



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

André Luiz Lima Diniz

**Estudo morfológico do útero de fetos humanos: diferenças na organogênese
relacionadas à anencefalia**

Rio de Janeiro

2023

André Luiz Lima Diniz

Estudo morfológico do útero de fetos humanos: diferenças na organogênese relacionadas à anencefalia

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, 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. Luciano Alves Favorito

Rio de Janeiro

2023

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

D585 Diniz, André Luiz Lima.
 Estudo morfológico do útero de fetos humanos: diferenças na organogênese
 relacionadas à anencefalia / André Luiz Lima Diniz – 2023.
 100f.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Alves Favorito

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências
Médicas. Pós-graduação em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas.

1. Anencefalia- Teses. 2. Útero - Embriologia - Teses. 3. Organogênese. 4.
Desenvolvimento fetal. I. Favorito, Luciano Alves. III. Universidade do Estado do Rio
de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 611.61

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira
CRB7/6382

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

Assinatura

Data

André Luiz Lima Diniz

Estudo morfológico do útero de fetos humanos: diferenças na organogênese relacionadas à anencefalia

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

Aprovada em 05 de junho de 2023.

Banca Examinadora: _____

Prof. Dr. Luciano Alves Favorito (Orientador)

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. José Anacleto Dutra de Resende Júnior

Hospital Universitário Pedro Ernesto - UERJ

Prof. Dr. Fernando Salles da Silva Filho

Instituto Nacional de Câncer

Prof. Dr. Jorge Luiz Alves Pereira

Instituto de Educação Médica

Prof. Dr. Rodrigo Ribeiro Vieiralves

Hospital Federal da Lagoa

Rio de Janeiro

2023

DEDICATÓRIA

Dedico esta obra ao meu pai, Antônio Luiz (*in memoriam*), pelo seu amor à docência e exemplo de retidão. Dedico à minha mãe, Ângela Maria (*in memoriam*) por seu apoio incondicional e pela doação do seu filho ao mundo. À minha irmã, pelo carinho que se estende através do tempo e espaço. À Ana Márcia, o amor que me acompanha na jornada do crescimento mútuo. Dedico a Cláudio e Mirtes, por adotar-me em suas vidas. Ao meu primo Felipe Lima, por lembrar-me o motivo da busca do crescer. Ao meu primo Fernando Lima, por compartilhar a persistência na formação. Ao amigo Felipe Pimentel, por lembrar-me de aproveitar o caminho. Ao amigo Rodrigo Vieiralves pelo convite aos novos rumos. Aos professores, também amigos, Luciano Favorito e José Anacleto por permitir me apoiar em seus ombros e enxergar mais longe.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Colégio de Aplicação da Universidade Federal de Viçosa – COLUNI; base de minha formação, sem o qual jamais teria percebido quão grande poderia ser o mundo.

Pelas experiências que despertaram vocações, agradeço ao Instituto de Ciências Biológicas da UFJF, onde fui monitor no Departamento de Anatomia sob orientação do Dr. Carlos Eduardo Amaral; à Faculdade de Medicina da UFJF, pela oportunidade da iniciação científica sob tutela do Dr. Júlio Chebli e ao Serviço de Urologia do HU-UFJF, pela vivência na liga acadêmica sob supervisão do Dr. José Murillo Neto e do Dr. Humberto Lopes.

Agradeço ao Hospital e Maternidade Therezinha de Jesus, onde cursando a residência de cirurgia geral, pude reforçar os vínculos com a urologia sob a preceptoria do Dr. Antônio Carlos Tonelli Toledo e do Dr. Antônio José Alves de Souza Jr; neste hospital tomei consciência de uma nova etapa da minha vida e pude me preparar para passos mais largos.

Agradeço ao Hospital Federal da Lagoa, onde concretizei um sonho, orientado pelo Chefe do Serviço de Urologia, Dr. Tomás Accioly de Souza, pelo Coordenador do Programa de Residência Médica em Urologia, Dr. José Anacleto Dutra de Resende Jr. e os demais membros da equipe. À esta casa, devo agradecimento especial, pela celebração da amizade e pela alegria do retorno. Obrigado aos amigos de residência e aos professores que tive ali.

À Faculdade de Medicina da UERJ, ao Centro Biomédico – IBRAG e à Unidade de Pesquisa Urogenital, onde este trabalho foi desenvolvido sob a brilhante orientação do estimado professor, Dr. Luciano Alves Favorito

Ao CNPq agradeço a bolsa que recebi há muitos anos, quando fui acadêmico de iniciação científica e à FAPERJ agradeço o suporte para a publicação deste trabalho em periódico do mais alto grau de relevância internacional. Estas agências de fomento, tornaram exitosas etapas importantes da minha vida.

Ao Dr. Rodrigo Ribeiro Vieirals e Dr^a Gisele Ribeiro Júlio pelo compartilhamento de experiências neste trabalho. À arquiteta Ana Márcia Duarte, pelo trabalho de design com imagens, gráficos e formatação. Pelo cuidado e refinamento em estatística, agradeço ao Dr. Renato Michel e à Dr^a. Carla Gallo.

Nada, absolutamente nada, supera o trabalho;
talvez a gratidão!

Dr. Murilo Spinelli Pinto

RESUMO

DINIZ, André Luiz Lima. *Estudo morfológico do útero de fetos humanos: diferenças na organogênese relacionadas à anencefalia*. 2023. 100 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

Os defeitos do tubo neural (DTN) são um dos tipos mais prevalentes de anomalias congênitas que afetam o sistema nervoso central; sendo a anencefalia a sua apresentação mais grave. A hipótese neste trabalho é que a anencefalia impacta no desenvolvimento da do útero durante o período fetal humano. Deste modo, o objetivo deste estudo é comparar os parâmetros biométricos do útero de fetos femininos com e sem anencefalia. Como metodologia foram estudados 34 fetos do sexo feminino (22 normais e 12 anencefálicos), com idades entre 12 e 22 semanas pós-concepção (SPC). Os parâmetros biométricos foram registrados. A dissecação é feita com o feto em decúbito dorsal; uma incisão subcostal bilateral permite o acesso às estruturas abdominais e pélvicas. Neste momento, é realizado um primeiro registro fotográfico, com posterior extração da pelve em bloco, contendo todo trato geniturinário. Em seguida, com auxílio de um microscópio Zeiss Discovery V8, que permite a aquisição de novas imagens, os fetos foram submetidos à dissecação pélvica e individualização das estruturas do trato urinário (bexiga e uretra) e genital (útero, vagina e ovários). As aferições do comprimento e a largura do útero foram realizadas no programa Image J, v. 1.46r. Para análise estatística foi utilizado o programa SPSS, v. 13.0. O nível de significância foi ajustada pela correção de Bonferroni ($p < 0,0071$). Foram realizados testes de comparação das médias e também avaliadas as correlações lineares para os dois grupos quanto às medidas do útero e os parâmetros antropométricos idade em SPC, peso em gramas (g) e comprimento vértice-cóccix (CVC) em centímetros (cm). Identificamos diferenças significativas entre o comprimento do útero (mm)/peso (g) $\times 100$ ($p = 0,0046$) e largura do útero (mm)/peso (g) $\times 100$ ($p = 0,0013$) quando comparamos o controle com o grupo anencefálico. A análise de regressão linear indicou que 80% de significância foi encontrada em as correlações em fetos normais (12,9 a 22,6 SPC) e 40% de significância em fetos anencefálicos (12,3 a 18,6 SPC). A análise de regressão múltipla indica que 40,4% das variações no comprimento uterino (mm)/peso (g) $\times 100$ e 32,9% largura do útero (mm)/peso (g) $\times 100$ são variações aleatórias ou devidas a outros fatores que não a idade, CVC e anencefalia. Por conclusões, observamos que as medidas do útero foram maiores no grupo anencefálico mas a análise de regressão múltipla sugere que a anencefalia não é capaz de justificar isoladamente as variações das medidas uterinas. Mais estudos translacionais são necessários para ampliar a compreensão sobre como a anencefalia pode afetar a formação uterina durante o período fetal humano.

Palavras-chave: Útero. Embriologia. Anencefalia. Fetos humanos.

ABSTRACT

DINIZ, André Luiz Lima. *Morphological study of the uterus in human fetuses: differences in organogenesis related to anencephaly*. 2023. 100 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

Neural tube defects (NTD) are one of the most common congenital malformations affecting the central nervous system; anencephaly is the most severe manifestation of NTD. The hypothesis of this study is that anencephaly affects the formation of the human uterus during fetal life. Hence, the objective of this research is to compare the uterine biometric parameters of female fetuses with and without anencephaly. As a method, between 12 and 22 weeks after conception (WPC), 34 female fetuses (22 normal and 12 anencephalic) were investigated. Biometric characteristics were obtained. The dissection is performed with the fetus in the supine position; abdominal and pelvic tissues are accessed by bilateral subcostal incisions. At this moment, a first photographic record is made, and the pelvis, containing the entire genitourinary system, is extracted en bloc. The fetuses were then subjected to pelvic dissection and individualization of the urinary tract (bladder and urethra) and genital (uterus, vagina, and ovaries) components using a Zeiss Discovery V8 microscope, which permits the acquisition of a second set of images. Measurements of the length and width of the uterus were performed using the Image J software, v. 1.46r. For statistical analysis the SPSS software, v. 13.0, was employed. The significance level was adjusted using the Bonferroni correction ($p < 0.0071$). Mean comparison tests were carried out and linear correlations were also evaluated for the two groups regarding uterine measurements and anthropometric parameters: age in SPC, weight in grams (g) and crown-rump length (CRL) in centimeters (cm). We observed significant differences in uterine length (mm)/weight (g) $\times 100$ ($p = 0.0046$) and uterine width (mm)/weight (g) $\times 100$ ($p = 0.0013$) when comparing the control with the anencephalic group. According to linear regression analysis, correlations between normal fetuses (12.9 to 22.6 WPC) and anencephalic fetuses (40% significance) were shown to be 80% significant and 40% significant, respectively (12.3 to 18.6 WPC). Multiple regression analysis indicates that 40.4% of the variations in uterine length (mm)/weight (g) $\times 100$ and 32.9% of uterine width (mm)/weight (g) $\times 100$ are random variations or due to factors other than age, CVC and anencephaly. In conclusion, we observed that the uterine measurements were greater in the anencephalic group, but the multiple regression analysis suggests that anencephaly it self is not able to explain the variations in uterine measurements. More translational studies are needed to broaden our understanding of how anencephaly may affect uterine formation during the human fetal period.

Keywords: Uterus. Embryology. Anencephaly. Human Fetuses.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Embrião humano em neurulação e seu modelo gráfico tridimensional.	12
Figura 2 – Classificação dos DTNs cranianos em embriões humanos.....	14
Figura 3 – Sinalização hormonal relacionados ao eixo hipotálamo-hipofisário	15
Figura 4 – Estágios de Carnegie – Coleção da Universidade de Kyoto	18
Figura 5 – Modificações das estruturas mesonéfricas e paramesonéfricas	20
Figura 6 – Ontogenia genital do feto humano	21
Figura 7 – Desenvolvimento do trato genital feminino	22
Figura 8 – Úteros fetais humanos organizados por idade em semanas pós-concepção	23
Figura 9 – Biometria fetal.....	26
Figura 10 – Dissecção e microdissecção em laboratório.....	27
Figura 11 – Aspecto do bloco urogenital feminino após microdissecção	28
Figura 12 – Aferição das medidas uterinas	29
Figura 13 – Gráficos de distribuição e regressão linear para medidas idade e CVC	36
Figura 14 – Gráficos de distribuição e regressão linear para medidas idade e peso	37
Figura 15 – Gráficos de distribuição e regressão linear para medidas CVC e peso.....	37
Figura 16 – Gráficos de distribuição e regressão linear de comprimento uterino e idade ..	38
Figura 17 – Gráficos de distribuição e regressão linear de largura uterina e idade.....	39
Figura 18 – Gráficos de distribuição e regressão linear de comprimento uterino e peso....	40
Figura 19 – Gráficos de distribuição e regressão linear de largura uterina e peso	41
Figura 20 – Gráficos de distribuição e regressão linear de comprimento uterino e CVC ...	42
Figura 21 – Gráficos de distribuição e regressão linear de largura uterina e CVC	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tabela dos dados morfométricos	32
Tabela 2 – Sumário dos dados morfométricos dos 22 fetos normais	33
Tabela 3 – Sumário dos dados morfométricos dos 12 fetos anencefálicos	33
Tabela 4 – Comparação das medianas entre os grupos pelo Teste de Mann-Whitney	33
Tabela 5 – Matriz de correlações das variáveis estudadas para os fetos normais	35
Tabela 6 – Matriz de correlações das variáveis estudadas para os fetos anencefálicos	35
Tabela 7 – Teste ANOVA para o modelo 1 de regressão múltipla	44
Tabela 8 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 1 de regressão múltipla	44
Tabela 9 – Teste ANOVA para o modelo 2 de regressão múltipla	45
Tabela 10 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 2 de regressão múltipla	45
Tabela 11 – Teste ANOVA para o modelo 3 de regressão múltipla	46
Tabela 12 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 3 de regressão múltipla	46
Tabela 13 – Teste ANOVA para o modelo 4 de regressão múltipla	47
Tabela 14 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 4 de regressão múltipla	47
Tabela 15 – Teste ANOVA para o modelo 5 de regressão múltipla	48
Tabela 16 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 5 de regressão múltipla	48
Tabela 17 – Teste ANOVA para o modelo 6 de regressão múltipla	49
Tabela 18 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 6 de regressão múltipla	49
Tabela 19 – Teste ANOVA para o modelo 7 de regressão múltipla	50
Tabela 20 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 7 de regressão múltipla	50
Tabela 21 – Teste ANOVA para o modelo 8 de regressão múltipla	52
Tabela 22 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 8 de regressão múltipla	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AMH	Hormônio anti-Müllerianos
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CEP/HUPE	Comitê de Ética em Pesquisa/Hospital Universitário Pedro Ernesto
cm	Centímetros
CVC	Comprimento vértice-cóccix
DP	Desvio padrão
DTN	Defeitos do Tubo Neural
FDT	Fator Testículo Determinante
FSH	Hormônio folículo estimulante
g	Gramas
GH	Hormônio do crescimento
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
LH	Hormônio luteinizante
LPH	Hormônio lipotrofina
mm	Milímetros
MSH	Hormônio estimulante de melanóforo
PRL	Prolactina
SPC	Semanas pós-concepção
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SRY	Sex-Determining Region Y
TSH	Hormônio tireoestimulante
Var	Variável

SUMÁRIO

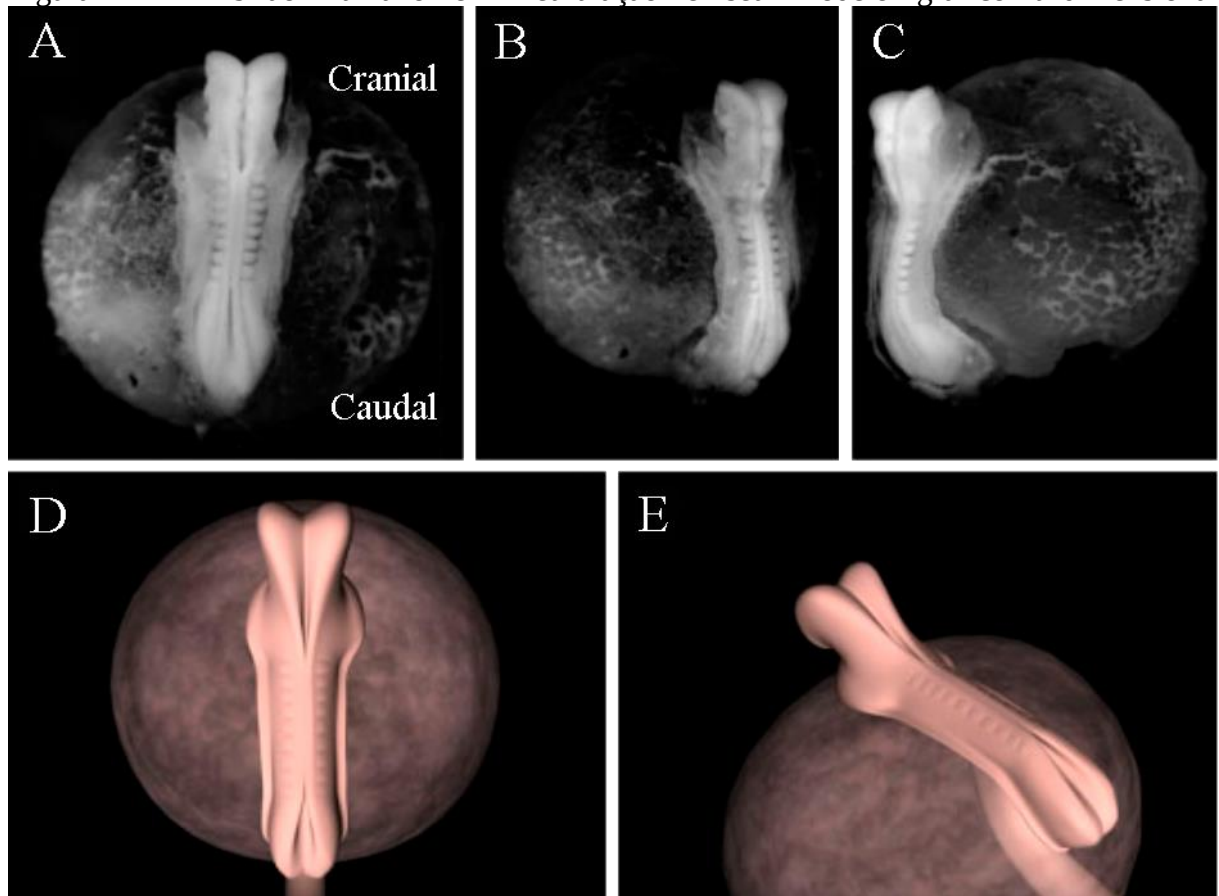
	INTRODUÇÃO	12
1.	OBJETIVO	24
1.1	Objetivo geral	24
1.2	Objetivos específicos	24
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	25
2.1	Desenho do estudo	25
2.2	Comitê de ética	25
2.3	Amostra	25
2.4	Avaliação da antropometria fetal	26
2.5	Obtenção e análise das amostras	27
3.	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	30
4.	RESULTADOS.....	31
5.	DISCUSSÃO.....	53
	CONCLUSÃO	57
	REFERÊNCIAS	58
	ANEXO A – Parecer consubstanciado do CEP.....	64
	ANEXO B – Termo de doação dos fetos	65
	ANEXO C – Artigo publicado em Scientific Reports – Nature (Qualis A1).....	66
	ANEXO D – Artigo aceito em Int. Braz. Journal of Urology (Qualis A4)	74

INTRODUÇÃO

O cérebro e a medula espinhal são derivados do tubo neural, estrutura do ectoderma que se forma pelo processo de neurulação primária. Este evento se inicia perto da junção do cérebro posterior e da medula espinhal no nível do 5º somito e avança nas direções cranial e caudal. Isto requer que as camadas superiores do disco germinativo embrionário se elevem como dobras e se fundam na linha média dorsal(1) (Fig.1).

No início do fechamento, as células do neuroectoderma formam o teto do tubo neural e as células epidérmicas sobrejacentes, formam a camada ectodérmica da pele. Em humanos, este fechamento estrutural começa na 3ª semana pós-concepção (SPC) e, ao final da 4ª semana, o tubo neural se separará do ectoderma sobrejacente e sua estrutura estará completa (2).

Figura 1 Embrião humano em neurulação e seu modelo gráfico tridimensional



Legenda: A–C: Imagens de microscopia por ressonância magnética de um embrião com o tubo neural se fechando. Dez pares de somitos são reconhecíveis. A estrutura semelhante a uma bola no lado ventral do embrião é o saco vitelínico. D-E: modelos de reconstrução gráfica em 3D do embrião mostrado em A–C.

Fonte: Yamada, 2006 (1).

Este processo é biologicamente complexo e eventuais falhas na elevação e fusão das pregas neurais podem causar os defeitos do tubo neural (DTN), que correspondem às malformações congênitas mais comuns do sistema nervoso central (3,4).

A etiologia dos distúrbios do tubo neural é multifatorial, incluindo aspectos comportamentais (5), nutricionais (6), infecciosos (7), genéticos e ambientais (8). A incidência global dos DTN é descrita em 1/1.000 (9) embora existam variações regionais importantes; como na China cujas taxas na região Nordeste foram 1/200 enquanto na região Sul foi de 1/1.000. Esta incidência foi reduzida com a suplementação com ácido fólico para mulheres que desejavam engravidar; no Nordeste o índice reduziu para 1/1.000 e na região Sul baixou para 0,6/1000. Com a dose diária proposta de 400 microgramas, desde os 30 dias antes da concepção até o final do primeiro trimestre, a literatura estima redução de 72% do risco de DTN (10,11).

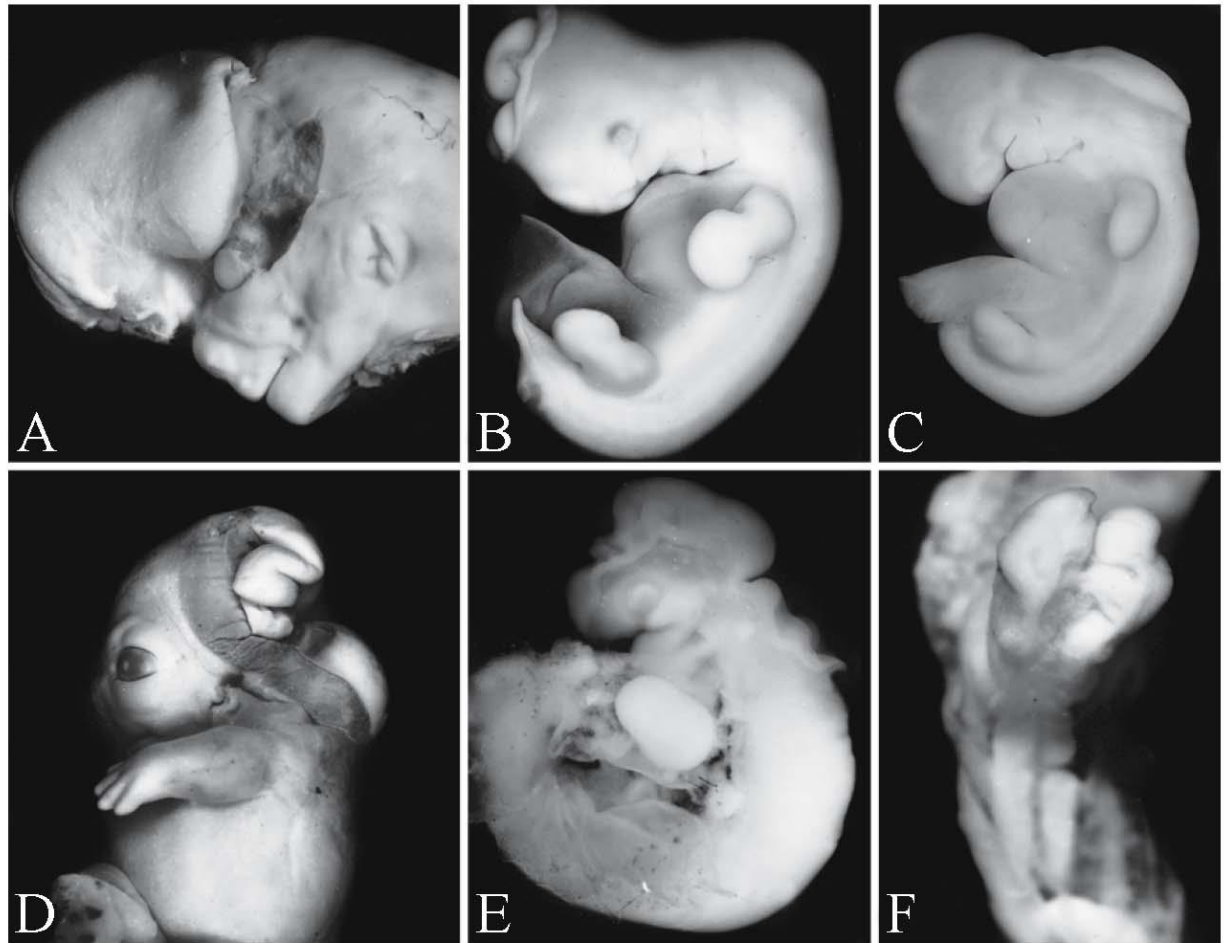
Estas disrafias podem variar em termos de gravidade e sítio do acometimento. Quatro tipos principais de DTN são encontrados no nível craniano e espinhal: (1) a placa neural permanece aberta (anencefalia e mielosquise, respectivamente); (2) a exteriorização do tubo neural (encefalomeningocele e mielomeningocele); (3) exteriorização apenas de meninges (meningoceles cranianas e espinhais); e (4) apenas um defeito esquelético sendo evidente (*cranium bifidum occultum* e *spina bifida occulta*) (12).

Os DTNs craniais podem ser classificados desde o tipo I, em que o tubo neural é aberto na parte frontal da cabeça (expondo o prosencéfalo e o telencéfalo), até o tipo VI que descreve o disrafismo total, expondo cérebro e medula espinhal (Fig. 2) (13). A exposição contínua da placa neural e de porções encefálicas ao líquido amniótico causa degeneração tecidual, cursando com a anencefalia, a forma mais grave dos DTN, cujo desfecho mais comum é a natimortalidade (14).

Ainda que alguns fetos possam nascer vivos e com um tronco cerebral rudimentar, são incapazes de possuir consciência ou de sentir dor, permanecendo somente com ações reflexas, como respiração e, ocasionalmente, respostas ao toque; estes recém-nascidos anencefálicos não são viáveis ou tratáveis e suas sobrevivências são, geralmente, medidas em horas e, raramente, em dias (15,16).

A prevalência global estimada da anencefalia é de 3 para 10.000 nascimentos, embora variações regionais possam ocorrer (6). Nos Estados Unidos, entre 2004 e 2006, a prevalência de anencefalia foi de 0,55 por 10.000 nascidos vivos e, considerando os nascidos vivos, natimortos ou abortados o índice chegava à 2,54 por 10.000 (4).

Figura 2 – Classificação dos DTNs cranianos em embriões humanos



Legenda: A) tipo I: o tubo neural é aberto na parte frontal da cabeça; B) tipo II: o tubo neural está aberto em a região parietal; C) tipo III: o neural o tubo está aberto sobre o quarto ventrículo; D) tipo IV: o tubo neural está aberto sobre o mesencéfalo para o rombencéfalo; E) tipo V: o tubo neural é aberto desde a parte frontal da cabeça até a região cervical; F) tipo VI: disrafismo total, envolvendo toda a extensão do encéfalo e da medula espinhal.

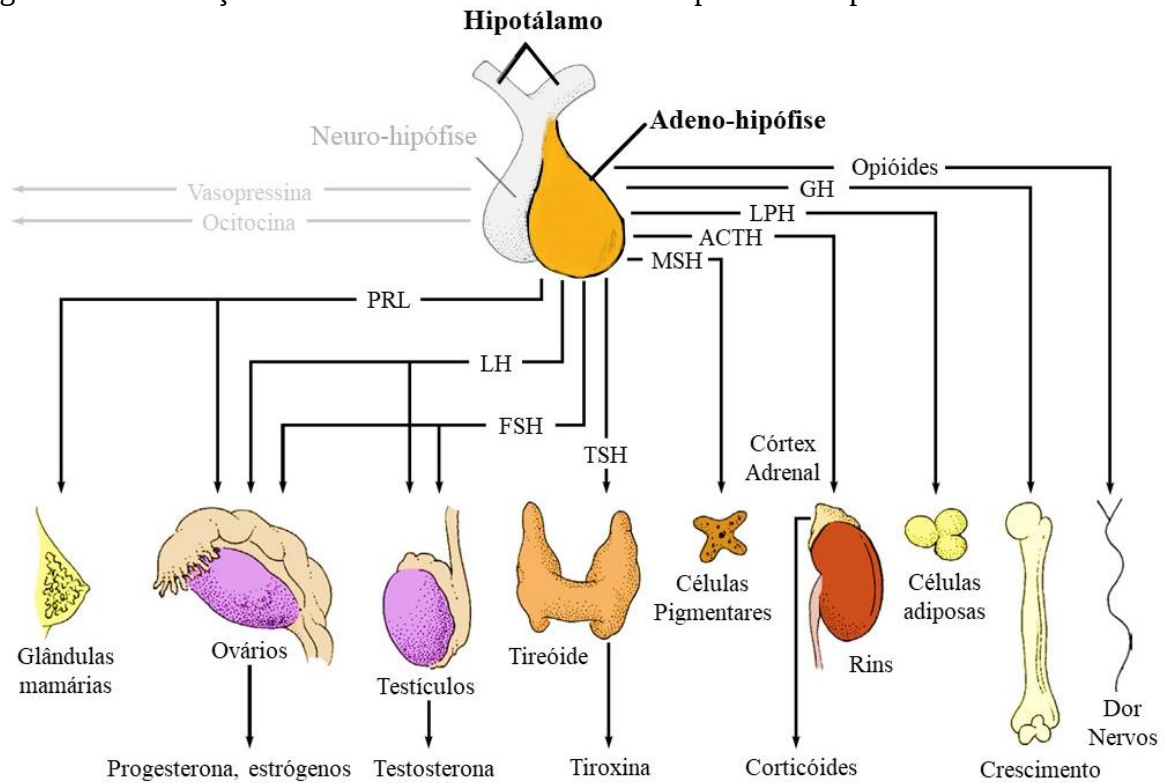
Fonte: Nakatsu, 2000 (13).

A exposição ao líquido amniótico causa danos irreversíveis não apenas ao córtex cerebral, mas também ao hipotálamo. Deste modo, a conexão desta estrutura com a hipófise pode ser prejudicada levando à efeitos secundários em outros órgãos e sistemas à exemplo do o trato urinário, incluindo os rins e sistema coletor (17,18), ureteres (19) e bexiga (20).

Os fetos humanos típicos têm neurônios em seus cérebros que produzem GnRH já ao término do primeiro mês de gravidez (21). Em resposta à estímulos de pró-hormônios hipotalâmicos, a adeno-hipófise (Fig. 3) secreta nove hormônios: a corticotropina (ACTH), que faz com que o córtex adrenal secrete hormônios corticosteroides; o hormônio do crescimento (GH); o hormônio folículo-estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH) que interagem para regular a função das gônadas; a prolactina (PRL) responsável pela síntese de leite nas

glândulas mamárias; o hormônio tireotrópico (TSH) que estimula a glândula tireoide a secretar tiroxina; a lipotropina (LPH) que afeta o metabolismo da gordura; o hormônio estimulante de melanóforos (MSH) que estimula a síntese de melanina nas células pigmentares e opióides (endorfinas e encefalinas) que promovem o controle da dor (22).

Figura 3 – Sinalização hormonal relacionados ao eixo hipotálamo-hipofisário



Legenda: GH = hormônio do crescimento; LPH = lipotrofina; ACTH = hormônio adrenocorticotrófico; MSH = hormônio estimulante de melanóforo; TSH = hormônio tireoestimulante; FSH = hormônio folículo estimulante; LH = hormônio luteinizante; PRL = prolactina

Fonte: Modificado de Jones, 2014 (22).

A hipófise tem dois lobos e se conecta ao hipotálamo na base do cérebro. O lobo posterior é chamado neuro-hipófise e o anterior ou adeno-hipófise. Durante o desenvolvimento embrionário, a adeno-hipófise se forma a partir de uma invaginação ectodérmica do estomatodeu, a cavidade oral embrionária que mais tarde se torna o palato. Essa invaginação de células então se estende em direção à neuro-hipófise que cresce a partir do cérebro embrionário (23).

No desenvolvimento hipofisário, a diferenciação celular do lobo anterior é inicialmente identificada pelas células corticotróficas, que têm imunoreatividade fetal de adrenocorticotropina (ACTH) na 6ª semana, seguido das células somatotróficas (24,25). A

produção de gonadotrofinas é percebida por volta das 9 semanas pós-concepção, sendo possível demonstrar a liberação destes sinalizadores na circulação fetal no início do segundo trimestre em concomitância com o período da diferenciação dos órgãos genitais (26,27). Mas para isto, ao final do primeiro trimestre o desenvolvimento normal destes grupos celulares exige a presença de um cérebro intacto (28).

Estudos evidenciaram que o número e o tamanho das células corticotrópicas e gonadotrópicas eram inferiores em fetos anencefálicos, indicando que estes indivíduos são deficientes em GnRH hipotalâmico (28–31). A relevância do hipotálamo na manutenção e proliferação daquelas células é percebida, nas alterações do desenvolvimento de seus órgãos-alvo (32).

À exemplo da adrenal cuja hipoplasia em fetos anencefálicos (33–35) poderia justificar os distúrbios do desenvolvimento genital uma vez que sua córtex é responsável pela síntese de hormônios virilizantes (36,37). Essa última relação seria mais assertiva para fetos masculinos, pois acredita-se que os ovários fetais não desempenhem um papel relevante na diferenciação do sexo feminino uma vez que secretam pouco estrogênio (38).

Aquela racionalidade de causa-efeito entre a anencefalia e os distúrbios do desenvolvimento urogenital masculino foi questionada em literatura. Carvalho et al., utilizando técnicas histológicas e de imunomarcação, concluíram que anencefalia não promove alterações estruturais no pênis fetal quando comparado ao grupo de fetos normais (39). Ao avaliar o volume prostático, Pires e colaboradores não observaram diferenças estatisticamente significativas para o volume prostático na comparação de fetos com anencefalia e fetos normais, embora tenham-na para os volumes testiculares entre os grupos (37,40).

Ao resgatarmos dados epidemiológicos quanto à distribuição da anencefalia entre os gêneros, observamos que existe uma ocorrência três a quatro vezes maior desta condição em fetos femininos (41); ainda assim, as publicações sobre as implicações da anencefalia no sistema reprodutor destes indivíduos são raras.

Em estudo da genitália externa, Vieirals et al. não encontraram diferenças estatisticamente significativas para as medidas do clitóris e da distância anogenital entre os grupos; embora isto tenha sido observado em outros parâmetros como o comprimento do introito vaginal, a distância entre clitóris-ânus, e a distância do introito vaginal aos grandes lábios, que foram menores para os fetos anencefálicos; por outro lado, a largura do introito vaginal neste grupo foi maior (42). Quando estudaram a vagina de fetos anencefálicos em comparação aos fetos normais, Ribeiro-Júlio e colaboradores não encontraram diferenças

estatisticamente significativas para o comprimento e largura da vagina, mas perceberam que estes parâmetros têm uma menor tendência de crescimento entre os fetos anencefálicos durante o segundo trimestre gestacional (43).

A busca por dados sobre a correlação entre anencefalia e a estrutura uterina do feto, identifica a notável escassez de publicações no tema e, nos poucos manuscritos encontrados observamos a ausência de análise estatística comparativa, o que reforça a necessidade de uma investigação mais recente e abrangente sobre o assunto.

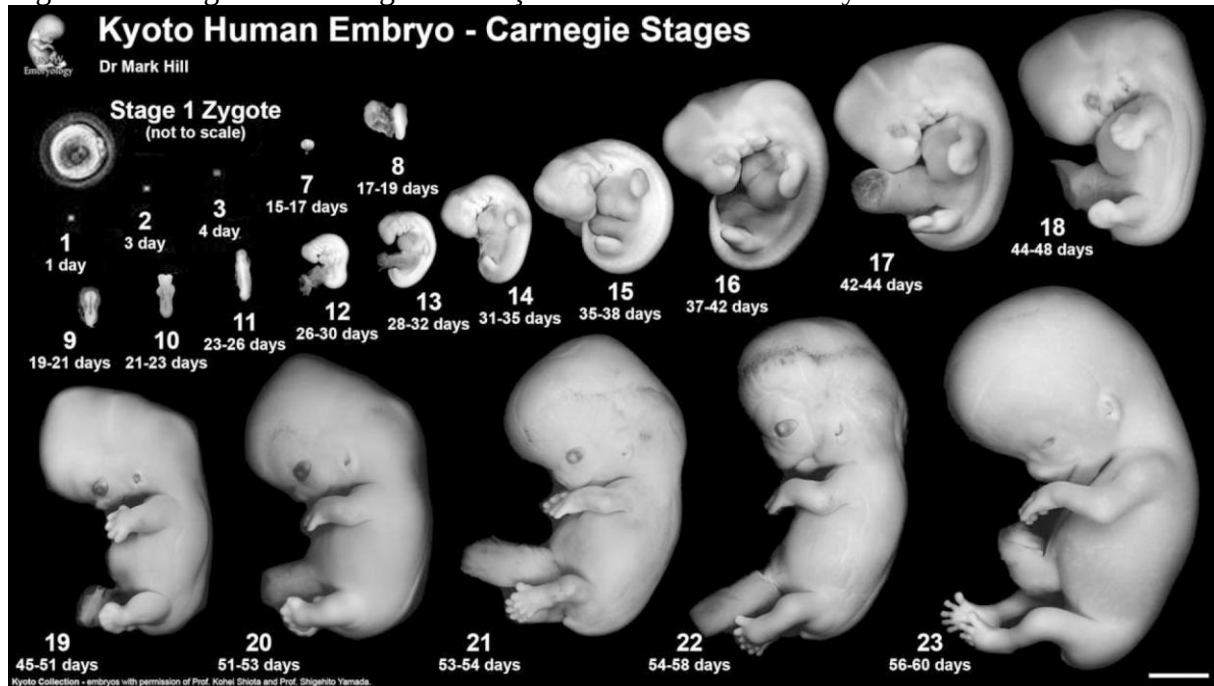
Determinação da idade embriológica e fetal

Os termos utilizados no cotidiano para descrição da idade de um conceito são alvos de debate no campo da embriologia e medicina fetal. A descrição em semanas gestacionais é considerada a partir do primeiro dia do último período menstrual; entretanto o uso de dados menstruais é pouco assertivo e gravemente limitado (44).

Embora seja conveniente utilizar a data da última menstruação para estimar o tempo de gravidez, é notável que este cálculo é falacioso já que os intervalos menstruais podem não representar a idade do conceito. O’Rahilli & Muller consideram que o termo “idade gestacional” seja ambíguo e por isto deveria ser descartado (45); deste modo, descreveremos a idade embriológica ou a idade fetal consideradas em semanas pós-concepção.

O período embrionário compreende desde o momento da fertilização até a oitava semana pós-concepção. Durante este intervalo cerca de 90% das mais de 4.500 estruturas nomeadas do corpo adulto já estarão presentes. O estudo da embriologia *ex-vivo*, feito através da apreciação de vasta gama de características internas e externas passíveis de mensuração direta permitiu a estratificação do desenvolvimento do embrião dentro dos 23 estágios de Carnegie (Fig. 4). Na prática clínica, ao utilizarmos características externas mensuráveis e achados ultrassonográficos, podemos inferir sobre a idade embriológica e correlacioná-la com os estágios de Carnegie (45,46).

Figura 4 – Estágios de Carnegie – Coleção da Universidade de Kyoto



Legenda: Estágios de desenvolvimento de Carnegie nomeados de 1 a 23 compreendem desde a fertilização até 8 semanas completas. Os embriões são mostrados em uma visão lateral esquerda e foram dimensionados para comparação direta do tamanho geral e crescimento. A barra de escala é de 5 mm.

Fonte: Hill, 2012 (46).

Para que a estimativa da idade seja feita, alguns comprimentos do embrião podem ser medidos: diâmetro máximo do saco coriônico, o comprimento vértice-cóccix, o comprimento da vértice-calcâneo, o diâmetro biparietal, a circunferência da cabeça, o comprimento do rombencéfalo, o comprimento total do cérebro, o maior comprimento exclusivo dos membros inferiores, e os comprimentos dos membros como bem como de seus segmentos. Tudo isto tornou-se consideravelmente mais preciso quando métodos refinados de datação da fertilização foram combinados com a ultrassonografia (47,48).

O período fetal inicia na 9ª semana pós-concepção, quando os órgãos e sistemas estão formados; a partir deste momento, ocorrerá crescimento menos pronunciado e sem mudanças abruptas como no embrião.

Neste sentido, outras medidas possíveis representam formas auxiliares para a estimativa da idade fetal; à exemplo, a curva de crescimento do comprimento renal (49). Em estudo com amostras frescas obtidas por dilatação e aborto por evacuação Hern aferiu os parâmetros convencionalmente utilizados para determinação da idade fetal e observou que o tamanho do pé tem especial correlação com a idade fetal (50).

O cálculo da idade fetal padrão é feito pelo tamanho do maior pé, medido do calcanhar ao até a ponta do maior dedo ao longo da face plantar. Mercer et al. avaliaram este método em ultrassonografia pré-natal e apontam que esta mensuração tem lugar de destaque quando outros parâmetros não permitem o uso assertivo dos pontos antropométricos como quadros de anencefalia, displasia de membros ou bacia (51). Em concordância com os achados anteriores Mhaskar e colaboradores demonstraram que o comprimento médio do pé aferido em ultrassonografia correspondeu favoravelmente com dados de espécimes formolizados descritos em 1920 por Streeter (52,53).

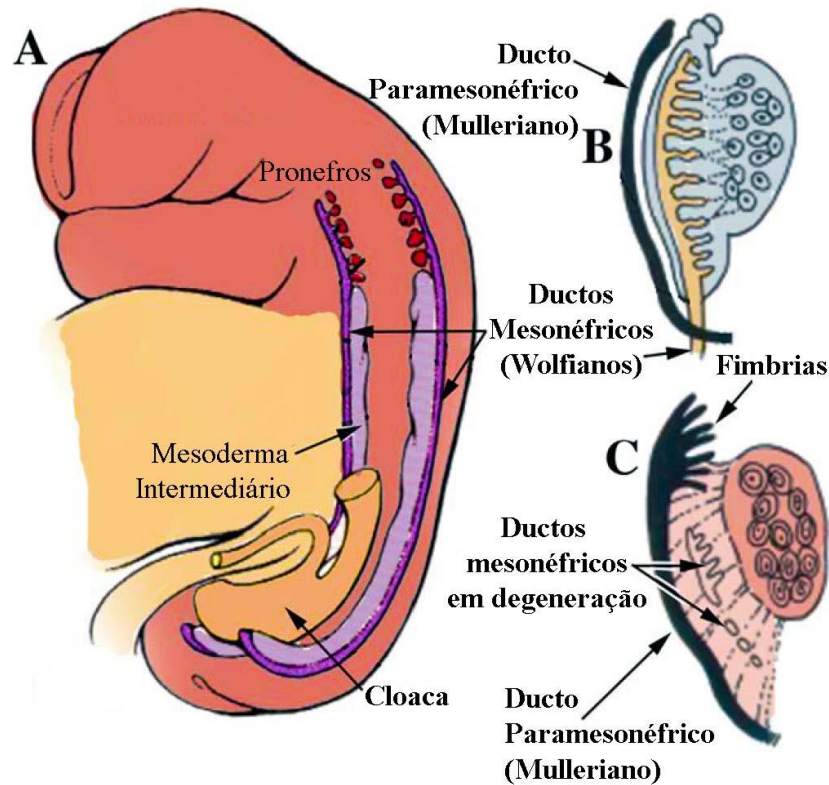
Embriologia uterina e genital

As modificações no desenvolvimento do trato reprodutivo feminino resultam da perturbação dos mecanismos morfogenéticos normais e de seus mecanismos moleculares subjacentes; quando a diferenciação daquelas estruturas fetais não ocorre de maneira orquestrada, as anomalias congênitas resultantes podem comprometer a forma e a funcionalidade tanto do trato urinário como do reprodutor.

As características sexuais começam a se desenvolver a partir da 7ª semana de gestação. Antes disso, ocorre o desenvolvimento sexual indiferenciado. Durante este estágio, dois pares de ductos genitais (de Müller e de Wolff) se formam em ambos os sexos. O ducto pronéfrico cresce caudalmente e atinge a cloaca (54).

Após a degeneração destes pronéfrons, suas porções caudais permanecem como dutos de Wolff, que se desenvolverão como sistema reprodutor masculino caso a determinação do sexo cromossômico, inclua a presença do cromossomo Y (55). Neste caso a manifestação do gene SRY (*Sex-Determining Region Y*) inclui a ação do “fator testículo determinante” (FDT) sobre a gônada indiferenciada, as células de Sertoli do então testículo fetal produzem o fator anti-Mülleriano, que inibe a diferenciação sexual feminina (Fig. 5).

Figura 5 – Modificações das estruturas mesonéfricas e paramesonéfricas

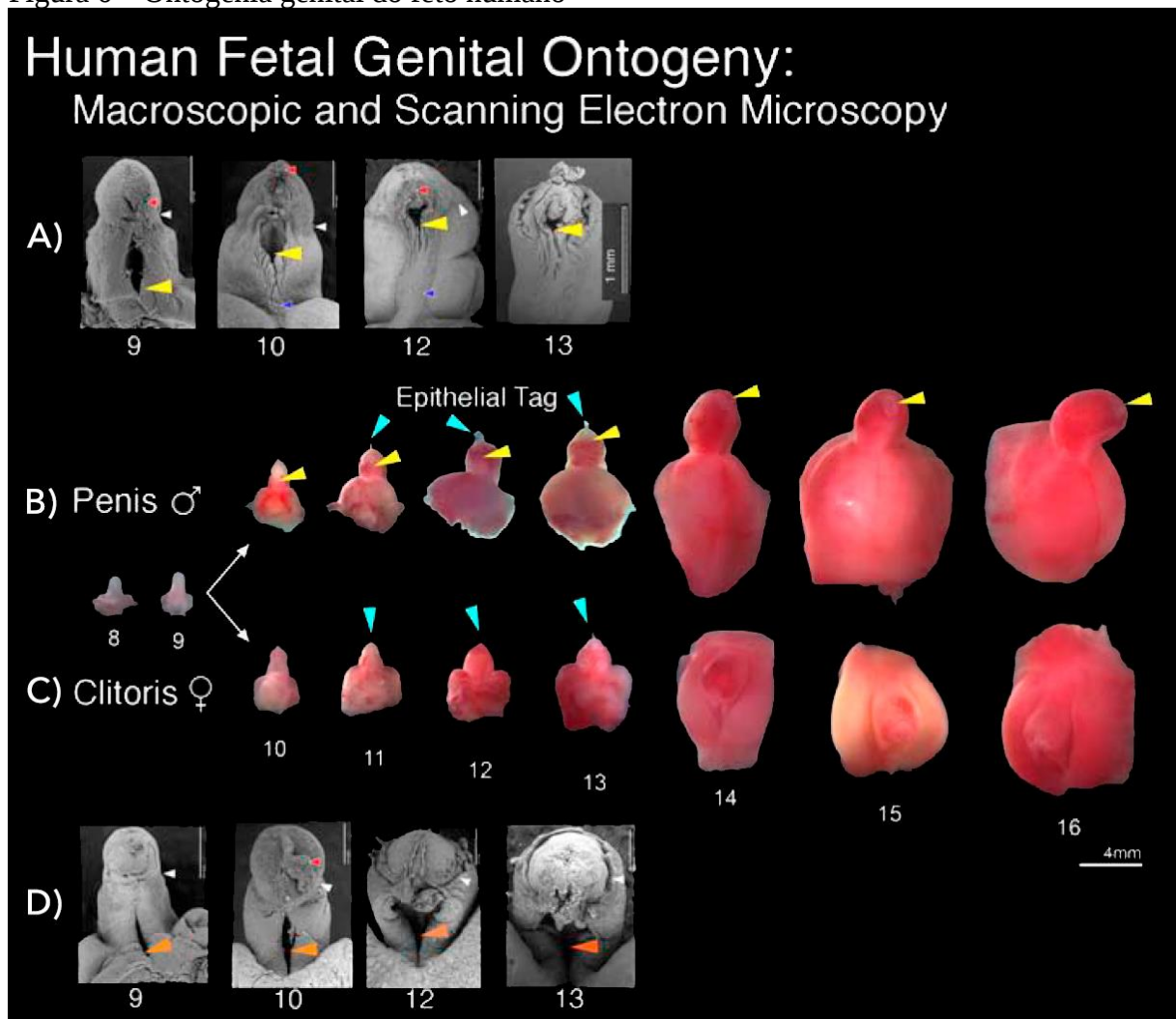


Legenda: A) Formação do ducto de Wolff (mesonéfrico), que por 24 dias cresceu caudalmente para se juntar à cloaca. Com 5-6 semanas, os ductos paramesonéfricos (Müllerianos) aparecem como invaginações do epitélio celômico. B) Com 7 semanas, os ductos paramesonéfricos cresceram caudalmente em direção ao seio urogenital. C) Subsequentemente, às 8 semanas, a abertura dos ductos paramesonéfricos na cavidade celômica é fimbriada e, com o crescimento posterior, atingem o seio urogenital, enquanto os ductos de Wolff degeneram.

Fonte: Modificado de Cunha et al. 2018 (56).

Considerando um feto geneticamente XX sem outras mutações, a história natural do desenvolvimento daquelas estruturas ambíguas culminaria no surgimento inicial do ovário e das estruturas derivadas dos canais paramesonéfricos, os ductos de Müller e seguido das estruturas da genitália externa feminina. Entre os elementos que formam a genitália externa estão o tubérculo genital, primórdio do clitóris, bem como as pregas urogenitais e as eminências lábio-escrotais que correspondem, respectivamente, aos pequenos e grandes lábios (Fig. 6) (57-59).

Figura 6 – Ontogenia genital do feto humano



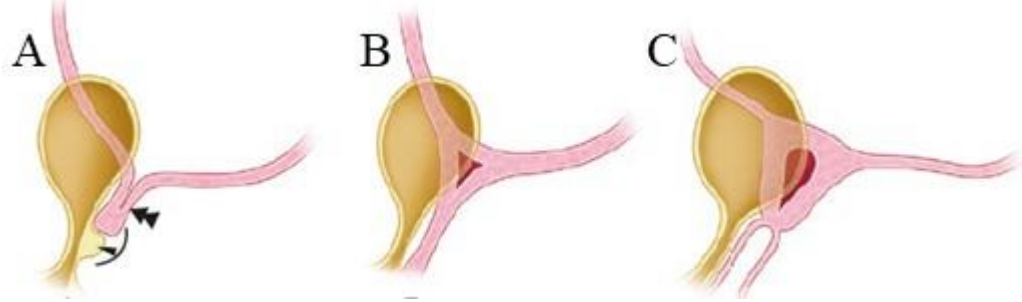
Legenda: Macroscopia e microscopia eletrônica do pênis fetal humano (linhas A e B) e do clitóris humano (linhas C e D) entre a 8ª e 16ª semanas pós-concepção. As pontas de seta azuis indicam a marca epitelial (pequenas pontas de seta vermelhas nas imagens de microscopia). As setas amarelas indicam o avanço do meato uretral em fetos masculinos. Observe a fusão progressiva das dobras uretrais nas amostras penianas para formar a uretra masculina (linhas A e B, pontas de seta amarelas) em contraste com o vestíbulo bem aberto apresentando um sulco na amostra feminina (linha D, pontas de seta laranja). As pequenas pontas de seta brancas nas imagens de microscopia denotam a junção entre a glândula, a haste peniana/clitoriana e o pequenas pontas de seta azuis a rafe mediana.

Fonte: Baskin, 2020 (59).

O conhecimento sobre o desenvolvimento uterino é usualmente baseado em cortes com hematoxilina e eosina, entretanto, avanços recentes com estudos imuno-histoquímicos permitiram novas observações sobre o desenvolvimento daquele órgão e de suas tubas uterinas.

Estas estruturas tomam seus aspectos iniciais entre a 10ª e a 20ª SPC. Com exceção da vagina, a maior parte do trato reprodutivo feminino é derivada dos ductos dos ductos paramesonéfricos, ou de Müller, que se fundem na linha média para formar o canal uterovaginal, o precursor do corpo uterino e do colo uterino (Fig. 7).

Figura 7 – Desenvolvimento do trato genital feminino



Legenda: A) Fusão dos ductos paramesonéricos (seta maior) com o bulbo seio-vaginal (seta menor); B) formação da vagina e C) aspecto final da genitália feminina após o término da canalização do útero e da vagina.

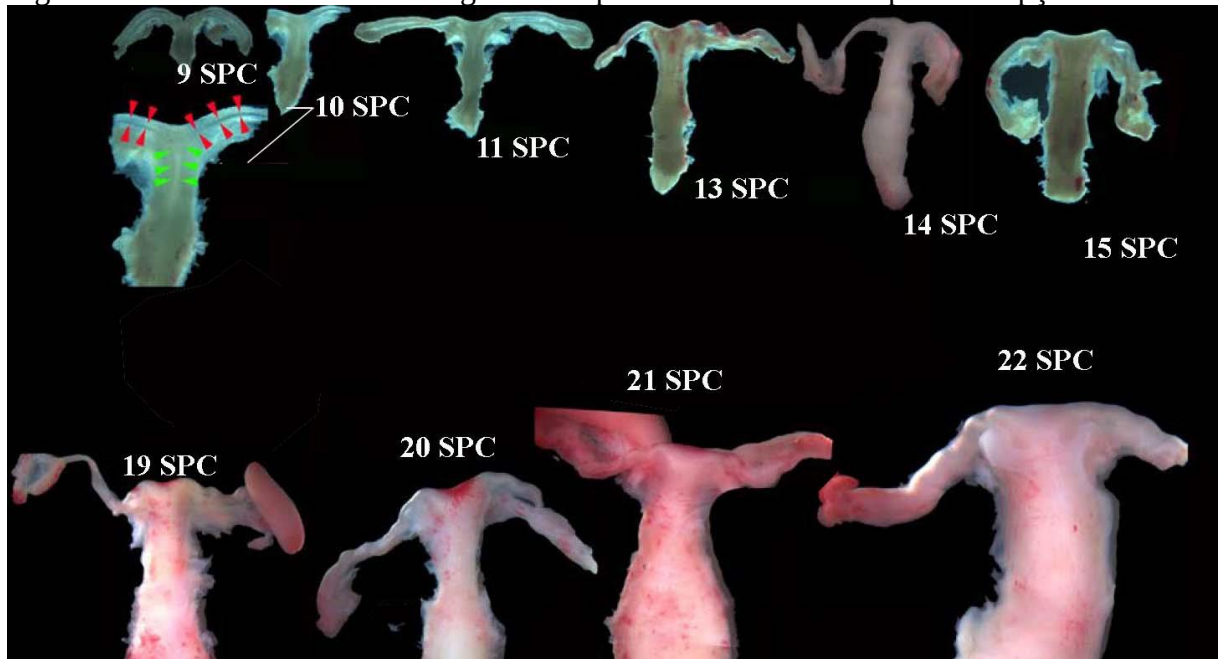
Fonte: Favorito, 2021 (60).

Com a migração do ovário, as duas primeiras porções originam a tuba uterina e a porção distal fusionada forma o canal uterino (Fig. 8). Na região da união dos ductos paramesonéricos com o seio urogenital se desenvolve uma condensação tecidual chamada de bulbo sinovaginal.

O uso dos marcadores PAX2 (reativo com epitélio mülleriano) e FOXA1 (reativo com epitélio do seio urogenital e seus derivados pélvicos conhecidos) reforçam a ideia de que o epitélio vaginal humano deriva exclusivamente do epitélio urogenital sinusal.

Marcadores de diferenciação epitelial e mesenquimal são descritos durante o desenvolvimento do trato reprodutivo feminino humano e se expressam de forma dinâmica temporal e espacial, à exemplo queratinas, proteínas homeobox (HOXA11 e ISL1), fatores de transcrição e moléculas sinalizadoras (TP63 e RUNX1) e receptores de esteroides (receptor de estrogênio alfa e receptor de progesterona). Os receptores de progesterona podem eventualmente não ser detectáveis no epitélio do corpo uterino entre a 9-21ª SPC (56).

Figura 8 –Úteros fetais humanos organizados por idade em semanas pós-concepção



Legenda: SPC = semanas pós-concepção. Ocorre aumento de tamanho e complexidade morfológica com o tempo e que os pontos de referência que distinguem o corpo uterino, o colo do útero e a vagina são sutis. Espécimes de 9, 10, 11, 13 e 15 SPC permitem a visualização da organização interna (epitelial) em regiões não muito espessas. A amostra de 10 SPC é apresentada em ampliações baixas e altas. As setas vermelhas demarcam o epitélio que define o lúmen da tuba uterina. As setas verdes definem o epitélio que reveste o útero. Os tamanhos relativos dos espécimes não são exatos, mas aumentam com a idade.

Fonte: Robboy, 2017 (61).

Entre a 10^a e a 20^a semana, o bulbo sinovaginal se desenvolve em direção ao períneo fetal, separando a vagina em desenvolvimento da uretra. Neste período, ocorre a canalização da vagina. Os dois terços proximais da vagina são derivados dos ductos paramesonéfricos, enquanto o terço distal tem origem no seio urogenital.

Compreendendo que sinalizadores moleculares hormonais e nervosos estão relacionados com o desenvolvimento do uterino, a hipótese deste estudo é de que podem existir diferenças na organogênese do útero de fetos humanos relacionadas com a anencefalia.

1 OBJETIVO

Objetivo geral

O objetivo deste trabalho é avaliar a morfometria do útero quanto ao comprimento e largura em fetos humanos normais e anencefálicos, fornecendo uma análise descritiva de acordo com parâmetros antropométricos.

Objetivos específicos

- a) Correlacionar o comprimento e a largura uterina com a idade, peso e o comprimento vértice-cóccix no grupo de fetos normais;
- b) correlacionar o comprimento e a largura uterina com a idade, peso e o CVC no grupo de fetos anencefálicos;
- c) realizar a análise comparativa dos achados comprimento e a largura uterina entre os grupos de fetos normais e fetos anencefálicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho do estudo

O presente estudo teve caráter descritivo e transversal, no qual foram estudados fetos humanos femininos, com idade fetal entre 12-22 semanas pós-concepção, no laboratório de anatomia.

Comitê de ética

O projeto de pesquisa previamente ao início do estudo foi submetido à Plataforma Brasil e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital Universitário Pedro Ernesto (anexo 1: CEP/HUPE – IRB: 4.088.773, CAAE: 31780419.0.0000.5259), em conformidade com o convênio e o termo de doação de fetos entre o Instituto Fernandes Figueira e a Universidade do Estado do Rio de Janeiro (anexo 2). A pesquisa foi inteiramente conduzida na Unidade de Pesquisa Urogenital do Centro Biomédico da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Amostra

Foram estudados 34 fetos do sexo feminino (22 normais e 12 anencefálicos), com idades entre 12 e 22 semanas após a concepção (SPC) e peso menor que 500g. Os espécimes entregues ao laboratório de Pesquisa Urogenital da UERJ foram acondicionados em solução de formol 10% em contêiner adiabático lacrado. Após a abertura dos contêineres os fetos foram limpos, identificados e analisados quanto aos seus aspectos morfológicos externos. Todos estavam em bom estado de conservação. Nenhum dos fetos estudados teve morte relacionada ao aparelho urogenital e foram alocados de acordo com a característica de anencefalia ou normalidade.

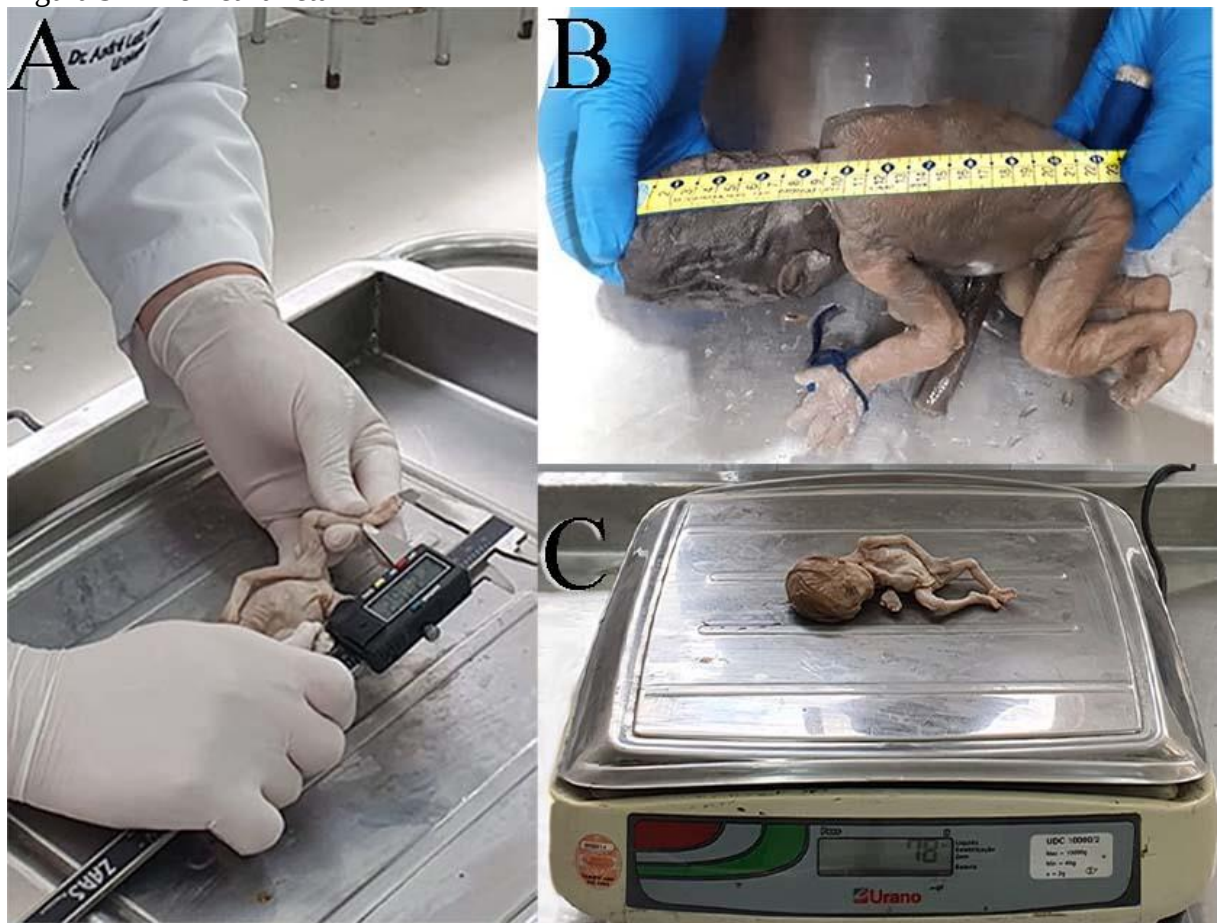
Avaliação da antropometria fetal

Imediatamente antes da dissecação, os fetos foram avaliados quanto comprimento vértice-cóccix (em centímetros), tamanho do pé (em milímetros) e peso (em gramas). Todos os dados foram coletados entre julho de 2019 e março de 2021. O mesmo observador aferiu todas as medidas.

Conforme apresentado na Figura 9, para essas mensurações foram utilizados:

- a) paquímetro digital de 0,01cm de precisão (Zaas) para a medida do pé;
- b) fita métrica para tamanho comprimento vértice-cóccix (CVC) e
- c) balança digital de precisão de 1,0g para o peso.

Figura 9 – Biometria fetal



Legenda: Demonstração dos principais parâmetros biométricos fetais. (A) comprimento do pé; (B) peso (C) comprimento vértice-cóccix.

Fonte: O autor, 2023.

A idade fetal foi determinada em semanas pós-concepção (SPC), de acordo com o critério do comprimento do maior pé (desde o calcanhar até a extremidade do dedo mais proeminente, 1º ou 2º dedo). Foram feitas três medidas de cada um dos pés, direito e esquerdo, utilizando paquímetro de precisão em milímetros (mm). O pé com a maior média seria utilizado para a determinação da idade fetal (50–53).

Obtenção e análise das amostras

O acesso à cavidade foi feito por incisão subcostal bilateral (Fig. 10.A); abdome e pelve foram cuidadosamente dissecados sob magnificação com microscópio Zeiss Discovery V8a, com aumento de 16x/25x. Os cólons direito e esquerdo foram rebatidos medialmente para exposição do espaço retroperitoneal. A pelve foi extraída em bloco, incluindo o trato geniturinário, e acondicionada com solução de formol 10% em recipiente vedado e etiquetado. O material foi catalogado de acordo com o grupo, idade gestacional e data da dissecação para posterior microdissecção da pelve (Fig. 10.B).

Figura 10 – Dissecação e microdissecção em laboratório

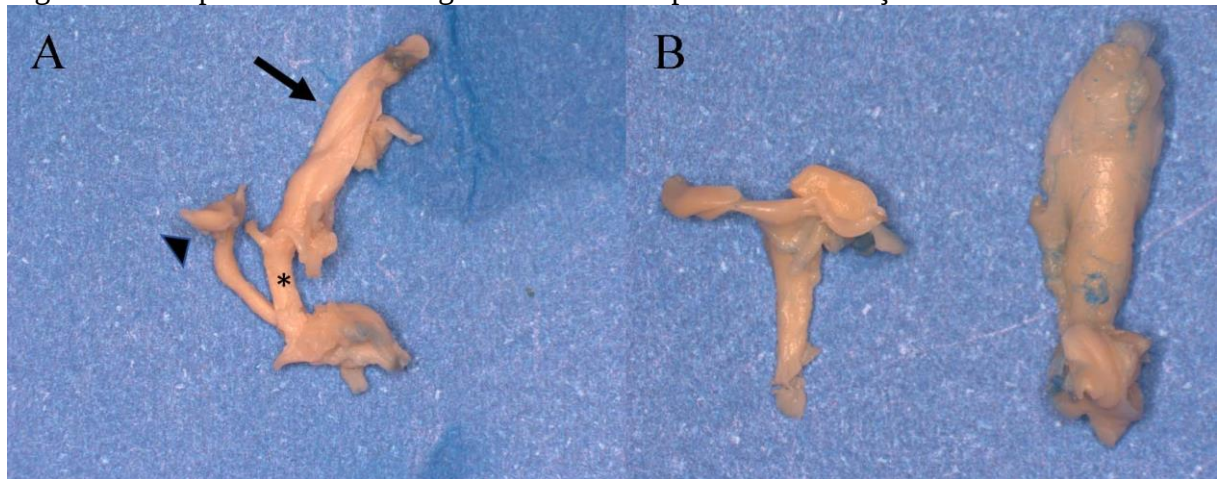


Legenda: (A) Apresentação da cavidade abdominal por incisão subcostal bilateral. (B) Laboratório de microdissecção utilizando Zeiss Discovery V8a.

Fonte: O autor, 2023.

A pelve fetal foi dissecada sob microscopia para identificar e expor os órgãos urogenitais e individualização dos tratos genital e urinário. Todos os fetos foram dissecados pelo mesmo pesquisador, com experiência prática em microcirurgia. Para esta finalidade foi empregado o microscópio Zeiss Microscope Discovery V8 (lente estereoscópica com ampliação de 16/25X), sempre nas mesmas condições e após dissecção completa das estruturas, as fotografias foram capturadas por câmera acoplada ao aparelho (Zeiss Axiocam 506 Color, câmera de microscópio de 6 megapixels), e armazenadas em banco de dados em arquivo TIFF (Fig. 11).

Figura 11 – Aspecto do bloco urogenital feminino após microdissecção



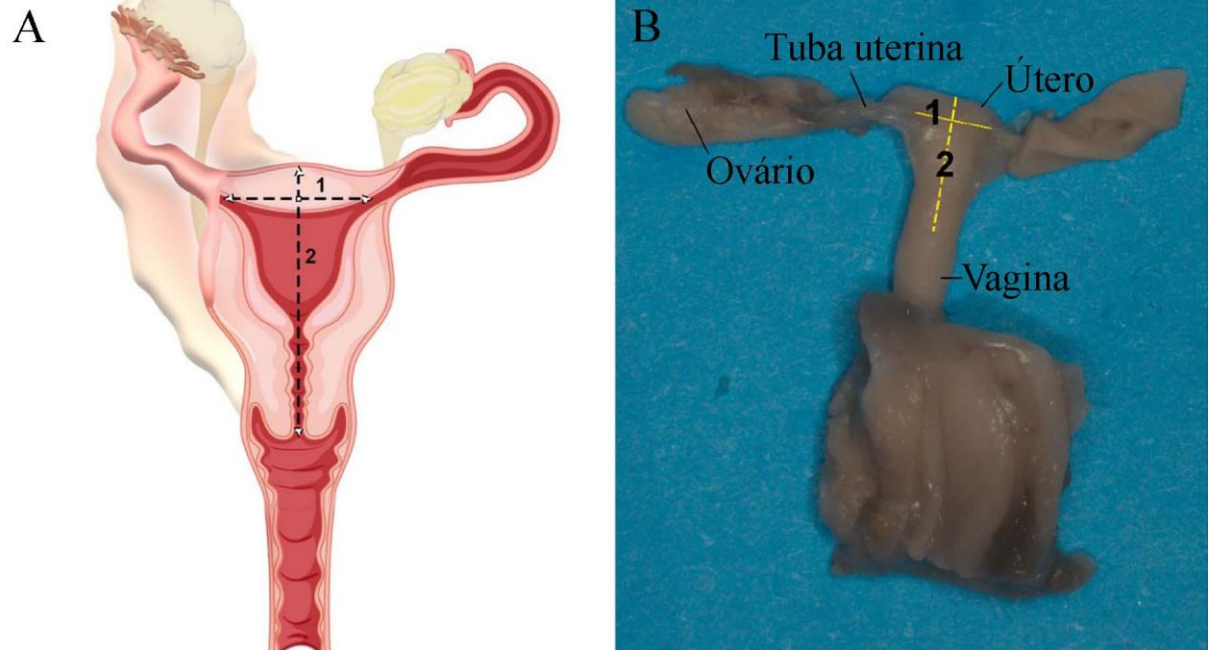
Legenda: Estruturas pélvicas dissecadas: (A) trato geniturinário inferior com a vulva ainda a ser dissecada. Foi identificado o útero (ponta da seta), a bexiga (seta) e a uretra (asterisco); (B) a imagem mostra o útero e a vagina à esquerda, e a bexiga e uretra à direita (com o restante da vulva a ser dissecado).

Fonte: Modificada do arquivo pessoal do orientador, Prof. Dr. Luciano Alves Favorito, 2020 (62).

O *software* Image J, versão 1.46r, permite a leitura das imagens em arquivo TIFF e assim a aferição dos diâmetros uterinos em interesse. O mesmo observador fez todas as medidas e os dados foram expressos também em milímetros.

Ao calcular as dimensões do útero, assumiu-se que seu comprimento correspondendo à distância do colo ao fundo e que sua largura como equivalente à distância entre as junções útero-tubárias (Fig. 12).

Figura 12 – Aferição das medidas uterinas



Legenda: (A) Desenho esquemático dos órgãos femininos mostrando os padrões métricos usados para medir a largura do útero (1) e o comprimento do útero (2) e (B) os órgãos genitais de um feto feminino com 18 semanas pós-concepcional, após a dissecação com o auxílio do microscópio.

Fonte: O autor, 2023.

Os dados de comprimento e largura uterina foram normalizados para o peso fetal em cada grupo, criando duas variáveis, conforme fórmulas 1 e 2.

$$Var1 = \frac{\text{Comprimento do útero}}{\text{Peso fetal}} \times 100 \quad (1)$$

$$Var2 = \frac{\text{Largura do útero}}{\text{Peso fetal}} \times 100 \quad (2)$$

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos os dados coletados foram tabulados em arquivo CSV. Para análise estatística foi empregado o aplicativo SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) v.13.0.

O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a normalidade dos dados. Uma vez que a hipótese de normalidade foi rejeitada, o teste de Mann-Whitney foi utilizado para verificar a significância estatística das diferenças entre os grupos normal e anencefálico.

O nível de significância inicialmente considerado em 5% foi ajustado pela correção de Bonferroni, resultando em $p < 0,0071(63)$.

Para a medida da relação linear entre variáveis contínuas aleatórias foram realizados testes de correlação Pearson e para a análise de regressão múltipla foi utilizado o teste ANOVA entre os parâmetros uterinos encontrados, os grupos estudados (normal e anencefálicos) e os dados antropométricos fetais: idade, CVC e peso.

O coeficiente de correlação (ρ) foi calculado e a força da correlação foi considerada de acordo com o módulo do coeficiente ($|\rho|$), permitindo a estratificação da seguinte forma: muito forte ($1,0 \leq |\rho| < 0,9$), forte ($0,9 \leq |\rho| < 0,7$), moderada ($0,7 \leq |\rho| < 0,5$), fraca ($0,5 \leq |\rho| \leq 0,3$) ou desprezível ($|\rho| < 0,3$)(64–66). Para a avaliação da proporção em que a variação das medidas uterinas pode ser explicado pelo modelo (ou pelo conjunto das variáveis independentes) foi empregado o coeficiente de determinação, calculado elevando o valor de ρ ao quadrado (r^2) (67,68).

A colinearidade dos dados foi avaliada de acordo com a tolerância e com o fator de inflação de variância (FIV). Uma alta tolerância indica pouca colinearidade, e valores de tolerância próximos de zero indicam que a variável é quase totalmente explicada pelas outras variáveis. Valores de FIV pequenos indicam baixa colinearidade e valores superiores à 10 indicam elevada colinearidade.

RESULTADOS

Durante a avaliação macroscópica dos indivíduos, entre os fetos normais, não foram evidenciadas quaisquer alterações morfológicas; entre os fetos anencefálicos, não foram identificadas outras disgenesias que não exclusivamente a anencefalia. Todos os dados aferidos dos 34 fetos do grupo controle e fetos anencefálicos foram agrupados na Tabela 1.

Os parâmetros de medida central (média e mediana), o desvio padrão e intervalo de confiança dos dados morfométricos aferidos estão apresentados na tabela 2, para fetos normais e tabela 3 para fetos anencefálicos. O resultado das análises comparativas das medianas aferidos pelo teste de Mann-Whitney são apresentadas na tabela 4.

O peso dos fetos variou de 22 a 248g, a mediana do grupo normal foi de 141g e entre os anencefálicos foi de 32g, esta diferença foi estatisticamente significativa (p -valor 0,0017). O comprimento cervice-cóccix (CVC) dos fetos variou de 7 a 20cm; no grupo de fetos normais a mediana foi de 12,75cm e entre os anencefálicos foi de 8 cm, uma diferença estatisticamente significativa (p -valor 0,0015).

A idade fetal variou de 12 a 22 semanas pós-concepção (SPC; com mediana de 17,15 SPC entre fetos normais e 15,40 SPC entre os anencefálicos; esta diferença não foi significante estatisticamente (p -valor 0,0819).

Ao analisarmos os diâmetros uterinos, identificamos variação da largura entre 1,71 e 6,36 milímetros (mm), com mediana de 3,71mm para o grupo de fetos normais e 2,39mm para os fetos anencefálicos. Para o comprimento a variação foi de 1,99 a 6,48mm com mediana de 3,71mm entre fetos normais e 3,38mm no grupo de fetos anencefálicos. Não identificamos diferenças com significância estatística entre os grupos; com p -valor para na análise de comprimento de 0,6004 e para largura de 0,1487.

O comprimento uterino corrigido para o peso fetal (Var1) apresentou mínimo valor de 0,79 e o máximo valor de 19,43. Para o grupo de fetos normais, a mediana foi 2,16 e no grupo de fetos anencefálicos foi de 5,51; diferença estatisticamente significativa (p -valor 0,0046). A largura uterina corrigida para o peso fetal (Var2) apresentou mínimo valor de 1,08 e o máximo valor de 16,68. Para o grupo de fetos normais, a mediana foi de 2,44 e no grupo de fetos anencefálicos foi de 9,21; uma diferença estatisticamente significativa (p -valor 0,0013).

Tabela 1 – Tabela dos dados morfométricos dos fetos analisados em estudo

Grupo	Idade (SPC)	Peso (g)	CVC (cm)	Comprimento uterino (mm)	Largura uterina (mm)	Var1	Var2
Normal	12,90	58	9,00	2,02	1,99	3,48	3,43
Normal	13,60	100	12,00	2,87	2,58	2,87	2,58
Normal	13,80	76	11,50	2,10	2,65	2,76	3,49
Normal	14,50	100	12,50	2,21	2,49	2,21	2,49
Normal	14,90	196	14,00	3,32	4,16	1,69	2,12
Normal	15,10	122	12,00	2,13	3,51	1,75	2,88
Normal	15,20	124	15,00	2,10	2,96	1,69	2,39
Normal	16,60	198	17,00	2,92	3,42	1,47	1,73
Normal	16,70	134	11,00	2,61	2,55	1,95	1,90
Normal	16,80	78	9,50	3,21	3,18	4,12	4,08
Normal	16,80	140	12,50	3,56	5,33	2,54	3,81
Normal	17,50	142	12,50	5,45	3,74	3,84	2,63
Normal	17,50	344	19,00	6,36	7,91	1,85	2,30
Normal	17,70	144	13,00	6,03	5,66	4,19	3,93
Normal	17,90	30	7,50	2,86	4,64	9,53	15,47
Normal	18,60	306	17,00	2,42	4,14	0,79	1,35
Normal	18,70	78	11,00	2,92	3,46	3,74	4,44
Normal	19,20	196	16,50	3,20	4,07	1,63	2,08
Normal	20,10	262	18,00	5,99	3,68	2,29	1,40
Normal	21,50	326	20,00	5,49	4,07	1,68	1,25
Normal	21,70	252	17,00	5,32	4,63	2,11	1,84
Normal	22,60	348	19,50	1,00	3,75	0,29	1,08
Anencefálico	12,30	30	7,50	1,91	2,54	6,37	8,47
Anencefálico	12,30	30	8,00	2,09	3,16	6,97	10,53
Anencefálico	13,60	46	10,00	1,88	4,68	4,09	10,17
Anencefálico	14,00	22	7,00	3,58	3,67	16,27	16,68
Anencefálico	14,30	76	10,50	2,21	2,52	2,91	3,32
Anencefálico	14,50	30	8,00	1,71	2,08	5,70	6,93
Anencefálico	16,30	34	8,00	1,81	4,22	5,32	12,41
Anencefálico	16,50	136	14,00	2,57	3,60	1,89	2,65
Anencefálico	17,60	28	7,50	5,44	2,79	19,43	9,96
Anencefálico	18,00	188	12,50	4,46	6,48	2,37	3,45
Anencefálico	18,30	24	8,00	4,17	2,88	17,38	12,00
Anencefálico	18,60	315	16,00	3,86	5,13	1,23	1,63

Legenda: SPC = semanas pós-concepção; g = gramas; CVC = comprimento vértice-cóccix; cm = centímetros; mm = milímetros; Var1= comprimento do útero (mm)/peso (g) × 100; Var2= largura do útero (mm)/peso (g) × 100.

Fonte: O autor, 2023.

Tabela 2 – Sumário dos dados morfométricos dos 22 fetos normais

Dados morfométricos	(Mín-Máx)	Média	Mediana	DP	IC 95%
Idade (SPC)	(12,90-22,60)	17,27	17,15	2,65	16,15-18,38
Peso (g)	(30,00-348,00)	170,64	141,00	97,07	130,07-211,20
CVC (cm)	(7,50-20,0)	13,95	12,75	3,58	12,46-15,45
Largura uterina (mm)	(2,02-6,36)	3,59	3,06	1,46	2,97-4,20
Comprimento uterino (mm)	(1,99-7,91)	3,84	3,71	1,27	3,30-4,39
Var1	(0,79-9,53)	2,69	2,16	1,81	1,94-3,45
Var2	(1,08-15,47)	3,12	2,44	2,92	1,90-4,34

Legenda: SPC = semanas pós-concepção; g = gramas; CVC = comprimento vértice-cóccix; cm = centímetros; mm = milímetros; Var1= comprimento do útero (mm)/peso (g) × 100; Var2= largura do útero (mm)/peso (g) × 100; DP = desvio padrão; Mín = mínimo; Máx = máximo; IC 95% = intervalo de confiança 95%.

Fonte: O autor, 2023.

Tabela 3 – Sumário dos dados morfométricos dos 12 fetos anencefálicos

Dados morfométricos	(Mín-Máx)	Média	Mediana	DP	IC 95%
Idade (SPC)	(12,30-18,60)	15,52	15,40	2,30	14,22-16,83
Peso (g)	(22,00-315,00)	79,92	32,00	90,46	28,73-131,09
CVC (cm)	(7,00-16,00)	9,75	8,00	2,94	8,08-11,41
Largura uterina (mm)	(1,71-5,44)	2,97	2,39	1,27	2,26-3,69
Comprimento uterino (mm)	(2,08-6,48)	3,65	3,38	1,29	2,92-11,14
Var1	(1,22-19,43)	7,49	5,51	6,44	3,85-11,14
Var2	(1,63-16,68)	8,18	9,21	4,66	5,55-10,82

Legenda: SPC = semanas pós-concepção; g = gramas; CVC = comprimento vértice-cóccix; cm = centímetros; mm = milímetros; Var1= comprimento do útero (mm)/peso (g) × 100; Var2= largura do útero (mm)/peso (g) × 100; DP = desvio padrão; Mín = mínimo; Máx = máximo; IC 95% = intervalo de confiança 95%.

Fonte: O autor, 2023.

Tabela 4 – Comparação das medianas entre os grupos pelo Teste de Mann-Whitney

Dados morfométricos	Fetos normais	Fetos anencefálicos	p valor
Idade (SPC)	17,15	15,40	0,0819
Peso (g)	141,00	32,00	0,0017*
Comprimento cérvix-cóccix (cm)	12,75	8,00	0,0015*
Largura uterina (mm)	3,06	2,39	0,1487
Comprimento uterino (mm)	3,71	3,38	0,6004
Var1	2,16	5,51	0,0046
Var2	2,44	9,21	0,0013

Legenda: SPC = semanas pós-concepção; g = gramas; CVC = comprimento vértice-cóccix; cm = centímetros; mm = milímetros; Var1= comprimento do útero (mm)/peso (g) × 100; Var2= largura do útero (mm)/peso (g) × 100

Fonte: O autor, 2023.

A súmula dos resultados comparativos nos quais foram empregados o teste de Mann-Whitney e considerando o nível de significância padrão não ajustado (p -valor 0,05), há diferença estatisticamente significativa entre os grupos normal e anencefálico, com relação às seguintes variáveis:

- Peso (g) ($p = 0,0017$);
- CVC (cm) ($p = 0,0015$);
- Var 1 ($p = 0,0046$) e
- Var 2 ($p = 0,0013$).

Considerando o nível de significância submetido à Correção de Bonferroni ($p = 0,05 \div 7 = 0,0071$), a comparação das medianas se mantiveram estatisticamente significativas entre os grupos. A matriz de correlações entre os parâmetros do grupo normal está disposta na tabela 5 e para o grupo de fetos anencefálicos está apresentada na tabela 6.

Tabela 5 – Matriz de correlações das variáveis estudadas para os fetos normais

		Idade	Peso	CVC	Comp. Uterino	Larg. Uterina	Var 1	Var 2
Idade	ρ	1	0,684**	0,631**	0,592**	0,399	-0,102	-0,107
	p-valor	---	0,000	0,002	0,004	0,066	0,650	0,634
Peso	ρ	0,684**	1	0,941**	0,572**	0,500*	-0,603**	-0,547**
	p-valor	0,000	---	0,000	0,005	0,018	0,003	0,008
CVC	ρ	0,631**	0,941**	1	0,523*	0,396	-0,676**	-0,619**
	p-valor	0,002	0,000	---	0,013	0,068	0,001	0,002
Comp. Uterino	ρ	0,592**	0,572**	0,523*	1	0,679**	-0,010	-0,170
	p-valor	0,004	0,005	0,013	---	0,001	0,965	0,449
Larg. Uterina	ρ	0,399	0,500*	0,396	0,679**	1	0,061	0,117
	p-valor	0,066	0,018	0,068	0,001	---	0,787	0,605
Var 1	ρ	-0,102	-0,603**	-0,676**	-0,010	0,061	1	0,940**
	p-valor	0,650	0,003	0,001	0,965	0,787	---	0,000
Var 2	ρ	-0,107	-0,547**	-0,619**	-0,170	0,117	0,940**	1
	p-valor	0,634	0,008	0,002	0,449	0,605	0,000	---

Legenda: ρ = coeficiente de correlação de Pearson; Comp. = Comprimento; Larg.= Largura; CVC = comprimento vértice-cóccix Var1 = (comprimento uterino ÷ peso fetal) $\times$ 100; Var2 = (largura uterina ÷ peso fetal) $\times$ 100; ** = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,01; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,05.

Fonte: O autor, 2023.

Tabela 6 – Matriz de correlações das variáveis estudadas para os fetos anencefálicos

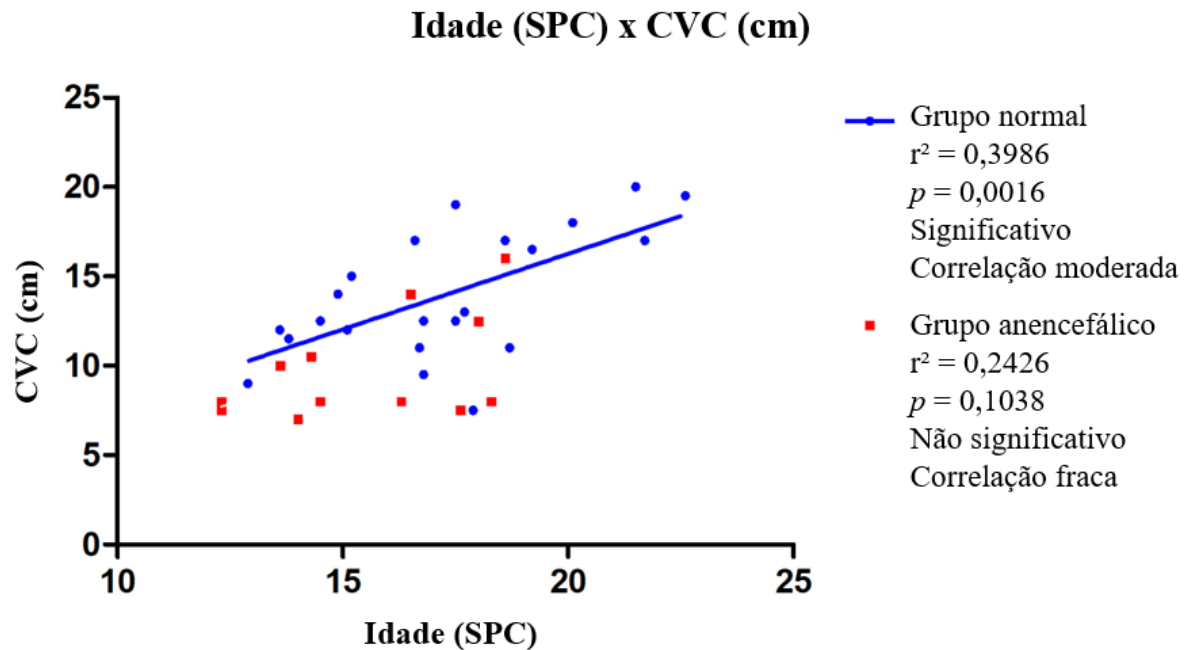
		Idade	Peso	CVC	Comp. Uterino	Larg. Uterina	Var 1	Var 2
Idade	ρ	1	0,557	0,493	0,722**	0,435	0,117	-0,319
	p-valor	---	0,060	0,104	0,008	0,158	0,718	0,312
Peso	ρ	0,557	1	0,934**	0,293	0,657*	-0,564	-0,749**
	p-valor	0,060	---	0,000	0,355	0,020	0,056	0,005
CVC	ρ	0,493	0,934**	1	0,145	0,591*	-0,668*	-0,827**
	p-valor	0,104	0,000	---	0,653	0,043	0,018	0,001
Comp. Uterino	ρ	0,722**	0,293	0,145	1	0,289	0,550	-0,011
	p-valor	0,008	0,355	0,653	---	0,362	0,064	0,974
Larg. Uterina	ρ	0,435	0,657*	0,591*	0,289	1	-0,400	-0,253
	p-valor	0,158	0,020	0,043	0,362	---	0,197	0,427
Var 1	ρ	0,117	-0,564	-0,668*	0,550	-0,400	1	0,718**
	p-valor	0,718	0,056	0,018	0,064	0,197	---	0,009
Var 2	ρ	-0,319	-0,749**	-0,827**	-0,011	-0,253	0,718**	1
	p-valor	0,312	0,005	0,001	0,974	0,427	0,009	---

Legenda: ρ = coeficiente de correlação de Pearson; Comp. = Comprimento; Larg.= Largura; CVC = comprimento vértice-cóccix Var1 = (comprimento uterino ÷ peso fetal) $\times$ 100; Var2 = (largura uterina ÷ peso fetal) $\times$ 100; ** = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,01; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,05.

Fonte: O autor, 2023.

Com as informações de medidas antropométricas idade, peso e CVC, foram confeccionados os gráficos de distribuição e regressão linear, apresentadas nas figuras 13, 14 e 15, permitindo avaliarmos suas correlações. Para os dados com significância estatística, foram dispostas retas sobre os gráficos.

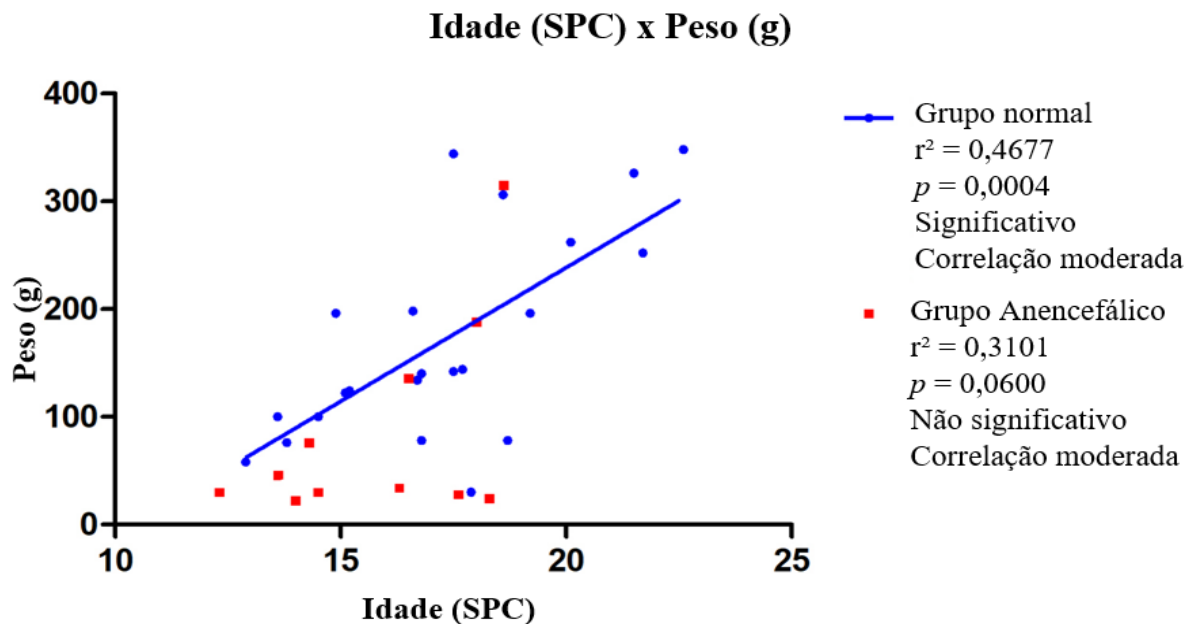
Figura 13 – Gráficos de distribuição e regressão linear para medidas idade e CVC



Legenda: O gráfico dispõe a distribuição dos indivíduos de acordo com os dados antropométricos idade fetal (SPC) e CVC (cm) e a linha de regressão linear quando estatisticamente significativo. Em azul são apresentados dados do grupo de fetos normais cujo coeficiente de correlação é moderado e estatisticamente significativo ($\rho = 0,631$; $r^2 = 0,398$ e p -valor = 0,0016). Em vermelho são apresentadas informações do grupo de fetos anencefálicos cujo coeficiente de correlação é fraco e não significante estatisticamente ($\rho = 0,493$; $r^2 = 0,243$ e p -valor = 0,1038). SPC = semanas pós-concepção; CVC = comprimento vértice-cóccix; cm = centímetros.

Fonte: O autor, 2023.

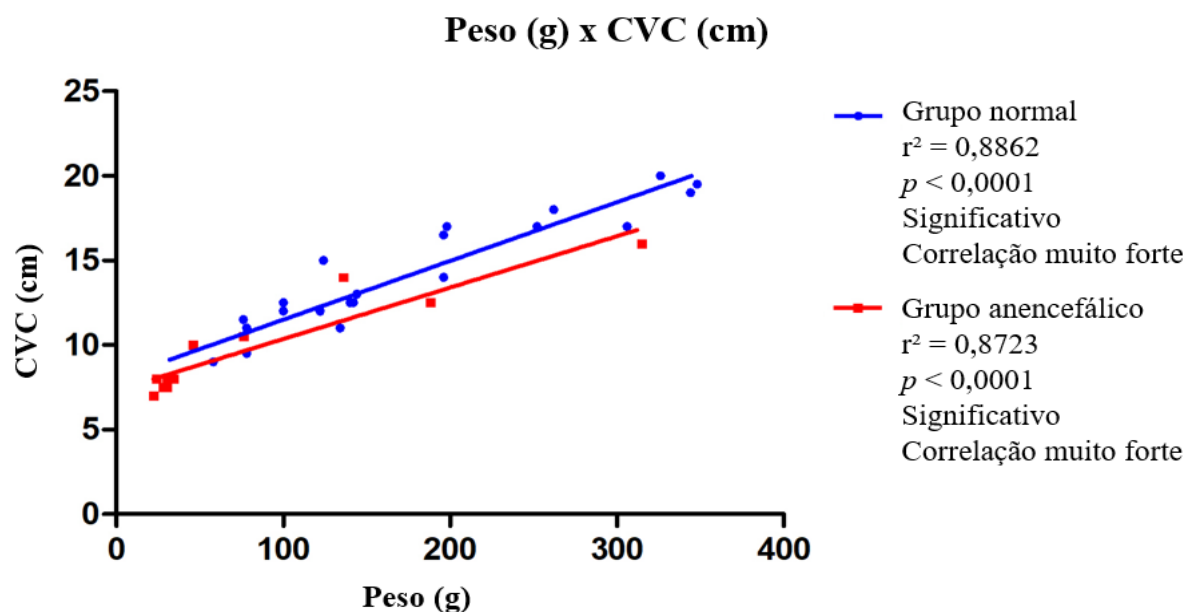
Figura 14 – Gráficos de distribuição e regressão linear para medidas idade e peso



Legenda: O gráfico dispõe a distribuição dos indivíduos de acordo com os dados antropométricos idade fetal (SPC) e peso (g) e a linha de regressão linear quando estatisticamente significativo. Em azul são apresentados dados do grupo de fetos normais cujo coeficiente de correlação é moderado e estatisticamente significativo ($\rho = 0,684$; $r^2 = 0,467$ e p -valor = 0,0004). Em vermelho são apresentadas informações do grupo de fetos anencefálicos cujo coeficiente de correlação é moderado, mas não significante estatisticamente ($\rho = 0,557$; $r^2 = 0,31$ e p -valor = 0,06).

Fonte: O autor, 2023.

Figura 15 – Gráficos de distribuição e regressão linear para medidas CVC e peso

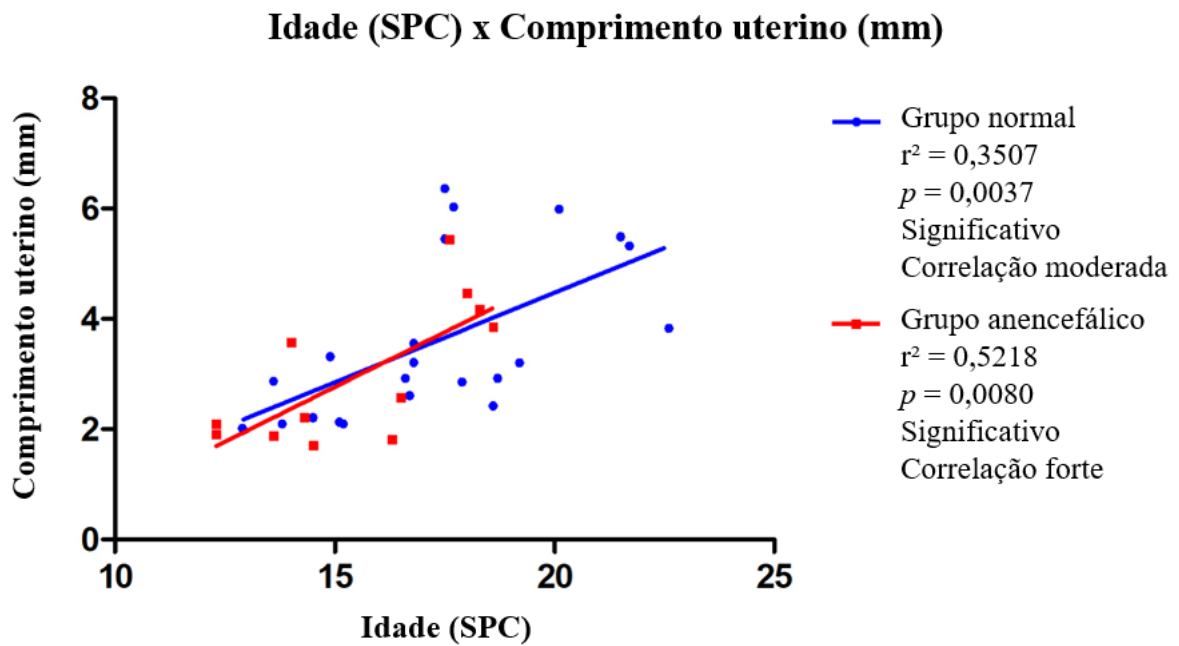


Legenda: O gráfico dispõe a distribuição dos indivíduos de acordo com os dados antropométricos CVC (cm) e peso (g) e a linha de regressão linear quando estatisticamente significativo. O grupo de fetos normais é representado em azul ($\rho = 0,941$; $r^2 = 0,89$ e p -valor < 0,0001) e anencefálicos em vermelho ($\rho = 0,934$; $r^2 = 0,87$ e p -valor < 0,0001). Para ambos os grupos identificamos retas ascendentes com coeficientes de correlação muito fortes e estatisticamente significativas.

Fonte: O autor, 2023.

Foram confeccionados gráficos de distribuição e regressão linear das medidas uterinas em relação aos parâmetros antropométricos (peso, idade e CVC), apresentados nas figuras 16 a 21, permitindo avaliarmos suas correlações.

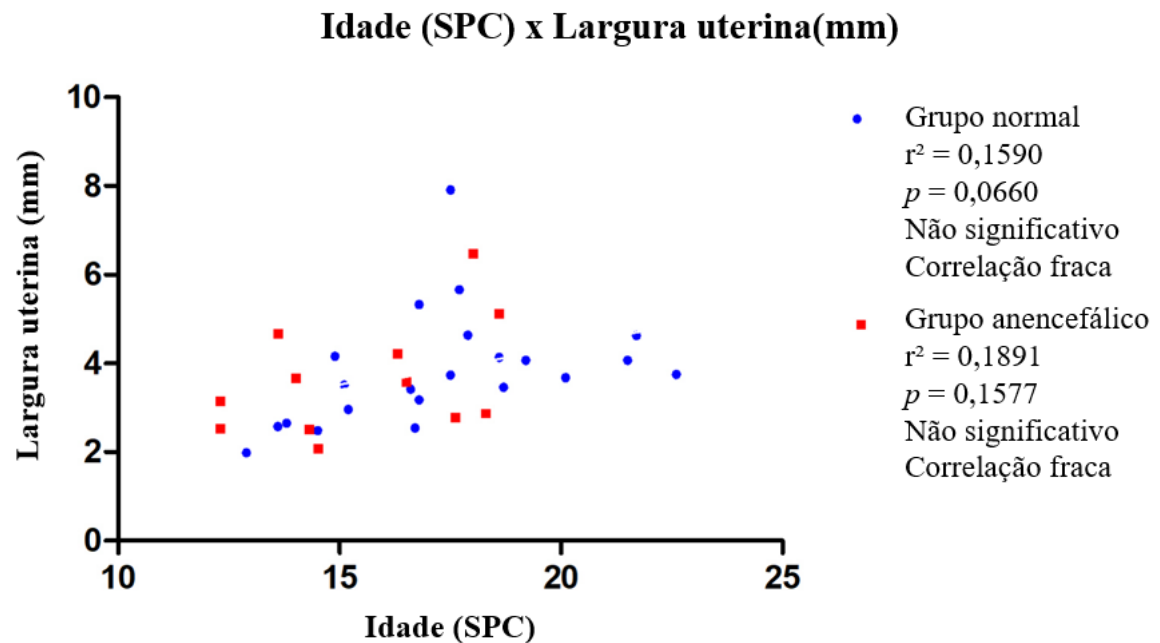
Figura 16 – Gráficos de distribuição e regressão linear de comprimento uterino e idade



Legenda: O gráfico dispõe a distribuição dos indivíduos de acordo com os dados antropométricos idade (SPC) e comprimento uterino (mm). O grupo de fetos normais é apresentado em azul ($\rho = 0,592$; $r^2 = 0,35$ e p -valor = 0,0037) e o grupo de fetos anencefálicos, em vermelho ($\rho = 0,722$; $r^2 = 0,52$ e p -valor = 0,008). Para ambos os grupos identificamos retas ascendentes com coeficientes de correlação moderada para o grupo normal e forte para o grupo anencefálico, ambas com significância estatística.

Fonte: O autor, 2023.

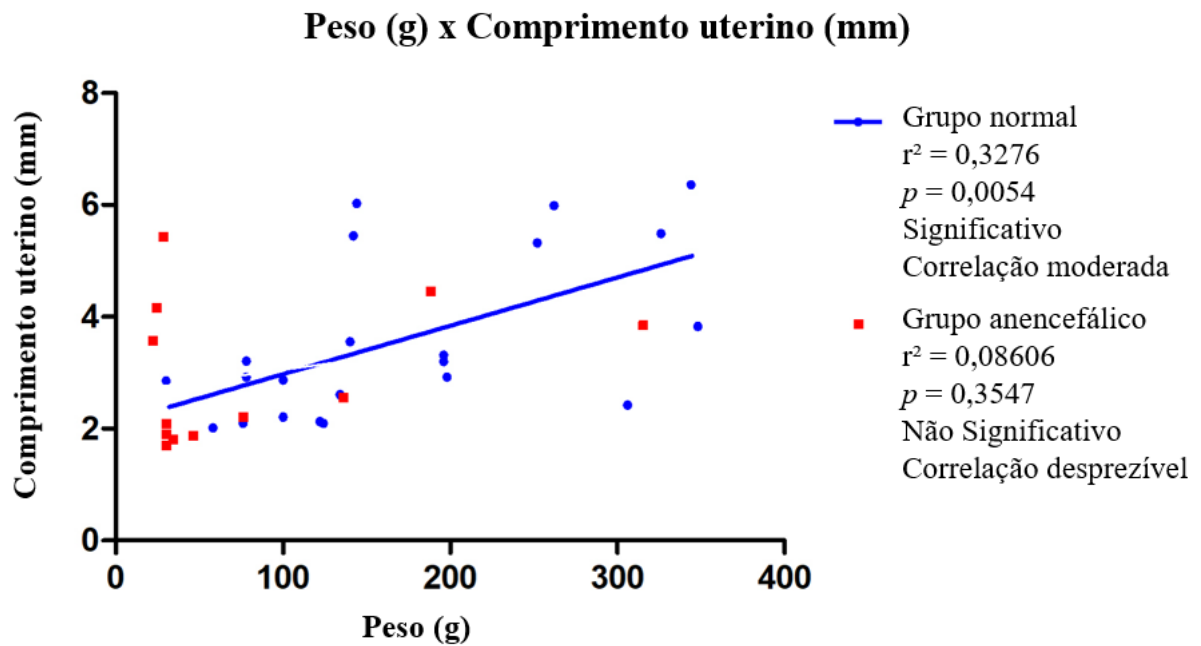
Figura 17 – Gráficos de distribuição e regressão linear de largura uterina e idade



Legenda: O gráfico dispõe a distribuição dos indivíduos de acordo com os dados antropométricos idade (SPC) e largura uterina (mm). O grupo de fetos normais é representado em azul ($p = 0,399$; $r^2 = 0,16$ e p -valor = $0,066$) e o grupo de fetos anencefálicos, em vermelho ($p = 0,435$; $r^2 = 0,19$ e p -valor = $0,16$). Para os dois conjuntos de fetos estudados a correlação foi positiva, entretanto com coeficiente fraco e sem significância estatística.

Fonte: O autor, 2023.

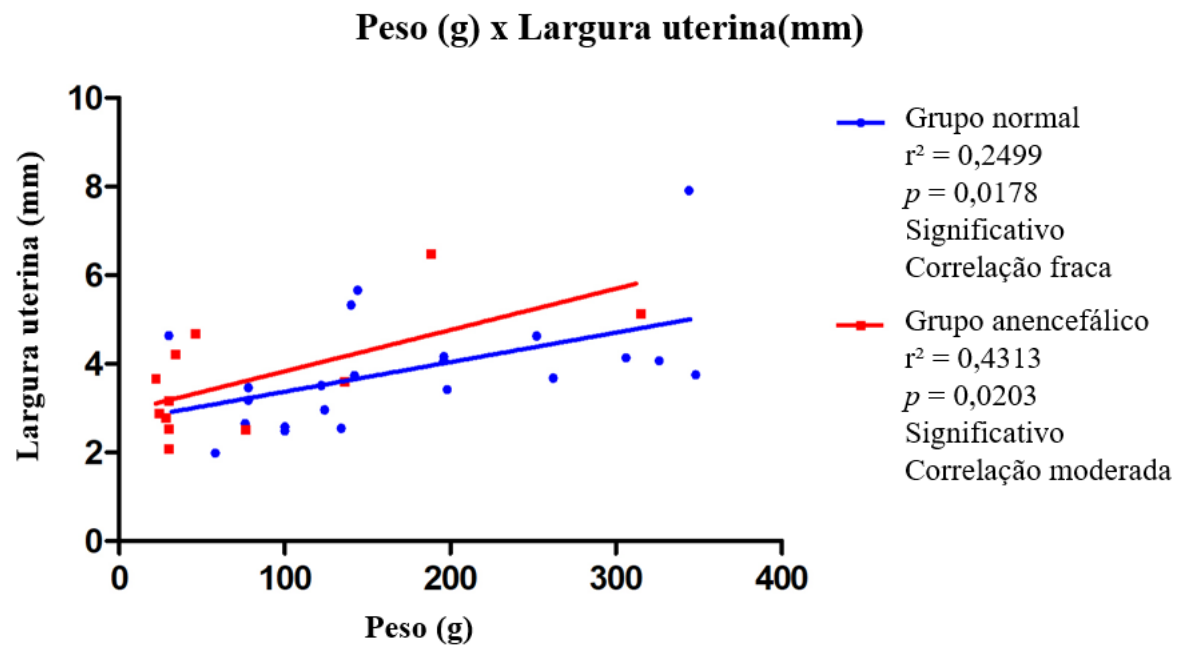
Figura 18 – Gráficos de distribuição e regressão linear de comprimento uterino e peso



Legenda: O gráfico dispõe a distribuição dos indivíduos de acordo com os dados antropométricos peso (g) e comprimento uterino (mm). O grupo de fetos normais é representado em azul ($\rho = 0,572$; $r^2 = 0,33$ e p -valor = 0,0054) e o grupo de fetos anencefálicos, em vermelho ($\rho = 0,293$; $r^2 = 0,086$ e p -valor = 0,35). Para ambos os grupos identificamos os coeficientes de correlação foram positivos, sendo moderado para o grupo normal e desprezível para o grupo anencefálico.

Fonte: O autor, 2023.

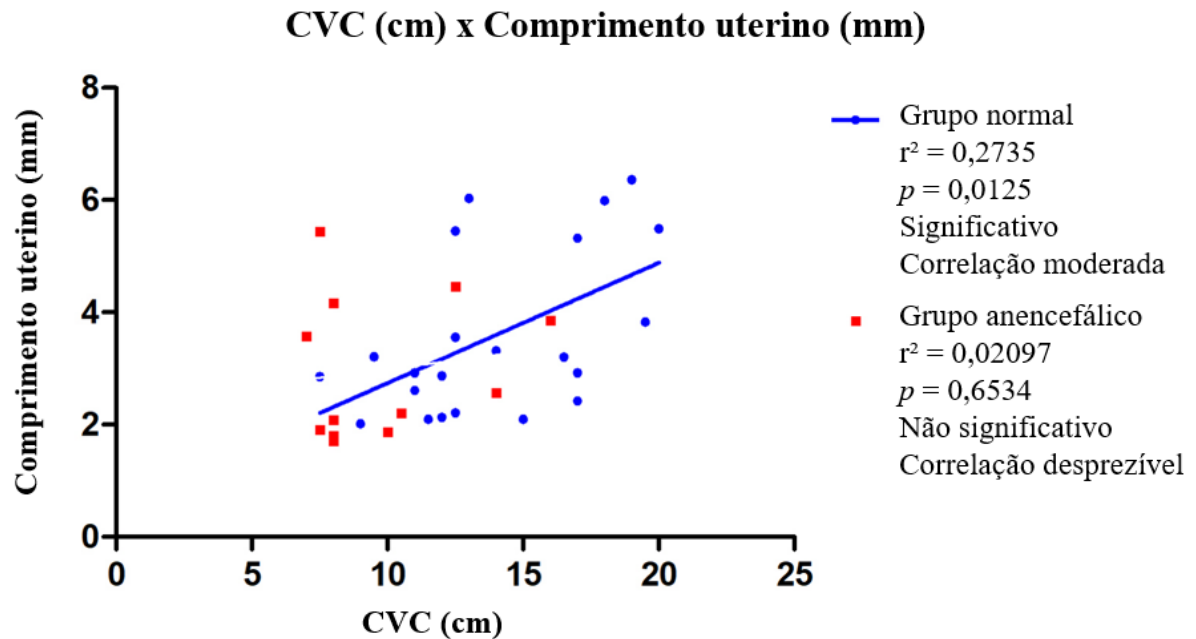
Figura 19 – Gráficos de distribuição e regressão linear de largura uterina e peso



Legenda: O gráfico dispõe a distribuição dos indivíduos de acordo com os dados antropométricos peso (g) e largura uterina (mm). O grupo de fetos normais é representado em azul ($\rho = 0,500$; $r^2 = 0,25$ e p -valor = 0,02) e o grupo de fetos anencefálicos, em vermelho ($\rho = 0,657$; $r^2 = 0,43$ e p -valor = 0,02). Em ambos os grupos a correlação foi positiva e estatisticamente significativa sendo o coeficiente de correlação fraco para o grupo normal e moderado para o grupo anencefálico.

Fonte: O autor, 2023.

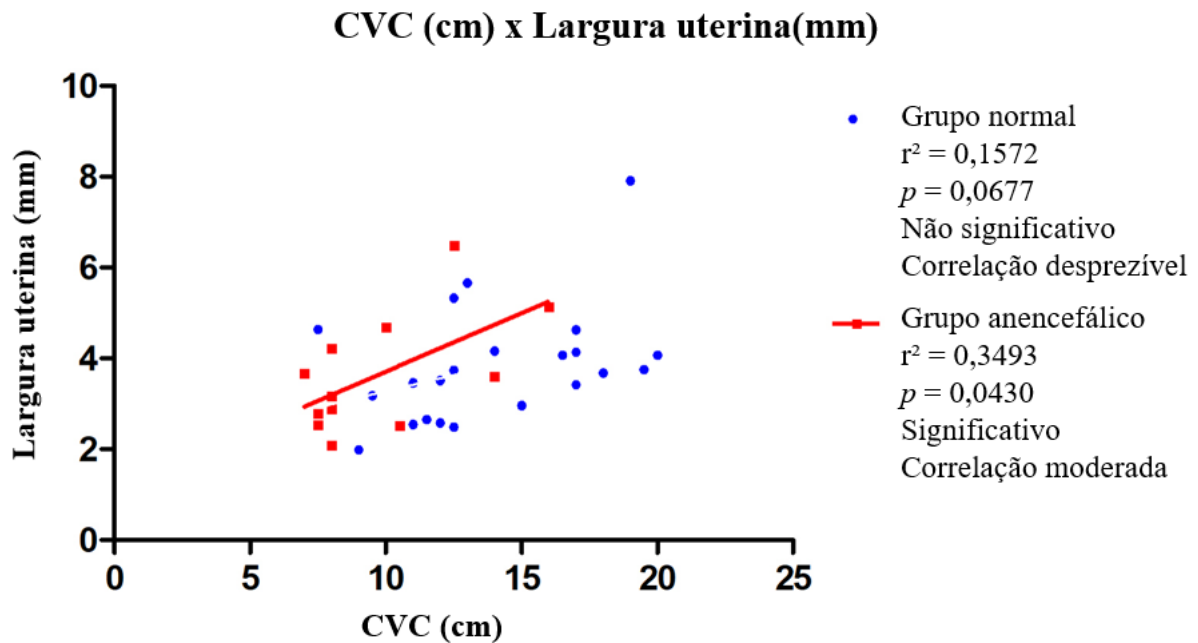
Figura 20 – Gráficos de distribuição e regressão linear de comprimento uterino e CVC



Legenda: O gráfico dispõe a distribuição dos indivíduos de acordo com os dados antropométricos CVC (cm) e comprimento uterino (mm). O grupo de fetos normais é representado em azul ($\rho = 0,523$; $r^2 = 0,27$ e p -valor = 0,012) e o grupo de fetos anencefálicos, em vermelho ($\rho = 0,145$; $r^2 = 0,021$ e p -valor = 0,65). Entre os indivíduos anencefálicos o coeficiente de correlação foi desprezível e sem significância estatística. Já no grupo controle, cuja reta foi disposta em gráfico, houve significância estatística para a correlação e o coeficiente foi moderado.

Fonte: O autor, 2023.

Figura 21 – Gráficos de distribuição e regressão linear de largura uterina e CVC



Legenda: O gráfico dispõe a distribuição dos indivíduos de acordo com os dados antropométricos CVC (cm) e largura uterina (mm). O grupo de fetos normais é representado em azul ($p = 0,145$; $r^2 = 0,157$ e p -valor = $0,067$) e o grupo de fetos anencefálicos, em vermelho ($p = 0,591$; $r^2 = 0,35$ e p -valor = $0,04$). A correlação foi desprezível e não estatisticamente significativa para o grupo de fetos normais; para o grupo de fetos anencefálicos a correlação foi moderada e estatisticamente significativa, neste caso foi disposta a reta ascendente sobre o gráfico.

Fonte: O autor, 2023.

A análise de regressão linear indicou 80% de significância nas correlações do grupo de fetos normais e 40% de significância no grupo de fetos anencefálicos. Comprimento e largura uterina apresentaram menor tendência ao crescimento no grupo de fetos anencefálicos considerando o intervalo de idade da amostra.

A seguir serão apresentados os diferentes modelos de regressão múltipla analisados, com diferentes combinações das variáveis independentes e dependente. O erro padrão da estimativa para o modelo de regressão corresponde ao desvio padrão dos erros/resíduos. A tabela ANOVA apresenta o teste da significância dos modelos. A eventual colinearidade será avaliada pela tolerância e pelo fator de inflação de variância (FIV), dispostos em tabela quando pertinentes.

Para cada modelo são descritos os resultados obtidos:

Modelo 1 - Considerando as seguintes variáveis:

Variáveis independentes: Grupo (fetos normais ou anencefálicos), CVC (cm), idade (SPC) e peso (g)

Variável dependente: Comprimento uterino (mm).

Neste caso, os resultados mostraram um r^2 igual a 0,442, significando que 44,2% das variações no comprimento do útero são explicadas pelas variáveis independentes (grupo, CVC, idade e peso). Os restantes 55,8% são variações aleatórias ou devidas a outros fatores não considerados neste modelo. O erro padrão da estimativa foi de 1,12.

Tabela 7 – Teste ANOVA para o modelo 1 de regressão múltipla

Modelo 1	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	F	p-valor
Regressão	29,019	4	7,255	5,736	0,002*
Residual	36,678	29	1,265		
Total	65,697	33			

Legenda: F=Teste F da significância da Regressão; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,01.

Fonte: O autor, 2023.

Tabela 8 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 1 de regressão múltipla

Modelo 1	Coeficientes		Coeficientes padronizados	t	p-valor	Estatísticas de colinearidade	
	Não padronizados					Tolerância	FIV
	B	Erro padrão	Beta				
Grupos	-0,040	0,490	-0,014	-0,082	0,935	0,680	1,472
Idade	0,291	0,102	0,548	2,854	0,008*	0,523	1,913
Peso	0,006	0,006	0,428	0,919	0,366	0,089	11,276
CVC	-0,111	0,170	-0,306	-0,652	0,520	0,087	11,435

Legenda: FIV= fator de inflação de variância; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,01.

Fonte: O autor, 2023.

De acordo com os resultados da tabela acima, para o primeiro modelo analisado, somente a variável idade é estatisticamente significativa ($p = 0,008$). O valor do coeficiente da variável idade (coluna B, valor 0,291), que foi estatisticamente significativa neste modelo, permitindo descrever que um aumento de 1 semana na idade do feto levaria a um aumento de 0,291 mm no comprimento do útero, mantidas as demais variáveis constantes.

Neste modelo, as variáveis peso e CVC possuem valores de VIF maiores que 10. Em função deste resultado o próximo modelo será analisado sem a variável CVC.

Modelo 2 - Considerando as seguintes variáveis:

Variáveis independentes: Grupo (fetos normais ou anencefálicos), idade (SPC) e peso (g)

Variável dependente: Comprimento uterino (mm).

Neste caso, os resultados mostram um r^2 igual a 0,434, significando que 43,4% das variações no comprimento do útero são explicadas pelas variáveis independentes (grupos, idade e peso). Os restantes 56,6% são variações aleatórias ou devidas a outros fatores não considerados neste modelo. O erro padrão da estimativa foi de 1,11.

Tabela 9 – Teste ANOVA para o modelo 2 de regressão múltipla

Modelo 2	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	F	p-valor
Regressão	28,482	3	9,494	7,653	0,001*
Residual	37,215	30	1,240		
Total	65,697	33			

Legenda: F=Teste F da significância da Regressão; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,01.
Fonte: O autor, 2023.

Tabela 10 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 2 de regressão múltipla

Modelo 2	Coeficientes Não padronizados		Coeficientes padronizados	t	p-valor	Estatísticas de colinearidade	
	B	Erro padrão	Beta			Tolerância	FIV
Grupos	0,091	0,442	0,031	0,206	0,838	0,817	1,224
Idade	0,294	0,101	0,553	2,915	0,007*	0,524	1,909
Peso	0,002	0,003	0,154	0,775	0,445	0,477	2,096

Legenda: FIV= fator de inflação de variância; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,01.
Fonte: O autor, 2023.

Neste modelo, com a retirada da variável CVC, não há colinearidade, visto que todos os valores de FIV são menores que 10. De acordo com os resultados da tabela acima, para o segundo modelo analisado, novamente a variável idade é a única estatisticamente significativa ($p = 0,007$). O valor do coeficiente da variável idade (coluna B, valor 0,294), que foi estatisticamente significativa neste modelo, permite descrever que um aumento de 1 SPC levaria a um aumento de 0,294 mm no comprimento do útero, mantidas as demais variáveis constantes.

O próximo modelo foi analisado recolocando-se a variável CVC e retirando o peso.

Modelo 3 - Considerando as seguintes variáveis:

Variáveis independentes: Grupo (fetos normais ou anencefálicos), idade (SPC) e CVC (cm)

Variável dependente: Comprimento uterino (mm).

Neste caso, os resultados mostram um R^2 igual a 0,425, significando que 42,5% das variações no comprimento do útero são explicadas pelas variáveis independentes (grupos, idade e CVC). Os restantes 57,5% são variações aleatórias ou devidas a outros fatores não considerados neste modelo. O erro padrão da estimativa foi de 1,12.

Tabela 11 – Teste ANOVA para o modelo 3 de regressão múltipla

Modelo 3	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	F	p-valor
Regressão	27,952	3	9,317	7,405	0,001*
Residual	37,745	30	1,258		
Total	65,697	33			

Legenda: F=Teste F da significância da Regressão; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,01.

Fonte: O autor, 2023.

Tabela 12 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 3 de regressão múltipla

Modelo 3	Coeficientes Não padronizados		Coeficientes padronizados	t	p-valor	Estatísticas de colinearidade	
	B	Erro padrão	Beta			Tolerância	FIV
Grupos	0,073	0,473	0,025	0,155	0,878	0,726	1,378
Idade	0,321	0,096	0,604	3,329	0,002*	0,582	1,719
CVC	0,030	0,073	0,083	0,412	0,683	0,470	2,126

Legenda: FIV= fator de inflação de variância; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,01.

Fonte: O autor, 2023.

Com a retirada da variável peso, não há problema de colinearidade ($VIF < 10$). Pelo apresentado para o terceiro modelo, novamente a variável idade é a única estatisticamente significativa ($p = 0,002$). O valor do coeficiente dessa variável (coluna B, valor 0,321) indica que um aumento de 1 SPC levaria a um aumento de 0,321mm no comprimento do útero, mantidas as demais variáveis constantes.

Os próximos modelos utilizam a largura do útero como variável dependente.

Modelo 4 - Considerando as seguintes variáveis:

Variáveis independentes: Grupo (fetos normais ou anencefálicos), CVC (cm), idade (SPC) e peso (g)

Variável dependente: Largura uterina (mm).

Neste caso, os resultados mostram um r^2 igual a 0,344, significando que 34,4% das variações na largura do útero são explicadas pelas variáveis independentes (grupo, CVC, idade e peso). Os restantes 65,6% são variações aleatórias ou devidas a outros fatores não considerados neste modelo. O erro padrão da estimativa foi de 1,10.

Tabela 13 – Teste ANOVA para o modelo 4 de regressão múltipla

Modelo 4	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	F	p-valor
Regressão	18,488	4	4,622	3,807	0,013*
Residual	35,207	29	1,214		
Total	53,695	33			

Legenda: F=Teste F da significância da Regressão; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,05.
Fonte: O autor, 2023.

Tabela 14 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 4 de regressão múltipla

Modelo 4	Coeficientes Não padronizados		Coeficientes padronizados	t	p-valor	Estatísticas de colinearidade	
	B	Erro padrão	Beta			Tolerância	FIV
Grupos	0,255	0,480	0,097	0,532	0,599	0,680	1,472
Idade	0,041	0,100	0,085	0,409	0,686	0,523	1,913
Peso	0,013	0,006	1,085	2,149	0,040*	0,089	11,276
CVC	-0,198	0,166	-0,606	-1,192	0,243	0,087	11,435

Legenda: FIV= fator de inflação de variância; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,01.
Fonte: O autor, 2023.

No quarto modelo analisado, somente a variável peso é estatisticamente significativa ($p = 0,040$), entretanto não faremos a interpretação do coeficiente desta variável em função da alta colinearidade (FIV 11,276). Além do peso, a variável CVC também tem $FIV > 10$; deste modo o próximo modelo será analisado sem o CVC.

Modelo 5 - Considerando as seguintes variáveis:

Variáveis independentes: Grupo (fetos normais ou anencefálicos), idade (SPC) e peso (g)

Variável dependente: Largura uterina (mm).

Os resultados mostram um r^2 igual a 0,312, significando que 31,2% das variações na largura do útero são explicadas pelas variáveis independentes (grupos, idade e peso). Os restantes 68,8% são variações aleatórias ou devidas a outros fatores não considerados neste modelo. O erro padrão da estimativa foi de 1,11.

Tabela 15 – Teste ANOVA para o modelo 5 de regressão múltipla

Modelo 5	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	F	p-valor
Regressão	16,763	3	5,588	4,539	0,01*
Residual	36,932	30	1,231		
Total	53,695	33			

Legenda: F=Teste F da significância da Regressão; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,05.
Fonte: O autor, 2023.

Tabela 16 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 5 de regressão múltipla

Modelo 5	Coeficientes		Coeficientes	t	p-valor	Estatísticas de	
	Não padronizados		padronizados			colinearidade	
	B	Erro padrão	Beta			Tolerância	FIV
Grupos	0,490	0,440	0,186	1,112	0,275	0,817	1,224
Idade	0,046	0,101	0,096	0,460	0,649	0,524	1,909
Peso	0,007	0,003	0,542	2,472	0,019*	0,477	2,096

Legenda: FIV= fator de inflação de variância; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,01.
Fonte: O autor, 2023.

No quinto modelo os valores de VIF são inferiores à 10, indicando que a colinearidade não é um problema para a análise atual. Os resultados demonstram que a variável peso é a única

estatisticamente significativa ($p = 0,019$). O valor do coeficiente da variável peso (coluna B, valor 0,007), indica que um aumento de 1 g no peso do feto levaria a um aumento de 0,007 mm na largura do útero, mantidas as demais variáveis constantes.

O próximo modelo foi analisado recolocando-se a variável CVC e retirando o peso.

Modelo 6 - Considerando as seguintes variáveis:

Variáveis independentes: Grupo (fetos normais ou anencefálicos), idade (SPC) e CVC (cm)

Variável dependente: Largura uterina (mm).

Os resultados mostram um r^2 igual a 0,240, significando que 24% das variações na largura do útero são explicadas pelas variáveis independentes (grupos, idade e CVC). Os restantes 76% são variações aleatórias ou devidas a outros fatores não considerados neste modelo. O erro padrão da estimativa foi de 1,17.

Tabela 17 – Teste ANOVA para o modelo 6 de regressão múltipla

Modelo 6	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	F	p-valor
Regressão	12,882	3	4,294	3,156	0,039*
Residual	40,813	30	1,360		
Total	53,695	33			

Legenda: F=Teste F da significância da Regressão; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,05.

Fonte: O autor, 2023.

Tabela 18 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 6 de regressão múltipla

Modelo 6	Coeficientes		Coeficientes padronizados	t	p-valor	Estatísticas de colinearidade	
	Não padronizados					Tolerância	FIV
	B	Erro padrão	Beta				
Grupos	0,515	0,491	0,196	1,048	0,303	0,726	1,378
Idade	0,109	0,100	0,228	1,091	0,284	0,582	1,719
CVC	0,124	0,076	0,380	1,636	0,112	0,470	2,126

Legenda: FIV= fator de inflação de variância; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,01.

Fonte: O autor, 2023.

No sexto modelo os valores de FIV foram inferiores à 10 e nenhuma das variáveis independentes teve significância estatística.

O próximo modelo emprega como variável dependente a Var1, que corresponde ao comprimento uterino corrigido pelo peso fetal. Como o peso faz parte do cálculo da Var1, não o utilizamos como variável independente.

Modelo 7 - Considerando as seguintes variáveis:

Variáveis independentes: Grupo (fetos normais ou anencefálicos), idade (SPC) e CVC (cm)

Variável dependente: Var 1(= comprimento do útero/peso $\times$ 100)

Os resultados mostram um r^2 de 0,596, significando que 59,6% das variações na Var1 são explicadas pelas variáveis independentes (CVC, grupos e idade). Os restantes 40,4% são variações aleatórias ou devidas a outros fatores não considerados neste modelo. O erro padrão da estimativa foi de 3,10.

Tabela 19 – Teste ANOVA para o modelo 7 de regressão múltipla

Modelo 7	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	F	p-valor
Regressão	419,387	3	139,796	14,749	0,0001*
Residual	284,348	30	9,478		
Total	703,735	33			

Legenda: F=Teste F da significância da Regressão; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,01.
Fonte: O autor, 2023.

Tabela 20 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 7 de regressão múltipla

Modelo 7	Coeficientes Não padronizados		Coeficientes padronizados	t	p-valor	Estatísticas de colinearidade	
	B	Erro padrão	Beta			Tolerância	FIV
Grupos	2,005	1,297	0,211	1,546	0,133	0,726	1,378
Idade	0,833	0,265	0,479	3,145	0,004*	0,582	1,719
CVC	-1,009	0,200	-0,852	-5,035	0,001*	0,470	2,126

Legenda: FIV= fator de inflação de variância; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,01.
Fonte: O autor, 2023.

No sétimo modelo analisado as variáveis idade ($p = 0,004$) e CVC ($p < 0,001$) foram estatisticamente significantes; já para variável grupos o p-valor foi de 0,133. Além disto,

nenhum dos valores de FIV foi maior que 10. Com os coeficientes do sétimo modelo analisado podemos obter as conclusões descritas abaixo.

O coeficiente da variável grupos indica a diferença média na Var1 entre a população em estudo e o conjunto de indivíduos de referência (grupo normal). A Var1 entre os fetos anencefálicos é, em média, 2,005 unidades maior do que a Var1 entre os fetos normais, mantidas as demais variáveis constantes. No entanto, como o coeficiente de grupos não é estatisticamente significativo, este resultado não pode ser generalizado para a população.

O coeficiente da variável idade indica que um aumento de 1 SPC levaria a um aumento de 0,833 unidades na Var1, mantidas as demais variáveis constantes.

O coeficiente da variável CVC indica que um aumento de 1 cm naquele comprimento levaria a uma redução de 1,009 unidades na Var1, mantidas as demais variáveis constantes.

O próximo modelo utiliza a Var2 que corresponde à largura uterina corrigida pelo peso fetal. Como o peso faz parte do cálculo da Var2, não o utilizamos como variável independente.

Modelo 8 - Considerando as seguintes variáveis:

Variáveis independentes: Grupo (fetos normais ou anencefálicos), idade (SPC) e CVC (cm)

Variável dependente: Var 2 (= largura do útero/peso $\times$ 100)

O modelo 8 tem o r^2 de 0,671, assim 67,1% das variações na Var2 são explicadas pelas variáveis independentes; 32,9% são variações aleatórias ou devidas a outros fatores não considerados neste modelo. O erro padrão da estimativa foi de 2,60.

Tabela 21 – Teste ANOVA para o modelo 8 de regressão múltipla

Modelo 8	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	F	p-valor
Regressão	413,918	3	137,973	20,353	0,001
Residual	203,371	30	6,779		
Total	617,288	33			

Legenda: F=Teste F da significância da Regressão; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,01.

Fonte: O autor, 2023.

Tabela 22 – Estatísticas de colinearidade para o modelo 8 de regressão múltipla

Modelo 8	Coeficientes Não padronizados		Coeficientes padronizados	t	p-valor	Estatísticas de colinearidade	
	B	Erro padrão	Beta			Tolerância	FIV
Grupos	1,986	1,097	0,223	1,811	0,080	0,726	1,378
Idade	0,457	00,224	0,280	2,041	0,050*	0,582	1,719
CVC	-0,921	0,170	-0,830	-5,434	0,001*	0,470	2,126

Legenda: FIV= fator de inflação de variância; * = A correlação é significativa no nível de p-valor 0,05.

Fonte: O autor, 2023.

De acordo com os resultados da tabela acima, para o oitavo modelo analisado, as variáveis idade ($p = 0,050$) e CVC ($p < 0,001$) são estatisticamente significantes a 5% ($p < 0,05$). A variável grupos ($p = 0,080$) é estatisticamente significativa a 10% ($p < 0,10$). Nenhum valor de FIV > 10 foi aferido.

A partir dos coeficientes do oitavo modelo analisado podemos obter as conclusões a seguir.

O coeficiente da variável grupos indica a diferença média na Var2 entre o grupo de fetos anencefálicos e o grupo normal (categoria de referência). Ou seja, a Var2 entre os anencefálicos é, em média, 1,986 unidades maior do que a Var2 entre os normais, mantidas as demais variáveis constantes, entretanto o valor de p encontrado nesta relação não é estatisticamente significativo considerando o estabelecido em nossos métodos; assim, estes resultados não podem ser generalizados para toda a população.

O coeficiente da variável idade indica que um aumento de 1 SPC levaria a um aumento de 0,457 unidades na Var2, mantidas as demais variáveis constantes.

O coeficiente da variável CVC indica que um aumento de 1 cm deste comprimento levaria a uma redução de 0,921 unidades na Var2, mantidas as demais variáveis constantes.

DISCUSSÃO

O presente trabalho faz o estudo comparativo das medidas de comprimento e largura uterina em relação aos dados antropométricos de duas amostras de fetos: um grupo anencefálico e um grupo normal.

Ao avaliarmos nossa amostra de indivíduos em relação ao peso, as medidas de tendência central do grupo anencefálico foram inferiores ao grupo de fetos normais e a comparação das medianas demonstrou tratar-se de uma diferença estatisticamente significativa. Estes achados são compatíveis com outros relatos da literatura os quais descrevem que a anencefalia e outros DTN implicam em maior risco restrição ao crescimento fetal.

Stolk e colaboradores, em estudo caso-controle da epigenética relacionada aos DTN, identificaram que indivíduos com espinha bífida e anencefalia tinham menor peso ao nascer em comparação com indivíduos normais (69). Com um número expressivo de indivíduos anencefálicos, Honnebier & Swaab em outro estudo caso-controle, também identificaram que o peso ao nascer destes fetos era inferior ao grupo de fetos normais (70).

A avaliação do comprimento vértice-cóccix (CVC) demonstrou que a média e a mediana desta medida também foi menor no grupo anencefálico em relação ao grupo normal. Este achado foi compatível com publicações anteriores.

No acompanhamento ultrassonográfico da gestação de fetos anencefálicos, Johnson et al. observaram que a média do CVC destes indivíduos foi significativamente menor do que a média esperada para a idade fetal e que este desvio da normalidade aumentou com o transcorrer da gestação (71). Chatzipapas e colaboradores também descreveram que o CVC é significativamente reduzido nos fetos anencefálicos e relacionam este dado à real ausência de calota craniana e tecido encefálico.

O'Rahilly aponta a dificuldade para a localização precisa da ponta do cóccix, que tende ao deslocamento rostral durante a gestação; o autor descreve que este parâmetro é uma mensuração frágil até mesmo para fetos normais e sugere que, apesar da equivalência das medidas ultrassonográficas e pós-natais, não utilizemos este dado para a estimativa da idade fetal (45,72). Como sugerido pelo anatomista, não utilizamos esta medida com aquela intenção e empregamos em nosso estudo a aferição do comprimento do maior pé para o cálculo da idade, conforme proposto por Hern e Streeter (50,52).

A idade da amostra teve distribuição homogênea; observamos que a mediana daquele parâmetro foi discretamente inferior para o grupo de fetos anencefálicos; entretanto esta diferença não foi estatisticamente significativa. Considerando os valores das medianas, 17,15 SPC para o grupo normal e 15,4 SPC para o grupo anencefálico, não são esperadas diferenças morfológicas expressivas. A mínima idade fetal da amostra foi de 12,3 SPC e o máximo de 22,6 SPC, que contempla o período da maturação do útero fetal.

Conforme descrito por Cunha et al.; às 22 SPC a camada muscular está bem definida e o útero continuará a evoluir até que a morfologia final seja alcançada por volta das 24 SPC (56). Cooke et al. destacam que embora a arquitetura histológica seja semelhante à adulta no momento do nascimento, o desenvolvimento das glândulas uterinas tende a ocorrer no período pós-natal (73). Durante o crescimento, além da mudança de forma e da histologia luminal, Robboy et al. observaram uma marcante expansão lateral do canal uterovaginal cranialmente, na topografia do fúndica (61).

No presente trabalho, a largura e o comprimento uterino tiveram correlação linear positiva com o peso, o CVC e a idade fetal em ambos os grupos. A análise de regressão linear indicou 80% de significância nas correlações em grupo controle e significância de 40% em fetos anencefálicos. Ao empregarmos os modelos de regressão múltipla observamos que o acréscimo de idade gestacional teve correlação estatisticamente significativa com o aumento dos valores do comprimento e largura uterina ajustadas para o peso (Var1 e Var2, respectivamente).

O estudo dos diâmetros uterinos demonstrou que os fetos anencefálicos têm o comprimento e largura do útero maiores que os fetos normais; mas esta diferença entre os grupos não foi estatisticamente significativa. Ao considerarmos o ajuste das medidas em relação ao peso fetal, a diferença entre os grupos atingiu o nível de significância estatística proposto. Entretanto, os modelos de regressão múltipla indicam que a anencefalia não explica totalmente as variações daquelas medidas quando peso, CVC e a idade fetal são mantidas constantes.

As publicações acerca do útero de fetos anencefálicos são escassas na literatura. Apenas três estudos foram encontrados durante o levantamento bibliográfico, todos com amostras do último trimestre gestacional. Dois deles são relatos descritivos; Browne, em 1920, publicou observações de sua dissecação de um natimorto anencefálico; entre seus apontamentos, relata que o útero era normal à microscopia (74). Em 1959, Tuchmann-Duplessis apresentou seu estudo em 7 natimortos com idade gestacional entre 6,5-9 meses; na percepção dos autores, o útero das amostras tinham aspecto histológico e morfológico normais (34).

A lacuna de um estudo comparativo foi preenchida por Zondek & Zondek que, em 1987, avaliaram os órgãos reprodutivos de fetos femininos anencefálicos e normais obtidos por necrópsia. O grupo anencefálico foi composto de quinze indivíduos entre 27-43 semanas; sendo um deles um neonato que sobreviveu por uma hora e meia. O grupo controle foi composto de 39 indivíduos de idade gestacional semelhante. Os autores estudaram microscopicamente secções uterinas de 5µm e demonstraram que histologicamente, o órgão apresentava sinais de estimulação hormonal por estrogênio e progesterona, com proliferação glandular e secreção de mucina em graus variados; processos totalmente desenvolvidos durante o último mês de gravidez, tendo o mesmo aspecto que os controles (75).

A amostra e metodologia empregadas na última publicação foram distintas em relação ao proposto neste material. O único parâmetro de crescimento descrito foi a idade gestacional; não sendo relatados peso ou outras medidas de comprimento usualmente empregadas. Além disto, os diâmetros uterinos não foram aferidos, limitando a comparação com o grupo controle em relação ao tamanho do órgão. Apesar do criterioso estudo histológico de suas lâminas, Zondek & Zondek não apresentaram em seus métodos os parâmetros histológicos usados para aferir estatisticamente as semelhanças referidas.

Isto exposto, podemos afirmar que presente trabalho é o primeiro no tema que apresenta o estudo comparativo estatístico quanto à morfologia uterina de fetos normais e anencefálicos cuja amostra contempla o segundo trimestre gestacional. Embora tenhamos identificado diferenças estatisticamente significativas das medidas uterinas corrigidas pelo peso nossas análises indicam que outros fatores poderiam justificar os achados.

Carvalho et al. apresentam a ideia de que a exposição cerebral na anencefalia possa causar alterações nos nervos pélvicos, com potenciais repercussões estruturais nos órgãos urogenitais daqueles fetos (39). A hipótese encontra plausibilidade biológica uma vez que o útero que tem intensa conexão com o sistema autonômico através do plexo hipogástrico inferior e seus nervos associados (76). Na disfuncionalidade destes nervos e sem o controle de tratos superiores, o útero poderia sofrer modificações estruturais em resposta aos neurotransmissores de forma reflexa ou anárquica.

Não foram encontradas evidências experimentais em literatura mas, por analogia, a endometriose representa um cenário que inclui a disautonomia cursando com alterações patológicas e contrações uterinas inadequadas provocando refluxo endometrial para a cavidade abdominal (77).

Além disto, o desenvolvimento uterino pode ser influenciado por outros fatores independentemente da anencefalia. Presume-se que o gene *Vangl2* é vital para o fechamento do tubo neural (principalmente um efeito recessivo) e independentemente para o desenvolvimento do trato reprodutivo feminino (um efeito dominante). Em estudo experimental anterior, heterozigotos para a mutação *Vangl2-Lp* desenvolvem defeitos leves do tubo neural espinhal, mas também apresentam uma alta frequência de vagina imperfurada (78). Apesar disto, é importante deixar claro que o caso dos mutantes *Vangl2* em camundongos é apenas um exemplo, no qual o efeito do DTN primário aparece separado da sua ação no trato genital feminino. Pode haver outros genes ou fatores ambientais que também tenham um efeito semelhante.

O estudo em fetos anencefálicos pode ser empregado como modelo translacional em outros distúrbios do tubo neural como meningoceles e mielomeningoceles. À exemplo, foi descrito em literatura que mulheres com espinha bífida podem apresentar alterações como o útero bicornio e maior risco de partos prematuros (79). Também foi observado que estas pacientes têm uma tendência ao desenvolvimento de prolapso uterino em idades mais precoces (80).

A análise estereológica e histológica dos úteros fetais são necessárias para ampliar a compreensão de como os distúrbios neurológicos podem afetar a fisiologia uterina, corroborando com resultados previamente descritos em literatura.

Compreendemos que a significância estatística de um trabalho científico, não necessariamente terá relação com sua relevância clínica ou com o valor da informação prestada. Entendemos que apenas os achados sobre os diâmetros uterinos aumentados no grupo estudado não esgotam o assunto, mas esperamos que os dados obtidos possam adicionar substrato para futuras discussões neste campo em expansão. Reconhecemos algumas limitações no presente estudo devem ser mencionadas:

- a) a falta de análise histopatológica e ultraestrutural;
- b) as medidas dos parâmetros foram realizadas por um único observador, o que poderia gerar um viés de aferição;
- c) a falta de fetos do 3º trimestre para avaliar o padrão de crescimento uterino nos dois grupos estudados e
- d) o pequeno número de indivíduos observados (porém, fetos anencefálicos são raros, então as observações de uma amostra pequena ainda são relevantes).

CONCLUSÃO

Fornecemos a análise descritiva do comprimento e largura uterinos do útero dos fetos humanos normais e anencefálicos de acordo com os parâmetros antropométricos idade, peso e comprimento vértice-cóccix.

Em ambos os grupos a identificamos correlação linear positiva entre as medidas uterinas e antropométricas. Comprimento e largura uterinos corrigidos pelo peso fetal foram maiores no grupo de indivíduos anencefálicos, entretanto a análise de regressão múltipla sugere que este achado não possa ser exclusivamente justificado pela anencefalia.

REFERÊNCIAS

1. YAMADA S. et al. Graphic and movie illustrations of human prenatal development and their application to embryological education based on the human embryo specimens in the Kyoto collection. *Dev Dyn*. 2006 Feb;235(2):468–77.
2. SADLER TW. Embryology of neural tube development. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2005 May 15;135C(1):2–8.
3. COLAS JF, SCHOENWOLF GC. Towards a cellular and molecular understanding of neurulation. *Dev Dyn*. 2001 Jun;221(2):117–45.
4. PARKER SE. et al. Updated national birth prevalence estimates for selected birth defects in the United States, 2004-2006. *Birt Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2010 Dec;88(12):1008–16.
5. DUONG HT. et al. Maternal use of hot tub and major structural birth defects. *Birt Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2011 Sep;91(9):836–41.
6. WILLIAMS J. et al. Updated estimates of neural tube defects prevented by mandatory folic acid fortification — United States, 1995–201. 2015;64(1).
7. METSKY HC. et al. Zika virus evolution and spread in the Americas. *Nature*. 2017 Jun 15;546(7658):411–5.
8. WILDE JJ. et al. Genetic, epigenetic, and environmental contributions to neural tube closure. *Annu Rev Genet*. 2014 Nov 23;48(1):583–611.
9. BLATTER BM. Review of neural tube defects: risk factors in parental occupation and the environment. *Environ Health Perspect*. 1994;102(2):6.
10. BERRY RJ. et al. Prevention of neural-tube defects with folic acid in china. *N Engl J Med*. 1999;
11. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. MRC Vitamin Study Research Group. *Lancet Lond Engl*. 1991 Jul 20;338(8760):131–7.
12. TEN DONKELAAR HJ. et al. Neurulation and Neural Tube Defects. In: ten Donkelaar HJ, Lammens M, Hori A, editors. *Clinical Neuroembryology: Development and Developmental Disorders of the Human Central Nervous System* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014. p. 165–217. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-642-54687-7_4
13. NAKATSU T. et al. Neural tube closure in humans initiates at multiple sites: evidence from human embryos and implications for the pathogenesis of neural tube defects. *Anat Embryol (Berl)*. 2000 May 29;201(6):455–66.
14. MONTEAGUDO A. Exencephaly-anencephaly sequence. *Am J Obstet Gynecol*. 2020 Dec;223(6):B5–8.

15. COOK RJ. et al. Prenatal management of anencephaly. *Int J Gynecol Obstet.* 2008 Sep;102(3):304–8.
16. OBEIDI N. et al. The natural history of anencephaly. *Prenat Diagn.* 2010 Apr;30(4):357–60.
17. DINIZ ALL et al. Study of the renal parenchymal volume during the human fetal period. *Int Braz J Urol.* 2019 Jan;45(1):150–60.
18. DINIZ ALL et al. Anencephaly alters renal parenchymal volume in human fetuses? *Int Braz J Urol.* 2020 Dec;46(6):1075–81.
19. COSTA SF. et al. Urinary anomalies in fetus with neural tube defects. *OALib.* 2014;01(06):1–6.
20. PAZOS HMF. et al. Do neural tube defects lead to structural alterations in the human bladder? *Histol Histopathol.* 2011;26:581–8.
21. WINTERS AJ. et al. Concentration and distribution of TRH and LRH in the human fetal brain. *J Clin Endocrinol Metab.* 1974 Nov;39(5):960–3.
22. JONES RE, LOPEZ KH. Chapter 1 - endocrinology, brain, and pituitary gland. In: Jones RE, Lopez KH, editors. *Human Reproductive Biology (Fourth Edition)* [Internet]. San Diego: Academic Press; 2014. p. 3–22. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123821843000015>
23. DORTON A. The pituitary gland: embryology, physiology, and pathophysiology. *Neonatal Netw.* 2000 Mar;19(2):9–17.
24. ASA SL. et al. Human fetal adenohypophysis. *Neuroendocrinology.* 1986;43(3):308–16.
25. ASA SL. et al. Human fetal adenohypophysis. Electron microscopic and ultrastructural immunocytochemical analysis. *Neuroendocrinology.* 1988 Oct;48(4):423–31.
26. LEVINA SE. Endocrine features in development of human hypothalamus, hypophysis, and placenta. *Gen Comp Endocrinol.* 1968 Aug;11(1):151–9.
27. HAGEN C, MCNEILLY AS. The gonadotrophins and their subunits in foetal pituitary glands and circulation. *J Steroid Biochem.* 1977 May;8(5):537–44.
28. BEGEOT M. et al. Growth hormone and ACTH in the pituitary of normal and anencephalic human fetuses: immunocytochemical evidence for hypothalamic influences during development. *Neuroendocrinology.* 1977;24(3–4):208–20.
29. HATAKEYAMA S. Electron microscopic study of the anencephalic adenohypophysis with reference to the adrenocorticotrophs and their correlation with the functional differentiation of the hypothalamus during the foetal life. *Endocrinol Jpn.* 1969;16(1):187–203.
30. OSAMURA RY. Functional prenatal development of anencephalic and normal anterior pituitary glands. *Pathol Int.* 1977 Jul;27(4):495–509.

31. BÉGEOT M. et al. Localisation par immunofluorescence de l'hormone beta-lipotrope (beta-LPH) et de la beta-endorphine dans l'antehypophyse de foetus humains normaux et anencephales. C.R. Acad. Sc. (Paris).1978;286(2), 213–215.
32. PILAVDZIC D. et al. Pituitary morphology in anencephalic human fetuses. Neuroendocrinology. 1997;65(3):164–72.
33. KAPLAN SL. et al. The ontogenesis of pituitary hormones and hypothalamic factors in the human fetus: maturation of central nervous system regulation of anterior pituitary function. Recent Prog Horm Res. 1976;32:161–243.
34. TUCHMANN-DUPLESSIS H. Étude des glandes endocrines des anencéphales. Neonatology. 1959;1(1):8–32.
35. GRAY ES, ABRAMOVICH DR. Morphologic features of the anencephalic adrenal gland in early pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 1980 Jun;137(4):491–5.
36. ZONDEK LH, ZONDEK T. The human prostate in anencephaly. Acta Endocrinol (Copenh). 1970 Jul;64(3):548–56.
37. PIRES RS. et al. Do prune-belly syndrome and neural tube defects change testicular growth? A study on human fetuses. J Pediatr Urol. 2019 Oct;15(5):557.e1-557.e8.
38. WARNE GL, KANUMAKALA S. Molecular endocrinology of sex differentiation. Semin Reprod Med. 2002;20(3):169–80.
39. DE CARVALHO JPM. et al. Anencephaly does not cause structural alterations in the fetal penis. J Sex Med. 2012 Mar;9(3):735–42.
40. PIRES RS. et al. Study of prostate growth in prune belly syndrome and anencephalic fetuses. J Pediatr Surg. 2020 Oct;55(10):2221–5.
41. ZONDEK LH, ZONDEK T. Ovarian hilar cells and testicular leydig cells in anencephaly. Neonatology. 1983;43(5–6):211–9.
42. VIEIRALVES RR. et al. Are anogenital distance and external female genitalia development changed in neural tube defects? Study in human fetuses. J Pediatr Urol. 2020;16(5):654.e1-654.e8.
43. RIBEIRO-JULIO GS. et al. Vaginal development during 2nd gestational trimester: translational study in human female fetuses with disorders of the neural tube. Arch Gynecol Obstet. 2022;306:983–9.
44. HARKNESS L. Morphological and molecular characteristics of living human fetuses between Carnegie stages 7 and 23: developmental stages in the post-implantation embryo. Hum Reprod Update. 1997 Jan 1;3(1):3–23.
45. O'RAHILLY R, MÜLLER F. Developmental stages in human embryos: revised and new measurements. Cells Tissues Organs. 2010;192(2):73–84.
46. HILL M. The Carnegie Staged Embryos. 2012.

47. ROSSAVIK IK. et al. Conceptual age and ultrasound measurements of gestational sac and crown–rump length in in vitro fertilization pregnancies. *Fertil Steril*. 1988 Jun;49(6):1012–7.
48. HATA T. et al. Mathematical modeling of fetal foot growth: use of the rossavik growth model. *Amer J Perinatol*. 2008 Mar;13(03):155–8.
49. SAMPAIO FJB, ARAGÃO A. Study of the fetal kidney length growth during the second and third trimesters of gestation. *Eur Urol*. 1990;17(1):62–5.
50. HERN W. Correlation of fetal age and measurements between 10 and 26 weeks of gestation. *Obstet Gynecol*. 1984 Jan;63(1):26–32.
51. MERCER BM, GILLIESON MS. Fetal foot length as a predictor of gestational age. *Am J Obstet Gynecol*. 1987;156(2):350–5.
52. STREETER G. Weight, sitting height, head size, foot length, and menstrual age of the human embryo. *Contr Embryol Carnegie Instn Wash Publ*. 1920;11:143–70.
53. MHASKAR R. et al. Fetal foot length—a new parameter for assessment of gestational age. *Int J Gynecol Obstet*. 1989;29(1):35–8.
54. POOLE TJ, STEINBERG MS. Amphibian pronephric duct morphogenesis: segregation, cell rearrangement and directed migration of the Ambystoma duct rudiment.
55. HASHIMOTO R. Development of the human Müllerian duct in the sexually undifferentiated stage. *Anat Rec Discov Mol Cell Evol Biol*. 2003;272(2):514–9.
56. CUNHA GR. et al. Development of the human female reproductive tract. *Differentiation*. 2018 Sep;103:46–65.
57. MATSUMARU D. et al. Genetic analysis of the role of *Alx4* in the coordination of lower body and external genitalia formation. *Eur J Hum Genet*. 2014 Mar;22(3):350–7.
58. HALLER M, MA L. Temporal, spatial, and genetic regulation of external genitalia development. *Differentiation*. 2019 Nov;110:1–7.
59. BASKIN L. et al. Hot spots in fetal human penile and clitoral development. *Differentiation*. 2020 Mar;112:27–38.
60. FAVORITO LA. Basic embryology of urogenital system. In: Favorito LA, editor. *Translational Research in Pediatric Urology: Basic and Clinical Aspects* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2021. p. 1–16. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-030-50220-1_1
61. ROBBOY SJ. et al. New insights into human female reproductive tract development. *Differentiation*. 2017 Sep;97:9–22.
62. VIEIRALVES RR. et al. Urethral and bladder development during the 2nd gestational trimester applied to the urinary continence mechanism: translational study in human female fetuses with neural tube defects. *Int Urogynecology J*. 2021 Mar;32(3):647-652

63. VICKERSTAFF V. et al. Methods to adjust for multiple comparisons in the analysis and sample size calculation of randomised controlled trials with multiple primary outcomes. *BMC Med Res Methodol*. 2019 Dec;19(1):129.
64. MIOT HA. Análise de correlação em estudos clínicos e experimentais. *J Vasc Bras*. 2018 Nov 29;17(4):275–9.
65. ROVETTA A. Raiders of the lost correlation: a guide on using pearson and spearman coefficients to detect hidden correlations in medical sciences. *Cureus*. 2020;12(11):e11794.
66. MUKAKA MM. Statistics corner: a guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Med J*. 2012;24(3):69–71.
67. HAMILTON DF. et al. Interpreting regression models in clinical outcome studies. *Bone Jt Res*. 2015 Sep;4(9):152–3.
68. SIMONETTI B. et al. Goodness of fit measures for logistic regression model: an application for students' evaluations of university teaching. *Qual Quant*. 2017 Nov;51(6):2545–54.
69. STOLK L. et al. Epigenetic profiles in children with a neural tube defect; a case-control study in two populations. *PLoS ONE*. 2013 Nov 5;8(11):e78462.
70. HONNEBIER WJ, SWAAB DF. The influence of anencephaly upon intrauterine growth of fetus and placenta and upon gestation length. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 1973 Jul;80(7):577–88.
71. JOHNSON SP. et al. Ultrasound screening for anencephaly at 10-14 weeks of gestation: Ultrasound screening for anencephaly. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1997 Jan 1;9(1):14–6.
72. O'RAHILLY R, MÜLLER F. Embryonic length and cerebral landmarks in staged human embryos: embryonic length. *Anat Rec*. 1984 Jun;209(2):265–71.
73. COOKE PS. et al. Uterine glands: development, function and experimental model systems. *Mol Hum Reprod*. 2013 Sep 1;19(9):547–58.
74. BROWNE J. The anencephalic syndrome in its relation to apituitarism. *Edinb Med J*. 1920 Mar;25:296–307.
75. ZONDEK LH, ZONDEK T. Reproductive organs in anencephaly with special reference to the uterus. *Neonatology*. 1987;51(6):346–51.
76. RIBEIRO-JULIO GS. et al. Anatomy of the lower hypogastric plexus applied to endometriosis: a narrative review. *Int Braz J Urol Off J Braz Soc Urol*. 2023;48(9):299–306.
77. QUINN MJ. Endometriosis: the consequence of uterine denervation–reinnervation. *Arch Gynecol Obstet*. 2011 Dec;284(6):1423–9.
78. GUYOT MC. et al. A novel hypomorphic looptail allele at the planar cell polarity Vangl2 gene. *Dev Dyn*. 2011 Apr;240(4):839–49.

79. RIETBERG CETH, LINDHOUT D. Adult patients with spina bifida cystica: genetic counselling, pregnancy and delivery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1993 Nov;52(1):63–70.
80. JACKSON AB, MOTT PK. Reproductive health care for women with spina bifida. *Sci World J.* 2007;7:1875–83.

ANEXO A – Parecer consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação morfológica das relações anatômicas normais na genitália externa feminina fetal.

Pesquisador: Rodrigo Ribeiro Vieira

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 31780419.0.0000.5259

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Médicas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.088.773

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1316569.pdf	16/04/2020 20:36:56		Aceito
Declaração de concordância	Termo_Dr_Rodrigo_Vieira.pdf	16/04/2020 20:36:29	Rodrigo Ribeiro Vieira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_rv.docx	18/03/2019 01:51:20	Rodrigo Ribeiro Vieira	Aceito
Folha de Rosto	Rosto_Rodrigo_Vieira.pdf	18/03/2019 01:10:56	Rodrigo Ribeiro Vieira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 15 de Junho de 2020

Assinado por:
WILLE OIGMAN
(Coordenador(a))

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253

CEP: 20.551-030

E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com

ANEXO B – Termo de doação dos fetos

Governo do Estado do Rio de Janeiro
Secretaria de Estado de Ciência e Tecnologia
Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Instituto de Biologia – Departamento de Anatomia

OF/UERJ/IBRAG/01/2017

RIO DE JANEIRO, 07 DE FEVEREIRO DE 2017.

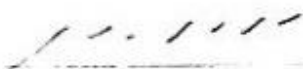
Ao Diretor do Instituto Fernandes Figueira,

O Departamento de Anatomia do Instituto de Biologia Roberto de Alcântara Gomes da UERJ solicita a cessão do seguinte material anatômico para nossos projetos de pesquisa científica:

Fetos com menos de 500gramas

Nosso departamento providenciará o transporte do material anatômico.

Atenciosamente,


Prof. Marco Aurélio Rodrigues F. Passos
Chefe do Departamento de Anatomia
ID Funcional 2556258

Prof. Marco Aurélio R. F. Passos
UERJ/Centro Biomédico/IBRAG
Chefe do Departamento de Anatomia
ID. 2556258

scientific reports



OPEN

Neural tube defects and uterus development in human fetuses

André L. L. Diniz, Rodrigo R. Vieirals, Francisco J. B. Sampaio, Carla M. Gallo & Luciano Alves Favorito

One of the most common malformations of the central nervous system is related to embryonic neural tube alterations. We hypothesized that anencephaly affects the development of the uterus during the human second trimester of pregnancy. The objective of this study was to study the biometric parameters of the uterus in fetuses with anencephaly and compare them with normocephalic fetuses at that important. In our study, 34 female fetuses were analyzed, 22 normal and 12 anencephalic, aged between 12 and 22 weeks post-conception (WPC). After dissection of the pelvis and individualization of the genital tract, we evaluated the length and width of the uterus using the Image J software. We compared the means statistically using the Wilcoxon-Mann-Whitney test and performed linear regression. We identify significant differences between the uterus length (mm)/weight (g) $\times 100$ ($p = 0.0046$) and uterus width (mm)/weight (g) $\times 100$ ($p = 0.0013$) when we compared the control with the anencephalic group. The linear regression analysis indicated that 80% significance was found in the correlations in normocephalic fetuses (12.9 to 22.6 WPC) and 40% significance in anencephalic fetuses (12.3 to 18.6 WPC). The measurements of the uterus were greater in anencephalic group but there are no difference in the uterine width and length growth curves during the period studied. Further studies are required to support the hypothesis suggesting that anencephaly may affect uterine development during the human fetal period.

Abbreviations

NTDs	Neural tube defects
WPC	Weeks post-conception
CRL	Crown-rump length
LH	Luteinizing hormone
FSH	Follicle stimulating hormone
AMH	Anti-Müllerian hormones
CAAE	Certificate of Ethical Appreciation Presentation
CNPQ	National Council for Scientific and Technological Development
FAPERJ	Rio de Janeiro State Research Foundation
IRB	Institutional Review Board
mm	Millimeters
mm ²	Square millimeters
p	P-value
r ²	Pearson correlation coefficient
SD	Standard deviation
Vs.	Versus

Neural tube defects (NTDs) are one of the most common congenital malformations of the central nervous system, with an average prevalence at birth of 1 in 1000¹. Anencephaly is the most severe NTD, resulting from failure of the neural tube in the third to fourth week (days 26 to 28) after conception². The possibility of secondary effects of anencephaly on other organs and systems, have motivated studies to better understand that condition.

Recently, the urogenital tract of anencephalic fetuses has been studied, including the kidneys and collecting system^{3,4}, ureters⁵, bladder^{6,7}, penis⁸, testicles⁹, female external genitalia¹⁰ and vagina¹¹. Some authors have indicated a different response of male and female anencephalic fetuses to hormonal stimulation¹². One of the reasons for this difference was explained in articles describing the underdevelopment of the adrenal cortex in anencephalic fetuses^{13–15}, since that segment of adrenal tissue is also responsible for the production of virilizing

Urogenital Research Unit, State University of Rio de Janeiro, Rua Professor Gabizo, 104/201, Tijuca, Rio de Janeiro, RJ CEP 20271-320, Brazil. email: lufavorito@yahoo.com.br

hormones. In the absence of this signaling, an XY fetus would not achieve full growth of its sexual characteristics. Thus, in theory anencephaly would not negatively influence the development of gynecological structures, including the uterus from a neuroendocrine perspective. But from another point of view, NTD can affect the development of the nerve plexuses that surround the uterus.

The uterus is derived from the paramesonephric (or Müllerian) ducts. By the eighth week, the paramesonephric ducts merge in the cranio-caudal direction and at the end of the first-trimester, development of the uterus and the other Müllerian structures is complete^{16,17}. Research of the effect of anencephaly on uterine morphogenesis is still scarce.

We hypothesized that anencephaly impacts the uterine development during the human fetal period. The confirmation of these alterations could be important in future studies about the impact of NTDs on female genital development. The objective of this study was to compare the uterus diameters in fetuses with anencephaly and compare them with the biometric parameters of normocephalic fetuses at different gestational ages.

Material and methods

The fetuses used in this study (both Controls and with AWDs all with informed consent of the parents) were obtained from the Department of Pathology of the Fernandes Figueira Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Ministry of Health, in partnership with our University, via an official Cooperation Term.

The study was approved by the Ethical Committee on Human Research—University Hospital of the State University of Rio de Janeiro (CEP / HUPE), with the number (IRB: 2.475.334, CAAE: 78881317.4.0000.5259).

The study has also been registered in the Brazil Platform, Ministry of Health, National Health Council, National Research Ethics Commission (CONEP) for studies with human beings. We confirm that all methods used in this paper were carried out in accordance with relevant guidelines and regulation.

Thirty-four female fetuses (22 without apparent anomalies and 12 anencephalic) were studied, aged 12 to 22 weeks post-conception (WPC), which had been aborted because of hypoxia. All of them were macroscopically well preserved and were donated by the hospital's obstetrics department.

The gestational age was determined in WPC according to the foot-length criterion. This criterion is currently considered the most acceptable parameter to estimate gestational age^{18–20}. The fetuses were also evaluated regarding, crown-rump length (CRL) and body weight immediately before dissection. All measurements were carried out by the same observer.

After compiling anthropometric data, specimens were thoroughly dissected through bilateral subcostal incision laparotomy, allowing visualization of abdominal organs and extraction of fetal pelvis “en bloc”.

The pelvis blocks were then reserved in an formaldehyde prefilled container until the moment of microdissection, performed in our laboratory with aid of stereoscopic magnification lenses (Zeiss Discovery V8 microscope 16/25×). All fetuses were dissected under identical conditions by the same researcher, who has practical experience in microsurgery.

The pelvis was opened to expose and identify the urogenital organs and separate the genital and urinary tracts. After complete dissection of the uterus, photographs were taken by the camera attached to the microscope (Zeiss Axiocam 506 Color, 6 megapixels), and images were stored in a TIFF file. The biometric parameters were recorded, with measurements performed by the same observer using the Image J software, version 1.46r, because of the high intra observer precision compared to interobserver analysis²¹. Uterine dimensions were measured assuming the length from the cervix to the fundus and its width was equal to the distance between the utero-tubal junctions (Fig. 1). The data were expressed in millimeters. All data were collected from July 2019 to December 2021.

Statistical analysis. All parameters were statistically processed and graphically described. The Shapiro–Wilk test was used to verify the normality of the data. After that, the Wilcoxon–Mann–Whitney test was used for comparison of quantitative data of normocephalic fetuses vs. fetuses with anencephaly ($p < 0.05$) and the level of significance was adjusted by the correction of Bonferroni.

Simple linear correlations (r^2 values less than 0.4 reflect very weak correlation, while r^2 between 0.4 and 0.7 reflect moderate correlation and r^2 greater than 0.7 indicates strong correlation) were calculated for uterine measurements, according to fetal age. The statistical analysis was performed with the GraphPad Prism software (Version 9.2.0).

Compliance with ethical standards. This study was supported by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPQ—Brazil) (Grant number: 301522/2017) and The Rio de Janeiro State Research Foundation (FAPERJ) (Grant number: E26/202.873/2017).

Ethical approval. This study was carried out in accordance with the ethical standards of the hospital's institutional committee on human experimentation. (IRB: 2.475.334, CAAE: 78881317.4.0000.5259).

Statement. We confirm that all data generated or analysed during this study are included in this published article submitted to *Scientific Reports*.

Results

All biometric data of the 34 fetuses of the control and anencephalic group are reported in Table 1. The statistical analysis of all fetal biometric parameters and uterine measurements is reported in Table 2.

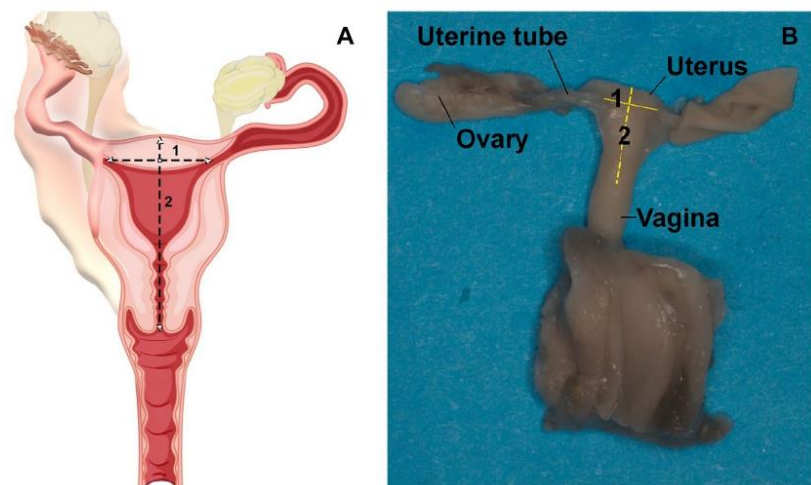


Figure 1. Measurements of uterus in human fetuses. (A) Schematic drawing of female organs showing the metric standards used to measure the uterus width (1) and uterus length (2) and (B) genital organs of a female fetus with 18 weeks post conception, after the dissection with the aid of the microscope (with $\times 16/25$ magnification). The measurement of uterus width (1) and uterus length (2) was done using the Image J software, version 1.46r.

The gestational age of fetuses ranged from 12 to 22 weeks post-conception (WPC). The normocephalic group's average gestational age was 17 WPC while for the anencephalic group it was 15 WPC. This difference was not statistically significant (p -value 0.0819).

The fetuses' weight ranged from 22 to 248 g (g). The normocephalic group's average weight was 170.64 g while for the anencephalic group it was 79.917 g. This difference was statistically significant (p -value 0.0017).

The measurement of the crown-rump length (CRL) of the fetuses in the whole sample ranged from 7 to 20 cm (cm). The normocephalic group's average CRL was 13.95 cm, while for the anencephalic group it was 9.75 cm, a difference that was statistically significant (p -value 0.0015).

We did not identify statistical significance between the groups for the measurements of uterus length (Control: 2.02–6.36 mm/mean = 3.59 mm/SD + 1.43 vs. Anencephalic: 1.71–5.44 mm/mean = 2.97 mm/SD + 1.21, $p = 0.1070$) and uterus width (Control: 1.99–7.91 mm/mean = 3.84 mm/SD + 1.27 vs. Anencephalic: 2.08–6.48 mm/mean = 3.65 mm/SD + 1.23; $p = 0.3360$).

When the uterine length and weight data were normalized to the fetal weight in each case, and then compared we calculate two new variables: uterine length/fetal weight $\times 100$ and uterine width/fetal weight $\times 100$. We identify significant differences between the uterus length (mm)/weight (g) $\times 100$ ($p = 0.0046$) and uterus width (mm)/weight (g) $\times 100$ ($p = 0.0013$) when we compare the control with the anencephalic group. The summary of the findings regarding the correlations studied between the uterus length (mm)/weight (g) $\times 100$ ($p = 0.0046$) and uterus width (mm)/weight (g) $\times 100$ ($p = 0.0013$) in the normal and anencephalic groups is reported in Table 2.

The summary of the findings regarding the correlations studied in the normal and anencephalic groups is reported in Table 3. The linear regression analysis indicated that 80% significance was found in the correlations in normocephalic fetuses (12.9 to 22.6 WPC) and 40% significance in anencephalic fetuses (12.3 to 18.6 WPC) during the period studied.

The gestational age (WPC) was correlated with the length of the uterus (mm) in the control group (12.9–22.6 WPC) ($y = 32.44x - 2.015$) and anencephalic group (12.3–18.6 WPC) ($y = 39.71x - 3.190$). The results showed that gestational age was significantly and positively correlated with the uterine length of the normal (control) and anencephalic fetuses. The gestational age (WPC) was correlated with the width of the uterus (mm) in the control group (12.9–22.6 WPC) ($y = 19.31x + 50.89$) and anencephalic group (12.3–18.6 WPC) ($y = 24.211x - 11.25$). The results showed that the correlation of gestational age with the uterine width of the normal (control) and anencephalic fetuses was not statistically significant (Fig. 2 and Table 3).

The fetal weight was correlated with the length of the uterus (mm) in the control group (12.9–22.6 WPC) ($y = 0.00864x + 2.113$) and anencephalic group (12.3–18.6 WPC) ($y = 0.004112x + 2.646$). The results showed that fetal weight was significantly and positively correlated with the uterine length of the normal group, but not for the anencephalic group. The fetal weight was correlated with the width of the uterus (mm) in the control group (12.9–22.6 WPC) ($y = 0.006672x + 2.706$) and anencephalic group (12.3–18.6 WPC) ($y = 0.009322x + 2.901$). The results showed that fetal weight was significantly and positively correlated with the uterine length of the normal group and the anencephalic group (Fig. 2 and Table 3).

Fetuses	Age (WPC)	Weight (g)	CRL (cm)	Uterus length (cm)	Uterus width (cm)
Normal	12.90	58.00	9.00	2.02	1.99
Normal	13.60	100.00	12.00	2.87	2.58
Normal	13.80	76.00	11.50	2.10	2.65
Normal	14.50	100.00	12.50	2.21	2.49
Normal	14.90	196.00	14.00	3.32	4.16
Normal	15.10	122.00	12.00	2.13	3.51
Normal	15.20	124.00	15.00	2.10	2.96
Normal	16.60	198.00	17.00	2.92	3.42
Normal	16.70	134.00	11.00	2.61	2.55
Normal	16.80	140.00	12.50	3.56	5.33
Normal	16.80	78.00	9.50	3.21	3.18
Normal	17.50	142.00	12.50	5.45	3.74
Normal	17.50	344.00	19.00	6.36	7.91
Normal	17.70	144.00	13.00	6.03	5.66
Normal	17.90	30.00	7.50	2.86	4.64
Normal	18.60	306.00	17.00	2.42	4.14
Normal	18.70	78.00	11.00	2.92	3.46
Normal	19.20	196.00	16.50	3.20	4.07
Normal	20.10	262.00	18.00	5.99	3.68
Normal	21.50	326.00	20.00	5.49	4.07
Normal	21.70	252.00	17.00	5.32	4.63
Normal	22.60	348.00	19.50	3.83	3.75
Anencephalic	12.30	30.00	8.00	2.09	3.16
Anencephalic	12.30	30.00	7.50	1.91	2.54
Anencephalic	13.60	46.00	10.00	1.88	4.68
Anencephalic	14.00	22.00	7.00	3.58	3.67
Anencephalic	14.30	76.00	10.50	2.21	2.52
Anencephalic	14.50	30.00	8.00	1.71	2.08
Anencephalic	16.30	34.00	8.00	1.81	4.22
Anencephalic	16.50	136.00	14.00	2.57	3.60
Anencephalic	17.60	28.00	7.50	5.44	2.79
Anencephalic	18.00	188.00	12.50	4.46	6.48
Anencephalic	18.30	24.00	8.00	4.17	2.88
Anencephalic	18.60	315.00	16.00	3.86	5.13

Table 1. The table shows the different parameters analyzed in the 34 fetuses studied. CRL crown-rump length, WPC weeks post-conception.

	Groups										p-value
	Normal					Anencephalic					
	Minimum	Maximum	Mean	Median	Standard deviation	Minimum	Maximum	Mean	Median	Standard deviation	
Age (WPC)	12.900	22.600	17.268	17.150	2.675	12.300	18.600	15.525	15.400	2.307	0.0819
Weight (g)	30.000	348.000	170.636	141.000	97.074	22.000	315.000	79.917	32.000	90.462	0.0017*
Crown-rump length (cm)	7.500	20.000	13.955	12.750	3.579	7.000	16.000	9.750	8.000	2.943	0.0015*
Uterus length (mm)	2.020	6.360	3.587	3.060	1.465	1.710	5.440	2.974	2.390	1.268	0.1487
Uterus width (mm)	1.990	7.910	3.844	3.710	1.296	2.080	6.480	3.646	3.380	1.284	0.6004
Uterus length (mm)/weight (g) × 100	0.791	9.533	2.695	2.161	1.810	1.225	19.429	7.493	5.512	6.440	0.0046*
Uterus width (mm)/weight (g) × 100	1.078	15.467	3.121	2.439	2.924	1.629	16.682	8.184	9.215	4.658	0.0013*

Table 2. The table shows the statistical analysis of the biometric parameters studied in 34 female fetuses, 22 normal and 12 anencephalic, aged between 12 and 22 weeks post-conception (WPC). SD standard deviation. *Significant statistical difference.

	Normal			Anencephalic		
	r ²	p-value		r ²	p-value	
Age (WPC) × weight	r ² = 0.4677	p = 0.004	Significant	r ² = 0.3101	p = 0.0600	Not Significant
Age (WPC) × CRL	r ² = 0.3986	p = 0.0016	Significant	r ² = 0.2426	p = 0.1038	Not Significant
Age (WPC) × uterus length	r ² = 0.3507	p = 0.0037	Significant	r ² = 0.5218	p = 0.0080	Significant
Age (WPC) × uterus width	r ² = 0.1590	p = 0.0660	Not Significant	r ² = 0.1891	p = 0.1577	Not Significant
Weight × CRL	r ² = 0.8862	p < 0.0001	Significant	r ² = 0.8723	p < 0.0001	Significant
Weight × uterus length	r ² = 0.3276	p = 0.0054	Significant	r ² = 0.08606	p = 0.3547	Not Significant
Weight × uterus width	r ² = 0.2499	p = 0.0178	Significant	r ² = 0.4313	p = 0.0203	Significant
CRL × uterus length	r ² = 0.2735	p = 0.0125	Significant	r ² = 0.02097	p = 0.6534	Not Significant
CRL × uterus width	r ² = 0.1572	p = 0.0677	Not Significant	r ² = 0.3493	p = 0.0430	Significant
Uterus width × uterus length	r ² = 0.4607	p = 0.0005	Significant	r ² = 0.08365	p = 0.3619	Not Significant

Table 3. The table shows the coefficient and significance of the correlations studied in normal and anencephalic fetuses.

The CRL (cm) was correlated with the length of the uterus (mm) in the normal fetuses (12.9–22.6 WPC) ($y = 0.2142x + 0.5989$) and anencephalic fetuses (12.3–18.6 WPC) ($y = 0.06239x + 2.366$). The results showed that CRL was significantly and positively correlated with the uterine length of the normal group, but not of the anencephalic group. The CRL was correlated with the width of the uterus (mm) in normal fetuses (12.9–22.6 WPC) ($y = 0.1436x + 1.841$) and anencephalic fetuses (12.3–18.6 WPC) ($y = 0.2579x + 1.132$). CRL was significantly and positively correlated with the uterine width of the anencephalic group, but not of the normal group (Fig. 2 and Table 3).

Discussion

In normal fetuses, GnRH-containing neurons are present in the human brain at the end of the first month of pregnancy²². Hypophysis is able to synthesize gonadotropins from at least 9 weeks of fetal life^{23,24}, so the release of gonadotropins into the fetal circulation can be demonstrated by the beginning of the second trimester. Circulating luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) levels were significantly higher in female than in male fetuses at mid-gestation²⁵.

Differentiation of the genital tract depends on metabolic pathways initially orchestrated by the presence/absence of the SRY gene and by the action of anti-Müllerian hormones (AMH) and testosterone. Thus, it is expected that a female embryo, genetically XX, will not be susceptible to the direct action of anti-Müllerian hormones (AMH) and testosterone.

Fetal ovaries are unable to secrete AMH, but their ovarian expression can be detected by immunohistochemistry at the time of the third trimester, suggesting that AMH plays a role in ovarian development as early as the fetal period^{16,26}. Circulating FSH concentrations in female fetuses are high at mid-gestation, then decrease to low levels at birth, but transiently increase again during postnatal pituitary activation²⁷. In premature girls, extremely high postnatal levels of FSH have been described, indicating an alteration in pituitary-ovarian function in infancy^{27,28}.

In this sense, since the exposure of the central nervous system to amniotic fluid causes irreversible damage to the encephalic tissue, we could assume that the primary hormonal axis would be compromised in anencephalic fetuses, which could reflect the abnormal development of the reproductive organs^{1,9}.

This correlation would be more assertive for male fetuses since the fetal ovaries are not thought to play any part in female sex differentiation, because they secrete little estrogen, even though follicles begin to develop at about 16 weeks and primordial follicles containing granulosa cells are present by 20 weeks¹⁶. It has been described that female external genitalia development is not subject to fetal gonadal hormones as in male fetuses^{29,30}.

In male fetuses, the comparative study of the development of the genital tract of normal and anencephalic fetuses has been conducted over the years. Zondek & Zondek, during the 1960s, observed that the prostate showed marked, and in some instances extreme, metaplastic changes, sometimes even surpassing the appearance in normal controls⁷. In another paper, those researchers noted that the volume of the testis was smaller than that of controls with similar periods of development¹².

In our department, Pires et al. observed that the testicular volume of anencephalic fetuses did not increase with fetal age, and developed more slowly than in normal fetuses. On the other hand, the same research team did not observe significant differences in development of the prostate in fetuses with anencephaly^{6,9}. In the same sense, Carvalho and colleagues, using histological and immunolabeling techniques, concluded that anencephaly does not cause structural alterations in the fetal penis⁸.

As for the female fetuses, Baker and Scrimgeour demonstrated that gonadal development was almost identical in the ovaries of anencephalic and control fetuses³¹. Zondek and Zondek reported a different result, suggesting that the volume of the ovary in anencephalics was larger than that of the controls up to 36 weeks of gestation and somewhat smaller in the last month of pregnancy; with no marked degree of hypoplasia¹².

Previous data from our department showed no differences in vaginal morphology, but the vaginal length and width were smaller in the anencephalic group during the second trimester of pregnancy¹¹. Changes were perceived in relation to the external genitalia, with anencephalic fetuses tending to have more rudimentary external genitalia, with a reduction in anatomical distances from some reference points: length and width of the

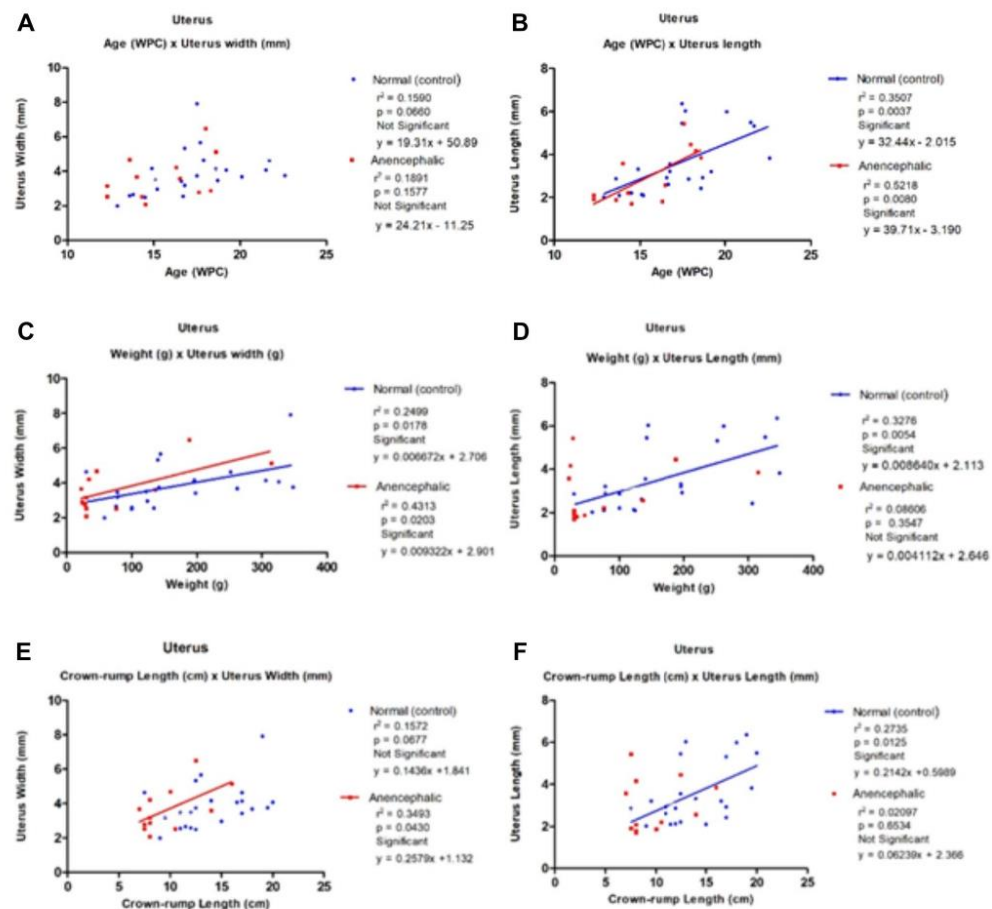


Figure 2. The figure shows the linear regression analysis comparing the biometric data of the uterus with fetal age (WPC), weight (g) and crown-rump length (cm). (A) Uterus width $\times$ fetal age: the linear regression analysis shows non-significant correlation between fetal age and uterine width in normal and anencephalic groups; (B) uterus length $\times$ fetal age: the linear regression analysis shows a significant and positive correlation between fetal age and uterine length in normal and anencephalic groups; (C) uterine width $\times$ fetal age: the linear regression analysis shows a significant and positive correlation between fetal weight and uterine width in the normal and anencephalic groups; (D) uterine length $\times$ fetal weight: the linear regression analysis shows a significant and positive correlation between fetal weight and uterine length in the normal group, but not significant in the anencephalic group; (E) uterine width $\times$ crown-rump length: the linear regression analysis shows a significant and positive correlation between fetal weight and uterine length in the anencephalic group, but not significant in the normal group and (F) uterine length $\times$ crown-rump length: the linear regression analysis shows a significant and positive correlation between fetal weight and uterine length in the normal group, but not significant in the anencephalic group.

clitoris, length and width of the vaginal introitus, and distance between the labia majora and the clitoris-anus distance. Despite these findings, there was no significant change in the distance between the vaginal opening and the anus of these fetuses¹⁰.

Comparative studies of the uterus between normal and anencephalic fetuses are scarce in the literature. Zondek and Zondek evaluated genital structures of female anencephalic fetuses, stillborn in the third trimester. Their histological investigation demonstrated normal uterine development, with vascular, stromal and glandular proliferation, glandular secretion present in varying degrees, and full development during the last month of pregnancy³².

The present paper reports the first normative parameters of uterine development during the second gestational trimester in human fetuses. The statistical analysis of our measurements indicates that the uterine diameters were different between the evaluated groups. The measurements of the uterus were significantly greater in anencephalic group and the linear regression analysis indicated that 80% significance was found in the correlations in control group and 40% significance in anencephalic fetuses but without statistical difference in the uterine width and length growth curves during the 2nd gestational trimester. We can speculate that NTDs could have impact on uterine development during the human gestational period probably because of commitment of the primary hormonal axis in anencephalic fetuses and the consequent alteration in the growth of organs of the genital system in fetuses as evidenced in previous studies^{5,9,10}. However we need more studies including ultrastructural and sophisticated histological analysis, providing better assessment of these changes in fetuses of the 3rd gestational trimester to support this hypothesis.

Uterine development could be influenced by other factors independently of anencephaly. It is assumed that the *Vangl2* gene is vital for neural tube closure (mainly a recessive effect) and independently for female reproductive tract development (a dominant effect). In a previous experimental study, heterozygotes for the *Vangl2*-Lp mutation develop mild spinal neural tube defects but also show a high frequency of imperforate vagina³³. Moreover, it is important to make clear that the case of *Vangl2* mutants in mice is just an example, where the primary NTD effect appears separate from the effect on the female genital tract. There may well be other genes or environmental factors that also have a similar effect.

Some limitations of our study should be mentioned: (a) the unequal WPC of the anencephalic fetuses and the control group; (b) the lack of 3rd trimester fetuses to confirm the uterine growth pattern in the two groups studied; (c) the lack of uterine histopathological analysis in our sample; (d) the small sample size (however, anencephalic fetuses are rare, so the observations of a small sample are still relevant); and (e) measurement of uterine biometric parameters by a single observer, potentially leading to measurement bias.

Conclusions

The comparative study of uterine dimensions between normal and anencephalic fetuses indicated differences between the two groups. The measurements of the uterus were greater in anencephalic group but there are no difference in the uterine width and length growth curves during the period studied. Further studies are required to support the hypothesis suggesting that anencephaly may affect uterine development during the human fetal period. We reiterate that the translational aspects of the anencephalic model are promising in the fields of embryology, fetal medicine, neonatology and pediatric urology.

Received: 10 May 2022; Accepted: 11 August 2022

Published online: 18 August 2022

References

- Blatter, B. M., van der Star, M. & Roelvelde, N. Review of neural tube defects: Risk factors in parental occupation and the environment. *Environ. Health Perspect.* **102**, 140–145 (1994).
- Diniz, A., Rodrigues, N., Sampaio, F. & Favorito, L. A. Study of the renal Parenchymal volume during the human fetal period. *Int. Braz. J. Urol.* **45**, 150–160 (2019).
- Diniz, A., Sampaio, F. & Favorito, L. A. Anencephaly alters renal parenchymal volume in human fetuses?. *Int. Braz. J. Urol.* **46**, 1075–1081 (2020).
- Costa, S. *et al.* Study of the ureter structure in anencephalic fetuses. *Int. Braz. J. Urol.* **39**, 853–860 (2013).
- Pazos, H. M. *et al.* Do neural tube defects lead to structural alterations in the human bladder?. *Histol. Histopathol.* **26**, 581–588 (2011).
- Favorito, L. A., Pires, R. S., Gallo, C. M. & Sampaio, F. Study of prostate growth in prune belly syndrome and anencephalic fetuses. *J. Pediatr. Surg.* **55**, 2221–2225 (2020).
- Zondek, L. H. & Zondek, T. The human prostate in anencephaly. *Acta Endocrinol.* **64**, 548–556 (1970).
- de Carvalho, J. P., Costa, W. S., Sampaio, F. J. & Favorito, L. A. Anencephaly does not cause structural alterations in the fetal penis. *J. Sex. Med.* **9**, 735–742 (2012).
- Pires, R. S., Gallo, C. M., Sampaio, F. J. & Favorito, L. A. Do prune-belly syndrome and neural tube defects change testicular growth? A study on human fetuses. *J. Pediatr. Urol.* **15**(557), e1–557.e8 (2019).
- Vieirals, R. R., Ribeiro, G. S. Jr., Alves, E. F., Sampaio, F. J. & Favorito, L. A. Are anogenital distance and external female genitalia development changed in neural tube defects? Study in human fetuses. *J. Pediatr. Urol.* **16**(654), e1–654.e8 (2020).
- Ribeiro-Julio, G. S., Vieirals, R. R., Sampaio, F. J., Gallo, C. M. & Favorito, L. A. Vaginal development during 2nd gestational trimester: Translational study in human female fetuses with disorders of the neural tube. *Arch. Gynecol. Obstet.* <https://doi.org/10.1007/s00404-021-06357-4> (2022).
- Zondek, L. H. & Zondek, T. Ovarian hilar cells and testicular Leydig cells in anencephaly. *Biol. Neonate* **43**, 211–219 (1983).
- Tuchmann-duplessis, H. Etude des glandes endocrines des anencéphales; déduction sur les corrélations hypophyso-nerveuses du fœtus humain [Study of the endocrine glands in anencephalus; data on pituitary-nervous system correlations of the human fetus]. *Biol. Neonatorum Neonatal Stud.* **1**, 8–32 (1959).
- Gray, E. S. & Abramovich, D. R. Morphologic features of the anencephalic adrenal gland in early pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **137**, 491–495 (1980).
- Osamura R.Y. Functional prenatal development of anencephalic and normal anterior pituitary glands. In human and experimental animals studied by peroxidase-labeled antibody method. *Acta Pathol. Japonica* **27**, 495–509 (1977).
- Warne, G. L. & Kanumakala, S. Molecular endocrinology of sex differentiation. *Semin. Reprod. Med.* **20**, 169–180 (2002).
- Robbins, J. B., Broadwell, C., Chow, L. C., Parry, J. P. & Sadowski, E. A. Müllerian duct anomalies: Embryological development, classification, and MRI assessment. *J. Magnet. Resonan. Imaging (JMRI)* **41**, 1–12 (2015).
- Hern, W. M. Correlation of fetal age and measurements between 10 and 26 weeks of gestation. *Obstet. Gynecol.* **63**, 26–32 (1984).
- Mercer, B. M., Sklar, S., Shariatmadar, A., Gillieson, M. S. & D'Alton, M. E. Fetal foot length as a predictor of gestational age. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **156**, 350–355 (1987).
- Platt, L. D. *et al.* Fetal foot length: relationship to menstrual age and fetal measurements in the second trimester. *Obstet. Gynecol.* **71**, 526–531 (1988).

21. Tello, C., Liebmann, J., Potash, S. D., Cohen, H. & Ritch, R. Measurement of ultrasound biomicroscopy images: intraobserver and interobserver reliability. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **35**, 3549–3552 (1994).
22. Winters, A. J., Eskay, R. L. & Porter, J. C. Concentration and distribution of TRH and LRH in the human fetal brain. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **39**, 960–963 (1974).
23. Hagen, C. & McNeilly, A. S. The gonadotrophins and their subunits in foetal pituitary glands and circulation. *J. Steroid Biochem.* **8**, 537–544 (1977).
24. Levina, S. E. Endocrine features in development of human hypothalamus, hypophysis, and placenta. *Gen. Comp. Endocrinol.* **11**, 151–159 (1968).
25. Beck-Peccoz, P. *et al.* Maturation of hypothalamic-pituitary-gonadal function in normal human fetuses: Circulating levels of gonadotropins, their common alpha-subunit and free testosterone, and discrepancy between immunological and biological activities of circulating follicle-stimulating hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **73**, 525–532 (1991).
26. Kuiri-Hänninen, T. *et al.* Postnatal developmental changes in the pituitary-ovarian axis in preterm and term infant girls. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **96**, 3432–3439 (2011).
27. Tapanainen, J., Koivisto, M., Vihko, R. & Huhtaniemi, I. Enhanced activity of the pituitary-gonadal axis in premature human infants. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **52**, 235–238 (1981).
28. Greaves, R. F., Hunt, R. W., Chiriano, A. S. & Zacharin, M. R. Luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone levels in extreme prematurity: Development of reference intervals. *Pediatrics* **121**, e574–e580 (2008).
29. Flück, C. E. *et al.* Why boys will be boys: two pathways of fetal testicular androgen biosynthesis are needed for male sexual differentiation. *Am. J. Hum. Genet.* **89**(2), 201–218 (2011).
30. Makiyan, Z. Studies of gonadal sex differentiation. *Organogenesis* **12**, 42–51 (2016).
31. Baker, T. G. & Scrimgeour, J. B. Development of the gonad in normal and anencephalic human fetuses. *J. Reprod. Fertil.* **60**, 193–199 (1980).
32. Zondek, L. H. & Zondek, T. Reproductive organs in anencephaly with special reference to the uterus. *Biol. Neonate* **51**, 346–351 (1987).
33. Guyot, M.C., Bosoi, C.M., Kharfallah, E., Reynolds, A., Drapeau, P., Justice, M., Gros, P., & Kibar, Z. A novel hypomorphic looptail allele at the planar cell polarity Vangl2 gene. *Dev. Dyn.* **240**, 839–849 (2011).

Author contributions

A.L.D.: Project development, Data Collection, Manuscript writing. R.R.V.: Project development, Data Collection, Manuscript writing. C.M.G.: Statistics, Manuscript writing, Data Collection. L.A.F.: Project development, Data Collection, Manuscript writing. F.J.B.S.: Project development, Data Collection, Manuscript writing.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Correspondence and requests for materials should be addressed to L.A.F.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2022

ANEXO D – Artigo aceito em Int. Braz. Journal of Urology (Qualis A4)



INTERNATIONAL
BRAZ J UROL



April 20, 2023

To:

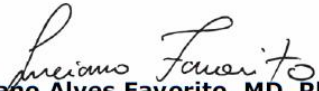
Luciano Alves Favorito
Rua Professor Gabizo, 104/201 – Tijuca
20271-320, Rio de Janeiro, RJ Brasil
Fax number: 55(21) 3872-8802
E-mail: lufavorito@yahoo.com.br

Dear Dr. **Favorito**,

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "**UROLOGICAL KNOWLEDGE AND TOOLS APPLIED TO DIAGNOSIS AND SURGERY IN DEEP INFILTRATING ENDOMETRIOSIS – A NARRATIVE REVIEW**" in its current form for publication in the International Braz J Urol.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the International Braz J Urol, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,


Luciano Alves Favorito, MD, PhD
Editor in Chief, International Braz J Urol

CONTACT

Rua Real Grandeza, 108 - Sl. 101, Real Medical Center - Botafogo, Rio de Janeiro, RJ, 22281-034
Telephone: + 55 21 2246-4003 | E-mail: brazjurol@brazjurol.com.br

www.intbrazjurol.com.br



/IntBrazJuro



/IntBrazJUrology

1 **UROLOGICAL KNOWLEDGE AND TOOLS APPLIED TO DIAGNOSIS AND**
2 **SURGERY IN DEEP INFILTRATING ENDOMETRIOSIS – A NARRATIVE REVIEW**

3 André L. Lima Diniz, José Anacleto D. Resende Jr., Cláudio M. de Andrade Jr., Alice C.

4 Brandão, Mauro P. Gasparoni Jr., Luciano A. Favorito

5 Urogenital Research Unit - State University of Rio de Janeiro – Brazil

7
8 **Running Head – DIAGNOSIS AND SURGERY IN DEEP INFILTRATING ENDOMETRIOSIS**

9
10 **Corresponding Address:**

11 Luciano Alves Favorito

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

13 CEP: 20271-320

14 Telephone number: 55(21) 22644679

15 Fax number: 55(21) 38728802

16 E-mail: lufavorito@Yahoo.com.br

17 **ABSTRACT**

18 **Key-words:** Endometriosis, Surgery, Bladder, Robotic surgery

19

20 INTRODUCTION

21

22 The presence of endometrial glands and stroma outside of their normal anatomic location
23 was first described by Rokitansky in 1860(1), and the first publications on this topic are about to
24 complete their first centenary. In 1921, Sampson described the hemorrhagic chocolate cysts(2)
25 and a few years later, in 1925, coined the name endometriosis(3). The disease is now understood
26 as the presence of endometrial glands and stroma outside the uterine cavity.

27 According to epidemiological researches, the general prevalence is usually estimated to
28 be 10% among women who are fertile(4) and despite the fact that it can afflict youngsters(5,6),
29 the highest occurrence is often documented between the ages of 25 and 35 years of age(7,8). The
30 average annual incidence rate is about 7.2 per 10,000(9) and although this data may have
31 variations, patterns show a reduction following the end of women's reproductive age, with a drop
32 just after the age of 45(8).

33 Usually related to pain, menstrual disorders, and infertility, it is a disease that can show
34 up in different ways. It has the potential to stand as superficial implants on the peritoneal surface,
35 been ovarian cysts called endometriomas or advance as lesions that infiltrate the muscularis
36 propria of surrounding organs or even penetrate the peritoneal surface by more than 5 mm. Of
37 these three possible phenotypes, this last one is the most aggressive; known as deeply infiltrating
38 endometriosis (DIE) it is typically, but not solely, found in the pelvic compartment (10).

39 The anatomical obviousness would make the naivest observer relate this entity only to
40 gynecology. Endometriosis is highly unpredictable and can manifest in the most random
41 locations including head(11,12), thorax(13–16), extra-pelvic abdominal organs(17–22) and the
42 abdominal wall itself(23,24). This wide range brings the newbie back to the real world, but it
43 must be said that atypical DIE mostly affects the gastrointestinal and urinary tract(25). In this
44 way, care will be better guided by a team composed by a gynecologist, coloproctologist/digestive
45 system surgeon, and urologist. The purpose of this article is to describe urological knowledge
46 and tools applied to diagnosis and surgery in deep infiltrating endometriosis.

47

48 **METHODS**

49 In this study we carried out a review about the urological knowledge and tools applied to
50 diagnosis and surgery in deep infiltrating endometriosis. We analyzed papers published in the
51 past 20 years in the databases of Pubmed database (US National Library of Medicine, Bethesda,
52 Maryland), Embase and Scielo, found by using the following combination of MeSH terms was
53 used: ('endometriosis') AND ('urology' OR 'urological' OR 'urologist') AND ('bladder' OR
54 'vesical') AND ('ureteral' OR 'ureter'). The linked articles algorithm on Pubmed was used to
55 identify English language and peer-reviewed journal articles published.

56 Original articles related to diagnosis, papers describing anatomy issues of the pelvis
57 related to urological organs, descriptions of surgical techniques and outcomes were included if
58 based on urinary tract matter. Clinical studies on complications functional urogenital disorders in
59 endometriosis have also been analyzed. Studies with the following designs were included:
60 randomized clinical trials, pre-post intervention studies and observational (cohort and case-
61 control) studies assessing women of reproductive age with DIE involving urological structures.
62 Clinical studies of non-urological complications were excluded. Related documents with
63 communications in congress, reviews, opinions, case reports and case series with less than 10
64 patients have been also excluded. No attempt was made to identify the "gray literature". After
65 screening, articles were first considered eligible by their title and abstract. Records were then
66 evaluated in full articles before being included to the qualitative synthesis group. Bibliographies
67 of essential articles were also studied to find papers of additional interest. PRISMA guidelines
68 were followed during the selection process(26).

69 Authors provide sample imaging from his own database in support of the data found.

70

71 RESULTS

72

73 A total of 105 articles were identified as potentially relevant. In the first hand, 24 papers
 74 were excluded for being written in othan languages than English, of these four were case reports,
 75 one reported case with less than ten patients enrolled and one was a literature review. The
 76 following criteria disqualified English-language papers that did not meet the inclusion
 77 requirements. In this sense, 20 case reports—of which half had videos attached—were
 78 disregarded. Six studies reported series of cases involving less than ten participants, thus these
 79 were also eliminated. Sixteen studies were pure literature reviews; thus, they were eliminated.
 80 Finally, five publications describing expert opinions were disqualified according to the
 81 requirements. The flow diagram is depicted in Figure 1.

82 Considering the 34 publications selected, we organized the content by research design
 83 and issues pertinent to the prognosis of deep infiltrating endometriosis. Our search yielded three
 84 retrospective studies and two prospective cohort studies that assessed radiological diagnostic
 85 techniques. One of them also analyzed the cystoscopy as a diagnostic tool and other three
 86 retrospective studies have detailed this endoscopic route employment. Three of those diagnostic
 87 studies also reported on clinical patient outcomes. Seven cohort studies, twelve retrospective
 88 analyses, and nine case series reported surgical procedures and/or clinical outcomes. There were
 89 no randomized clinical trials found, only observational research.

90

91

92 Descriptions of the radiological diagnostic techniques

93

94 Three of the five investigations on the radiological diagnosis of DIE included
 95 ultrasonography (US), while the other two involved magnetic resonance imaging (MRI).

96 The accuracy of transvaginal ultrasonography (TVUS) in predicting detrusor infiltration
 97 and ureteral meatus involvement in individuals with bladder endometriosis (BE) was examined
 98 by Ros and colleagues in 2021 TVUS detected bladder wall BE nodules and accurately predicted
 99 cystoscopic results in their sample; 21 of 22 women had uninvolved ureteral orifices at least 10
 100 mm from the BE nodule (TVUS sensitivity, 95%). Authors concluded that cystoscopy may be
 101 unnecessary for partly muscular nodules seen at TVUS, as the example in Figure 2. Having said

that, the researchers are aware of the limited statistical power of their findings related to the reduced number of participants enrolled (27). Years before, in a retrospective study, Hudelist et al. could evaluate the TVUS for preoperative detection of BE in a larger sample of which fifty of 207 patients with DIE had urinary endometriosis, including 30 patients with BE and 23 women with either isolated or multiple hydronephroses. TVUS was able to find bladder endometriosis with a sensitivity of 93%, a specificity of 99%, a positive and negative predictive value of 99% and 97% respectively and a test accuracy of 98.6%(28).

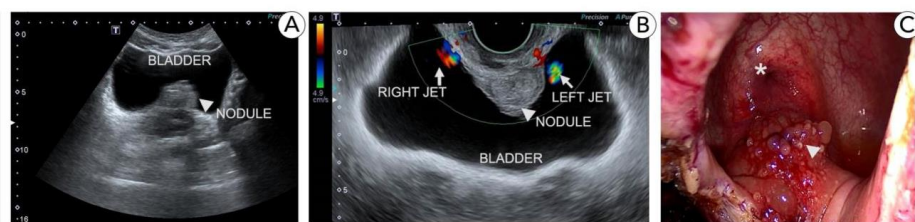


Figure 2 – Nodule (arrowhead) identified at transabdominal US (A). Transvaginal US (B) was able to demonstrate bilateral urethral patency using doppler (arrows) despite the proximity to the nodule (arrowhead). Laparoscopic view (C) of the nodule (arrowhead) and bladder trigone (asterisk) just before partial cystectomy.

These authors' findings are in line with the conclusions of a cohort study conducted in 2015 by Pateman and coworkers who highlighted that US is an accurate test to diagnose urinary tract involvement in women with suspected pelvic endometriosis. Over the course of 14 months these researchers followed 848 women with chronic pelvic pain whose suspicion of DIE was raised. One major concern of these researchers was to evaluate the effects of DIE on the upper urinary tract. So, in addition to USTV patients also underwent sonography of their kidneys. Given the service's tertiary nature, an unexpected epidemiology was found. US was able to show endometriosis in 335 women (39.5% 95% CI 36.2–42.8). Bladder seeds were observed in 6 women. Three patients had both, ureteric and bladder endometriosis. All bladder nodules were attached to the anterior uterus, above the trigone, medial to the ureters and distant from ostia;

three were in the midline, two were to the left, and one was to the right. Ureteric endometriotic lesions were seen in 14 cases (8 on left, 6 on right). Of those fourteen women with ureteric involvement, two were referred to that specialized unit due to previous known hydronephrosis. The further statistical analysis was then made with a sample of 12 patients. Ten of these 12 subjects had ipsilateral upper urinary tract dilatation on transabdominal US and the other two women had distal ureteric distension without hydronephrosis. Pre-operative sonography for ureteral DIE showed a sensitivity of 92.3% (95% CI 63.9–99.8), specificity 100% (95% CI 97.6–100), PPV 100% (95% CI 73.5–100), and NPV 99.3% (95% CI 96.3–99.9%)(29).

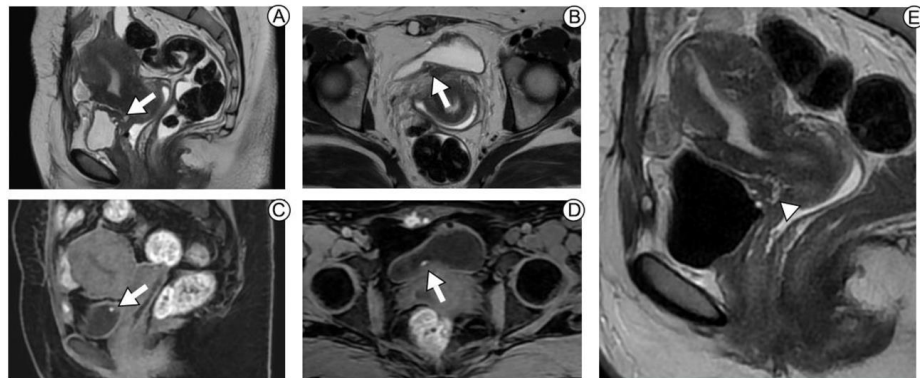
Despite the previously demonstrated high statistical yields of ultrasonography, the recognition of a urinary tract lesion or distortion is simply a first step that alerts the surgeon to the disease's complexity. Data from Patemans's paper has shown that almost 58% of woman with endometriosis had lesions at two or more different locations using sonography (29). In this scenario, an MRI will then be critical to obtain a greater understanding and plan for the future of the procedure, since a US alone may not quite enough.

Our search identified a retrospective study that evaluated the performance of MRI in locating endometriosis implants within the bladder wall with assessment of ureteral orifice extension using surgical findings as standard of reference. Researchers from academic medical centers had 39 exams by two senior members of the team. The mean size of the endometrioid foci was 30 ± 7 [SD]mm (range 19–41 mm); 56% were found in the median of the bladder wall, 26% left sided and 18% right sided. Still on the location of the lesion, 87% endometriosis implants were present in the two anterior thirds of the dome (sensitivity 100%; specificity 83%, accuracy 97%), 79% extended or were present in the posterior third pouch (sensitivity 100%; specificity 88%; accuracy 97%) and 64% extended into the bladder base (sensitivity 90%; specificity 87%, accuracy 89%). No extensive nodular endometriosis orifice infiltration was reported. The mean distance measured from the implant to the ureteral orifices was 9 ± 9 [SD] mm (range: 0–28 mm) at right, and 12 ± 12 [SD] mm (range: 0–55 mm) for the left one. Nine of these 25 patients with bladder base involvement, had a zero-distance reported between endometriosis implants and ureteral orifices, all but one presenting with low-to-moderate bladder volume repletion; only two of those nine women had ipsilateral ureteral dilatation on MRI. In addition to demonstrating the high accuracy of the method, Rousset et al. point out that adequate bladder filling, as shows Figure 3, is needed to improve appropriate estimate of the distance

159 between endometriosis implants and ureteral orifices to better predict requirement of ureteral
 160 resection-reimplantation(30).

161

162



163

164 Figure 3 – MRI shows DIE at the posterior aspect of the bladder (arrows), in the trigone closer to
 165 the right ureteral ostium. MRI sequences are T2-weighted at images A, E (sagittal plane) and B
 166 (axial plane). MRI sequences are T1-weighted at images C (sagittal plane) and D (axial plane).
 167 Late MRI sequence was performed (E) to allow bladder distension (note the bladder hypointense
 168 signal intensity related to Gadolinium contrast media), improving the lesion - ureteral distance
 169 measurement. There is muscle and mucosal infiltration.

170

171

172 The importance of standardizing MRI studies highlighted by the previous author was also
 173 mentioned in a cohort study identified in our search. According to Bielen and colleagues, the
 174 capacity to determine the involvement of an organ system is highly dependent on the techniques
 175 adopted. In a tertiary care academic center 74 women were enrolled and the accurateness of the
 176 preoperative examination of specific organ systems using TVUS, double-contrast barium enema
 177 (DCBE), intravenous urography (IVU), and MRI was assessed. Regarding the urinary tract, the
 178 bladder involvement was detected in 10 individuals during laparoscopy. This was determined
 179 accurately by TVS in six individuals; however, the invasion depth was wrongly calculated in
 180 several instances (muscular vs submucosal or vice versa). However, the involvement of the

181 bladder wall was appropriately identified on MRI in just two cases and was underestimated in
182 one patient. Ureteral invasion was evaluated with IVU and MRI. The assessment of DE lesions
183 in ureters was correct in 89,2% of patients based on IVU and 91,9% based on MRI. Pelvic
184 ureteral encasement (i.e. narrowing with smooth wall lining) was not present in any of the
185 patients at laparoscopy, though it was suggested in two patients based on IVU and/or MRI.
186 Pelvic ureteral displacement was present in 28 patients and was detected by IVU in 57.1% of
187 patients while MRI detected the displacement in an additional nine patients, resulting in a
188 detection score of 89.3%(31).

189

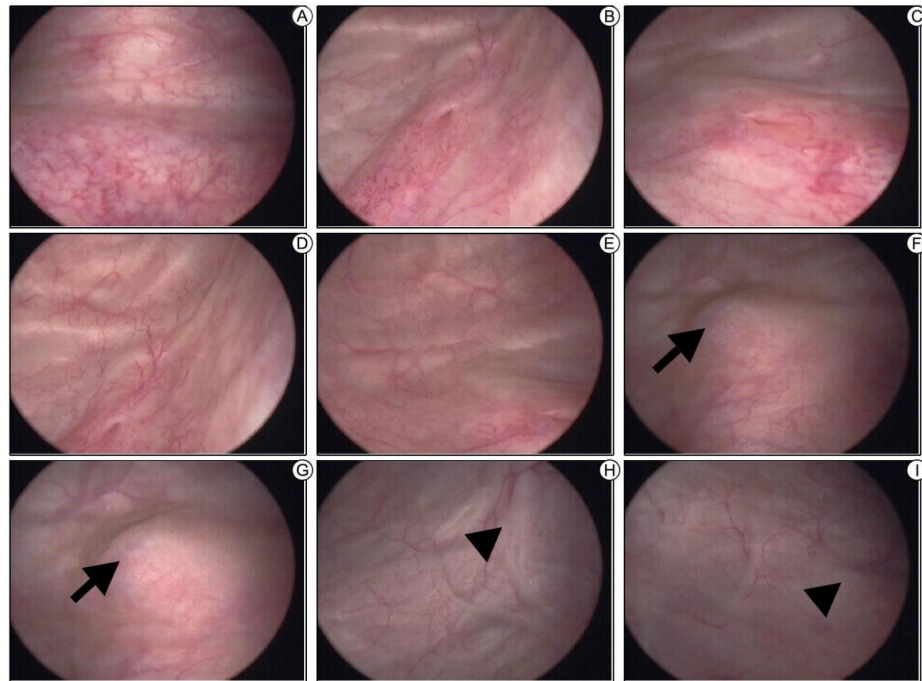
190

191 **Descriptions of the endoscopy diagnostic techniques**

192

193 At the previous session, data from Ros et al. were brought; in their institution, flexible
194 cystoscopy was performed as routine for all women with with US suspicion of BE affecting the
195 bladder muscular layer. In their study, was concluded that cystoscopy may be unnecessary for
196 partly muscular nodules seen at TVUS(27), but authors cites a publication in which recognizes
197 that for infiltrative BE nodules, cystoscopy is able to detect the distance from the BE nodule to
198 the ureteral meatus and the trigone(32), as demonstrated in Figure 4.

199



200
 201 Figure 4 – Cystoscopy shows bladder trigone (A), left (B) and right (C) ureteral ostia, left (D)
 202 and right (E) lateral walls free of lesions. A nodule (arrow) measuring approximately 1.5cm was
 203 found on the posterior wall of the bladder (F and G) at approximately 9mm from the right
 204 ureteral orifice and 11mm from the left ureteral orifice; bladder projection (arrowhead) suggests
 205 thickening of the left (H) and right (I) round ligaments.

206

207

208 In a retrospective study which enrolled 22 patients, Schneider et al observed internal
 209 bladder endometriosis in 15 women (68,1%), cystoscopy revealed that its location was at the
 210 dome in nine patients (40.9%), at the base in five patients (22.7%), and multifocal in one patient
 211 (4.5%). In the same population, IVU only suggested the disease in four cases (18,1%). They
 212 quote a traditional statement from the literature on the subject that reminds the reader to repeat
 213 cystoscopy at different times of the menstrual cycle, since endometriosis is best diagnosed before
 214 and during menstruation. Their study shows that cystoscopy is important for the potential

215 diagnosis of DIE, the authors make it clear that the macroscopic aspect is not pathognomonic,
 216 even in cases as shown in Figure 5 (33).

217

218



219

220 Figure 5 – Bladder infiltrative lesion at the bladder trigone (A), 1.5 cm far from left ureter orifice
 221 (B); right ureter orifice (C) with infiltrative lesion. Upon vaginal examination, it was possible to
 222 perceive the presence of a palpable intravaginal nodule, adhering to the right intramural ureter.

223

224

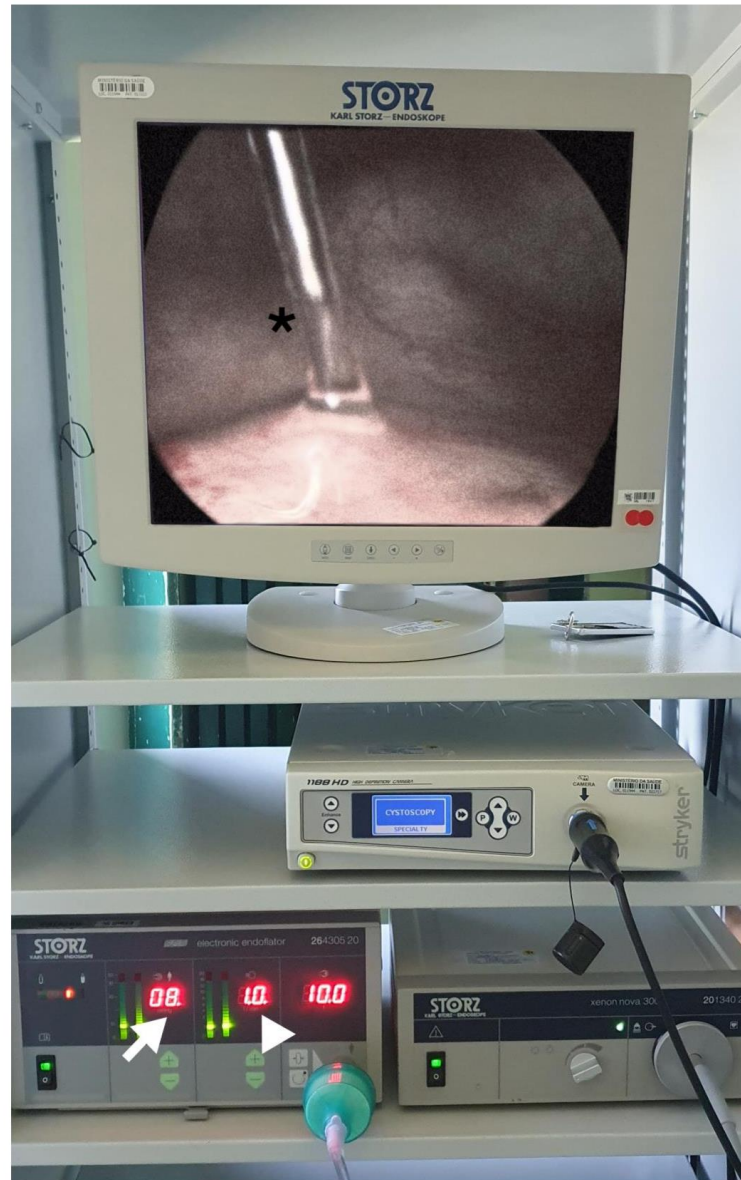
225 Antonelli and cols. analyzed their database and found 1242 patients with surgically
 226 proved diagnosis of endometriosis within ten years; it was found that 31 patients (2.5%) had
 227 urinary tract involvement. The bladder was affected in 12 patients, the ureter in 15, and either the
 228 bladder or the ureter in 4. Cystoscopy in all cases with bladder endometriosis and found the
 229 typical bluish irregular submucosal lesion on the dome (8 patients) or base (8 patients) of the
 230 bladder. Of the 16 cases in which cystoscopy corroborated the diagnosis of BE, transurethral
 231 endoscopic resection was performed in two patients with mean lesion size of 1.9cm, both women
 232 had bladder recurrence. Six individuals received open partial cystectomy and mean lesion size
 233 was 3.5cm; four cases were treated with laparoscopic partial cystectomy and mean lesion size
 234 was 3.6cm. Three patients underwent ureterocystoneostomy and partial cystectomy, bladder
 235 mean lesion size was 1.5cm. One woman was treated with laparoscopic bilateral ureterolysis and
 236 partial cystectomy, the lesion measured 3cm. None of these 14 subjects faced bladder recurrence.
 237 In face of their findings Antonelli et al. states that cystoscopy is advisable in women affected by
 238 endometriosis complaining LUTSs or haematuria; and reinforces that an ultrasonographic study
 239 of the upper urinary tract should be performed in all patients with pelvic endometriosis, even in
 240 the absence of urological symptoms(34).

By furthermore to the preoperative diagnostic, cystoscopy was found as an intraoperative method for bladder and ureteral evaluation. Some authors advocate the employment of cystoscopy during hysterectomy for benign causes as a tool for the prompt diagnosis of potential iatrogenic damage as perceived in Figure 6 (36,37).



Figure 6 - Cystoscopy identifies bladder endometriosis (arrow) and thermal injuries related to hysterectomy (arrowhead: damage to the inner layer of the muscularis; asterisk: mucosal damage).

Oliveira et al described the perioperative cystoscopy in 47 patients just after pelvic surgeries, 26 women (55%) had laparoscopic hysterectomy and 21 (45%) underwent bladder endometriosis nodule resection; among these last, 13 patients had the shaving dissection (without the need to open the mucosa, but with detrusor suturing) and 8 patients underwent partial cystectomy. This cystoscopy was performed under CO₂ filling with constant pressure of 8 mmHg and flow of 1L/min; as demonstrated in Figure 7, kindly provided by Dr. Oliveira.



260
261 Figure 7 – CO2 cystoscopy using a laparoscopic insufflator at pressure of 8mmHg (arrow), flow
262 rate at 1L/min (arrowhead); urine jet identified (asterisk).

Regular cystoscopy filling the bladder with saline solution may impose some difficulty to jet identification due to the urinary density and the use of dyes may cause adverse. This cystoscopy using CO₂ allows the evaluation of the anatomy of ureteral orifices, the presence of ureteral jets and the integrity of bladder walls, with the same acumen as the regular fashion; the mean time between the onset of the cystoscopy and the observation of bilateral jets were 145 seconds, suggesting their patency. In face of their findings, Oliveira and colleagues stated that the cystoscopy technique using CO₂, was fast, easy, safe and efficient (35).

Descriptions of the surgical procedures and clinical outcomes

Six of the publications selected for the aforesaid purpose described diverse etiologies and/or therapy of urinary tract lesions. All these resources reported endometriosis, but without pushing our topic. Due to its worth, certain findings were brought to this study.

In a cohort study, Dallas et al analysed a sample of 296,130 women who underwent a hysterectomy procedure for benign conditions, which 18.8% were related to endometriosis. When such diagnosis was present, genitourinary injuries happened in about 2.3% of the women demonstrating an increased likelihood (OR 1.46; 95% CI 1.36–1.56) of a genitourinary injury occur, with a delayed diagnosis happening in about 20.6% of the cases(36). These results was in accordance with a retrospective performed by Wallis and colleagues who similarly, found that a primary post-operative diagnosis of endometriosis was associated with a significantly increased risk (OR 1.92, 95% CI 1.68-2.19) of urinary tract injury(37). Johnston et al. reported that 28% of their 1265 laparoscopic procedures were for endometriosis treatment, but happening only two urinary tract damages(38). With a smaller sample, Siow et al studied 495 cases of laparoscopic hysterectomy, 25,1% due to endometriosis; urological lesions were found in 1.6% of patients; authors suggests that the most likely aetiology was thermal damage from electrocautery used to secure haemostasis of the uterine artery pedicle and consider the endometriosis as one of the risk factors related (39). Inadvertent electrical conduction between instruments and tissues can also occur (Figure 8) and, when identified, should lead to revision of the affected tissue, as well as strict follow-up of the patient in the postoperative period, given the risk of late leakage.

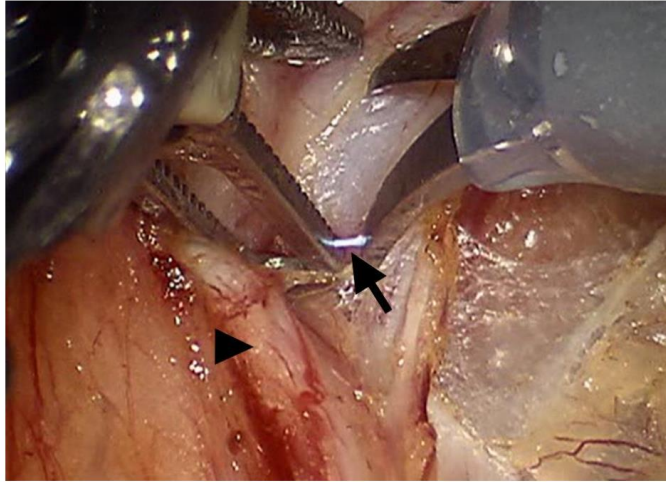
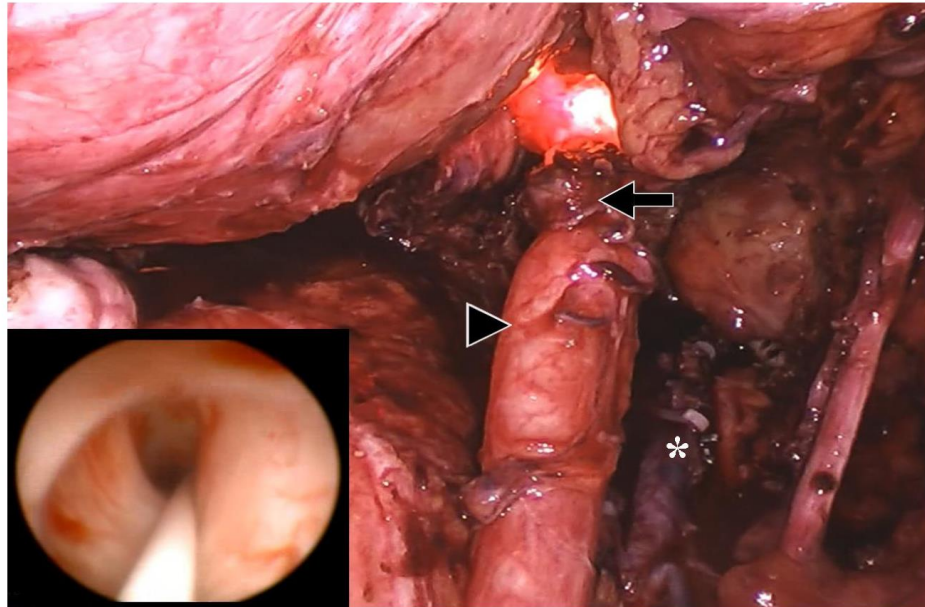


Figure 8 – Electrical conduction between monopolar scissor and grasper (arrow) during lymphadenectomy step. Grasper is pulling the ureter (arrowhead) away from the dissection area.

Two case series documented ureteral stricture surgery for distinct causes. Five of our 44 patients experienced endometriosis-related ureteral stricture, similar to that shown in Figure 9. In four patients, the distal constriction was treated by ureteroneocystostomy (UNC) with a Boari flap and two with UNC with the psoas hitch approach. UNC with a Boari flap was used to treat an 80mm lesion in the middle-inferior ureter transition. Both strategies work long-term without concerns (40,41). This favorable outcome was also observed in a cohort study by Carmignani et al, who evaluated thirteen patients with deep endometriosis and ureteral involvement and concluded that the combination of bladder psoas hitch, ureteral resection, and ureteroneocystostomy had no negative effect on urodynamic parameters(42).



309
 310 Figure 9 - Double endoscopic view of an extrinsic endometriotic lesion at the distal right ureter.
 311 A nitinol guidewire was used to allow safe progression of the semi-rigid ureterscope as shown.
 312 The arrow shows laparoscopic aspect of the endometriosis and the arrowhead shows the ureteral
 313 distension above the stricture point. Uterine artery, marked with asterisk, was ligated with
 314 Hem'O'Lock clips.

315
 316

317 In order to increase understanding of the uro-neurology interaction, Chiantera et al.
 318 presented the use of neuronavigation methods for the treatment of deep endometriosis in a
 319 retrospective investigation. Involvement of deep lateral tissues was detected in 40% of women
 320 with central pelvic lesions and in 72.7% of patients with involvement of the hypogastric plexus.
 321 The authors conclude that complete laparoscopic excision of endometriosis tends to reduce
 322 recurrence rates without increasing surgical morbidity(43).

323 Twenty-two studies provided relevant evidence that primarily highlighted the proposed
 324 issue; however, the non-uniform description of clinical information, treatments, and results

hinders the detailed analysis of the pooled data. Two of those papers referred exclusively to ureteral endometriosis.

For the treatment of bladder endometriosis, the techniques described were transurethral endoscopic resection (TURB), partial cystectomy with mucosal preservation (shaving) and partial cystectomy. Partial cystectomy was the most common surgical treatment for endometriosis of the bladder, as reported in twenty studies. A total of 1,355 patients were enrolled, and in addition to several further urethral procedures, 598 partial cystectomies (44.13%) were done.

The use of TURB was documented in six studies with a total of 149 bladder endometriosis patients, and thus the endoscopic approach was adopted in 35% (52 patients). Recurrence was identified in 24 women, which corresponds to an estimated recurrence rate of 46.15%. Data are described in table 1. The National Survey conducted by Hirata and colleagues stands out among the reported research; which cumulative recurrence rates were considerably greater with TURB than with partial cystectomy under statistical significance ($p < 0.05$).

In several investigations, exeresis of bladder nodules maintaining the mucosa was also documented. This method has also been referred to as bladder shaving and bladder skinning, as demonstrated in the following series at Figure 10.

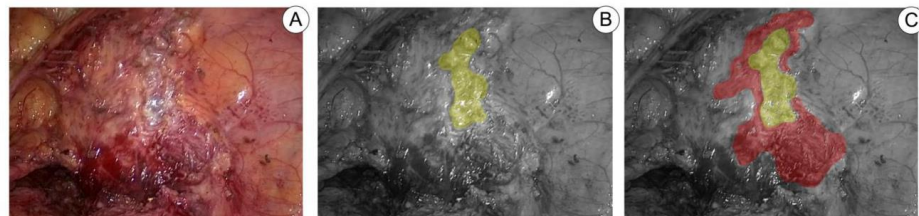
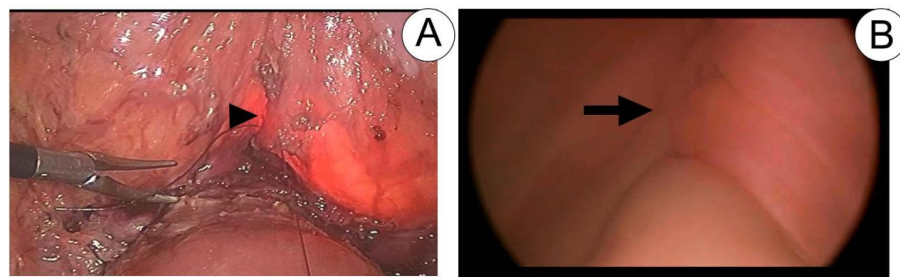


Figure 10 – Image A shows bladder after laparoscopic resection of endometriosis, highlighted in yellow at Image B, the area delimits the resection performed up to the mucosa and marked in red at image C, we demonstrate the bladder resection in which it was possible to preserve the muscle layer.

351 As described by Darwish et al., this technique begins with a detrusor incision around the
 352 bladder lesion, followed by dissection to the nodule's macroscopic limits in the depth, and as
 353 resection appears complete prior to opening the bladder, muscular suture in one layer to reinforce
 354 the bladder wall is then performed(49). With data presented in table 2, by examining these
 355 publications, there have been 109 people with vesical endometriosis; and 44 of them had bladder
 356 shaving, which corresponds to about 40.37 percent of cases; just one patient out of 44
 357 experienced recurrence, which amounts to 2.27%. In these areas of weakening of the full
 358 thickness of the bladder, reinforcing suture is suggested, as shown in Figure 11.
 359
 360



361
 362 Figure 11 – Cystorrhaphy line (arrowhead) demonstrated by laparoscopy at Image A and by
 363 cystoscopy (arrow) at Image B. Bladder filling during cystoscopy also makes it possible to assess
 364 the watertightness of the suture performed.
 365
 366

367 Ureteral involvement by endometriosis foci may need various types of surgery; among
 368 the publications assessed, less invasive resection procedures such as ureteroscopic approaches to
 369 simple ureterolysis (N = 282), progressing to segmental ureterectomy with end-to-end
 370 anastomosis (N = 70), UNC as Lich-Gregoir or Politano-Leadbetter (N= 271), UNC with Boari
 371 flap (N = 4), and UNC with psoas hitch (N = 17). Some combined procedures have been
 372 described, one ureteric stump was resected and a bladder cuff, two PC with ureterolysis, four PC
 373 plus ureterectomy with end-to-end anastomosis and four PC added to UNC as Lich-Gregoir. Six
 374 nephrectomies were performed due to loss of renal function related to ureteral obstruction by
 375 endometriosis.

376 DISCUSSION

377

378 Endometriosis reveals itself in a variety of clinical manifestations, and the urologist is
 379 rarely the first health care provider to interact with the patient. Menstrual disorders, chronic
 380 pelvic pain, and infertility are typically incorporated into the differential diagnosis for
 381 endometriosis. The combination of symptoms and signs enables us to properly demand imaging
 382 studies. As shown in the literature reached, sonographic evidence can eventually be used to make
 383 a presumptive diagnosis of the condition and evaluate the upper urinary tract; however, MRI
 384 scans are most often robust for the nonsurgical diagnosis of endometriosis.

385 However, if the patient discloses symptoms of the lower urinary tract during the interview
 386 and radiological findings corroborate the diagnosis of endometriosis, an urological consultation
 387 is required. Urodynamic and endoscopic examination may be requested in this case.

388 Researchers found that 96.7% of patients in a prospective study with 30 patients had one
 389 or more abnormalities at urodynamic examination; and those women with anterior compartment
 390 endometriosis had increased bladder sensation (90.0% versus 45.0%, $p=0.024$) and painful
 391 bladder filling (70.0% versus 30.0, $p=0.04$) compared to patients with posterior endometriosis
 392 only(53). In line with the results of this study, another team of investigators accessed data at a
 393 considerably larger population of 138 women with radiological diagnosis of endometriosis and
 394 found that the harm of the bladder was a statistically significant independent predictor of low
 395 bladder compliance, whereas endometriosis in the parametrium was a statistically significant
 396 independent predictor of both abnormal residual urine and bladder outlet obstruction (54).

397 Even though it is invasive, cystoscopy is inexpensive, useful for estimating the distance
 398 between ureteral orifices and nodule boundaries and may allow biopsy if necessary. However,
 399 due to the intraperitoneal origin of the nodule, traditional outpatient cystoscopy is more usually
 400 normal; in only half of the instances, a classic adenomatous and nodular red or bluish mass
 401 expansion is visible, and ulcerations are more rarer (27,46). In this sense, cystoscopy under
 402 sedation concomitant with physical examination of the pelvis, including bimanual palpation of
 403 the bladder, has been proposed to improve the accuracy of the method. By using this dynamic
 404 cystoscopy in a study of 157 participants, researchers perceived that the test's had a high
 405 specificity (97,78%) and low sensitivity (58.21%) with substantial positive predictive value
 406 (95.12%) and negative predictive value (75.86%); this study has also shown that abnormalities

407 during dynamic cystoscopy were associated with a higher ratio of bladder surgery for the
 408 treatment of deep endometriosis, and typical findings involving the mucosa tends to be
 409 associated with a higher ratio of partial cystectomy(55).

410 Depending on where the endometriotic lesions are located, deep pelvic endometriosis is
 411 anatomically classified as anterior, middle, and posterior compartments. The anterior
 412 compartment is the region just posterior to the pubic symphysis, where endometrial implants
 413 may happen within the vesicouterine pouch, vesicovaginal septum, bladder, and ureter. The
 414 middle compartment consists of the uterus, fallopian tubes, ovaries, mesovarium and broad
 415 ligaments. The posterior compartment is located between the posterior vaginal wall and the
 416 anterior rectal wall, it consists of the rectovaginal pouch, rectocervical space, the rectovaginal
 417 septum, uterosacral ligaments (USL), as well as the rectosigmoid (56). Disease distribution may
 418 also be classified as: Central Pelvic Endometriosis (CPE) when DIE involved one of these
 419 anatomic sites: cervix, vagina, uterosacral ligaments, rectum, bladder and pelvic peritoneum;
 420 superficial Lateral Pelvic Endometriosis (sLPE) when parametria, ureters or hypogastric plexus
 421 were involved; deep Lateral Pelvic Endometriosis (dLPE) in presence of sacral plexus and/or
 422 sciatic nerve infiltration(43).

423 The frequency of urinary tract involvement due to DIE may reaching numbers as high as
 424 52.6% as found in our search(57).The bladder is the most frequently affected organ in the urinary
 425 system and the endometriotic foci are usually found at the dome but it may extend to its base and
 426 even get close to the ureteric ostium (30,31). During laparoscopy surgeries, a cystoscopy may
 427 assist partial laparoscopic cystectomy with a light-to-light methodology which enables
 428 appropriate intra- or extravesical detection of lesion boundaries(58). It may permit a sparing
 429 surgery in an effort to proceed the partial cystectomy or even a bladder shaving as described by
 430 Darwish(49). Still debating about minimally invasive approaches, the ureteroscopy may also be
 431 useful if ureteric lesions are presumed or suspected. Freire et al. reported 3 endoscopic
 432 management of ureteral lesions(45); in the same sense, Kumar described the diagnosis of DIE of
 433 the ureter in one patient of his sample(47).

434 In the pelvis, endometriotic lesions are more frequently observed in the posterior
 435 compartment and on the left side(59). The uterosacral ligament and rectum are the most affected
 436 structures(43). The sigmoid colon promotes retrograde menstrual fluid stasis on the left,
 437 sheltering and inhibiting endometriotic cell diffusion from the left hemipelvis; hence, the left

438 ureter is more often implicated than right, as shown by Ceccaroni et al. in his cohort study which
 439 found 151 patients with unilateral ureteral stenosis, 39 patients in the right ureter and 112
 440 patients in the left(60). These lesions usually occur above the ureterovesical junction, where the
 441 ureter crosses the uterine artery. Large paracervical or pararectal lesions larger than 2 cm may
 442 involve the ureter(61),

443 An extensive ureteral involvement by DIE can result in hydronephrosis and
 444 asymptomatic loss of renal function, as demonstrated by Antonelli et al, who performed two
 445 nephrectomies for end-stage renal atrophy(34) and by Freire et al, whose of patient populations
 446 with ureteral involvement had hydronephrosis, of which 41.2% (7/17) had partial and 17.7%
 447 (3/17) had total loss of renal function(45).

448 The surgeon who intends to act on the pelvis must comprehend ureteral fragility. This
 449 retroperitoneal tubular structure is harmed more frequently during gynecological pelvic
 450 operations(36,37,39). Not even the preemptive stenting is able to avoid harm as described by
 451 Siow et al. which states that the presence of the ureteric stents may actually make the ureter less
 452 pliable and more rigid thereby increasing the risk of injury during dissection to mobilise it(39).

453 The initial anatomical landmark in the systematic surgical treatment of endometriosis is
 454 the cranial pelvic point close to the promontory, below the split of the cava and aorta into iliac
 455 vessels. Access to the left ureter begins with sigmoid release from parietal peritoneal adhesions.
 456 Identification of the left ureter in the retroperitoneum in a healthy area, typically crossing the
 457 common iliac artery, enables ureterolysis in a distal direction, clearing the lateral aspect of the
 458 organ from the uterosacral ligament and the peritoneum of the ovarian fossa, which are
 459 frequently affected by endometriosis foci. Returning to that initial landmark, usually crossing the
 460 external iliac artery, we can find the right ureter covered by peritoneum; and as with the
 461 contralateral one, the release of adhesions and endometriotic foci from the ovarian fossa and
 462 uterosacral ligament allows safe mobilization of the ureter. Ureterolysis of the medial face
 463 should be avoided since the vascularization of the distal portion may be compromised. Among
 464 the enrolled manuscripts, some provided a comprehensive explanation of surgical steps, with
 465 special mention to Abo et al., Darwish et al., and Maida et al.; the last adds supplemental video
 466 content to the paper.(49,50,62)

467 Although they are extra-peritoneal structures, deep infiltrating endometriosis can harm
 468 the pelvic nerves. While this is not a signaling route unique to the urinary tract, it is imperative

469 that the urologist be familiar with the treatment and dissection of these structures since those
470 nerves are necessary for the proper functioning of the lower urinary tract.

471 The surgical systematization of the pelvis enables the intraoperative identification of
472 neural structures based on knowledge of anatomical landmarks. On occasion, neuronavigation
473 techniques may be advantageous, particularly when structures requiring neurolysis are at danger
474 of being accidentally damaged during dissection(43). We can identify the motor response of a
475 tissue that is thought to be a nerve by applying bipolar current to it, so that connections with S3
476 produce flexion of the hallux and contractions of the pelvic floor, rectum, and bladder, while
477 connections with S2 cause flexion of the other toes. Damages to the superior hypogastric nerves
478 may lead to urinary retention, urinary hesitancy, constipation, urinary and fecal incontinence, and
479 sexual dysfunction; inferior hypogastric plexus harm is often related to urinary retention,
480 constipation, and sexual dysfunction; the injury of pelvic splanchnic nerves may also cause
481 urinary retention(63,64). Mastering these concepts is essential for preventing bladder hypotonia
482 or atony in the future, which is of utmost importance in urology.

483

484 **CONCLUSIONS**

485

486 Even experienced surgeons find pelvic surgery challenging. This paper emphasizes the
487 role of the urologist in deep infiltrating endometriosis care.

488 The risk of inadvertent injury to urinary tract structures can be minimized with proper
489 training and anatomy understanding. The diagnostic methods of endometriosis are represented by
490 USTV, MRI and cystoscopy. This endoscopic tool can also be useful during surgeries. Although
491 bladder involvement is more common, ureteral injuries may be asymptomatic and cause long-
492 term renal dysfunction. Surgical treatment of EID has been mainly performed by conventional
493 and robotic-assisted laparoscopy. The use of systematic surgical steps allows the identification
494 and preservation of nerves and surrounding tissues. Bladder sparing tactics may be relevant for
495 the future voiding pattern of the patient, however the transurethral resection approach is related
496 to high rates of recurrence. In order to effectively treat ureteral injuries, it is necessary to achieve
497 a balance between gentle ureter manipulation and skillsets of urinary reconstructive procedures.

498

REFERENCES

1. von Rokitsansky K: Ueber Uterusdrüsen—Neubildung in Uterus und Ovarial-Sarcomen. *Z Kk Ges Aerzte Zu Wien*. 1860; 37:577–81.
2. Sampson JA: perforating hemorrhagic (chocolate) cysts of the ovary: their importance and especially their relation to pelvic adenomas of endometrial type ("adenomyoma" of the uterus, rectovaginal septum, sigmoid, etc.). *Arch Surg*. 1921; 3:245–323.
3. Sampson JA: Inguinal endometriosis (often reported as endometrial tissue in the groin, adenomyoma in the groin, and adenomyoma of the round ligament. *Am J Obstet Gynecol*. 1925; 10:462–503.
4. Viganò P, Parazzini F, Somigliana E, Vercellini P: Endometriosis: epidemiology and aetiological factors. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2004; 18:177–200.
5. Janssen EB, Rijkers ACM, Hoppenbrouwers K, Meuleman C, D'Hooghe TM: Prevalence of endometriosis diagnosed by laparoscopy in adolescents with dysmenorrhea or chronic pelvic pain: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2013; 19:570–82.
6. Saridogan E, Saridogan E: Endometriosis surgery in young women: a narrative review. *Gynecol Pelvic Med*. 2021; 4:39–39.
7. Vercellini P, Viganò P, Somigliana E, Fedele L: Endometriosis: pathogenesis and treatment. *Nat Rev Endocrinol*. 2014; 10:261–75.
8. Missmer SA: Incidence of Laparoscopically Confirmed Endometriosis by Demographic, Anthropometric, and Lifestyle Factors. *Am J Epidemiol*. 2004; 160:784–96.
9. Eisenberg V, Weil C, Chodick G, Shalev V: Epidemiology of endometriosis: a large population-based database study from a healthcare provider with 2 million members. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2018; 125:55–62.
10. Cornillie FJ, Oosterlynck D, Lauweryns JM, Koninckx PR: Deeply infiltrating pelvic endometriosis: histology and clinical significance. *Fertil Steril*. 1990; 53:978–83.
11. Duke R, Fawcett P, Booth J: Recurrent subarachnoid hemorrhage due to endometriosis. *Neurology*. 1995; 45:1000–02.
12. Sarma D, Iyengar P, Marotta TR, terBrugge KG, Gentili F, Halliday W: Cerebellar Endometriosis. *Am J Roentgenol*. 2004; 182:1543–46.
13. Ceccaroni M, Roviglione G, Rosenberg P, Pesci A, Clarizia R, Bruni F, et al.: Pericardial, pleural and diaphragmatic endometriosis in association with pelvic peritoneal and bowel endometriosis: a review of the literature. *Videosurgery Miniinvasive Tech*. 2012; 2:122–31.
14. Aragao L, Resende J, Crispi C: Association Between Diaphragmatic Lesion and Other Locations in Women with Deep Infiltrating Endometriosis. *J Minim Invasive Gynecol*. 2016; 23:S110.
15. Leonardo-Pinto J, Benetti-Pinto C, Quagliato I, Yela D: Hemoptysis and Endometriosis: An Unusual Association — Case Report and Review of the Literature. *Rev Bras Ginecol E Obstetrícia RBGO Gynecol Obstet*. 2018; 40:300–03.
16. Nezhat C, Lindheim SR, Backhus L, Vu M, Vang N, Nezhat A, et al.: Thoracic Endometriosis Syndrome: A Review of Diagnosis and Management. *JSLs*. 2019; 23:e2019.00029.
17. Saadat-Gilani K: Gallbladder endometriosis as a cause of occult bleeding. *World J Gastroenterol*. 2007; 13:4517.
18. Iafrate F, Ciolina M, Iannitti M, Baldassari P, Pichi A, Rengo M, et al.: Gallbladder and muscular endometriosis: a case report. *Abdom Imaging*. 2013; 38:120–24.
19. Monrad-Hansen PW, Buanes T, Solveig Young V, Langebrenne A, Qvigstad E: Endometriosis of the Pancreas. *J Minim Invasive Gynecol*. 2012; 19:521–23.

- 546 20. Huang B, Mooser A, Carpenter D, Montenegro G, Luu C: A Rare Case of Pancreatic Endometriosis
547 Masquerading as Pancreatic Mucinous Neoplasm. *Case Rep Surg.* 2021; 2021:1–4.
- 548 21. Yang J, Song R, Xu C, Zhang S, Zhang W: Renal Endometriosis Tends to Be Misdiagnosed as Renal
549 Tumor: A Rare Case Report. *Int Surg.* 2015; 100:376–80.
- 550 22. Yang Y, Zhao X, Huang Y: Renal Endometriosis Mimicking Cystic Renal Tumor: Case Report and
551 Literature Review. *Front Med.* 2021; 8:684474.
- 552 23. Foley CE, Ayers PG, Lee TT: Abdominal Wall Endometriosis. *Minim Invasive Gynecol Surg.* 2022;
553 49:369–80.
- 554 24. Dridi D, Chiaffarino F, Parazzini F, Donati A, Buggio L, Brambilla M, et al.: Umbilical Endometriosis: A
555 Systematic Literature Review and Pathogenic Theory Proposal. *J Clin Med.* 2022; 11:995.
- 556 25. Chamié LP, Ribeiro DMFR, Tiferes DA, Macedo Neto AC de, Serafini PC: Atypical Sites of Deeply
557 Infiltrative Endometriosis: Clinical Characteristics and Imaging Findings. *RadioGraphics.* 2018;
558 38:309–28.
- 559 26. Shamseer L, Moher D, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al.: Preferred reporting items
560 for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015: elaboration and explanation.
561 *BMJ.* 2015; 349:g7647–g7647.
- 562 27. Ros C, de Guirior C, Rius M, Escura S, Martínez-Zamora MÁ, Gracia M, et al.: Accuracy of
563 Transvaginal Ultrasound Compared to Cystoscopy in the Diagnosis of Bladder Endometriosis
564 Nodules. *J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med.* 2021; 40:1571–78.
- 565 28. Hudelist G, Tammaa A, Aas-Eng MK, Kirchner L, Fritzer N, Nemeth Z, et al.: Outcome of sonography-
566 based minimally invasive surgery for deep infiltrating endometriosis of the ureter and urinary
567 bladder - a retrospective cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2018; 97:277–84.
- 568 29. Pateman K, Holland TK, Knez J, Derdelis G, Cutner A, Saridogan E, et al.: Should a detailed ultrasound
569 examination of the complete urinary tract be routinely performed in women with suspected pelvic
570 endometriosis? *Hum Reprod Oxf Engl.* 2015; 30:2802–07.
- 571 30. Rousset P, Bischoff E, Charlot M, Grangeon F, Dubernard G, Paparel P, et al.: Bladder endometriosis:
572 Preoperative MRI analysis with assessment of extension to ureteral orifices. *Diagn Interv Imaging.*
573 2021; 102:255–63.
- 574 31. Bielen D, Tomassetti C, Van Schoubroeck D, Vanbeckevoort D, De Wever L, Van den Bosch T, et al.:
575 IDEAL study: magnetic resonance imaging for suspected deep endometriosis assessment prior to
576 laparoscopy is as reliable as radiological imaging as a complement to transvaginal ultrasonography.
577 *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 2020; 56:255–66.
- 578 32. Maccagnano C, Pellucchi F, Rocchini L, Ghezzi M, Scattoni V, Montorsi F, et al.: Diagnosis and
579 Treatment of Bladder Endometriosis: State of the Art. *Urol Int.* 2012; 89:249–58.
- 580 33. Kerr WSJ: Endometriosis involving the urinary tract. *Clin Obstet Gynecol.* 1966; 9:331–57.
- 581 34. Antonelli A, Simeone C, Zani D, Sacconi T, Minini G, Canossi E, et al.: Clinical Aspects and Surgical
582 Treatment of Urinary Tract Endometriosis: Our Experience with 31 Cases. *Eur Urol.* 2006; 49:1093–
583 98.
- 584 35. Oliveira MAP, Raymundo TS, Pereira TRD, Lima FV, da Silva DEA: CO(2) Cystoscopy for Evaluation of
585 Ureteral Patency. *J Minim Invasive Gynecol.* 2019; 26:558–63.
- 586 36. Dallas KB, Rogo-Gupta L, Elliott CS: Urologic Injury and Fistula After Hysterectomy for Benign
587 Indications. *Obstet Gynecol.* 2019; 134:241–49.
- 588 37. Wallis CJD, Cheung DC, Garbens A, Kroft J, Carr L, Nathens AB, et al.: Occurrence of and Risk Factors
589 for Urological Intervention During Benign Hysterectomy: Analysis of the National Surgical Quality
590 Improvement Program Database. *Urology.* 2016; 97:66–72.
- 591 38. Johnston K, Rosen D, Cario G, Chou D, Carlton M, Cooper M, et al.: Major complications arising from
592 1265 operative laparoscopic cases: a prospective review from a single center. *J Minim Invasive*
593 *Gynecol.* 2007; 14:339–44.

- 594 39. Siow A, Nikam YA, Ng C, Su MCB: Urological complications of laparoscopic hysterectomy: a four-year
595 review at KK Women's and Children's Hospital, Singapore. *Singapore Med J.* 2007; 48:217–21.
- 596 40. Singh M, Garg G, Sankhwar SN, Kumar M: Laparoscopic ureteroneocystostomy for mid and lower
597 ureteric strictures: Experience from a tertiary center. *Urol Ann.* 2018; 10:243–48.
- 598 41. Ghosh B, Jain P, Pal DK: Managing Mid and Lower Ureteral Benign Strictures: The Laparoscopic Way.
599 *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* 2018; 28:25–32.
- 600 42. Carmignani L, Ronchetti A, Amicarelli F, Vercellini P, Spinelli M, Fedele L: Bladder psoas hitch in
601 hydronephrosis due to pelvic endometriosis: outcome of urodynamic parameters. *Fertil Steril.* 2009;
602 92:35–40.
- 603 43. Chiantera V, Petrillo M, Abesadze E, Sozzi G, Dessole M, Catello Di Donna M, et al.: Laparoscopic
604 Neuronavigation for Deep Lateral Pelvic Endometriosis: Clinical and Surgical Implications. *J Minim*
605 *Invasive Gynecol.* 2018; 25:1217–23.
- 606 44. Hirata T, Koga K, Taniguchi F, Takazawa N, Honda R, Tanaka T, et al.: National survey of bladder
607 endometriosis cases in Japan. *J Obstet Gynaecol Res.* 2021; 47:1451–61.
- 608 45. Freire MJ, Dinis PJ, Medeiros R, Sousa L, Águas F, Figueiredo A: Deep Infiltrating Endometriosis-
609 Urinary Tract Involvement and Predictive Factors for Major Surgery. *Urology.* 2017; 108:65–70.
- 610 46. Schneider A, Touloupidis S, Papatsoris AG, Triantafyllidis A, Kollias A, Schweppe K-W: Endometriosis
611 of the urinary tract in women of reproductive age. *Int J Urol Off J Jpn Urol Assoc.* 2006; 13:902–04.
- 612 47. Kumar S, Tiwari P, Sharma P, Goel A, Singh JP, Vijay MK, et al.: Urinary tract endometriosis: Review
613 of 19 cases. *Urol Ann.* 2012; 4:6–12.
- 614 48. Pérez-Utrilla Pérez M, Aguilera Bazán A, Alonso Dorrego JM, Hernández A, de Francisco MG, Martín
615 Hernández M, et al.: Urinary tract endometriosis: clinical, diagnostic, and therapeutic aspects.
616 *Urology.* 2009; 73:47–51.
- 617 49. Darwish B, Stochino-Loi E, Pasquier G, Dugardin F, Defortescu G, Abo C, et al.: Surgical Outcomes of
618 Urinary Tract Deep Infiltrating Endometriosis. *J Minim Invasive Gynecol.* 2017; 24:998–1006.
- 619 50. Di Maida F, Mari A, Morselli S, Campi R, Sforza S, Cocci A, et al.: Robotic treatment for urinary tract
620 endometriosis: preliminary results and surgical details in a high-volume single-Institutional cohort
621 study. *Surg Endosc.* 2020; 34:3236–42.
- 622 51. Alves J, Puga M, Fernandes R, Pinton A, Miranda I, Kovoov E, et al.: Laparoscopic Management of
623 Ureteral Endometriosis and Hydronephrosis Associated With Endometriosis. *J Minim Invasive*
624 *Gynecol.* 2017; 24:466–72.
- 625 52. Gabriel B, Nassif J, Trompoukis P, Barata S, Wattiez A: Prevalence and Management of Urinary Tract
626 Endometriosis: A Clinical Case Series. *Urology.* 2011; 78:1269–74.
- 627 53. Panel P, Huchon C, Estrade-Huchon S, Le Tohic A, Fritel X, Fauconnier A: Bladder symptoms and
628 urodynamic observations of patients with endometriosis confirmed by laparoscopy. *Int*
629 *Urogynecology J.* 2016; 27:445–51.
- 630 54. de Resende Júnior JAD, Crispi CP, Cardeman L, Buere RT, Fonseca M de F: Urodynamic observations
631 and lower urinary tract symptoms associated with endometriosis: a prospective cross-sectional
632 observational study assessing women with deep infiltrating disease. *Int Urogynecology J.* 2018;
633 29:1349–58.
- 634 55. Silva Filho FS, Favorito LA, Crispi CP, Fonseca M de F, Resende Júnior JAD: Dynamic cystoscopy to
635 optimize preoperative assessment of bladder endometriosis. *Int Braz J Urol.* 49.
- 636 56. Sud S, Buxi TBS, Sheth S, Ghuman SS: Endometriosis and Its Myriad Presentations: Magnetic
637 Resonance Imaging-Based Pictorial Review. *Indian J Radiol Imaging.* 2021:s-0041-1729670.
- 638 57. Knabben L, Imboden S, Fellmann B, Nirgianakis K, Kuhn A, Mueller MD: Urinary tract endometriosis
639 in patients with deep infiltrating endometriosis: prevalence, symptoms, management, and proposal
640 for a new clinical classification. *Fertil Steril.* 2015; 103:147–52.

- 641 58. Stopiglia RM, Ferreira U, Faundes DG, Petta CA, Universidade de Campinas, Brasil, Centro de
642 Reprodução Humana Campinas, Brasil, et al.: Cystoscopy-assisted laparoscopy for bladder
643 endometriosis: modified light-to-light technique for bladder preservation. *Int Braz J Urol.* 2017;
644 43:87–94.
- 645 59. Chapron C, Marcellin L, Borghese B, Santulli P: Rethinking mechanisms, diagnosis and management
646 of endometriosis. *Nat Rev Endocrinol.* 2019; 15:666–82.
- 647 60. Ceccaroni M, Clarizia R, Ceccarello M, De Mitri P, Roviglione G, Mautone D, et al.: Total laparoscopic
648 bladder resection in the management of deep endometriosis: “take it or leave it.” Radicality versus
649 persistence. *Int Urogynecology J.* 2020; 31:1683–90.
- 650 61. Chamié LP, Blasbalg R, Pereira RMA, Warmbrand G, Serafini PC: Findings of Pelvic Endometriosis at
651 Transvaginal US, MR Imaging, and Laparoscopy. *RadioGraphics.* 2011; 31:E77–100.
- 652 62. Abo C, Roman H, Bridoux V, Huet E, Tuech J-J, Resch B, et al.: Management of deep infiltrating
653 endometriosis by laparoscopic route with robotic assistance: 3-year experience. *J Gynecol Obstet*
654 *Hum Reprod.* 2017; 46:9–18.
- 655 63. Leopold B, Klebanoff JS, Bendifallah S, Ayoubi JM, Soares T, Rahman S, et al.: A narrative review of
656 functional outcomes following nerve-sparing surgery for deeply infiltrating endometriosis. *Horm*
657 *Mol Biol Clin Investig.* 2022; 43:123–26.
- 658 64. de Resende JADJ, Cavalini LT, Crispi CP, de Freitas Fonseca M: Risk of urinary retention after nerve-
659 sparing surgery for deep infiltrating endometriosis: A systematic review and meta-analysis.
660 *Neurourol Urodyn.* 2017; 36:57–61.

661