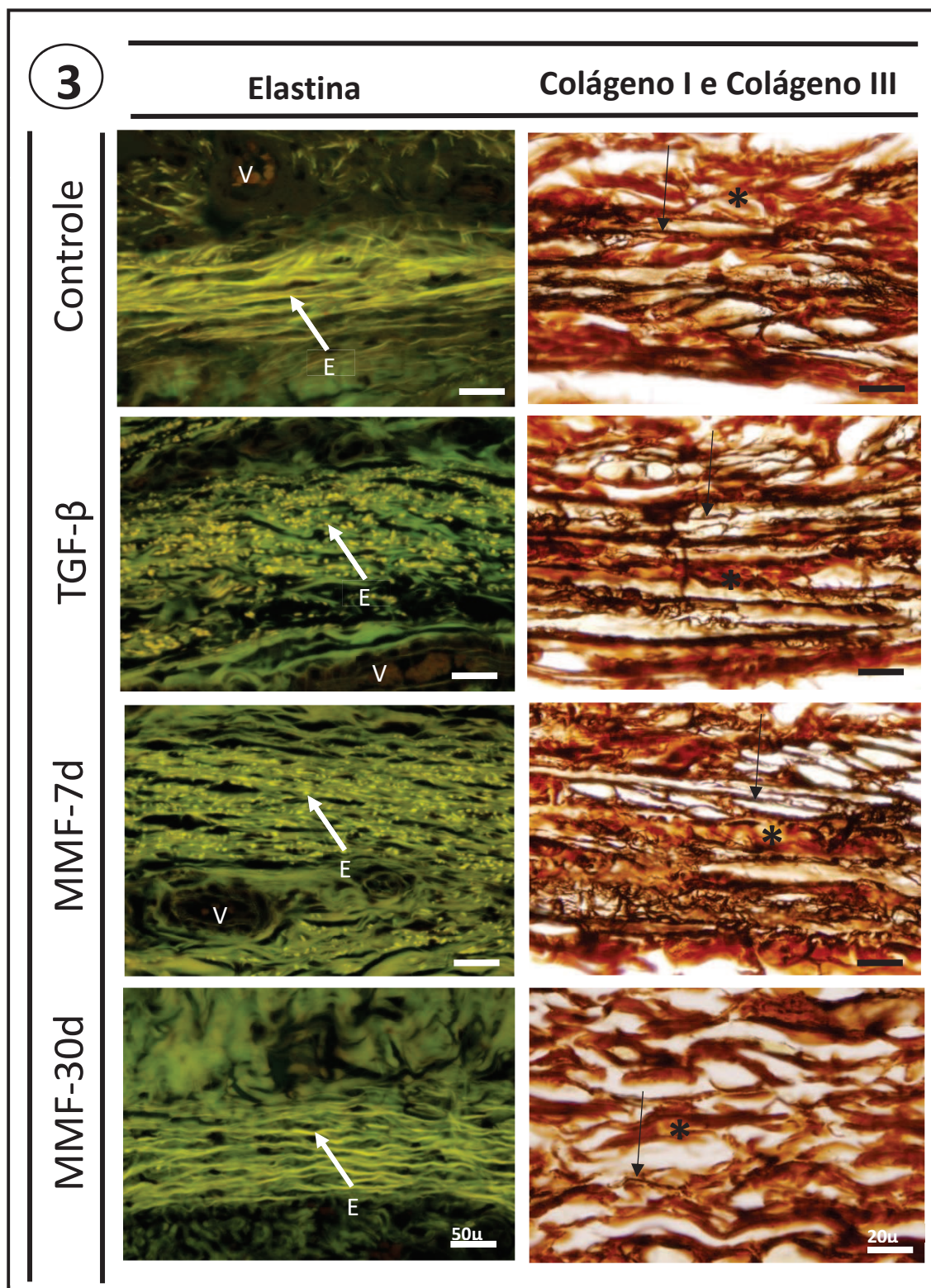


Figura 3 - Distribuição das fibras conjuntivas na região da túnica albugínea peniana nas diferentes condições experimentais. A coluna da esquerda evidencia a distribuição das fibras elásticas pelo método da Hematoxilina-Eosina em microscopia de fluorescência (seta grossa), observe a fragmentação da elastina nas condições de tratamento pelo TGF- $\beta$  e no MMF-7d. A coluna da direita evidencia a distribuição das fibras coradas pela técnica da reticulina de Gömöri (fibras de colágeno I – asterisco; fibras reticulares (colágeno III) – seta fina). Vs = vasos sanguíneos, El =



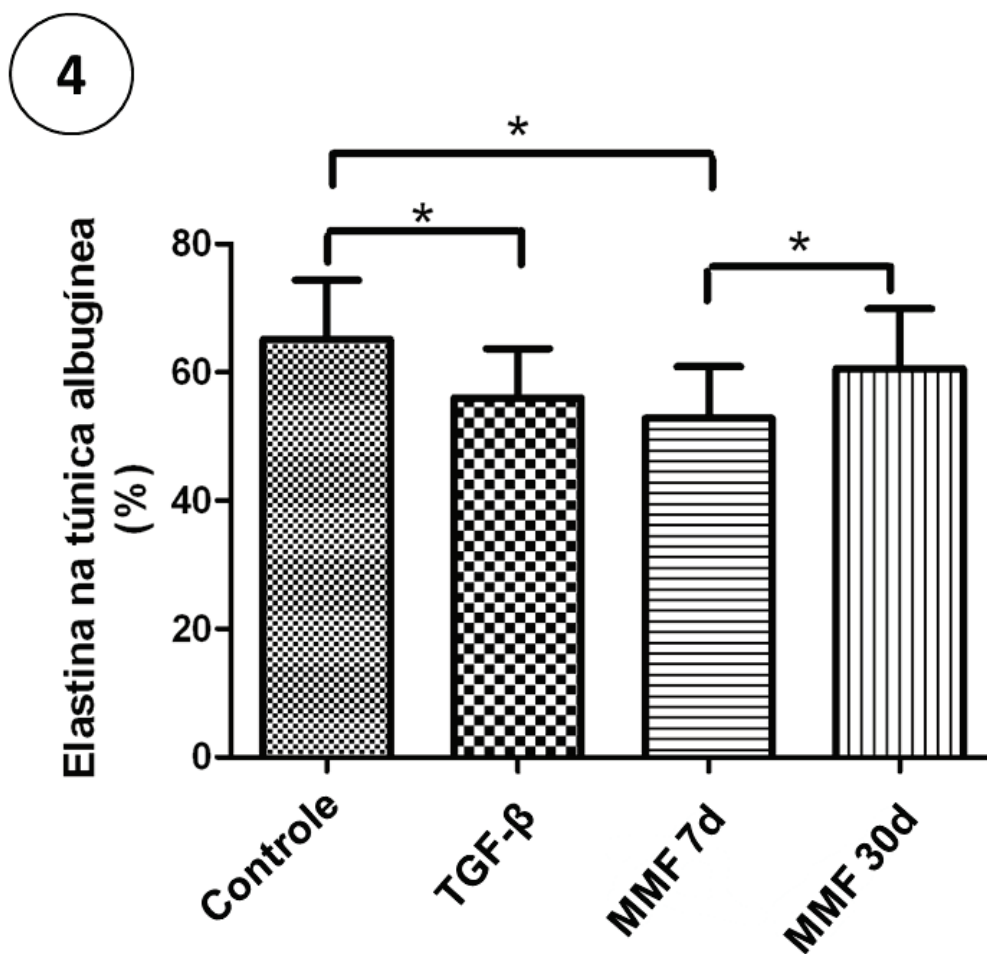


Figura 4 - Histograma de frequências relativas de fibras elásticas (elastina) (%) na túnica albugínea peniana nas diferentes condições experimentais. Os dados estão expressos pelo valor das médias  $\pm$  desvio padrão e o \* indica diferença estatisticamente significativa em valor de  $p \leq 0,05$ .

A avaliação das amostras pelo método de reticulina de Gömöri identifica as fibras colagênicas constituída por colágeno do tipo I (fibras colágenas propriamente ditas), em marrom acastanhado, e do tipo III (fibras reticulares), em negro (Figura 3). A quantificação estereológica destes tipos de fibras na região da túnica albugínea mostrou comportamento antagônico entre esses dois tipos de fibras. Proporcionalmente, as fibras de colágeno do tipo I são numerosas nos grupos controle e MMF-30d, e diminuem sua proporção nos grupos TGF- $\beta$  e MMF-7d. De forma inversa, as fibras de colágeno do tipo III são mais numerosas nos grupos TGF- $\beta$  e MMF-7d e menos numerosas nos grupos controle e MMF-30d (Figuras 5 e 6, Tabela I). A análise dos dados obtidos pela estereologia mostrou que existe uma relação entre o aumento de colágeno tipo I e a diminuição do colágeno do tipo III nos diferentes grupos experimentais. Essa razão entre o aumento de um elemento e diminuição do outro pode ser verificada pelo cálculo da razão de proporcionalidade entre esses elementos, dividindo os valores do menor (fibras de colágeno tipo III) pelo maior (fibras de colágeno tipo I) (Tabela I).

5

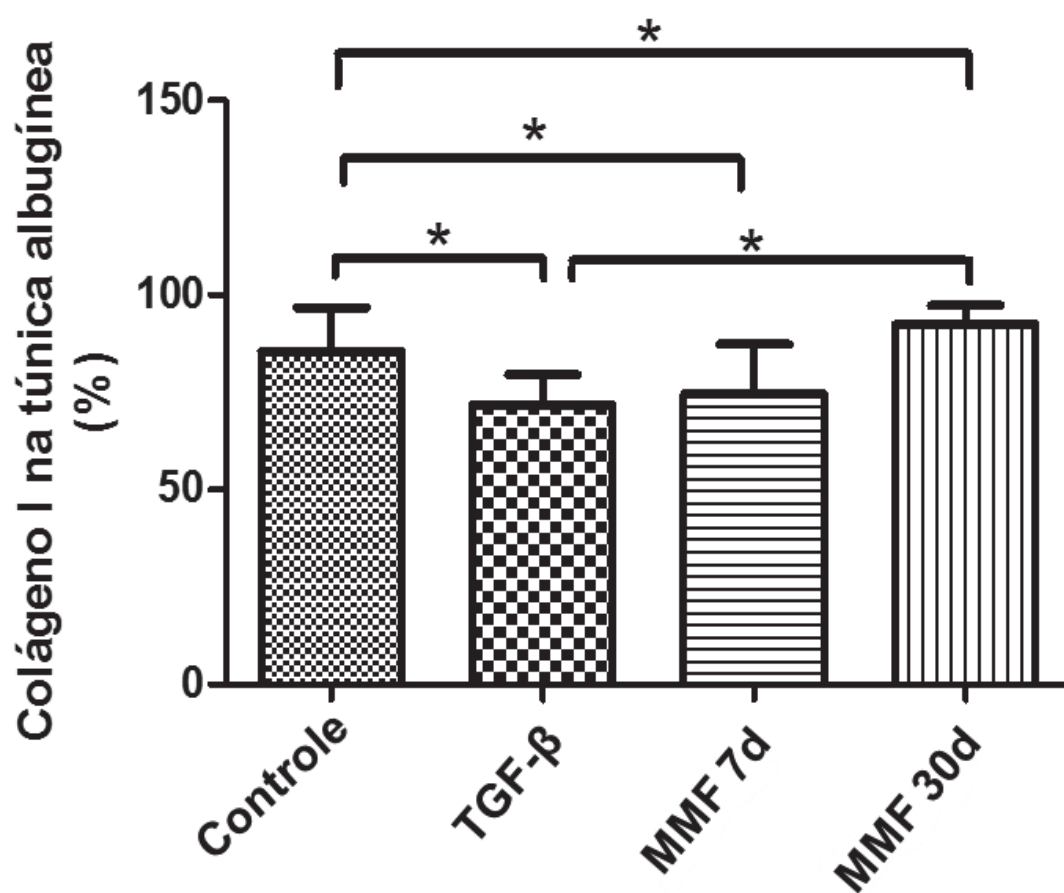


Figura 5 - Histograma de frequências relativas de fibras colágenas (Colágeno tipo I) (%) na túnica albugínea peniana nas diferentes condições experimentais. Os dados estão expressos pelo valor das médias  $\pm$  desvio padrão e o \* indica diferença estatisticamente significativa em valor de  $p \leq 0,05$ .

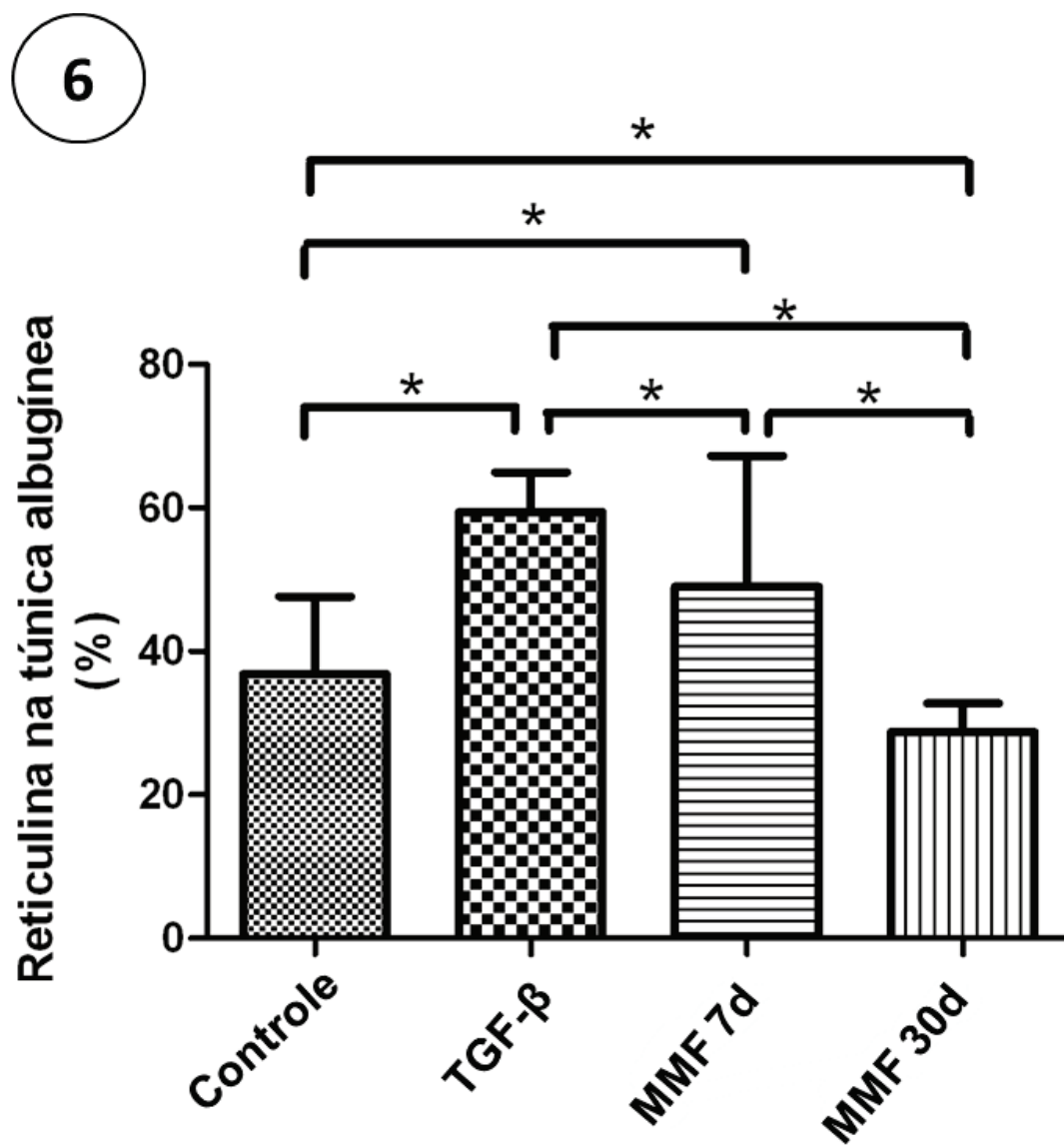


Figura 6 - Histograma de frequências relativas de fibras reticulares (Colágeno tipo III) (%) na túnica albugínea peniana nas diferentes condições experimentais. Os dados estão expressos pelo valor das médias  $\pm$  desvio padrão e o \* indica diferença estatisticamente significativa em valor de  $p \leq 0,05$ .

Tabela. Avaliação estereológica dos elementos fibrilares colagênicos da túnica albugínea nos diferentes grupos do estudo. Dados da média  $\pm$ desvio padrão das fibras reticulares.

	Colágeno I	Colágeno III	Razão Colágeno III/colágeno I
Controle	85,6 $\pm$ 11,2	36,8 $\pm$ 10,7*	0,42
TGF- $\beta$	71,7 $\pm$ 7,7	59,4 $\pm$ 5,53*	0,82
MMF 7d	74,6 $\pm$ 12,6	49 $\pm$ 18,2*	0,65
MMF 30d	92,4 $\pm$ 4,9	28,7 $\pm$ 4*	0,31

\*significativo para  $p \leq 0,05$   
d= dias

#### 4. DISCUSSÃO

Neste estudo foi constatado efeito antifibrótico do MMF em ratos submetidos à indução de doença de Peyronie pela injeção de TGF- $\beta$ . Após tratamento com essa droga, foram encontradas alterações estatisticamente significativas na quantidade de colágeno I, colágeno III e elastina, indicando diminuição na razão colágeno III/colágeno I e reorganização da elastina. Houve restauração no padrão de distribuição das fibras de elastina e de colágeno tipo I e tipo III. O resultado da mensuração da curvatura peniana não apresentou diferença significativa.

Nossa análise histoquímica evidenciou aumento razão Colágeno III/Colágeno I durante a indução da DP com TGF- $\beta$  e desarranjo na estrutura da elastina (Figura 3 e Tabela 1), conferindo perda de elasticidade nessa região pela presença de fibras fragmentadas. As alterações histológicas demonstradas foram compatíveis com estudos animais prévios que utilizaram o TGF- $\beta$  para induzir a DP.<sup>(14,24,30,31)</sup> Após tratamento com MMF, verificou-se que não houve melhora significativa com relação à porcentagem de Colágeno I, porém apresentou melhora tanto na porcentagem do Colágeno III quanto na razão Colágeno III/Colágeno I. Houve também uma melhora em relação a porcentagem de elastina com uso de MMF após 7 dias de indução, mas não com 30 dias. Esse achado corrobora a tese que há um desarranjo e ruptura desse componente durante o estabelecimento da doença, prejudicando a ereção.<sup>(14)</sup>

A avaliação da angulação peniana ficou prejudicada pela impossibilidade em se obter ereção peniana nos animais estudados, bem como a dificuldade de mensuração devido ao tamanho reduzido do pênis. O uso de drogas para induzir ereção, inibidores de

fosfodiesterase-5, poderia alterar o resultado do nosso estudo, pois em alguns estudos prévios há relatos de que essas drogas são utilizadas como tratamento para DP. <sup>(1,2,16,30)</sup>

A análise dos dados de curvatura não foi suficiente para afirmar que os grupos experimentais sofreram diferenças significativas entre si na angulação do plano de inserção do pênis, entretanto as características histológicas da doença foram detectadas nas avaliações das amostras.

A etiopatogenia da DP permanece desconhecida, apesar de muitos mecanismos etiológicos propostos recentemente, sendo que o mais aceito é a hipótese de trauma na túnica albugínea, demonstrada pela alteração na conformação e quantidade de fibras elásticas e colágenas após microtraumas. TGF- $\beta$ , por ser um fator de crescimento fibrilogênico, tem um papel importante na gênese da DP, por isso é utilizado em estudos com modelo animal para indução experimental. <sup>(14,24)</sup>

Tratamento cirúrgico ainda é considerado o padrão-ouro para a correção da curvatura peniana na DP, porém não é livre de complicações. <sup>(32)</sup> Abordagem não cirúrgica permite ao paciente evitar as morbidades associadas com a cirurgia e ainda promover melhora funcional e estética, <sup>(1)</sup> porém a maioria dos tratamentos disponíveis apresentam resultados conflitantes e desapontadores. <sup>(2)</sup> O uso de injeção intralesional de *colagenase clostridium*, tem apresentado resultados animadores e seguros, com melhora de até 34% na curvatura. <sup>(33,34)</sup> Essa é a única droga aprovada pelo Food and Drug Administration(FDA), porém não está isenta de efeitos colaterais, como: hematoma, dor peniana a até ruptura do corpo cavernoso. <sup>(16, 35)</sup> Baseado em artigos prévios utilizando o MMF como tratamento clínico na fibrose retroperitoneal, <sup>(21,22)</sup> utilizamos esse medicamento em nosso modelo devido a suas funções anti-inflamatórias e

antiproliferativas com diminuição na expressão do TGF- $\beta$ . Além disso, ela já se mostrou uma droga segura e bem tolerada.<sup>(25)</sup>

Nosso estudo evidenciou uma eficácia no uso do MMF após 30 dias, promovendo uma reorganização da elastina, diminuição do colágeno III e diminuição da razão entre colágeno III e colágeno I, se aproximando do achado no grupo controle. Esse achado caracteriza uma melhora na fase aguda da doença, podendo interromper e até mesmo regredir ou atenuar a formação da placa fibrótica.

A falta de um tratamento eficaz, livre de complicações e efeitos colaterais nos leva a uma busca de novos tratamentos para DP. Por se tratar de uma droga já utilizada com boa segurança e tolerabilidade, o MMF se mostra promissor no tratamento dessa enfermidade. Apesar dos resultados animadores encontrados nesse estudo, e, por ser um modelo experimental em animais, são necessários estudos adicionais para avaliar sua eficácia em humanos assim como sua correta dosagem para essa finalidade.



## 5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que:

- 1- A injeção intratúnica de TGF- $\beta$  foi capaz de gerar alterações fibróticas na região da túnica albugínea peniana em rato Wistar, correspondente à doença de Peyronie.
- 2- No modelo em estudo de indução de doença de Peyronie em rato Wistar pela injeção de TGF- $\beta$ , o MMF atua como agente antifibrótico regenerador.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Joice GA, Burnett AL. Nonsurgical interventions for Peyronie's disease: update as of 2016. *World J Mens Health* 2016;34:65-72.
- 2- Talib RA, Ibrahim MA, Cangüven Ö. Nonsurgical treatment options in Peyronie's Disease: 2016 update. *Turk J Urol* 2016;42:217–23.
- 3- El-Sakka AI, Salabas E, Dinçer M, Kadioglu A. The pathophysiology of Peyronie's disease. *Arab J Urol* 2013;11:272-7.
- 4- Al-Thakafi S, Al-Hathal N. Peyronie's disease: a literature review on epidemiology, genetics, pathophysiology, diagnosis and work-up. *Transl Androl Urol* 2016;5:280-9.
- 5- Garaffa G, Trost LW, Serefoglu EC, Ralph D, Hellstrom WJ. Understanding the course of Peyronie's disease. *Int J Clin Pract* 2013; 67:781-8.
- 6- Romero FR, Romero AW, de Almeida RM, de Oliveira FC Jr, Tambara R Filho. Prevalence and risk factors for penile lesions/anomalies in a cohort of Brazilian men  $\geq$  40 years of age. *Int Braz J Urol* 2013;39:55-62.
- 7- Nugteren HM, Nijman JM, de jong IJ, van Driel MF. The association between Peyronie's and Dupuytren's disease. *Int J Impot Res* 2011;23:142-5.
- 8- Antoniassi TS, Spessoto LCF, Gonçalves Filho JR, Cavalcante VMM, da Silva EA, Facio MFW et al. Risk factors for Peyronie's disease in patients submitted to the Nesbit procedure. *Int J Sci* 2016; 5:131-3.
- 9- Bilgutay AN, Pastuszak AW. Peyronie's disease: A review of etiology, diagnosis and management. *Curr Sex Health Rep* 2015; 7:117-31.
- 10- Ralph DJ, Schwartz G, Moore W, Pryor JP, Ebringer A, Bottazzo GF. The genetic and bacteriological aspects of Peyronie's disease. *J Urol* 1997;157:291-4.

- 11- Somers KD, Sismour EN, Wright GL Jr, Devine CJ Jr, Gilbert DA, Horton CE. Isolation and characterization of collagen in Peyronie's Disease. *J Urol* 1989;141:629-31.
- 12- Luangkhot R, Rutchik S, Agarwal V, Puglia K, Bhargava G, Melman A. Collagen alterations in the corpus cavernosum of men with sexual dysfunction. *J Urol* 1992;148:467-71.
- 13- WJ Hellstrom, TJ Bivalacqua. Peyronie's disease: etiology, medical, and surgical therapy. *J Androl* 2000; 21:347-54.
- 14- Castiglione F, Hedlund P, Van der Aa F, Bivalacqua TJ, Rigatti P, Van Poppel H et al. Intratunical injection of human adipose tissue-derived stem cells prevents fibrosis and is associated with improved erectile function in a rat model of Peyronie's disease. *Eur Urol* 2013;63:551-60.
- 15- Shaw EJ, Mitchell GC, Tan RB, Sangkum P, Hellstrom WJG. The non-surgical treatment of Peyronie disease: 2013 Update. *World J Mens Health* 2013;31:183–92.
- 16-Hussein AA, Alwall A, Lue TF. All about Peyronie's disease. *Asian J Urol* 2015;2:70-8.
- 17-Mulhall JP, Schiff J, Guhring P. An analysis of the natural history of Peyronie's disease. *J Urol* 2006;175:2115-8.
- 18- Kayes O, Khadr R. Recent advances in managing Peyronie's disease. *F1000Res*. 2016;5(F1000 Faculty Rev):2372
- 19- Facio Jr FN, Bertero EB, Spessoto LCF. Doença de Peyronie. In: Nardi AC, Nardoza Jr A, Bezerra CA, Fonseca CEC, Truzzi JC, Rios LAS et al., editores. *Urologia Brasil*. 1ª ed. São Paulo: Planmark; 2013:287-96.

- 20- Roos N, Poulalhon N, Farge D, Madelaine I, Mauviel A, Verrecchia F. In vitro evidence for a direct antifibrotic role of the immunosuppressive drug mycophenolate mofetil. *J Pharmacol Exp Ther* 2007;321:583-9.
- 21- Scheel PJ Jr, Piccini J, Rahman MH, Lawler LJ. Combined prednisone and mycophenolate mofetil treatment for retroperitoneal fibrosis. *J Urol* 2007;178:140-3.
- 22- Scheel PJ Jr, Sozio SM, Feeley N. Medical management of retroperitoneal fibrosis. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2012;123:283-90.
- 23- Huerkamp, Michael J. The use of analgesic in rodents and rabbits. Emory University. 2000; [http://www.dar.emory.edu/vetcare/anesthetic\\_injection.php](http://www.dar.emory.edu/vetcare/anesthetic_injection.php)
- 24- El-Sakka AI, Hassan MU, Nunes L, Bhatnagar RS, Yen TS, Lue TF. Histological and ultrastructural alterations in an animal model of Peyronie's disease. *Br J Urol* 1998;81:445-52.
- 25- Tzouvelekis A, Bouros E, Oikonomou A, Ntoliou P, Zacharis G, Kolios G, et al. Effect and safety of mycophenolate mofetil in idiopathic pulmonary fibrosis. *Pulm Med* 2011;2011:849035.
- 26- American Veterinary Medical Association. Guideline for the Euthanasia of animals: ed. 2013; p.48 <https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf>
- 27- Behmer AO, Tolosa EMC, Neto AGF. Manual de práticas para histologia normal e patológica. São Paulo: EDART-EDUSP; 1976: 329.
- 28- de Carvalho HF, Taboga SR. Fluorescence and confocal laser scanning microscopy imaging of elastic fibers in hematoxylin-eosin stained sections. *Histochem Cell Biol* 1996;106:587-92.
- 29- Weibel ER. Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs. *Lab Invest* 1978;12:131-55.

- 30- Bilgutay AN, Pastuszak AW. Peyronie's disease: What's around the bend? *Indian J Urol* 2016;32:6-14.
- 31- Gokce A, Abd Elmageed ZY, Lasker GF, Bouljihad M, Kim H, Trost LW, et al. Adipose tissue-derived stem cell therapy for prevention and treatment of erectile dysfunction in a rat model of Peyronie's disease. *Andrology* 2014;2:244-51.
- 32- Levine LA, Larsen SM. Surgery for Peyronie's disease. *Asian J Androl*. 2013;15:27-34.
- 33- Hellstrom WJG, Tan RBW, Liu G. Safety profile of collagenase *Clostridium histolyticum* stratified by degree of penile curvature in patients with Peyronie's disease. *Urology* 2017;S0090-4295(17)30477-6.
- 34 - Gelbard M, Goldstein I, Hellstrom WJ, McMahon CG, Smith T, Tursi J et al. Clinical efficacy, safety and tolerability of collagenase *Clostridium histolyticum* for the treatment of Peyronie disease in 2 large double-blind, randomized, placebo controlled phase 3 studies. *J Urol* 2013;190:199-207.
- 35- Yan S, Yap T, Minhas S. Collagenase *clostridium histolyticum* intralesional injections for the treatment of Peyronie's disease: a safety profile. *Transl Androl Urol* 2017;6:123-6.

## ANEXO 1



Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP  
Autarquia Estadual – Lei nº 8899 de 27/09/94  
(Reconhecida pelo Decreto Federal nº 74.179 de 14/06/74)



LICENÇA CEUA 04/2016

## COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

## AUTORIZAÇÃO DE PROJETO APROVADO

(DE ACORDO COM ORIENTAÇÃO TÉCNICA CONCEA Nº 08 DE 18 DE MARÇO DE 2016)

Certificamos que a proposta intitulada “**Micofenolato Mofetil promove regressão da placa fibrótica e correção da curvatura peniana em modelo animal da Doença de Peyronie**”, protocolo FAMERP nº 001-002734/2016, em 15 de Junho de 2016, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Fernando Nestor Facio Junior, que envolve a produção/ manutenção/utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos), para fins de pesquisa científica e ensino, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei no. 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da FAMERP (CEUA-FAMERP) em reunião de 19 de Setembro de 2016.

FINALIDADE	Pesquisa Científica / Ensino
VIGÊNCIA DA AUTORIZAÇÃO	18/10/2016 a 01/04/2017
ESPÉCIE/LINHAGEM/RAÇA	Ratos Wistar
NÚMERO DE ANIMAIS	20
PESO/IDADE	Adultos
SEXO	Machos
ORIGEM	Biotério Famerp

São José do Rio Preto, 18 de Outubro de 2016.

Profa. Dra. Debora Aparecida Pires de Campos Zuccari  
Presidente CEUA

(Portaria FAMERP 109, de 28 de outubro de 2014 – DOESP de 05 de novembro de 2014, Poder Executivo – Seção I, 124(209) – 57)