



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

João Pedro Gaio Meireles Rosado

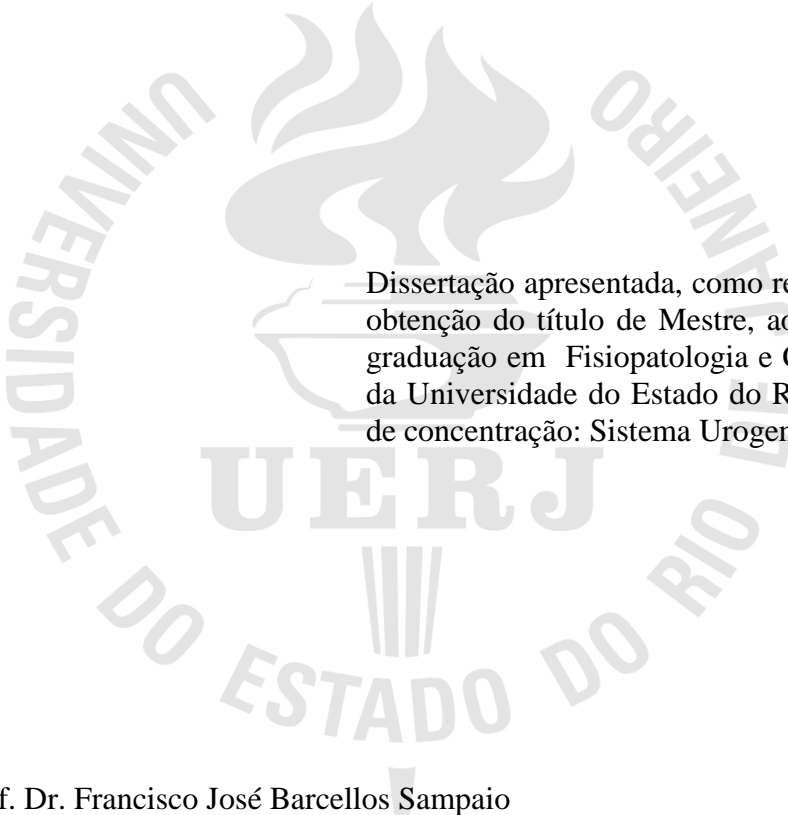
**Alterações estruturais da matriz extracelular do prepúcio humano causadas  
pelo tabagismo**

Rio de Janeiro

2011

João Pedro Gaio Meireles Rosado

**Alterações estruturais da matriz extracelular do prepúcio humano causadas  
pelo tabagismo**



–Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Sistema Urogenital.

Orientador : Prof. Dr. Francisco José Barcellos Sampaio

Coorientador : Prof. Dr. André Guilherme Lagreca da Costa Cavalcanti

Rio de Janeiro

2011

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

R788 Rosado, João Pedro Gaio Meireles.

Alterações estruturais da matriz extracelular do prepúcio humano  
causadas pelo tabagismo / João Pedro Gaio Meireles Rosado. - 2011.  
61 f.

Orientador: Francisco José Barcellos Sampaio  
Coorientador: André Guilherme Lagreca da Costa Cavalcanti.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro,  
Faculdade de Ciências Médicas, Pós-graduação em Fisiopatologia e Ciências  
Cirúrgicas

1. Pênis – Cirurgia – Teses. 2. Prepúcio do pênis. 3. Fumo – Teses. 4.  
Matriz Extracelular – Teses. 5. Estreitamento uretral – Cirurgia. 6. Colágeno.  
7. Uretra- Estreitamento – Teses. I. Sampaio, Francisco José Barcellos. II.  
Cavalcanti, André Guilherme Lagreca da Costa. III. Universidade do Estado  
do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 616.66.662

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

João Pedro Gaio Meireles Rosado

**Alterações estruturais da matriz extracelular do prepúcio humano causadas pelo tabagismo**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas. Área de concentração: Sistema Urogenital.

Aprovada em 12 de Janeiro de 2011.

Orientador : Prof. Dr. Francisco José Barcellos Sampaio

Coorientador : Prof. Dr. André Guilherme Lagreca da Costa Cavalcanti

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Waldemar Silva Costa  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

---

Prof. Dr. Luciano Favorito  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

---

Prof. Dr. André Guilherme Lagreca da Costa Cavalcanti  
Hospital Souza Aguiar

---

Prof. Bianca Martins Gregório  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Rio de Janeiro

2011

## DEDICATÓRIA

À Deus por ser meu esteio, sempre presente nas horas mais difíceis desta caminhada.

À minha esposa pelo apoio, companheirismo, paciência, amor e pelo exemplo de humildade.

À minha mãe por seu amor incondicional e meu pai pelos ensinamentos que lapidaram o alicerce imprescindível para transpor as dificuldades que a vida nos impõe.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Dr. Luciano Favorito mestre e amigo, pelo exemplo e ensinamento profissional.

Ao Dr. André Cavalcanti, muito obrigado pela confiança depositada em mim, pelo companherismo, conselhos e acolhida vital para minha permanência no Rio de Janeiro. Levo comigo inesquecível lição de vida deste grande professor.

Ao caríssimo Professor Francisco Sampaio, pelo apoio e insistência para que eu cumprisse meu dever de terminar mais esta fase de minha vida.

Ao Professor Waldemar pelo caloroso acolhimento no Laboratório.

Ao professor Luiz Eduardo de Macedo Cardoso, pela ajuda com as técnicas bioquímicas.

Aos inseparáveis amigos que tive a felicidade de conhecer, Diogo Benchimol, Jorge Medeiros Junior e Bruno Felix.

## RESUMO

ROSADO, João Pedro Gaio Meireles et al. *Alterações estruturais da matriz extracelular do prepúcio humano causado pelo tabagismo*. (Mestrado em Ciências – Sistema Urogenital) – Faculdade de Medicina. Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

Os autores têm como objetivo, investigar a matriz extra celular, musculatura lisa e densidade vascular do prepúcio de pacientes tabagistas. Espécimes de prepúcio foram obtidas de 20 jovens adultos (média de idade= 27.2) submetidos a postectomia. Dentre os pacientes analisados, um grupo (n=10) possui história prévia de tabagismo (3 to 13 maços/ano, média = 5.8 ± 3.2), e outro grupo (n=10) formam o grupo controle, não fumantes. A coloração de Tricrômico Masson foi utilizada para quantificar tecido conectivo, musculatura lisa e vasos. A coloração Resorcina-fucsina de Weigert foi utilizada para estabelecer as fibras do sistema elástico e a coloração, Vermelho de Picrosirius para o estudo do colágeno. O estudo estereológico foi realizado utilizando o *software* Image J, para determinar as densidades volumétricas. Para a análise bioquímica o colágeno total foi determinado em µg de hidroxiprolina por MG de tecido seco. O estudo estatístico foi realizado lançando mão do t-teste (p<0,05). Fibras do sistema elástico de fumantes apresentaram-se aumentadas em 42.5% quando comparado ao grupo controle (p=0,002). Em contraste, musculatura lisa (p=0,42) e densidade vascular (p=0,16) não mostraram nenhuma diferença estatística. Foi realizado uma análise quantitativa utilizando Vermelho de Picrosirius sob luz polarizada, que evidenciou a presença de colágeno tipo I e III, sem diferença estatisticamente significativa. A concentração total do colágeno não mostrou diferença entre tabagistas e o grupo controle. (73.1µg/mg ± 8.0 vs. 69.2µg/mg ± 5.9, respectivamente, p=0,23). Tabagismo está associado a um significativo aumento de fibras do sistema elástico do tecido prepucial. Estes resultados podem, possivelmente, explicar os altos índices de falha na uretroplastia peniana, com uso de *flap* de prepúcio em fumantes.

Palavras chave: Prepúcio; Uretroplastia; Fibras elásticas

## ABSTRACT

It has been speculated by McAninch et al. (1), that smokers might experience worse results after urethral reconstruction. We decided to investigate the extracellular matrix, smooth muscle and vascular density in the foreskin of smoker patients. Foreskin samples were obtained from 20 young adults (ranging in age from 23 to 36 years; mean  $\pm$  SD = 27.2  $\pm$  5.8) submitted to circumcision from July 2008 to October 2009. Of the patients analyzed, one group (n=10) had a previous history of chronic smoking (3 to 13 packs/year, mean = 5.8  $\pm$  3.2) i.e., one pack per day for 3 to 13 years. The control group was composed of 10 non-smoker patients. Foreskin samples were studied by histology and biochemistry. Means were compared using the two-tailed t-test ( $p < 0.05$ ). The elastic system fibers in the foreskin of smoker patients increased in 42.5% when compared to the control group. In contrast, the smooth muscle fibers, vascular density and total collagen concentration did not show any significant variation between smokers and controls. Smoking is associated with a significant increase of elastic system fibers in foreskin tissue. These results could possibly explain the high failure rate of penile urethroplasty in smokers by using foreskin flaps.

Key Words: Foreskin; Urethroplasty; elastic fibers.



## LISTA ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Corte transversal do pênis humano normal.....	15
Figura 2 –	Desenho esquemático da anatomia peniana.....	16
Figura 3 –	Ilustração anatômica das fascias pélvicas, em especial as de Buck e Colles.....	16
Figura 4 –	Ilustração anatômica das estruturas da uretra .....	18
Figura 5 –	Desenho esquemático da vascularização peniana e da uretra.....	19
Figura 6 –	Classificação do prepúcio baseado na presença ou ausência de anel fimótico. ....	20
Figura 7 –	Desenho esquemático da cirurgia de uretroplastia com retalho pediculado de prepúcio.....	24
Figura 8 –	Fotomicrografia do prepúcio de um paciente fumante de 23 anos corado pelo tricrômico de Masson x200 .....	30
Figura 9 –	Fotomicrografia das fibras do sistema elástico do prepúcio.....	33
Figura 10 –	Fotomicrografia da densidade vascular do prepúcio.....	34
Gráfico 1 –	Quantificação percentual das fibras do sistema elástico entre os grupos.....	32
Gráfico 2 –	Quantificação percentual das fibras musculares entre os grupos .....	35
Gráfico 3 –	Densidade vascular entre os grupos.....	35
Figura 11 –	Colágeno .....	36

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Análise estereológica das Fibras do músculo liso e densidade vascular do prepúcio peniano em pacientes fumantes e o grupo controle.....	34
Tabela 2 –	Análise bioquímica do colágeno total do prepúcio peniano em pacientes fumantes e o grupo controle.....	37

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
1	<b>ANATOMIA</b> .....	14
1.1	<b>Anatomia peniana</b> .....	14
1.1.1	<u>Anatomia uretral</u> .....	17
1.1.2	<u>Anatomia do prepúcio</u> .....	19
1.2	<b>Fimose</b> .....	19
1.2.1	<u>Classificação da fimose</u> .....	20
1.3	<b>Estenose de uretra</b> .....	21
1.3.1	<u>Fisiopatologia da estenose de uretra</u> .....	21
1.3.2	<u>Etiologia da estenose de uretra</u> .....	22
1.3.3	<u>Tratamento das estenoses de uretra anterior</u> .....	22
1.3.4	<u>Técnica cirúrgica na correção de estenose da uretra</u> .....	23
1.4	<b>Tabagismo e cicatrização tecidual</b> .....	24
2	<b>OBJETIVO</b> .....	26
3	<b>METODOLOGIA</b> .....	27
3.1	<b>Pacientes</b> .....	27
3.2	<b>Obtenção de amostras</b> .....	28
3.3	<b>Análise histológica e estereológica</b> .....	29
3.4	<b>Análise bioquímica</b> .....	31
4	<b>RESULTADOS</b> .....	32
5	<b>DISCUSSÃO</b> .....	38
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	44
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	45
	<b>APÊNDICE</b> - Structural alterations of human foreskin caused by chronic smoking may explain high levels of urethral reconstruction failure.....	50
	<b>ANEXO A</b> - Comissão de ética.....	58
	<b>ANEXO B</b> - Termo de consentimento informado.....	59
	<b>ANEXO C</b> - Carta de submissão.....	60

# INTRODUÇÃO

## 1 ANATOMIA

### 1.1 Anatomia peniana

“Três corpos eréteis formam a estrutura peniana, além de inúmeras fâscias, nervos, vasos e epiderme. Na extremidade distal do pênis, o corpo esponjoso se expande formando a glândula e proximalmente formando o bulbo, ambos derivados do corpo esponjoso” (WEIN, *et al*, 2007).

Diferentemente do sexo feminino, o sexo masculino apresenta um único órgão, que faz parte do sistema reprodutor e do sistema urinário. Este é composto por três corpos cilíndricos de estrutura erétil: duas destas estruturas são corpos cavernosos, e a terceira é o corpo esponjoso. A maior parte do pênis é formada pelos corpos cavernosos os quais se originam na sínfise púbica. Correm lado a lado separados por um sépto incompleto e estão envolvidos intimamente pela túnica albugínea (Figura 1).

O corpo esponjoso, situado numa posição central, encontra-se deitado ventralmente sobre os dois corpos cavernosos. As três estruturas estão envoltas pela túnica albugínea, e sobre esta túnica encontra-se a fâscia Buck ou profunda, seguida pela fâscia Dartos ou superficial, a derme e a epiderme recobrem estas estruturas (GRAY *et al*, 1988; LATARJET *et al*, 1993; BROOKS, 2002).

A túnica albugínea é constituída por camadas de colágeno, podendo acomodar um considerável grau de pressão intracavernosa antes de sua ruptura. Esta camada fornece ao pênis capacidade de suportar um elevado grau de rigidez e força axial quando ereto, além de flexibilidade quando flácido.

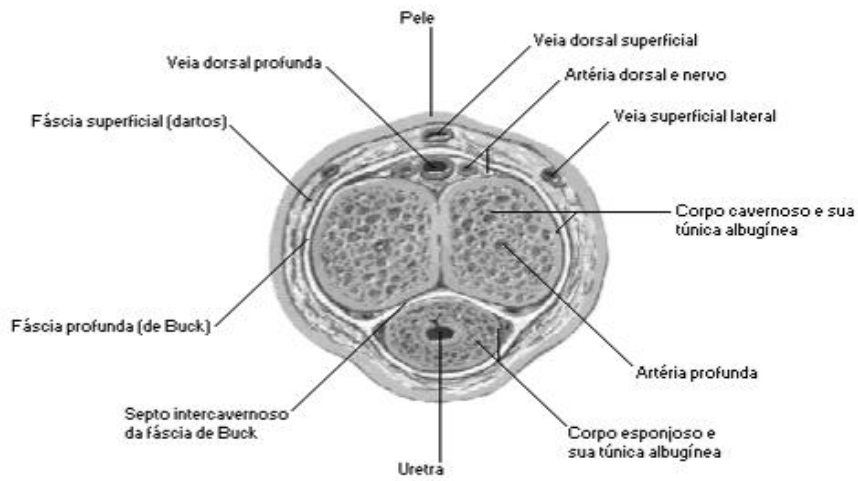
A túnica albugínea recobre tanto os corpos cavernosos quanto o corpo esponjoso, no entanto torna-se mais delgada ao recobrir o corpo esponjoso. A glândula é desprovida de albugínea (figura 2).

A fâscia Buck caracterizada por ser elástica e rígida, envelopa a veia dorsal profunda, artérias dorsais e múltiplas ramificações dos nervos dorsais.

A fásia Dartos é uma camada de tecido aureolar, notável por sua carência em gordura, que se localiza distalmente, entre as duas camadas do prepúcio que recobrem a glânde, seguindo até o períneo, fundindo-se na fásia perineal superior (Colles). No pênis esta fásia encontra-se frouxamente aderida entre a pele e a fásia de Buck e contém musculatura lisa, artérias superficiais, veias e nervos do pênis (CAMPBELL'S UROLOGY, 2003) (figura 3).



Figura 1 - Corte transversal do pênis humano normal (Sampaio)



*Netter*  
©Hovartis

Figura 2. Desenho esquemático da anatomia peniana. (Netter, 1999)

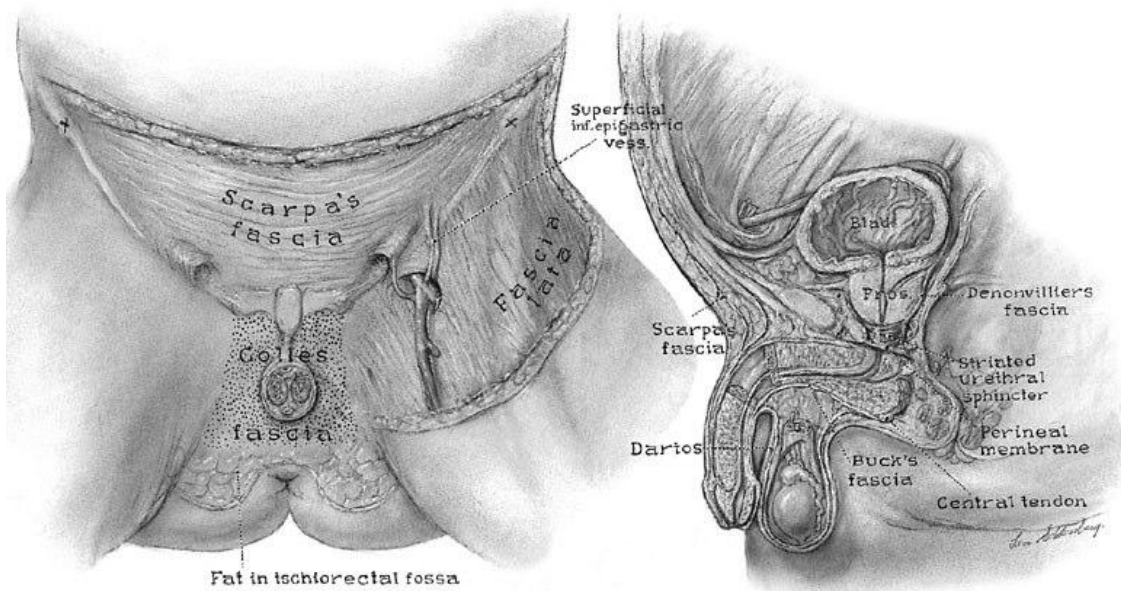


Figura 3: Ilustração anatômica das fâscias pélvicas, em especial as de Buck e Colles. (Campbell's, 2002).

A drenagem venosa do pênis é feita através da veia profunda do pênis, que leva a maior parte do sangue dos corpos cavernosos e do corpo esponjoso para o plexo prostático. A pele e a tela subcutânea são drenadas pela veia dorsal superficial do pênis, tributárias da veia pudenda externa, que drena o sangue para a veia safena magna (GRAY, *et al*, 1988; LATARJET, *et al*, 1993).

“Os vasos linfáticos da pele e prepúcio drenam a linfa para os linfonodos inguinais superficiais. Os linfáticos da glândula e corpos eréteis drenam para linfonodos inguinais profundos, femorais, retrofemorais e pré-viscerais” (GRAY, *et al*, 1988; LATARJET, *et al*, 1993).

“A inervação do pênis é feita por fibras sensitivas, através dos ramos do nervo pudendo, nervo dorsal do pênis e do nervo ilioinguinal. Fibras simpáticas, parassimpáticas e fibras não adrenérgicas e não-colinérgicas, estão relacionadas com o controle da circulação do sangue no pênis” (GRAY, *et al*, 1988; LATARJET, *et al*, 1993).

### 1.1.1 Anatomia uretral

“A uretra é um tubo que, no ato da micção, leva a urina da bexiga para o exterior. No sexo masculino, tem comprimento de aproximadamente 15 a 20 cm, possuindo íntima relação com praticamente todos os órgãos do genital masculino, compartilhando finalidades reprodutivas” (WEIN, *et al*, 2007).

A uretra masculina pode ser anatomicamente subdividida em uretra anterior e uretra posterior, também em uretra cavernosa ou peniana, membranosa e prostática. No entanto, de acordo com o consenso da “World Health Organization Conference” realizado em Estocolmo – 2002, está subdividida em; Fossa navicular, Uretra pendular ou peniana, Uretra bulbar, Uretra membranosa, Uretra prostática e Colo vesical (WEIN, *et al*, 2007) (Figura 4).

A Uretra Anterior tem em média 15 cm de extensão desde o final da uretra membranosa até o meato uretral externo. Divide-se em duas porções no nível do ângulo penoescrotal: uretra bulbar que é mais curta e localizada entre as duas cruras penianas e uretra peniana, localizada entre os dois corpos cavernosos (CHAPPLE, 2004; SUAID, 1995).

“A Uretra Posterior é formada pela uretra prostática e membranosa” (CHAPPLE, 2004; SUAID, 1995). “Nesta porção encontram-se as estruturas funcionais que caracterizam os esfíncteres externo e interno” (SUAID, 1995) (Figura.4). “Localiza-se posteriormente ao

diafragma urogenital, estendendo-se do colo vesical até o final da uretra membranosa, com média de 3 cm de extensão” (CHAPPLE, 2004).

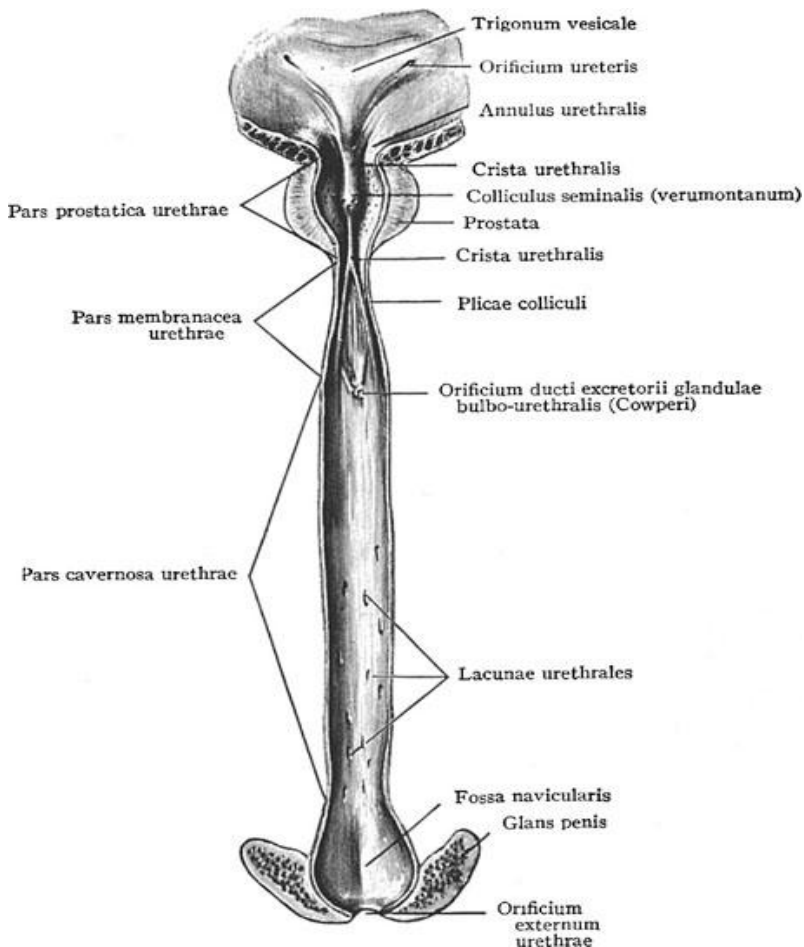


Figura 4: Ilustração anatômica das estruturas da uretra posterior e anterior (Campebell´s, 2002).

A região cavernosa da uretra é recoberta por um epitélio pseudo-estratificado colunar com áreas de epitélio pseudo-estratificado pavimentoso, que repousa sobre uma camada de membrana basal. A região membranosa é recoberta por epitélio pseudo-estratificado colunar e a prostática por epitélio de transição (JUNQUEIRA, *et al*, 2008).

A sua vascularização é compartilhada com a do corpo cavernoso e do pênis. A artéria pudenda interna bifurca-se em dois ramos: a artéria bulbo-uretral e a dorsal peniana. A artéria bulbo-uretral é responsável pela maior parte do segmento proximal da uretra até o seu terço médio, sendo no segmento médio peniano feita pelos ramos bulbares e esponjosos. O segmento mais anterior da uretra é vascularizado principalmente pelo ramo cavernoso da artéria dorsal peniana (CAMPBELL'S UROLOGY, 2003) (figura 5).



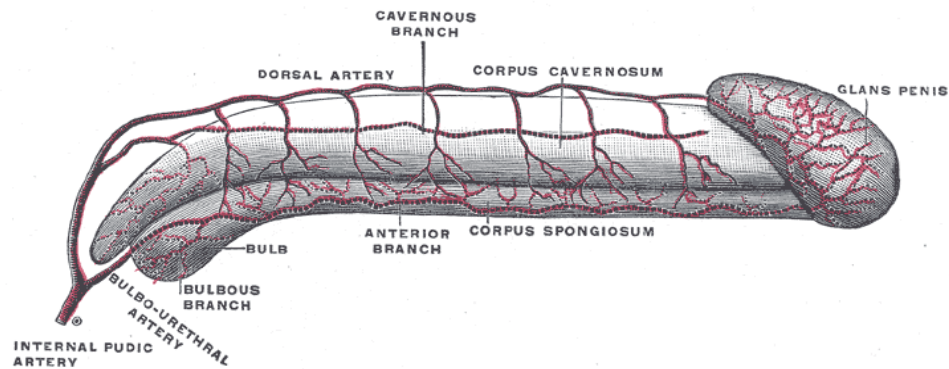


Figura 5. Desenho esquemático da vascularização peniana e da uretra. (Gray's Anatomy, 29a ed, 1977).

### 1.1.2 Anatomia do prepúcio

O prepúcio é uma dobra retrátil de tecido musculocutâneo especializado e muito innervado que cobre e protege a glândula. Após 3 anos de idade, cistos de queratinização acabam por romper as aderências prepúciais existentes e, juntamente com as ereções intermitentes, alargam o anel fimótico, expondo a glândula. Cerca de 80 a 90% dos meninos não circuncidados são capazes de expor a glândula após os 3 anos de idade (ORSOLA, 2000).

## 1.2 Fimose

“Os gregos, pela primeira vez, definiram a ‘glândula recoberta que não pode ser retraída’ como phimosis, pois o radical grego ‘phimos’ tem o significado de laço. A partir de então se define fimose como a presença de excesso de prepúcio recobrindo a glândula, impedindo sua exposição” (BRAZ, 1998; HODGES, 1999).

### 1.2.1 Classificação da fimose

“Existem diversas classificações de fimose, no entanto foi identificada pelos autores uma classificação descrita por Kayaba modificado por Marques, que se adequou para o proposto no estudo” (KAYABA, 1996; MARQUES, 2004) (Figura 6).

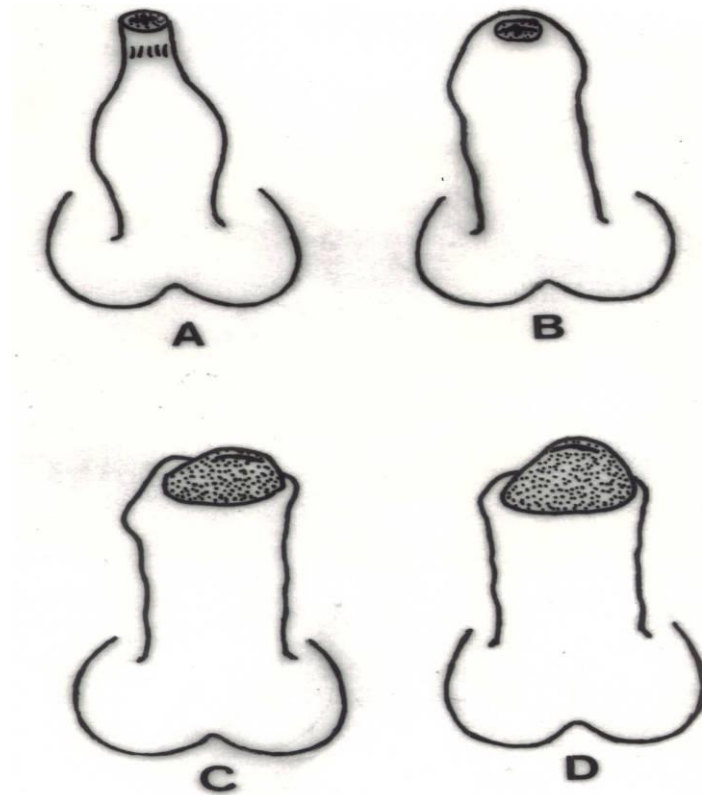


Figura 6 – Classificação do prepúcio descrito por Kayaba modificado por Marques, baseado na presença ou ausência de anel fimótico. A) Tipo A consiste no paciente que não apresenta retração prepucial, B) Tipo B apresenta a exposição apenas do meato uretral, C) Tipo C apresenta exposição de metade da glândula, e D) Tipo D apresenta somente algumas aderências ao sulco coronal (MARQUES, 2004).

### 1.3 Estenose de uretra

“A estenose da uretra masculina é caracterizada por um processo fibrótico, levando à formação de um tecido de baixa complacência, associada à diminuição do calibre da luz do órgão” (FENTON, 2005).

#### 1.3.1 Fisiopatologia da estenose de uretra

“Qualquer injúria do epitélio uretral ou de sua base pode iniciar a estenose da uretra anterior. A cicatriz pode envolver o corpo esponjoso causando uma adjacente espongiofibrose, que contribui com a severidade da estenose” (SANTUCCI, *et al*, 2007, WEIN, *et al*. 2007).

As alterações estruturais da estenose de uretra vêm sendo descritas desde 1975, quando Sigh observou através da microscopia óptica, um aumento da densidade do colágeno e sua desorganização. Onde antes era encontrada uma vasta rede de fibras musculares, foi documentada uma substituição por colágeno denso (SIGH, *et al*, 1975).

A microscopia eletrônica da estenose de uretra em “pig guinea” mostrou inicialmente uma superfície ulcerada que foi substituída por epitélio escamoso estratificado. O tecido da estenose contém miofibroblastos alongados e ilhas de células gigantes multinucleadas. Isto sugere que os miofibroblastos são responsáveis pela formação da estenose e as células gigantes pela produção contínua de colágeno (SCOTT, *et al*, 1980).

“Numa análise estereológica qualitativa e quantitativa do corpo cavernoso de pacientes com estenose de uretra bulbar, autores descrevem uma completa perda de relação entre músculo liso, matriz extracelular e sinusóides associada a aumento de colágeno” (CAVALCANTI, *et al*, 2007).

As glicosaminoglicanas e o colágeno são os principais componentes da matriz extracelular e estudos mostram uma mudança significativa da matriz extracelular na estenose de uretra. Ocorre uma importante diminuição da concentração das glicosaminoglicanas nas estenoses com relação à uretra normal. Enquanto na uretra normal há o predomínio do ácido hialurônico, dermatan sulfato predomina na estenose de uretra. A mudança na composição das glicosaminoglicanas na estenose uretral pode ser fator contribuinte para a baixa complacência uretral na cicatriz uretral causando mudanças funcionais (DA SILVA, *et al*, 2002).

### 1.3.2 Etiologia da estenose de uretra

“A estenose da uretra masculina anterior envolve um espectro de diferentes patologias que causam o estreitamento ou fechamento do lúmen uretral. Apesar disto, foi recentemente descrito que a origem idiopática é a mais comum para as estenoses de uretra anterior” (SANTUCCI, *et al*, 2007).

Na fossa navicular e região peniana distal, ocorrem estenoses causadas por balanite xerótica obliterante e inflamação idiopática da glândula peniana. Na uretra peniana ocorrem as estenoses causadas por reparo cirúrgico das hipospádias, a balanite xerótica e mais raramente os traumas penianos. Nas estenoses de uretra bulbar é comum a associação com traumas (queda a cavaleiro) e infecções gonocócicas (SANTUCCI, *et al*, 2007).

Lesões iatrogênicas relacionadas com procedimentos urológicos endoscópicos ou com o uso prolongado de cateteres uretrais devem sempre ser consideradas.

### 1.3.3 Tratamento das estenoses de uretra anterior

A uretrotomia interna é o procedimento mais utilizado pelos urologistas para o tratamento das estenoses uretrais apesar de seus altos índices de recidiva, principalmente no manejo das estenoses de uretra peniana. Atualmente consideramos como procedimento de escolha apenas em casos selecionados, como estenoses curtas e não traumáticas localizadas na uretra bulbar.

No tratamento não endoscópico das estenoses de uretra anterior devemos considerar que sempre quando possível a ressecção completa do tecido fibrótico, associada à anastomose término-terminal espatulada, deve ser preferida. Porém não devemos esquecer que o tratamento das estenoses de uretra depende de sua localização, extensão e grau de comprometimento do tecido esponjoso, assim como a espongiofibrose decorrente da estenose. Desta forma a uretroplastia anastomótica apresenta limitações em sua aplicabilidade (BARBAGLI, *et al*, 2005).

Características como localização e extensão da estenose, qualidade do tecido uretral e etiologia devem ser considerados no momento de decisão quanto à técnica cirúrgica a ser utilizada. Quando não podemos utilizar a uretroplastia anastomótica, situação comum nas estenoses de uretra peniana, devemos realizar uretroplastias com substituição tecidual utilizando retalhos ou enxertos. A mucosa oral assim como o retalho pediculado do

prepúcio são utilizados para confecção de uretroplastias, com aplicações principalmente em estenoses de uretra bulbar ou peniana. Num estudo randomizado, Dubey descreve que em um follow-up intermediário as duas técnicas não apresentam, em seus resultados, diferenças estatísticas (DUBEY, *et al*, 2007).

Flandry (1993) descreve que o retalho pediculado para tratamento das estenoses penianas possui boa versatilidade com bom suprimento sanguíneo, levando a bons resultados anatômicos e funcionais, com índice de sucesso podendo chegar a 96,7%. Em seus estudos refere que esta é uma boa técnica mesmo naquelas estenoses recorrentes, fistulizadas, infectadas e extensas (FLANDRY *et al*, 1991; 1992; 1993).

Wessels e McAninch (1998), numa meta análise, estudaram o uso de enxerto livre versus retalho pediculado e observaram que não há diferenças das técnicas para o tratamento das estenoses bulbares, porém ao se tratar de estenoses longas de uretra peniana ou naquelas que possuem um leito muito comprometido, o flap pediculado de pele peniana é a principal forma de tratamento, consagrado com um longo follow-up. Contudo para a reconstrução de estenoses de uretra anterior, ambas as técnicas são indispensáveis (WESSEL, *et al*, 1998). Algumas vezes, em estenoses extensas, há necessidade de lançar mão das duas técnicas cirúrgicas (WESSEL, *et al*, 1997).

“Carney (2002) refere-se ao retalho pediculado circular como amplo tecido, podendo atingir 13 a 15 cm sem comprometer a função ou cosmética peniana, destacando a utilização do retalho nas longas estenoses de uretra peniana” (CARNEY, *et al*, 2002).

“Autores acreditam que há alguma superioridade deste método devido a transferência de um tecido vascularizado para a área comprometida, sua versatilidade podendo ser utilizado em um único tempo, ou combinada com outros métodos” (WESSEL, *et al*, 1997; CARNEY, *et al*, 2002; MC ANINCH, *et al*, 1993).

#### 1.3.4 Técnica cirúrgica na correção de estenose da uretra

Há três considerações para o uso de retalhos na reconstrução uretral: a natureza do retalho, a sua vascularização e o mecanismo de transferência utilizado.

“Tratando-se especificamente de retalhos utilizados para reconstrução uretral devemos sempre evitar pele com folículos pilosos, para minimizar as complicações em longo prazo como infecções urinárias e formação de cálculos” (WEIN, *et al*, 2007).

Existe uma diversidade de técnicas cirúrgicas descritas para a confecção de retalhos fásio-cutâneos de pele peniana. Duckett e Standoli descreveram em 1984, a técnica que consiste em transferir a redundância de pele

prepucial ventral ou dorsal, formando uma ilha de pele e aplicá-lo na estenose uretral. Realiza-se uma incisão em dupla circular da pele do prepúcio, isola-se a fáscia Dartos liberando-a da pele peniana e da fáscia de Buck, formando um retalho de pele prepucial nutrido pela Dartos. Após incisão da uretra longitudinalmente no sentido da estenose, aplica-se o retalho sobre esta (WEIN, *et al*, 2007) (Figura 7).

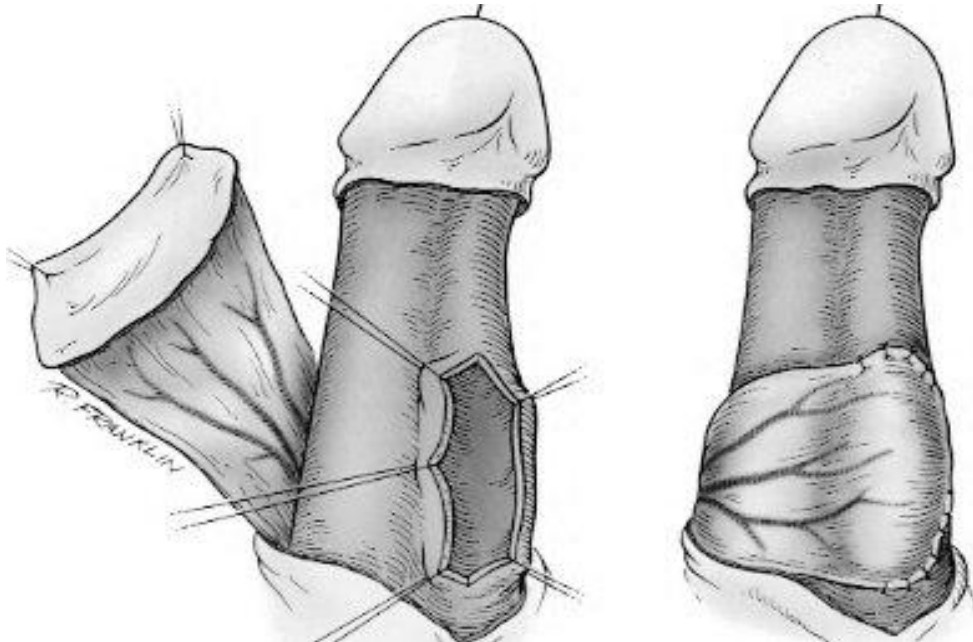


Figura 7. Desenho esquemático da cirurgia de uretroplastia com retalho pediculado de prepúcio. Campbell-Walsh. Urology, pg.1067, 2007. Saunders Elsevier.

#### 1.4 Tabagismo e cicatrização tecidual

Diversos estudos descreveram, clinicamente e experimentalmente, os efeitos deletérios do tabaco na cicatrização tecidual. Porém os mecanismos que levam a estas alterações não são bem conhecidos. Também não estão provadas quais as alterações que levam a um maior índice de necrose nos *flaps* utilizados em fumantes.

Cardoso e cols (2007), demonstraram em um estudo experimental que os animais expostos ao tabaco apresentam um atraso na contração da cicatriz, no recrutamento de células inflamatórias e da diferenciação

dos miofibroblastos. A exposição ao cigarro também afetou o recrutamento de mastócitos e a espessura da nova epiderme (CARDOSO, *et al*, 2007).

Trabalhos demonstram resultados expressivos no índice de falha na utilização de *flaps* cutâneos, nos usuários crônicos de nicotina em relação à população não fumante. O uso do tabaco é um fator independente de complicação pós-operatória, podendo aumentar a falha por necrose do flap em até 4,9%. Sugere-se que os grandes causadores destas alterações são a nicotina e o monóxido de carbono (GOODWIN, *et al*, 2005; PADUBIDRI, *et al*, 2001; ZIMMERMANN-NIELSEN, *et al*, 1997; KAUFMAN, *et al*, 1984).

Whitson e McAninch (2008), descrevem um trabalho retrospectivo em 124 pacientes submetidos à correção de estenose de uretra com retalho pediculado de prepúcio, com bons e duráveis resultados. Numa análise multivariada, afirmam que são fatores predisponentes de falha o tabagismo, hipospádia multitratadas e comprimento da estenose maior que 7 a 10 cm (WHITSON, *et al*, 2008).

São inexistentes os estudos da literatura que analisam a estrutura do prepúcio em pacientes normais e tabagistas.

## **2 OBJETIVO**

O objetivo do presente trabalho é avaliar se ocorrem alterações estruturais do prepúcio em pacientes tabagistas através de métodos histoquímicos, imunohistoquímicos e bioquímicos.



### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 Pacientes

Foi estudado o tecido prepucial proveniente de 20 pacientes adultos, com idade entre 23 a 36 anos (média  $\pm$  DP = 27,2  $\pm$  5,8), submetidos à postectomia, realizada pelo mesmo cirurgião. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no período de julho de 2008 a novembro de 2009, no Hospital Municipal Souza Aguiar - Rio de Janeiro. Os indivíduos submetidos aos procedimentos cirúrgicos foram provenientes do ambulatório de urologia geral e cirurgia reconstrutora.

“Os pacientes tiveram a anatomia prepucial classificada de acordo com estudos prévios” (MARQUES, 2004; KAYABA, 1996).

“Os pacientes participantes da pesquisa estavam inclusos na classificação de Kayaba, nos grupos C e D” (MARQUES, 2004; KAYABA, 1996) (Figura 6).

Foi excluído do presente estudo, pacientes que se enquadravam em outros graus da classificação citada, crianças e pré-adolescentes, pacientes com suspeita clínica de balanite xerótica obliterante ou possibilidade de patologia oncológica em desenvolvimento. Aqueles que apresentavam sinais de balanite inflamatória foram tratados e submetidos à postectomia após sessenta dias do término do tratamento. Nenhum paciente com sinal de doença dermatológica foi incluído no estudo. Pacientes que não assinaram o termo de consentimento informado, ou na sua incapacidade, o responsável, e pacientes que, mesmo e anteriormente, tenham assinado o termo e que no momento da cirurgia manifestaram o desejo de não participar do mesmo foram sumariamente excluídos do estudo.

Todo paciente foi informado verbalmente, de maneira inteligível sobre a técnica operatória, o ato anestésico, a recuperação e as possíveis complicações pós-operatórias. Foi oferecido ao paciente um termo de consentimento informado para o estudo, escrito de forma igualmente inteligível e de fácil interpretação para o leigo. Para pacientes analfabetos, o termo foi lido em companhia de um acompanhante ou familiar. Todos os termos foram assinados pelo

paciente e seu responsável, pelo médico assistente e testemunha (funcionário do ambulatório de urologia). O termo ficará sob a guarda do serviço de urologia por um prazo de 05 (cinco) anos, respeitando os prazos vigentes das normas de documentação médica brasileira.

O objeto do estudo foi executado após aprovação do comitê de ética médica da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (ANEXO).

Dentre os pacientes analisados, 10 possuem história de tabagismo crônico, com carga tabágica entre 3 a 13 maços/ano (média  $\pm$  DP =  $5,8 \pm 3,2$ ), ou seja, um maço de cigarros ao dia durante um ano por 3 a 13 anos. O grupo controle foi composto por pacientes não tabagistas; deste grupo foram excluídos ex-tabagistas mesmo que abstêmios há longa data e usuários de drogas ilícitas.

### **3.2 Obtenção de amostras**

A técnica cirúrgica utilizada na confecção da circuncisão consiste na realização de uma incisão circular a 1 centímetro da glândula e outra incisão circular há aproximadamente 2 ou 3 centímetros da primeira incisão, sendo o suficiente para a exeresse do excesso do prepúcio. Estas incisões compreendem a derme e epiderme juntamente com a fásia Dartos do pênis. Hemostasia com eletrocautério e anastomose das bordas cruentas com fio absorvível monofilamentar, foi realizada rotineiramente de acordo com a técnica habitual (ELDER, 2007).

Durante a coleta do material foi identificada a porção ventral e dorsal do tecido, com ponto de nylon na porção ventral. O tecido prepucial foi analisado em duas áreas diferentes, a região ventral e região dorsal.

Nos pacientes submetidos à intervenção cirúrgica, logo após a ressecção, o excesso do prepúcio retirado foi fixado por imersão em solução de formalina tamponada a 10% (pH =7,2), por um período de 24 a 48 horas, o material para análise bioquímica foi fixado em acetona refrigerada.

### 3.3 Análise histológica e estereológica

O material em formalina foi processado para inclusão em parafina e posteriormente submetido a técnicas histoquímicas e imunohistoquímicas.

Foram obtidos cortes de 5µm de espessura os quais foram submetidos a diferentes colorações. Foram obtidos 10 cortes de cada uma das amostras e contados 5 campos aleatórios por corte totalizando 50 campos por indivíduo para cada uma das técnicas utilizadas.

Os cortes foram inicialmente corados por H&E verificando-se a homogeneidade do tecido, com o material em bom estado seguia-se com o estudo, caso contrário desprezava-se este material.

A observação, caracterização e quantificação do músculo liso, vasos e dos elementos fibrosos do tecido conjuntivo, (colágeno e fibras do sistema elástico) foram feitas em cortes corados pelo Tricrômico de Masson, Vermelho de Picrosírius e Resorcina-fucsina de Weigert com prévia oxidação pela oxona.

A especificidade da coloração para o sistema elastico foi confirmada por meio de imunohistoquímica utilizando-se o anticorpo anti-elastina (monoclonal, E 4013 Sigma Saint Louis, MO, USA).

Para o anticorpo primário foi utilizado um controle negativo e controle positivo, usando fragmentos de tecido que apresentam os antígenos pesquisados.

Os cortes foram desparafinados em xilol, hidratados em uma série decrescente de álcool etílico até água, e lavados em tampão fosfato tamponado por 5 minutos. As lâminas foram encubadas em PBS 1% na estufa a 37 °C, durante 5 minutos e posteriormente tripsinizadas na estufa 37 °C, durante 30 minutos como procedimento para recuperação antigênica. Em seguida foram lavadas em PBS 1%, por 5 minutos e colocadas em solução de peróxido de hidrogênio a 0,3% em metanol por 10 minutos. Lavados em PBS. Incubados com anti-soro primário a 4 °C durante 12 horas.

Os cortes foram lavados em PBS e incubados com anti-soro secundário. Lavados novamente em PBS 1%, seguido da adição do cromógeno DAB lavado em água corrente, desidratados, clarificados e montados.

A quantificação dos elementos teciduais foi feita através do método estereológico. O parâmetro estereológico utilizado para estimar o conteúdo das fibras do sistema elástico, colágeno e muscular foi densidade volumétrica ( $V_v$ ).

Todos os elementos estudados foram quantificados por meio de métodos estereológicos que determinam parâmetros tridimensionais a partir de cortes bidimensionais, sendo obtida através do sistema de contagem de pontos com o programa Image J. As imagens foram adquiridas em microscópio Olympus BX-51 com uma câmera acoplada Olympus DP70, com aumento de 200X para fibras musculares e vasos sanguíneos e 400X para fibras do sistema elástico, seguindo padrões pré-estabelecidos por Mouton 2002, (Mandarin-de-lacerda 1995 e Gundersen 1988) (Figura 8).

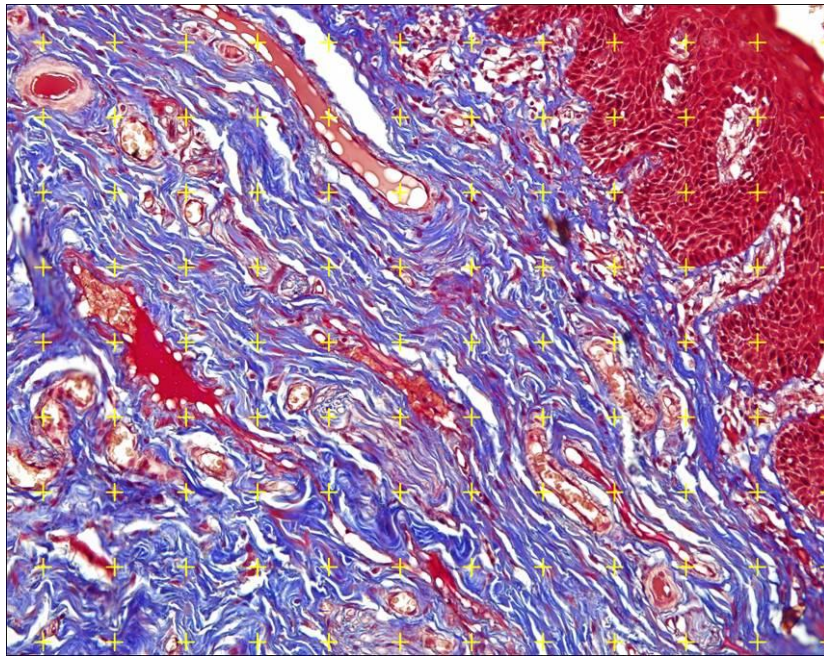


Figura 8: Fotomicrografia do prepúcio de um paciente fumante de 23 anos corado pelo tricrômico de Masson x200. Podemos observar a técnica de quantificação utilizada.

### 3.4 Análise bioquímica

Para a análise bioquímica as amostras fixadas em acetona refrigerada permaneceram no produto químico por 24 h a 4 graus Celsius. Posteriormente as amostras foram submetidas a dois ciclos de 24 h cada de 40 ml de solução de clorofórmio/metanol (2:1 v/v) à temperatura ambiente. O solvente foi então decantado e depois de submetido à estufa na temperatura de 60 graus Celsius por 30 minutos e foi obtida e pesada uma amostra de tecido seco e delipidado.

A concentração do colágeno total no tecido uretral foi obtida através de um estudo colorimétrico com hidroxiprolina. Uma amostra de 5 a 14 mg de tecido desidratado e delipidado foi hidrolisado em uma solução de 6NHCL por 18 hs a 118 graus Celsius, como descrito previamente por Cabral (2003). As amostras foram então encaminhadas para uma neutralização por hidrolização utilizando-se o método de chloramin T, utilizando os métodos de como descrito por Bergman (1963). Os resultados foram expressos em miligramas de hidroxiprolina por miligrama de tecido seco delipidado.

Os dados foram coletados e analisados através de estatística descritiva de todos os parâmetros. Os resultados foram apresentados em tabelas e histogramas de frequências. Os dados estatísticos foram analisados a partir do programa GraphPad Prism. Foi utilizado o teste T não pareado, para verificar a validade estatística, sendo considerado com significância estatística um valor de  $p < 0,05$ .

## 4 RESULTADOS

O tecido prepucial foi analisado em duas áreas diferentes, a região ventral e região dorsal. Não foi observado, em não fumantes, qualquer diferença estatística entre as áreas ventrais e dorsais das fibras do sistema elástico ( $p=0,32$ ), densidade vascular ( $p=0,27$ ) e músculo liso ( $p=0,46$ ). Com essa informação estatística, o autor optou por não manter a diferenciação entre a região dorsal e ventral durante o andamento do estudo.

A análise estereológica mostrou um aumento significativo na densidade volumétrica das fibras do sistema elástico do prepúcio do paciente tabagista em relação ao não tabagista ( $45.6 \pm 10.1$  vs.  $32 \pm 6.3$  respectivamente;  $p < 0,002$ ). O prepúcio do paciente fumante apresenta um aumento do percentual da densidade das fibras do sistema elástico de 42,5%, em relação ao grupo controle. (Gráfico 1; Figura 9).

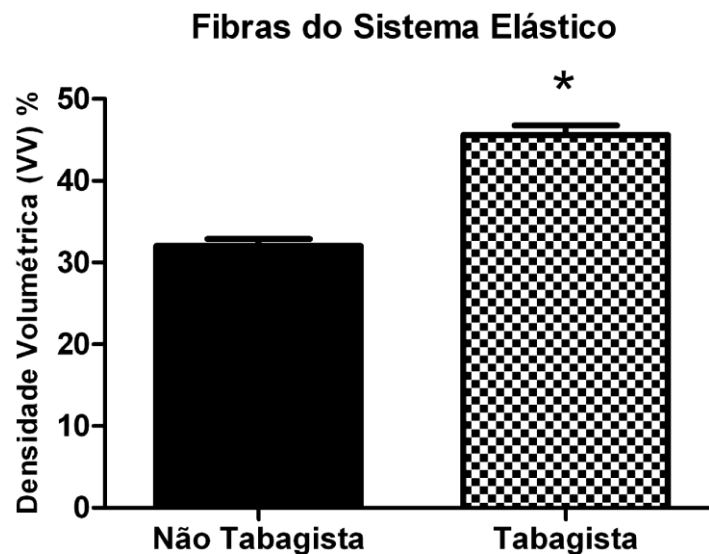


Gráfico 1 - Quantificação percentual das fibras do sistema elástico entre os grupos ( $P^* < 0,002$ ).



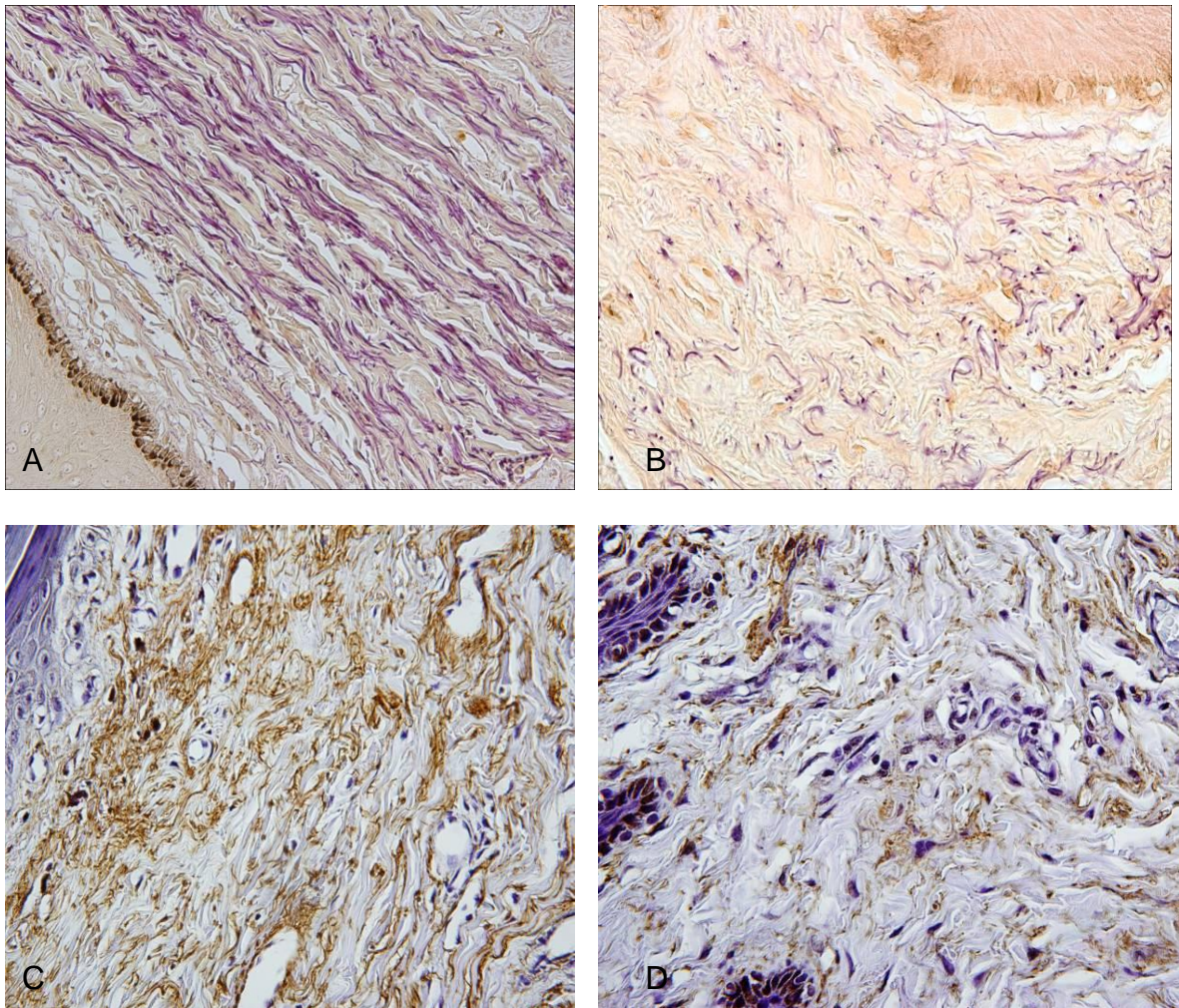


Figura 9: Fotomicrografia das fibras do sistema elástico do prepúcio. A) Paciente tabagista de 28 anos. Weigert x400. B) Paciente não fumante de 28 anos. Weigert x400. Visível aumento das fibras do sistema elástico (marrom) no paciente tabagista quando comparado ao controle. C) Imunohistoquímica com anti-elastina do prepúcio de um paciente tabagista de 32 anos mostrando fibras do sistema elástico (marrom). Anticorpo anti-elastina x400. D) Imunohistoquímica com anti-elastina do prepúcio de um paciente não fumante de 30 anos, mostrando menor quantidade de fibras do sistema elástico (marrom). Anticorpo anti-elastina x400.

A quantificação das fibras musculares não mostrou alteração estatisticamente significativa na densidade volumétrica quando comparamos o paciente tabagista ao controle. ( $p=0,42$ ). Quando comparadas as densidades do sistema vascular entre os grupos, observamos um decréscimo de 7,57% nos pacientes tabagistas, no entanto sem significância estatística ( $P=0,16$ ) (Tabela 1; Figura 10; Gráfico 2; Gráfico 3).

Tabela 1 - Análise estereológica das Fibras do músculo liso e densidade vascular do prepúcio em pacientes fumantes e o grupo controle.

	Músculo liso		Densidade Vascular	
		%		%
	Controle	Fumante	Controle	Fumante
Média	12.46	13.0	10.17	9.44
DP	1.88	1.00	1.22	0.97
Valor de p	0,4297		0,1623	

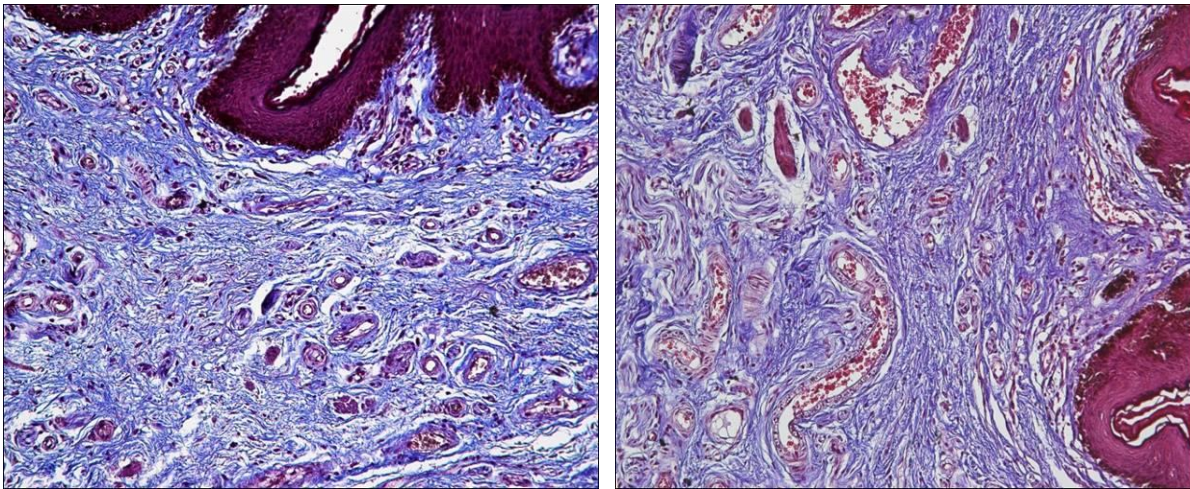


Figura 10: Fotomicrografia da densidade vascular do prepúcio. A) Paciente tabagista de 35 anos. Tricrômico de Masson x200. B) Paciente não fumante de 26 anos. Tricrômico de Masson x200.



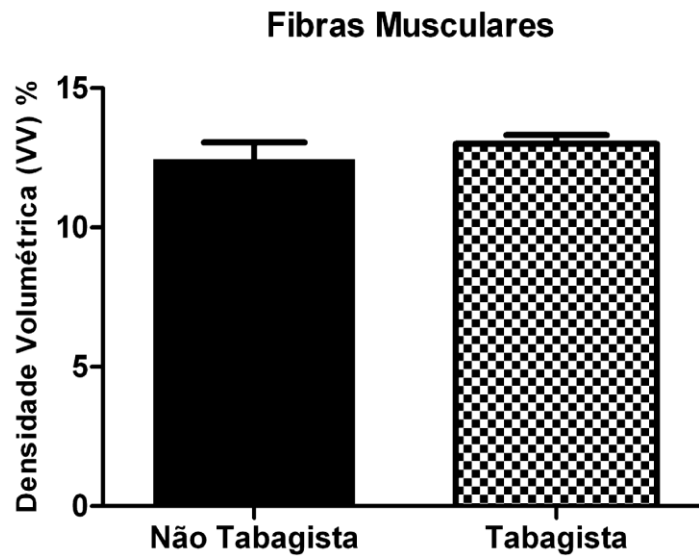


Gráfico 2 - Quantificação percentual das musculares entre os grupos ( $P > 0,05$ )

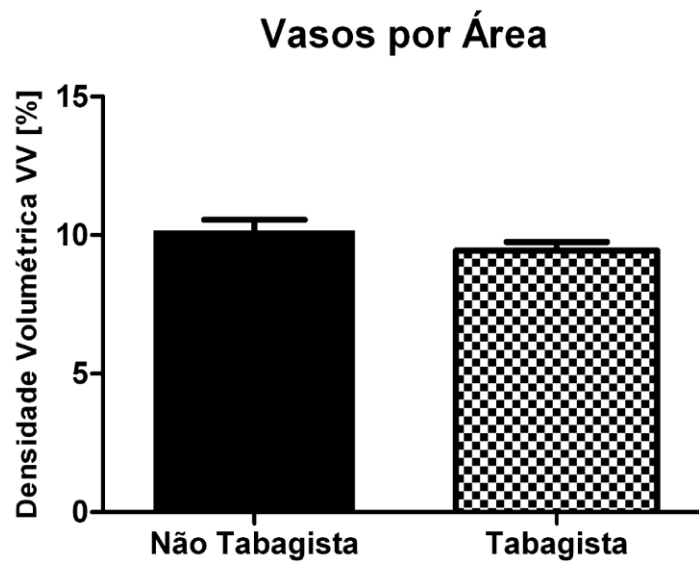


Gráfico 3 - Densidade vascular entre os grupos ( $P = 0,16$ )

A análise qualitativa feita através do método de coloração pelo Vermelho de Picrosirius e observada sob luz polarizada, mostrou a existência de uma diversidade de tipos de colágeno no tecido prepucial, caracterizado pela presença de colorações variando do vermelho e alaranjado ao verde, sem diferenças entre os dois grupos (Figura 11).

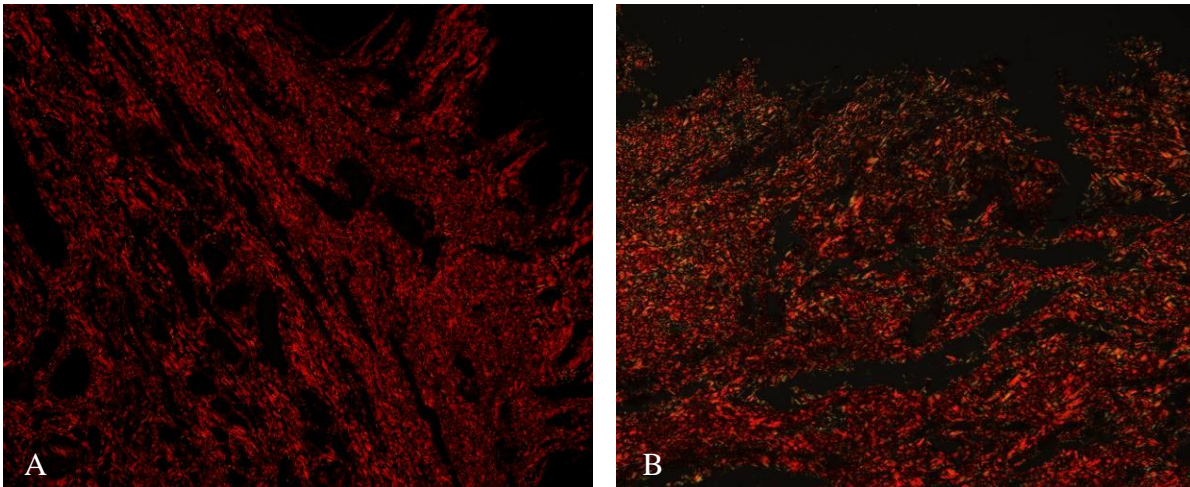


Figura 11: Colágeno A) Vermelho de Picrosirius sob luz polarizada x200, em paciente tabagista de 28 anos. B) Paciente não fumante de 30 anos. Vermelho de Picrosirius sob luz polarizada x200.

A concentração total do colágeno quantificada por análise bioquímica do realizada pelo método de hidroxiprolina no grupo controle foi de  $69.2\mu\text{g}/\text{mg} \pm 5.9\mu\text{g}/\text{mg}$ . Nas amostras de tecido prepucial em pacientes tabagistas foi de  $73.1\mu\text{g}/\text{mg} \pm 8.0\mu\text{g}/\text{mg}$ . A análise das amostras não demonstrou variação significativa estatisticamente ( $p=0.23$ ) (Tabela 2)

Tabela 2 - Análise bioquímica do colágeno total do prepúcio peniano em pacientes fumantes e o grupo controle.

	Colágeno total		%
	Controle	Fumante	
Média	69.19	73.08	
DP	5.9	8.0	
Valor de p	0,2333		

## 5 DISCUSSÃO

A postectomia vem sendo utilizada desde a antiguidade como um dos mais antigos procedimentos cirúrgicos. Desenhos em cavernas revelam rituais do procedimento da idade paleolítica e em tumbas notam-se rituais datados do ano 2.400 a.C.

“Este procedimento começou a ser questionado em meados do século XX. Preocupados com a alta taxa de circuncisão neonatal mundial, estudos britânicos avaliaram custos e benefícios, desencorajando a necessidade do procedimento” (ALANIS E LUCINDI, 2004)

“Gairdner (1949), publicou a “História Natural do Prepúcio”, demonstrando que a exposição da glândula ocorre em torno dos cinco anos, na grande maioria dos meninos. A partir desta publicação, pode-se observar uma redução paulatina nas taxas de circuncisão na Europa” (ALANIS E LUCINDI, 2004, GAIRDNER, 1949).

A Academia Americana de Pediatria e o Colégio Australiano de Pediatria, em 1989, revisaram sua posição de anos anteriores, que defendia a circuncisão. Publicaram um manual em que demonstraram a inexistência de indicação médica para tal procedimento cirúrgico de rotina. Diz, ainda, que se trata de um procedimento com vantagens e benefícios médicos comprovados, mas que também possui desvantagens e riscos. (ALANIS E LUCINDI, 2004; LANNON C.M. *et al.*, 1999)

Além do ponto de vista ético e moral de um procedimento que alguns autores afirmam ser um procedimento que infringe os direitos humanos, existem inúmeras complicações que podem ser observadas, como necrose de glândula, necrose de pele peniana, estenose de meato uretral, hemorragias e infecções, desmitificando o tabu que este é um procedimento livre de riscos. (ALANIS E LUCINDI, 2004; LANNON C.M. *et al.*, 1999)

“Vale lembrar que crianças com deformidades penianas, tais como hipospádias, chordee sem hipospádia, micropênis, grande hidrocele ou hérnia não devem ser submetidas à postectomia antes destas condições serem adequadamente corrigidas” (ELDER J. S., 1997)

Hoje em dia, com novas e avançadas técnicas cirúrgicas, utiliza-se o prepúcio para a reconstrução de estenoses complexas da uretra peniana, facilitando seu tratamento e aumentando índices de cura em tão delicada patologia; o que não ocorreria em caso de prévia circuncisão neonatal.

Baseado nos argumentos acima citados, a realização do procedimento cirúrgico passou a ser discutida com os pais após esclarecimentos sobre os possíveis benefícios, assim como as

complicações inerentes ao ato cirúrgico e o possível uso do material prepucial em futuras cirurgias reconstrutoras, respeitando-se os fatores sociais, culturais e religiosos.

O excesso de prepúcio pode ser classificado em diversos graus, mostrando diferentes apresentações clínicas, tais como, fimose cerrada, cisto de esmegma, balanite xerótica obliterante, parafimose, obstrução distal ao fluxo urinário, infecção urinária, devido à retenção de urina ao redor da glândula, fimose cicatricial e até mesmo um grande excesso prepucial sem alterações clínicas.

Devido a esta grande variedade de apresentações, fez-se necessário padronizar a classificação da fimose, com o intuito de interpretar os achados clínicos e melhor classificar os pacientes deste estudo.

Diversas classificações relatadas na literatura utilizam tanto a retração quanto a aparência do prepúcio, incluindo a presença ou não do anel fimótico.

Gairdner (1949) foi o primeiro a classificar casos de fimose de acordo com a retração do prepúcio, enfatizando a presença de anel fimótico, em quatro tipos. Tipo I, quando o prepúcio encontra-se em excesso e o orifício prepucial diminuído, até o Tipo VI, quando o prepúcio se apresenta redundante ou exuberante, sem qualquer área de constrição.

Kikiros *at al*, (1993), observaram a necessidade de uma classificação mais detalhada, instituindo um novo escore que varia de 0 a 5 quando se analisa a retração, e de 0 a 3 quando se avalia a aparência do prepúcio. Desta forma se obtém um diagnóstico preciso, no entanto nesta classificação, a retratibilidade gera dúvida entre o grau 3 e 4.

Outras classificações como a Marzaro *at al*, (1997), Braz (1998), Kaiss *at al*, (2001), surgiram na tentativa, sem sucesso, de melhor detalhar os tipos de apresentação da fimose.

Também Kayaba *at al*, (2001), classificaram a fimose em quatro tipos, de acordo com a retração do prepúcio, variando de nenhuma retração prepucial, até fácil exposição de toda glândula, valorizando a presença do anel prepucial.

Diante destas múltiplas classificações, fez-se necessário decidir qual a mais adequada a ser utilizada neste trabalho, enfocando todos os aspectos importantes como a retração e a aparência do prepúcio.

O autor acredita que talvez a classificação mais adequada seja uma mescla das classificações de Kayaba *et al*, (2001) e a Kikiros *et al*, (1993) facilitando assim a padronização dos pacientes, melhor detalhando tanto o diagnóstico clínico, quando exame físico peniano.

No entanto, optou-se pelo enquadramento dos pacientes na classificação de Kayaba, sendo os pacientes com prepúcio tipo C e D aqueles incluídos no estudo, o que supriu perfeitamente as necessidades do presente estudo (KAYABA *et al*, 2001) (Figura 6).

Sabendo que esta é uma classificação utilizada em pacientes de menor idade, o autor extrapolou os limites de idade na intenção de uniformizar os pacientes, por tanto foi utilizado esta classificação para identificar o grau de retração prepucial o que não prejudica o presente estudo.

Considera-se a reconstrução de estenoses uretrais um dos mais antigos problemas da cirurgia reconstrutora, que representa um grande desafio aos cirurgiões (ANGERMEIER, 1994).

“Existem, pois, diversas técnicas para o tratamento das estenoses uretrais, variando desde uretrotomia interna, ressecção da estenose com anastomose término-terminal e técnicas de substituição com enxertos ou retalhos” (WEIN, *et al*, 2007). “A técnica com uso de retalho peniano distal foi descrita por Quartey (1983), e tem sido utilizada desde então com bons e duráveis resultados, nas últimas três décadas” (OLAJIDE, 2010; WEIN, *et al*, 2007).

A pele peniana distal, também conhecida como prepúcio, possui características que a tornam um excelente retalho para sua utilização nas reconstruções uretrais. O fato de não possuir pêlos e possuir elasticidade, podendo atingir grandes dimensões são importantes fatores. A garantia de um bom pedículo de túnica Dartos, ricamente vascularizado por vasos superficiais da artéria pudenda externa, músculo liso e tecido areolar, podendo alcançar desde o meato uretral externo até a uretra prostática e ser facilmente manipulado por cirurgiões urologistas, corroboram para que este seja o retalho mais utilizado neste meio (OLAJIDE, 2010).

O uso do prepúcio possui um papel muito importante no manejo das estenoses de uretra e também na correção das hipospádias. Este pode ser utilizado de diferentes formas, retirado de diferentes porções e ângulos, além da versatilidade de poder ser implantado tanto na porção ventral como dorsal da uretra, sempre de acordo com a escolha e técnica do cirurgião.

“Diferentes técnicas cirúrgicas surgiram desde que Quartey e Duckett descreveram o uso do *flap* pediculado transverso retirado da face dorsal do prepúcio. Nesta técnica a ilha de prepúcio, sustentada pela dartos é rodada ventralmente para alcançar o sítio do defeito uretral” (MUNGADI, 2006).

“Recentemente autores descrevem o uso de *flap* pediculado proveniente da porção ventral peniana, podendo ser colhido de diferentes maneiras como; ventral transverso, ventral oblíquo e ventro-lateral, tendo bons e comparáveis resultados” (MUNGADI, 2006; CAVALCANTI, 2003).

O suprimento sanguíneo para o prepúcio surge da artéria pudenda externa inferior. Existem quatro ramos desta artéria, dois entram na fáscia superficial dorso-lateralmente (laterais superiores) e dois entram ventro-lateralmente (laterais inferiores) na região peniana, portanto o suprimento sanguíneo tanto da porção dorsal quanto da porção ventral do prepúcio nos parece similar, o que não diferenciaria o resultado entre as técnicas citadas.

Avaliando os tecidos das regiões ventral e dorsal do prepúcio por meios histológicos, verificou-se que são tecidos análogos, sem dissemelhanças entre densidade vascular ( $p=0,27$ ), músculo liso ( $p=0,46$ ) e fibras do sistema elástico ( $p=0,32$ ).

Diante desta afirmativa podemos considerar que ao se tratar de fatores histológicos da matriz extra celular, musculatura lisa e densidade vascular, não há desconformidade entre os tecidos, podendo o cirurgião optar entre diferentes técnicas cirurgicas sem aumento da morbidade do procedimento.

Mesmo sendo, o prepúcio, uma das melhores opções para a reconstrução uretral, ainda hoje nos deparamos com alarmantes índices de deiscência de sutura e fístulas.

“Num estudo de Whitson e McAninch (2008), foi especulado que os fumantes possivelmente apresentam piores resultados após reconstrução uretral com a utilização do prepúcio, contudo, nenhuma evidencia estrutural do tecido foi reportado até esta data” (WHITSON *et al*, 2008).

Inúmeros autores têm descrito os efeitos deletérios do tabaco no processo de cicatrização. Num estudo observacional prospectivo de 7.224 cirurgias plásticas, foi observado que os tabagistas apresentam significativamente maior distorção do contorno da cicatriz o que prova severas alterações no processo cicatricial, causadas por possíveis alterações estruturais da pele. (DIXON, 2009)

“Tabagistas vivenciam maiores índices de necrose em reconstrução de mama com *flap* pediculado, autores descrevem que os riscos podem aumentar em até 4.9 vezes” (PADUBIRI *et al*, 2001). Réus (1992) em um estudo com pacientes submetidos a cirurgia plástica com retalhos de pele, observou que tabagistas possuem aumento significativo ( $p=0,03$ ) de isquemia das bordas do tecido utilizado.

“Em estudo empírico e experimental, foram evidenciados abundantes efeitos deletérios relativos ao tabagismo relacionado com *flap* de pele. Os efeitos do tabagismo são duradouros, mantendo altos riscos de necrose do tecido, mesmo interrompendo o hábito dois meses antes da cirurgia” (MANCHIO *et al*, 2009).

O autor fora incitado a investigar a matriz extracelular, musculatura lisa e a densidade vascular no prepúcio de pacientes fumantes, com o intuito de possivelmente melhor elucidar as causas que levam a estas complicações pós-operatórias.

No estudo não houve diferença estatística quanto à densidade vascular ( $p=0.27$ ), entre fumantes e o grupo controle.

Diversos autores descrevem que o suprimento sanguíneo do tecido no sítio da reconstrução está habitualmente reduzido causado pelo componente mais ativo do tabaco, a nicotina. Este componente sabidamente provoca uma vasoconstrição, provavelmente momentânea e concomitante ao uso do tabaco, que reduz drasticamente o fluxo sanguíneo prejudicando a cicatrização de feridas e reduzindo a quantidade de oxigênio que chega aos tecidos. (RÉUS, 1992)

Para acessar os possíveis efeitos prejudiciais do cigarro nas funções vasculares da pele do prepúcio, todos os lúmens vasculares foram contados separadamente. A impossibilidade da diferenciação da micro vascularização foi uma limitação no presente estudo, pois tornou-se impraticável a detecção de alterações na micro vascularização, possivelmente devido ao método utilizado. A medida do diâmetro dos vasos sanguíneos poderia servir como outro parâmetro, entretanto, estas medidas teriam sofrido o mesmo problema de visibilidade dimensional parcial.

“Estudos descrevem que a síntese do colágeno no subcutâneo em tabagistas está especificamente impedida, indicando uma deficiência no processo de cicatrização” (GALTAZ *et al*, 2006). De acordo com o autor, sob a influência da nicotina, existe uma diminuição da expressão do RNA do colágeno tipo I.

Não há um consenso, no entanto, no que se diz respeito ao fato de que, sob influência da nicotina, realmente há uma redução na síntese de colágeno.

Outrossim, Machado (2007), num estudo com coelhos submetidos a doses de nicotina, não observou reduções na densidade de colágeno em cicatrizes da bexiga após o processo de cicatrização.



Os resultados da concentração total do colágeno, apresentados no presente estudo, obtidos através de análises bioquímicas, apesar de mostrarem um aumento na concentração do colágeno total em pacientes fumantes, não apresentaram significância estatística.

Anormalidades nas fibras do sistema elástico foram propostas por Francês (1991), que por sua vez descreveu que as fibras do sistema elástico, da pele não exposta ao sol, encontram-se aumentadas em seu número, calibre e apresentam-se mais fragmentadas nos fumantes do que em não fumantes. Estas alterações encontradas nas fibras do sistema elástico estão em confluência daquelas já vistas, causadas pelo dano solar, com exceção que a derme papilar permaneceu inalterada. De acordo com os autores a localização do dano causado pelo uso do tabaco, pode estar relacionada à distribuição vascular de substâncias tóxicas do cigarro.

Body (1999), comparando a pele exposta ao sol, das bochechas e da região frontal de 17 fumantes e 14 não fumantes reportou um aumento da elastose em fumantes.

Recentemente Just (2007), apontou que o tabagismo é um fator independente de aumento das fibras do sistema elástico na derme não exposta ao sol, concluindo que esta afirmação deve-se a seus dois principais componentes estruturais, a elastina e seu componente microfibrilar.

Assim como o declarado pelos autores supracitados, com base nos achados desta pesquisa, foi observado um aumento de 42,4% das fibras do sistema elástico do prepúcio quando comparadas ao grupo controle.

Estes dados nos permitem supor, que o aumento nos índices de necrose do prepúcio quando utilizado em retalhos fasciocutâneos pediculados nas correções de estenoses de uretra peniana, provavelmente ocorrem devido a profundas alterações estruturais, como as descritas acima neste estudo.

Chamou a atenção no presente estudo, o fato da matriz extracelular estar alterada, para tal, o autor adverte que o uso de retalhos fasciocutâneos pediculados de prepúcio devem ser realizados com cautela em fumantes. Estes devem ser fortemente encorajados a parar de fumar antes da cirurgia, sendo alertados dos efeitos deletérios do cigarro em relação à cirurgia.

Os efeitos adversos do tabagismo na função da pele prepucial, poderia ser usado na educação em saúde, desencorajando as pessoas começarem a fumar e incentivando fumantes atuais a pararem.

## 6 CONCLUSÃO

O prepúcio de pacientes fumantes apresentou um aumento significativo das fibras do sistema elástico. Nenhuma outra alteração estrutural significativa foi encontrada em nosso estudo. Essas alterações no prepúcio de fumantes poderiam explicar o maior índice de falha no uso de retalhos em pacientes tabagistas.

## REFERÊNCIAS

ALANIS, M.; C. E LUCINDI, R.R. **Neonatal circumcision: a review of the world's oldest and most controversial operation.** *Obstet Gynecol Surv.* v.59, n.5, May, p.379-95, 2004.

ANGERMEIER, K.W.; JORDAN, G.H.; SCHLOSSBERG; S.M. **Complex urethral reconstruction.** *Urol Clin North Am.* 21:567-81, 1994

BARBAGLI, G. *Et al.* **Bulbar urethroplasty using the dorsal approach: current techniques.** *Int. Braz J Urol.* [online], vol.29, n.2, pp. 155-161. ISSN 1677-5538, 2003.

BARBAGLI, G. *Et al.* **Bulbar Urethroplasty using buccal mucosa grafts placed on ventral, dorsal or lateral surface of the urethra: Are results affected by the surgical technique?** *J Urol.* 174: 955-958, 2005.

BERGMAN, I.; LOXLEY, R. **Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline.** *Anal Biochem* ;35:1961-65, 1963.

BOYD, A.S. *et al.* **Cigarette smoking-associated elastotic changes in the skin.** *J Am Acad Dermatol.* 41: 23-26, 1999.

BRAZ, A. **Curso de patologias cirúrgicas do pênis e escroto na criança.** *Pediatria Atual* v.11, n.6, p.54-66, 1998.

BROOKS, J.D. **Anatomy of the lower urinary tract and male genitalia.** In: WALSH P.C. *et al.* *Campbell's Urology.* 8.ed. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier Science. vol. 1, pp. 72-75, 2002.

CABRAL, C.A.P.; SAMPAIO, F.J.B.; CARDOSO, L.E.M. **Analysis of the modifications in the composition of bladder glycosaminoglycan and collagen as a consequence of changes in sex hormones associated with puberty or oophorectomy in female rats.** *J Urol.* 170:2512-2516, 2003.

CARDOSO, J.F. *et al.* **Effects of cigarette smoke in mice wound healing is strain dependent.** *Toxicol Pathol.* 35(7):890-6, 2007.

CARNEY, K.J.; MCANINCH, J.W. **Penile circular fasciocutaneous flaps to reconstruct complex anterior urethral strictures.** *Urol Clin North Am.* May;29(2):397-409, 2002.

CATHCART, P. **Trends in pediatric circumcision and its complications in England between 1997 and 2003.** *Br J Surg.* 93: 885-90, 2006.

CAVALCANTI, A.G. *et al.* **A morphometric analysis of bulbar urethral strictures.** *BJU Int.* 100 (2): 397-402, 2007.

CHAPPLE, C. *et al.* **Consensus statement on urethral trauma.** BJU vol.93 (9), pp1195-1202.

CHUC, C.; CHEN, K.C.; DIAU, G.Y. **Topical steroid treatment of phimosis in boys.** J. Urol. 162(3pt1): 861-3, 1999.

DA-SILVA, E.A. *et al.* **Extracellular Matrix Changes in Urethral Stricture Disease.** J Urol. 168(2), 805-807, 2002.

DARBY, R. J. **Medical history and medical practice: persistent myths about the foreskin.** Med J Aust. v.178, n.4, Feb 17, p.178-9, 2003.

DUBEY, D. *et al.* **Dorsal onlay buccal mucosa versus penile skin flap urethroplasty for anterior urethral strictures: results from a randomized prospective trial.** J. Urol. Dec;178(6): 2466-9, 2007.

DIXON, A.J. *et al.* **Prospective study of skin surgery in smokers vs. nonsmokers.** The British Journal of Dermatology. 160(2): 365-367, 2009.

DUCKETT, J.W. **The island flap technique for hypospadias repair:** Urol. Clin. North Am. 8:503 – 512, 1981.

ELDER, J.S. **Circumcision.** BJU international. Jun; 99(6): 1553-64, 2007.

ELDER, J.S. **Abnormalities of the genitalia in boys and their surgical management.** Campbell-Walsh Urology.- 9th ed , Philadelphia, Saunders Elsevier 2007(4): 3745-3750.

ELMORE, J.M.; BAKER, L.A.; SNODGRASS, W.T. **Topical steroid therapy as an alternative to circumcision for phimosis in boys younger than 3 years.** J Urol. 168: 1746-1747, 2002.

FENTON, A.S. *et al.* **Anterior urethral strictures: etiology and characteristics.** Urology. 65:1055-1058, 2005.

FLANDRY, L. **One-stage surgical correction of complex urethral stenoses with a pedicled skin graft.** Ann Urol. 25(5): 227-35, 1991.

FLANDRY, L. **Single-stage urethroplasty using a mobile pedicled cutaneous flap: Value of the extension patch and the tubular flap.** J.Urol. 98(3):129-35, 1992.

FLANDRY, L. **Mobile pedicled skin flap in one-stage repair of stenoses of the male urethra.** Med Trop (Mars). Oct-Dec;53(4):531-5, 1993.

FRANCÈS, C. *et al.* **Changes in the elastic tissue of the non-sun-exposed skin of cigarette smokers.** Br J Dermatol. 125: 43-47, 1991.

GAIRDNER, D. **The fade of the foreskin, a study of circumcision.** Br Med J. v.2, n.4642, Dec 24, p.1433-7, 1949.

GALATZ, L.M. *et al.* **Nicotine delays tendon-to-bone healing in a rat shoulder model.** J Bone Joint Surg Am. 88(9): 2027-2034, 2006.

GOODWIN, S.J. *et al.* **Complications in smokers after postmastectomy tissue expander/implant breast reconstruction.** Ann Plast Surg. Jul;55(1):16-19, 2005.

GRAY, H.; GROSS, G.F. **Anatomia.** 29 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1988. p. 1072-178.

GUIDO, B. *et al.* **Bulbar urethroplasty using the dorsal approach: current techniques.** International Braz J. Urol. vol.29, no.2, Mar./Apr. 2003.

GUNDERSEN, H.J.G. *et al.* **Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis.** APMIS. 96: 379-394, 1988.

HAUSTEIN, K.O. **Smoking tobacco, microcirculatory changes and the role of nicotine.** Int J Clin Pharmacol Ther. 37(2): 76-85, 1999.

HODGES, F. M. **Phimosis in antiquity.** World J Urol. v.17, n.3, Jun, p.133-6, 1999.

JUST, M. *et al.* **Effect of smoking on skin elastic fibres: morphometric and immunohistochemical analysis.** Br J Dermatol. 156(1): 85-91, 2007.

KAUFMAN, T. *et al.* **Tobacco smoking: impairment of experimental flap survival.** Ann Plast Surg. Dec;13(6):468-72, 1984.

KAYABA, H. *et al.* **Analysis of shape and retractability of the prepuce in 603 Japanese boys.** J Urol. 156:1813-1815, 1996.

LANNON C.M. *et al.* **Circumcision policy statement.** American Academy of pediatrics. Task Force on Circumcision. Pediatrics. v103,n.3, Mar,p.451-7.1999.

LATARJET, M.; RUIZ-LIARD. A. **Anatomia Humana.** 2. ed. São Paulo: Panamericana. vol. 2, p. 1703-1709, 1993.

MACHADO, C. *et al.* **Influence of nicotine on healing of vesical sutures in rabbits.** Acta Cir Bras. 22(6): 479-484, 2007.

MCANINCH, J.W. **Reconstruction of extensive urethral strictures: circular fasciocutaneous penile flap.** J Urol. Mar;149(3):488-91, 1993.

MALE URETRAL STRICTURE DISEASE. In: **Urologic Diseases in America**, Chapter 16, SANTUCCI, R.A; JOYCE G.F; WISE M. P 533-551, 2007.

MANCHIO, J.V. *et al.* **Smoking cessation and its impact on skin flap survival.** Plast Reconstr Surg. Oct;124(4):1105-17, 2009

MANDARIM DE LACERDA C.A, in **Métodos quantitativos em morfologia**. Ed UERJ, 1995.

MARQUES, T.C.; SAMPAIO, F.J.; FAVORITO, L.A. **Treatment of phimosis with topical steroids and foreskin anatomy**. *Int Braz J Urol*. 31:370-4, 2005.

MOUTON, P. R. In **Principles and practice of unbiased stereology**. John Hopkins University Press, 2002.

NTIA, I.O.; MUNGADI, I.A. **Experience With Ventral Penile Skin Island Flap urethroplasty**. Nigerian Journal Of surgical Research. Vol 8, No.3 – 4, 155 -157, 2006.

OLAJIDE, A.O. *et al*. **Complications of transverse distal penile island flap: urethroplasty of complex anterior urethral stricture**. *J Urol*. Summer;7(3):178-82, 2010.

ORSOLA, A.; CAFFARATTI, J.; GARAT, J.M. **Conservative treatment of phimosis in children using a topical steroid**. *Urology*. 56(2): 307-10, 2000.

OSEGBE, D. N.; NTIA, I. O. **One – stage Urethroplasty for complicated Urethral Strictures using axial penile skin island flap**: *Eur. Urol*. 17:79 – 84, 1990.

ÖZKAN, S.; GÜRPINAR, T. **A serious circumcision complication**: Penile shaft amputation and a new rattachment technique with a successful outcome. *J Urol*. 158: 1946-1947, 1997.

PADUBIDRI, A.A. *et al*. **Complications of postmastectomy breast reconstructions in smokers, ex-smokers, and nonsmokers**. *Plast Reconstr Surg*. Feb;107(2):342-9; discussion 350-1, 2001.

QUARTEY, J.K.M. **One-stage Penile / Preputial Cutaneous island flap urethroplasty for urethral stricture**: A preliminary report. *J. Urol*. 134: 474 – 475, 1985.

REUS, W. F.; COLEN, L.B.; STRAKER, D.J. **Tobacco smoking and complications in elective microsurgery**. *Plast Reconst Surg*. 89(3): 490-494, 1992.

SANTUCCI, R.A.; JOYCE, G.F. WISE M. **Male urethral stricture disease**. *J Urol*. 177 (5): 1667-1674, 2007.

SCOTT, T.M.; FOOTE J. **Early events in strictures formatios in the guinea pig urethta**. *Urol. Int*. 35 (5):334-9, 1980.

SINGH, M.; SCOTT, T.M. **The ultrastructure of human male urethral stricture**. *J Urol*. 47(7): 871-876, 1975.

SUAID, H.J. *et al*. **Trauma de uretra**. *Medicina Ribeirão Preto* 28(4), pp828-831,1995.

SURGERY OF THE PENIS AND URETHRA In: **Campbell-Walsh Urology Ninth Edition**. Chapter 33, WEIN, A.J. *et al*. pg1023-97.

TIPTON, D.A.; DABBOUS, M.K. **Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblasts in vitro.** *J Periodontol.* 66(12): 1056-1064, 1995.

WARNER. E.; STRASHIN, E. **Benefits and risks of circumcision.** *CMA Journal.* Nov 1; 125: 967-976, 1981.

WESSELLS, H.; MCANINCH, J.W. **Current controversies in anterior urethral stricture repair: free-graft versus pedicled skin-flap reconstruction.** *World J Urol.* 16(3):175-80, 1998.

WESSELLS, H.; MOREY, A.F.; MCANINCH, J.W. **Single stage reconstruction of complex anterior urethral strictures: combined tissue transfer techniques.** *J Urol.* Apr;157(4):1271-4, 1997.

WHITSON, J.M. *et al.* **Long-term efficacy of distal penile circular fasciocutaneous flaps for single stage reconstruction of complex anterior urethral stricture disease.** *J Urol.* Jun;179(6):2259-64, 2008.

Zimmermann-Nielsen E; DAHL, M.B.; GAVERSEN H,P. **Effects of tobacco smoking on the incidence of flap necrosis after mastectomy.** *Ugeskr Laeger.* Aug 11;159(33):4974-6, 1997.

**APÊNDICE** - Structural alterations of human foreskin caused by chronic smoking may explain high levels of urethral reconstruction failure

**STRUCTURAL ALTERATIONS OF HUMAN FORESKIN CAUSED BY CHRONIC  
SMOKING MAY EXPLAIN HIGH LEVELS OF URETHRAL RECONSTRUCTION  
FAILURE**

João P. Rosado, Luciano A. Favorito, Andre G.L. Cavalcanti, Waldemar S. Costa, Luiz E.M. Cardoso, Francisco J.B. Sampaio

**Urogenital Research Unit from State University from Rio de Janeiro – Brazil**

Running head: **Study of the human foreskin in crhronic smoking**

**Key words:** foreskin, smoking, urethral reconstruction, histology

**Correspondence Address**

Luciano Alves Favorito MD, PhD

Rua Professor Gabizo 104/201 - Tijuca - Rio de Janeiro -RJ - Brazil

Zip Code: 20271-062

Telephone number: 55(21) 25876499

Fax number: 55(21) 38728802/25876121

e-mail: lufavorito@yahoo.com.br

Supported by grants from the National Council of Scientific and Technological Development (CNPQ – Brazil) and *Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro* (FAPERJ), Brazil.



## Introduction

Male urethral reconstruction is one of the oldest problems in reconstructive surgery that always brought a great challenge to urologists<sup>1</sup>. The urethral stricture is a fibrotic process resulting in a low compliance scarred tissue, decreasing the caliber of the urethral lumen. Depending on the degree of the stenosis, the urethral stricture has variable impact on the patient's micturition<sup>2</sup>.

There are wide spectrums of different pathologies that can cause reduction of the urethral caliber, like idiopathic, lichen sclerosus, hypospadias, trauma, infections and more recently iatrogenic related injuries to urological procedures<sup>3,4</sup>. The surgical techniques described to urethral stenosis correction, during the last decade have been remarkable changes. Since we have several options, we know that any one is completely secure and free of complications. Anastomotic urethroplasty with excision of scar tissue is associated with better long-term results<sup>5</sup>. When this procedure is impossible due to the large extension of the lesion, we can choose tissue transference techniques, like penile fascio-cutaneous flaps or grafts (buccal mucosa or genital skin)<sup>6</sup>.

Wessels<sup>7</sup> in a meta-analysis studied the use of graft versus free flap and found that there are no differences in the procedures for the treatment of bulbar strictures, but when dealing with long length lesions of the penile urethra, or those who own a layer too compromised, the transverse distal penile island flap is the main form of treatment, established with a long follow-up. Transverse distal penile island flap has been used for one-stage urethral reconstruction and has led to good functional and cosmetic results. The penile skin associated with dartos tunica, is well-vascularized by superficial external pudendal vessels; it is hairless and the pedicle can reach anywhere from the external meatus to the prostatic urethra for reconstruction as a patch or tube<sup>1</sup>.

It has been speculated in two reliable articles, one studying the long term efficacy of distal penile circular fasciocutaneous flaps and other a multivariate analysis of risk factors for long-term urethroplasty, that smokers might experience worse results after urethral reconstruction, nevertheless, no structural evidence has been reported to date<sup>8,9</sup>.

The aim of the present study was to perform a stereological and biochemical analysis of the foreskin in smoker patients.

## Materials and Methods

The present work received institutional review committee and parent approval. This work was carried out in accordance to the ethical standards of the responsible institutional committee on human experimentation.

Foreskin samples were obtained from 20 young adults; ranging in age from 23 to 36 years (mean=27.2years-old); submitted to circumcision from July 2008 to July 2010. All patients presented true phimosis with foreskin stenosis and attended the urology ambulatory care to be submitted to circumcision. All 20 patients presented total impossibility of foreskin retraction. The exclusion criteria were patients with clinical suspicion of balanitis xerotica obliterans.

After surgery, dorsal and ventral regions of the foreskin were carefully demarcated with mononylon suture. Of the patients analyzed, one group (n=10) had a previous history of chronic smoking (3 to 13 packs/year, mean =  $5.8 \pm 3.2$ ) i.e., one pack per day for 3 to 13 years. This sets that in the study are included light and moderate smokers, on a scale passing through casual, light, moderate, heavy and chain smokers. The control group was composed of 10 non-smoker patients, those patients never smoked and do not live together with a smoker.

Foreskin tissue samples was separated and fixed in 10% buffered formalin, and routinely processed for paraffin embedding, and 5 $\mu$ m thick sections were obtained at 200 $\mu$ m-intervals. Smooth muscle, connective tissue, elastic system fibers and collagen were studied by histochemical, immunohistochemical and biochemical methods.

Sections were stained with haematoxylin-eosin to assess the integrity of the tissue. We performed the following staining: Masson's trichrome, in order to quantify connective tissue and smooth muscle; Weigert Resorcin Fuchsin with previous oxidation in order to observe elastic system fibers; and Picro-Sirius Red with polarization for observation of different collagen types. Connective tissue, smooth muscle and elastic system fibers were quantified by a stereological method<sup>2</sup>.

From each foreskin fragment, ten different sections were selected. Five from ventral area and five from dorsal area, and five fields of each section were selected. All selected fields were photographed and the images were captured with Olympus BX51 microscopy and Olympus DP70 camera. Images were transferred to Image Pro software. The fibers were quantified using software Image J in order to determine the volumetric density (Vv) of each component.

The immunohistochemistry analysis of the elastic fibers used the anti-elastin method with positive and negative controls (ABCAM). The slides were previously treated with poly-L-lysine for better adherence of the sections.

For the biochemical analysis of the collagen, tissue samples were fixed in acetone. The concentration of total collagen in the foreskin was determined by a colorimetric hydroxyproline assay. Thus, 5 to 14 mg of dry, defatted bladder tissue was hydrolyzed in 6N HCl for 18 hours at 118°C, as previously described<sup>10</sup>. The assay was then carried out in the neutralized hydrolysates using a chloramine T method<sup>11</sup>. Results were expressed as micrograms of hydroxyproline per milligram of dry, defatted tissue.

Means were statistically compared using the Unpaired T test ( $p < 0.05$ ) with Graph Pad Prism software.

## Results

The foreskin tissue was analyzed in two different regions, the ventral area and dorsal area. We did not find any statistical difference between the ventral and dorsal areas. In non-smokers the elastic fibers ( $p=0.32$ ), vascular density ( $p=0.27$ ) and smooth muscle ( $p=0.46$ ) did not show statistical difference between ventral and dorsal areas. With this statistical information, the authors chose not to maintain the differentiation between the dorsal and ventral area during the progress of the study.

The elastic system fibers in the foreskin of smoker patients increased in 42.5% when compared to the control group ( $32 \pm 6.3$  vs.  $45.6 \pm 10.1$ , respectively;  $p = 0.002$ ) (Figure 1). In contrast, the smooth muscle fibers ( $p=0.42$ ) and the vascular density ( $p=0.16$ ) did not show any significant variation between smokers and controls (Table 1).

The qualitative analysis using Picrosirius red stain with polarized light evidenced the presence of type I and III collagen in the foreskin, without significant difference in its basic characteristics in both groups (Figure 2). The total collagen concentration did not differ significantly between smokers and controls ( $73.1 \mu\text{g}/\text{mg} \pm 8.0 \mu\text{g}/\text{mg}$  vs.  $69.2 \mu\text{g}/\text{mg} \pm 5.9 \mu\text{g}/\text{mg}$ , respectively,  $p=0.23$ ).

## Discussion

Despite the development of urethral surgical techniques during the last decades, few studies on the structural arrangement of tissues used to correct this pathology are described. Until now no study was relate to try to understand how smokes affect the structure of the prepuce, employed to manage the urethral stricture disease when used distal penile circular fasciocutaneous flaps.

Whitson and McAninch<sup>8,9</sup> describes that smokers experience worst results on tissue transference urethroplasty, and Santucci<sup>12</sup> express that the total impact of transverse distal penile island flap on the patient is still unknown, consequently further studies of postoperative complications are imperative. Harvesting the ventral based vascular dartos pedicle for urethral coverage from either, close to the skin at ventral side, and close to the penile corpus at dorsal side are feasible techniques, with comparable success rates between techniques, in terms of complication rates and cosmetic appearance, the authors agree with this affirmation in view of the fact that on this study we found no structural differences in extracellular matrix between dorsal and ventral prepuce skin in smokers and non-smokers<sup>13</sup>.

Several authors have published the deleterious effects of smoking on healing. In a prospective observational study of 7224 plastic procedures, was observed that the smokers show significantly more scar contour distortion that proves that there are severe alterations in the wound healing caused by smoking, maybe caused by structural alterations in the skin<sup>14</sup>. Smokers experiences significantly more frequent flap necrosis in breast reconstruction, regardless of the type of reconstruction, this risk can be increased until 4.9 times<sup>15,16</sup>. Reus<sup>17</sup> studying patients with free skin grafts observed that smokers had significant ischemia ( $p=0.03$ ) at the graft edges.

In this study we do not found any statistically differences in vascular density ( $p=0.27$ ) among the smokers and control group. Many authors describes that the blood supply to the tissue at the reconstruction site is customary reduced by the most active component in tobacco, nicotine, is known to cause vasoconstriction<sup>17,18</sup> reducing the blood flow that impairs wound healing and reduces oxygen delivery to the tissues. To assess the possible effects of smoking on the vascular functions in skin, all separate vascular lumens of dermis were counted within five separate fields; the impossibility to differentiate microvasculature was a limitation on the study, maybe this turned impracticable detected alterations in vascular density of foreskin. Another possibility

would have been to measure the diameters of blood vessels, but the measurements would have suffered from the same problem of dimensionally partial visibility

Studies describes that the synthesis of subcutaneous collagen in smokers is specifically impeded, indicating an impaired wound-healing process<sup>19</sup>. According to Galatz<sup>19</sup> under the influence of nicotine, there would be a lower RNA expression for type I collagen and Dabbous<sup>20</sup> found a higher concentration of collagenases. Nevertheless, there is no consensus concerning the fact that under the influence of nicotine there is a reduction in collagen synthesis. Furthermore, Machado<sup>21</sup>, studying the healing of rabbit bladders, found no changes to collagen density in the scars. In this study we found a reduced concentration of collagen in biochemical analysis of the foreskin in smokers, however with no statistical significance.

Abnormalities in elastic fibers of smokers were reported by Francès<sup>22</sup> that found the elastic fibers in the skin of smokers to be more numerous, wider and more fragmented than those in the skin of non-smokers. The changes observed in elastic fibers look like those seen in solar damage, which affects the entire dermis, except that the papillary dermis in smokers stay unaffected. According to the authors, the localization of elastic damage caused by smoking may be related to the vascular distribution of the toxic substances of cigarette smoke. Boyd<sup>23</sup> compared the skin of 17 smokers and 14 non-smokers and reported increased elastosis in 30 the sun-exposed skin of the forehead and cheeks in smokers compared to non-smokers. More recently Ferrándiz<sup>24</sup> described that smoking is an independent risk factor for the increase of elastic fibers of the dermis of nonsun-exposed skin, and it acts on their two main structural components, elastin and microfibrillar component.

As the same declared by those cited authors, our study found an increased in 42.5% of elastic fibers of smoker's foreskin when compared to the control group. Penile circular fasciocutaneous flaps necrosis is significantly more frequent in smokers, probably due foreskin structural alterations reasons, described above in the article. The authors warn that urethral reconstruction surgery using penile circular fasciocutaneous flaps should be done with caution in smokers and those should be strongly urged to stop smoking before their surgery. The adverse effects of smoking on the appearance and function of skin could be used in health education, to discourage people from starting to smoke and to encourage current smokers to quit.

## Conclusion

Smoking is associated with a significant increase of elastic system fibers in foreskin tissue. These results could possibly explain the high failure rate of penile urethroplasty in smokers by using foreskin flaps.


## References

1. Olajide AO, Salako AA, Aremu AA, *et al*: Complications of Transverse Distal Penile Island Flap Urethroplasty of Complex Anterior Urethral Stricture. *Urol J* 7: 178-182, 2010.
2. Cavalcanti AG, Costa WS, Baskin LS, *et al*: A morphometric analysis of bulbar urethral strictures. *BJU Int.* 100(2): 397-402, 2007.
3. Fenton AS, Morey AF, Aviles R, *et al*: Anterior urethral strictures: etiology and characteristics. *Urology* 65: 1055–1058, 2005.
4. Santucci RA, Joyce GF, Wise M: Male urethral stricture disease. *J Urol.* 177 (5): 1667-1674, 2007.
5. Santucci RA, Mario LA, McAninch JW: Anastomotic urethroplasty for bulbar urethral stricture: analysis of 168 patients. *J Urol.* 167: 1715–1719, 2002.
6. Barbagli G, Palminteri E, Guazzoni G, *et al*: Bulbar urethroplasty using buccal mucosa grafts placed on ventral, dorsal or lateral surface of the urethra: are results affected by the surgical technique?. *J Urol.* 174: 955–958, 2005.
7. Wessells H, McAninch JW: Current controversies in anterior urethral stricture repair: free-graft versus pedicled skin-flap reconstruction. *World J Urol.* 16(3): 175-180, 1998.
8. Whitson JM, McAninch JW, Elliott SP, *et al*: Long-term efficacy of distal penile circular fasciocutaneous flaps for single stage reconstruction of complex anterior urethral stricture disease. *J Urol.* 179: 2259-2264, 2008.
9. Breyer BN, McAninch JW, Whitson JM, *et al*: Multivariate analysis of risk factors for long-term urethroplasty outcome. *J Urol.* 183(2): 613-617, 2010.
10. Cabral CA, Sampaio FJ, Cardoso LE: Analysis of the modifications in the composition of bladder glycosaminoglycan and collagen as a consequence of changes in sex hormones associated with puberty or oophorectomy in female rats. *J Urol.* 170: 2512-2516, 2003.
11. Bergman I, Loxley R: The determination of hydroxyproline in urine hydrolysates. *Clin Chim Acta* 27: 347-349, 1970.
12. Al-Qudah HS, Santucci RA: Extended complications of urethroplasty. *Int Braz J Urol.* 31:315-323, 2005.
13. Burgu B, Aydogdu O, Söylemez H, *et al*: Both dorsal and ventral flaps can be used in previously circumcised hypospadiac adults with comparable success rates. *Int Urol Nephrol.* 42: 689-695, 2010.
14. Dixon AJ, Dixon MP, Dixon JB, *et al*: Prospective Study of Skin Surgery in Smokers vs. Nonsmokers. *The British Journal of Dermatology.* 160(2): 365-367, 2009.


15. Padubidri AN, Yetman R, Browne E, *et al*: Complications of postmastectomy breast reconstructions in smokers, ex-smokers, and nonsmokers. *Plast Reconstr Surg.* 107(2): 342-349, 2001.
16. Goodwin SJ, McCarthy CM, Pusic AL, *et al*: Complications in smokers after postmastectomy tissue expander/implant breast reconstruction. *Ann Plast Surg.* 55(1):16-19, 2005.
17. Reus WF, Colen LB, Straker DJ: Tobacco smoking and complications in elective microsurgery. *Plast Reconstr Surg.* 89(3): 490-494, 1992.
18. Haustein KO: Smoking tobacco, microcirculatory changes and the role of nicotine. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 37(2): 76-85, 1999.
19. Galatz LM, Silva MJ, Rothermich SY, *et al*: Nicotine delays tendon-to-bone healing in a rat shoulder model. *J Bone Joint Surg Am.* 88(9): 2027-2034, 2006.
20. Tipton DA, Dabbous MK: Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol.* 66(12): 1056-1064, 1995.
21. Machado C, Chin EWK, Ioshii SO, *et al*: Influence of nicotine on healing of vesical sutures in rabbits. *Acta Cir Bras.* 22(6): 479-484, 2007.
22. Francès C, Boisnic S, Hartmann DJ, *et al*: Changes in the elastic tissue of the non-sun-exposed skin of cigarette smokers. *Br J Dermatol.* 125: 43-47, 1991.
23. Boyd AS, Stasko T, King LE. Jr, *et al*: Cigarette smoking-associated elastotic changes in the skin. *J Am Acad Dermatol.* 41: 23-26, 1999.
24. Just M, Ribera M, Monsó E, *et al*: Effect of smoking on skin elastic fibres: morphometric and immunohistochemical analysis. *Br J Dermatol.* 156(1): 85-91, 2007.

## ANEXO A - Comissão de ética

Este estudo foi submetido e aprovado pelo comitê de ética do Universidade do estado do Rio de Janeiro – CEP e CONEP, através da ficha número 278696, e seguiu as recomendações sugeridas pelo Comitê Brasileiro em Experimentação em Humanos.



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**  
**HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO**  
**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**



---

Rio de Janeiro, 23 de Novembro de 2010



Do: Comitê de Ética em Pesquisa  
 Prof.: Wille Oigman  
 Para: Aut. João Pedro Gaio Meirelles Rosado – Orient. Prof. Francisco José B. Sampaio

Registro CEP/HUPE: 2461/2010 (este número deverá ser citado nas correspondências referentes ao projeto)

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, após avaliação, considerou o projeto, "ANÁLISE ESTEREOLÓGICA E MORFOLÓGICA DO TECIDO PENIANO UTILIZADO NA CONFECÇÃO DE RETALHOS FASCIO-CUTÂNEOS PARA URETROPLASTIA" aprovado, encontrando-se este dentro dos padrões éticos da pesquisa em seres humanos, conforme Resolução n.º196 sobre pesquisa envolvendo seres humanos de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, bem como o termo de consentimento livre e esclarecido.

O pesquisador deverá informar ao Comitê de Ética qualquer acontecimento ocorrido no decorrer da pesquisa.

O Comitê de Ética solicita a V. S<sup>a</sup>., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

  
 Prof. Wille Oigman  
 Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa  


CEP - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
 AV. VINTE E OITO DE SETEMBRO, 77 TÉRREO - VILA ISABEL - CEP 20551-030  
 TEL: 21 2587-6353 – FAX: 21 2264-0853 - E-mail: cep-hupe@uerj.br



**ANEXO B - Termo de consentimento informado**

O Sr. vai ser submetido a uma cirurgia para o tratamento de prepúcio exuberante (fimose) que é uma patologia cirúrgica. Normalmente, durante a cirurgia, retira-se um fragmento que depois é desprezado ou enviado para o serviço de Anatomia Patológica, para inclusão em estudos de rotina e arquivamento.

Fazemos parte de uma equipe de pesquisa científica e estamos realizando estudos sobre os problemas decorrentes de patologias urológicas. Gostaríamos de solicitar ao Sr. que tenha a gentileza de nos autorizar a estudar um fragmento do material doente que será extraído durante a cirurgia a qual o Sr. será submetido.

Esta extração será feita durante a cirurgia e não implicará em aumento do tempo de cirurgia nem alterará os resultados operatórios.

Será respeitado o segredo médico e sua identidade não será revelada.

O grupo de médicos e professores que estão fazendo parte deste trabalho estão à sua disposição no Serviço de Urologia deste hospital e na Pós Graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro- Departamento de Anatomia do Hospital Universitário Pedro Ernesto, Av 28 de Setembro, número 77, fundos. Telefone 2587-6499. Sendo o pesquisador responsável o Dr. João Pedro Gaio Meireles Rosado, Telefone 78322092.

Os dados e resultados finais serão utilizados somente para esta pesquisa.

Caso o senhor não queira participar do estudo, isto não afetará o seu tratamento.

Eu, \_\_\_\_\_,  
(nome completo)

portador da identidade \_\_\_\_\_, declaro estar ciente do que foi exposto acima e autorizo a utilização, para fins científicos, da peça que será extraída durante a cirurgia a qual serei submetido.

Paciente: \_\_\_\_\_

Testemunha: \_\_\_\_\_

**ANEXO C - Carta de submissão**

Elsevier Editorial System(tm) for Urology

Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: STRUCTURAL ALTERATIONS OF FORESKIN CAUSED BY CHRONIC SMOKING  
MAY EXPLAIN HIGH

LEVELS OF URETHRAL RECONSTRUCTION FAILURE USING FORESKIN FLAPS

Article Type: Reconstructive Urology

Section/Category: Adult

Keywords: foreskin, smoking, urethral reconstruction, histology

Corresponding Author: Dr. luciano alves favorito, PhD

Corresponding Author's Institution: State University from rio de janeiro

First Author: João Pedro Rosado, MD

Order of Authors: João Pedro Rosado, MD; luciano alves favorito, PhD; andré g cavalcanti, MD;  
Waldemar S Costa, PhD; Luiz Eduardo M Cardoso, MD; Francisco J Sampaio, MD

**Biomedical Center – Urogenital Research Unit**

November 08, 2010

To the Editor - UROLOGY

Dear Editor.

Attached is a copy of our original article “STRUCTURAL ALTERATIONS OF FORESKIN CAUSED BY CHRONIC SMOKING MAY EXPLAIN HIGH LEVELS OF URETHRAL RECONSTRUCTION FAILURE USING FORESKIN FLAPS” which is being submitted for possible consideration of publication in **UROLOGY**.

As authors, we wrote the material submitted herein. We have read and approved the final manuscript and have no substantial direct or indirect financial support in conjunction with this publication. We further add that no portion of the manuscript has been previously published elsewhere. In consideration of the Editors of **UROLOGY** taking action in reviewing and editing this submission, the authors undersigned hereby transfer, assign or otherwise convey all

copyright ownership to the **UROLOGY**, in the event that such work is published in that journal. I have read and comply with the requirements set forth in Information for Authors.

Sincerely,

**João P. Rosado, MD Waldemar S. Costa, PhD**

**Luiz E.M. Cardoso, PhD André. G. Cavalcanti, MD**

**Francisco Sampaio, MD Luciano A. Favorito, MD. PhD**