



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Tatiana Silva Costa Gregory Benzi

**Análise da vascularização do testículo abdominal em fetos humanos: bases
anatômicas para a Cirurgia de Fowler-Stephens**

Rio de Janeiro

2023

Tatiana Silva Costa Gregory Benzi

**Análise da vascularização do testículo abdominal em fetos humanos: bases anatômicas
para a Cirurgia de Fowler-Stephens**

Tese apresentada como requisito para obtenção
do título de Doutor, ao programa de Pós-
Graduação em Fisiopatologia e Ciências
Cirúrgicas da Universidade do Estado do Rio de
Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Alves Favorito

Coorientador: Prof. Dr. Francisco José Barcellos Sampaio

Rio de Janeiro

2023

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

B476 Benzi, Tatiana Silva Costa Gregory.
Análise da vascularização do testículo abdominal em fetos humanos: bases anatômicas para a cirurgia de Fowler- Stephens / Tatiana Silva Costa Benzi – 2023. 80f.

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. Testículos - Anatomia - Teses. 2. Feto - Teses. 3. Criptorquidismo. I. Favorito, Luciano Alves. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 611.631

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

Tatiana Silva Costa Gregory Benzi

**Análise da vascularização do testículo abdominal em fetos humanos: bases anatômicas
para a Cirurgia de Fowler-Stephens**

Tese apresentada como requisito para obtenção
do título de Doutor, ao programa de Pós-
Graduação em Fisiopatologia e Ciências
Cirúrgicas da Universidade do Estado do Rio de
Janeiro.

Aprovada em 19 de junho de 2023.

Orientador:

Prof. Dr. Luciano Alves Favorito

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Francisco José Barcellos Sampaio (Coorientador)

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Dr. Kleber Moreira Anderson

Hospital Servidores do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Átila Victal Rondon

Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Profa. Dra. Lisieux Eyer de Jesus

Hospital Federal Dos Servidores do Estado

Prof. Dr. Rodrigo Ribeiro Vieiralses

Hospital Federal da Lagoa

Rio de Janeiro

2023

AGRADECIMENTOS

Esse foi um tópico delicado de escrever, talvez porque na vida nós não conseguimos interpretar percentuais de agradecimentos e nem analisar densidades de valores que cada pessoa tem em nossa trajetória - nós simplesmente agradecemos e valorizamos cada uma delas.

O sentimento de gratidão é um dos sentimentos mais bonitos e importantes que devemos carregar na nossa vida, e que também considero essencial em nosso crescimento profissional.

Tentarei expressar brevemente esse sentimento por todas as pessoas incríveis que Deus colocou no meu caminho e que me ajudaram, de forma direta ou indireta, para que eu chegasse até aqui.

Meu incansável orientador professor Dr. Luciano Alves Favorito que, desde o início do processo, esteve pronto para me guiar, esclarecendo minhas dúvidas, não importando o dia e hora – tê-lo como orientador, foi uma honra, um privilégio.

Meu coorientador professor Dr. Francisco Sampaio, pelo suporte e por estar sempre pronto a ajudar.

Meu padrinho e professor Dr. Waldemar Silva Costa - este é até difícil escrever... Foram tantas horas doadas, sempre com palavras de incentivo - compartilhou comigo parte de seu enorme conhecimento e cultura, sempre vibrando a cada etapa superada.

As professoras Dra Carla Mano Gallo e Dra Anellise Fortuna, pela imensa ajuda na produção do meu trabalho.

Meus colegas e professores da pós-graduação, em especial professor Diogo Benchimol e professora Bianca Gregório, Edilaine Alves, Karina, Priscila e Matheus pela ajuda e convivência durante o curso.

Meus amigos de profissão, professor Dr. Bruno Marroig e professora Dra. Érica Vasconcelos, que estavam prontos para me aconselhar sempre que solicitados.

Minhas amigas Hellen, Renata, Ana Paula, Leiliana e Nádia pelas palavras carinhosas e positivas que ouvia a todo momento, me motivando para concluir mais essa etapa.

Meus primos Marcia e Ricardo e meus irmãos, por vibrarem com cada passo dado.

Minha madrinha Cecília, que esteve ao meu lado me apoiando em todo o momento.

Meus avós, Léo, Edmèe, Etelvina e Demósthene, que sempre me inspiraram.

Meu marido André e meu filho Vinícius, por toda paciência, ajuda, apoio incondicional e por sempre acreditarem em mim.

Minha gratidão mais que especial e profunda a meus pais Leonardo e Alda, minha base, por tudo que fizeram por mim durante toda a minha vida. Sem seus incentivos, educação e princípios, eu nunca teria alcançado algo que, aos meus olhos, era impossível - concluir um doutorado em uma instituição tão renomada como esta. Obrigada, por terem esse olhar de pais, onde sempre me enxergaram melhor do que eu sou.

Meu muito obrigada a todos que de alguma forma contribuíram nessa caminhada. Às pessoas com quem convivi ao longo desses anos de curso, que me incentivaram e que certamente tiveram impacto na minha formação acadêmica.

RESUMO

BENZI, Tatiana Silva Costa Gregory. *Análise da vascularização do testículo abdominal em fetos humanos: bases anatômicas para a Cirurgia de Fowler-Stephens*. 2023. 80 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

O testículo abdominal alto, com vasos gonadais curtos em pacientes com criptorquidia é uma condição desafiadora. A cirurgia de Fowler-Stephens é o procedimento padrão-ouro nesses casos. Existem estudos sobre a realização dessa cirurgia em 1 ou 2 tempos e o conhecimento da vascularização do testículo abdominal alto é o ponto chave para a realização desse procedimento. Estudos sobre a vascularização de testículos abdominais são raros e estudos histológicos sobre a vascularização testicular abdominal inexistentes na literatura. O objetivo desse trabalho foi determinar o percentual da área ocupada por vasos na porção superior e porção inferior de testículos de fetos humanos. Foram estudados 34 testículos de 19 fetos humanos com idades entre 12 e 19 semanas pós-concepção (SPC) (média de 15 SPC). Os fetos estavam macroscopicamente bem preservados, com ausência de anomalias dos sistemas urinário e genital. Os testículos foram dissecados e processados para inclusão em parafina. Foram feitos cortes de 5 μ m com intervalos de 15 μ m. Os cortes foram corados pelo Tricrômico de Masson e marcados com anticorpo CD31 para identificação e quantificação dos vasos. As imagens foram obtidas com um microscópio Olympus BX51 e câmera Olympus DP70 acoplada. A densidade de área foi feita utilizando-se o programa ImageJ e plugin grade de 100 pontos. Foi traçada uma linha aproximadamente na porção mediana, no sentido transversal, dividindo o testículo em porção superior e porção inferior. A análise estatística foi feita utilizando-se o programa GraphPad Prism. Para a comparação da densidade de área dos vasos da porção superior e inferior dos testículos foi utilizado o teste-t de Student não pareado. Também foi realizada análise de regressão linear utilizando-se as variáveis peso, idade fetal com testículo direito e esquerdo e porção superior e inferior dos testículos. O peso dos fetos variou de 58g a 551g com média de 222,5g; Comprimento total entre 11cm e 56,5cm com média de 23,2cm; comprimento vértice cóccix entre 8cm e 25cm com média de 15,3cm. Considerando todos os 34 testículos observamos que a média de vasos na porção superior foi de 7,6% com máximo de 15% e mínimo 4,6%. Na porção inferior 5,11%, máximo 9,8%, mínimo 2,3%, $p = 0,0001$. Não observamos diferença entre o testículo direito e esquerdo em relação a área vascularizada, no período estudado. A porção superior do testículo apresentou maior densidade de área ocupada por vasos sanguíneos quando comparado à porção inferior. As análises de regressão linear não apresentaram significância estatística. Esses resultados confirmaram a importância de se realizar uma mínima manipulação na extremidade inferior do testículo durante a realização da cirurgia de Fowler-Stephens.

Palavras-Chave: criptorquidia; cirurgia de Fowler-Stephens; fetos; migração testicular; vascularização.

ABSTRACT

BENZI, Tatiana Silva Costa Gregory. *Analysis of abdominal testicle vascularization in human fetuses: anatomical bases for Fowler-Stephens Surgery*. 2023. 80 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

High abdominal testis with short gonadal vessels in patients with cryptorchidism is a challenging condition. Fowler-Stephens surgery is the procedure of choice in these cases. There are studies about performing this procedure in 1 or 2 stages, and knowledge of the testicle's vascularization is a key factor to perform this procedure. Studies on the vascularization of abdominal testicles are rare and histological studies on abdominal testicular vascularization are nonexistent in the literature. The objective of this study was to determine the percentage of area occupied by vessels of the upper and lower portions of human fetal testicles. 34 testicles from 19 human fetuses aged 12 to 19 weeks post conception (WPC) (mean 15 WPC) were studied. The fetuses were macroscopically well preserved, with no abnormalities of the urinary and genital systems. The testes were dissected and processed for paraffin embedding. Sections of 5 μm with intervals of 15 μm were made. The sections were stained by Masson's Trichrome and marked with CD31 antibody for vessel identification and quantification. Images were obtained with an Olympus BX51 microscope and Olympus DP70 camera attached. Area density measurement was done using the ImageJ program and 100-point grid plugin. A line was drawn approximately in the median portion dividing the testis into upper and lower portion. Statistical analysis was done using the GraphPad Prism program. The unpaired Student's t-test was used to compare the vessel area density of the upper and lower testicles. Linear regression analysis was also performed using the variables fetal weight, fetal age with right and left testis and upper and lower portion of testis. Fetal weight ranged from 58g to 551g with a mean of 222.5g; total length between 11cm and 56.5cm with a mean of 23.2cm; vertex coccyx length between 8cm and 25cm with a mean of 15.3cm. Considering all 34 testicles, we observed the mean number of vessels in the upper portion was 7.6% with maximum 15% and minimum 4.6%. In the lower portion 5.11%, maximum 9.8%, minimum 2.3%, $p = 0.0001$. We did not observe any difference between the right and left testicle regarding the vascularized area during the studied period. The upper portion of the testicle showed higher density of area occupied by vessels blood when compared to the lower portion. The linear regression analysis did not show statistical significance. These results confirmed the importance of performing a minimum manipulation of the lower extremity of the testicle during Fowler-Stephens surgery.

Keywords: cryptorchidism; Fowler-Stephens Surgery; testicles; fetuses; testicular migration; vascularization.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	8
1 OBJETIVO GERAL	26
2 MATERIAL E MÉTODOS	27
3 RESULTADOS	35
4 DISCUSSÃO	42
CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS	46
APÊNDICE A - Submissão no sistema Plataforma Brasil e aprovação pelo comitê de ética.....	50
APÊNDICE B - Solicitação de doação de fetos.....	51
APÊNDICE C – Artigo publicado	52
APÊNDICE D – Comprovante Submissão	62
APÊNDICE E– Artigo Submetido.....	63

INTRODUÇÃO

Idade gestacional

Na linha do tempo do desenvolvimento humano, são consideradas: semanas gestacionais, estágios e tempo de desenvolvimento fetal. Semanas gestacionais são contabilizadas a partir do primeiro dia do último período menstrual. Os estágios, são divididos de 1 a 23 e denominados *estágios de desenvolvimento Carnegie* (Figura 1). Eles abrangem o período do desenvolvimento desde a fertilização até 8 semanas completas, fim do período embrionário. Durante este período surgem 90% das mais de 4.500 estruturas do corpo adulto. O tempo de desenvolvimento fetal passa então a ser contabilizado a partir da fertilização o que se caracteriza como semana pós-concepção, não como idade clínica ou gestacional (HILL, 2018).

Figura 1 - Estágios de Carnegie



Legenda: Estágios de desenvolvimento de Carnegie, nomeados de 1 a 23- compreendem desde a fertilização até 8 semanas completas de desenvolvimento embrionário.

Fonte: Hill, 2018.

Vários parâmetros foram propostos para determinar a idade gestacional de fetos humanos, sendo que o comprimento vértice-cóccix e o peso fetal são alguns dos mais importantes (MANTONI & PEDERSEN, 1982; KOPTA; MAY; CRANE, 1983).

O padrão de aferição mais utilizado até hoje para determinar a idade gestacional é o descrito por Streeter em 1920, onde ele mede o maior pé do feto humano 3 vezes e usa a média dessas aferições para determinar a idade gestacional (HERN, 1984).

Outro estudo para o cálculo da idade fetal foi de Mercer *et al.* em 1987, onde eles compararam as medidas dos pés em exames ultrassonográficos pré-natais com as medidas pós-parto. O comprimento médio do pé de ambos os grupos seguiu de perto a curva preditiva de Streeter para comprimento do pé *versus* idade gestacional. Assim, concluíram, que a medição do comprimento do pé fetal é um estimador confiável da idade gestacional entre 12 e 40 semanas em gestações normais. Sendo válido também para as gestações múltiplas, complicadas por diabetes e que apresentam anencefalia e displasia de membros curtos.

Tão importante quanto esses estudos citados anteriormente, é o trabalho de Sampaio & Aragão (1990), que mostra uma análise com 240 de fetos masculinos e femininos por meio do método alométrico. O objetivo deste estudo foi avaliar o crescimento renal fetal e fornecer equações e curvas de crescimento do comprimento do rim em relação à idade gestacional. Eles concluíram que as equações e curvas de crescimento do comprimento renal podem ser usadas como um meio inicial de detecção do desenvolvimento renal fetal anormal e como um índice auxiliar para a determinação da idade gestacional.

Embriologia

Além da compreensão do cálculo da idade fetal, é importante o entendimento da formação das estruturas do corpo humano.

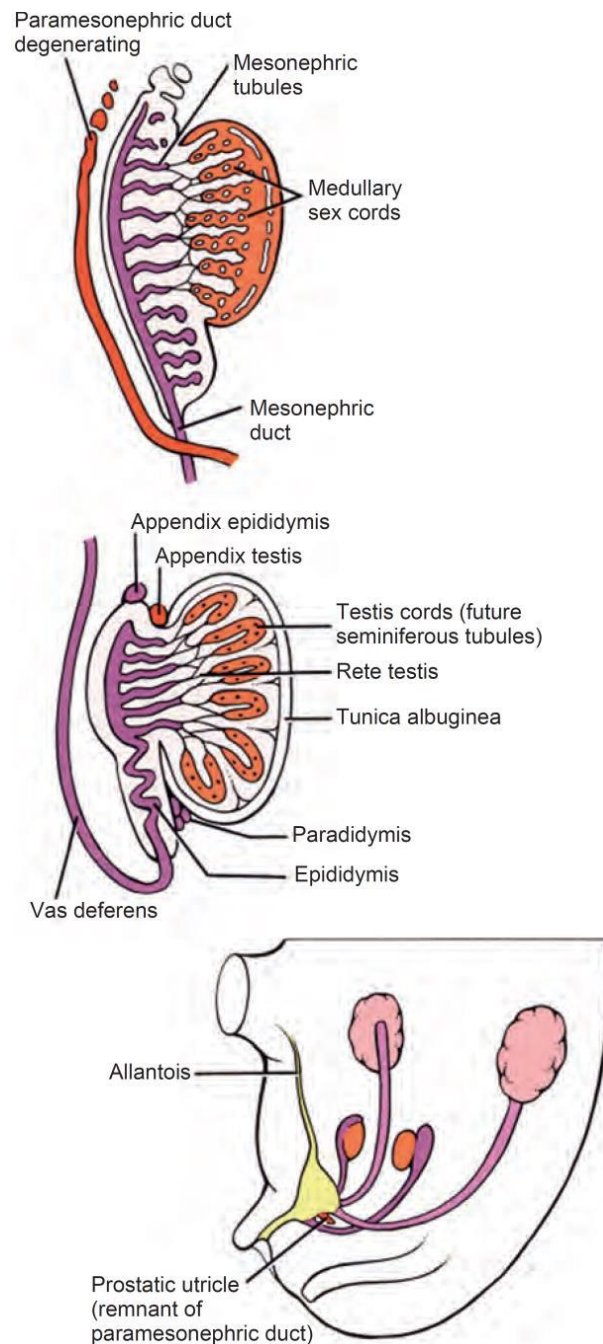
Este estudo analisa características do sistema urogenital, por isso damos ênfase no conhecimento desta área, mostrando que o desenvolvimento normal do sistema urinário e genital humano masculino e feminino, é de grande importância e estabelece as bases para a compreensão de malformações congênitas que acometem esses sistemas (SHEN *et al.*, 2018; FAVORITO & SAMPAIO, 2014).

É sabido que o desenvolvimento do sistema urogenital é um processo complexo, que envolve interações coordenadas entre as vias moleculares e hormonais em uma ordem rigorosamente preestabelecida (PASK, 2016).

O testículo humano é originado a partir do espessamento de epitélio celomático do ducto mesonéfrico. A embriogênese testicular começa na quinta semana de gestação através do espessamento do epitélio celomático na região medial do mesonefro, com a formação da crista genital. Neste local, há o crescimento dos cordões sexuais primários (ou primitivo) para o interior do mesênquima subjacente, onde se inicia a formação da gônada indiferenciada (MOORE; PERSAUD; TORCHIA, 2016).

Na sétima semana de gestação sob a influência da proteína do gene SRY (fator de diferenciação testicular), localizado no braço curto do cromossomo Y, as células da camada medular do cordão sexual primitivo diferenciam-se em células de Sertoli para a formação do testículo. Quando não há essa proteína, as células do cordão se diferenciam em folículos ovarianos (WEIN *et al.*, 2016; ROZANSKI & BLOOM, 1995). O contato célula-célula entre as células de Sertoli e as células germinativas primordiais é fundamental para o desenvolvimento dos gametas masculinos. Os cordões primordiais tornam-se condensados e ramificados e se anastomosam formando os túbulos seminíferos, túbulos retos e posteriormente a rede “testis” (rede testicular), chamando-se ductos eferentes. Conforme os testículos se desenvolvem, há separação da camada cortical degenerada do epitélio celômico (peritoneal), por um tecido conectivo chamado túnica albugínea (Figura 2) (MOORE; PERSAUD; TORCHIA, 2016; WEIN *et al.*, 2016).

Figura 2 - Formação embrionária do testículo e órgãos anexos



Legenda: Nos homens, a proteína SRY produzida pelas células de Sertoli faz com que os cordões sexuais medulares se tornem túbulos seminíferos presuntivos e faz com que os cordões sexuais corticais regridam. A substância inibidora de Müller, uma glicoproteína, hormônio produzido pelas células de Sertoli, faz com que os ductos paramesonefricos regridam, deixando para trás, o apêndice testicular e o utrículo prostático como remanescentes. Apêndice epididímico e paradidímico surgem dos ductos mesonéfricos.

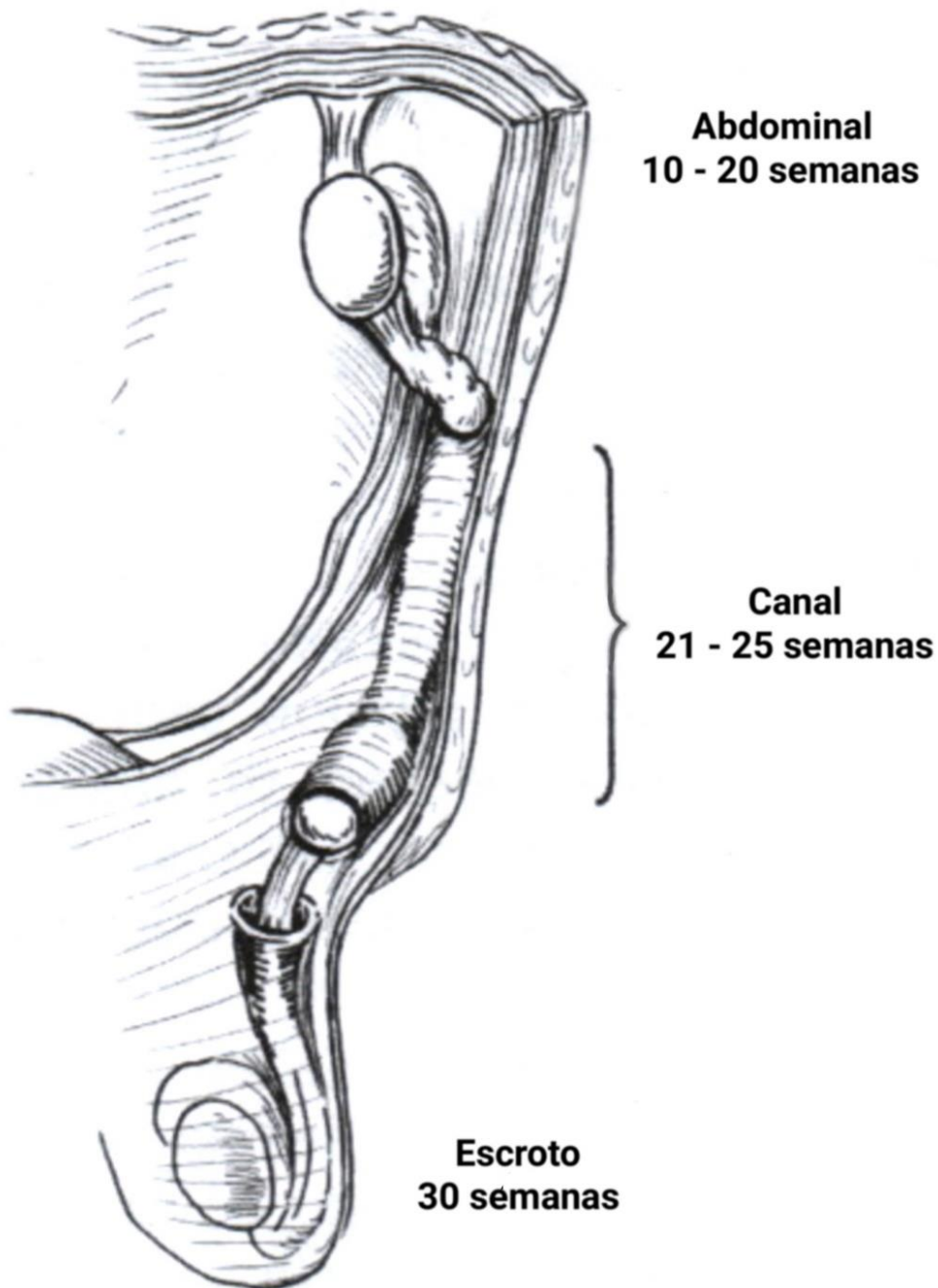
Fonte: Wein *et al.*, 2016.

No terceiro mês de gestação, em torno da 10ª semana gestacional, o testículo se encontra na posição retroperitoneal, futura cavidade pélvica. No segundo trimestre gestacional, o testículo vai iniciar sua migração até o escroto (FAVORITO & SAMPAIO, 1998; FAVORITO & SAMPAIO, 2014).

Migração testicular

A migração testicular é um processo que ocorre durante o desenvolvimento fetal. Neste período o testículo migra da cavidade abdominal até chegar ao escroto, passando pelo canal inguinal. Essa migração testicular é dividida em duas fases: a primeira fase corresponde à migração do testículo do abdome até o anel inguinal interno, (este período começa por volta da 8ª SPC e dura até a 15ª SPC) e a segunda fase compreende a passagem do testículo pelo canal inguinal até sua chegada definitiva ao escroto (este período se inicia por volta da 20ª SPC e se estende até a 30ª SPC) (HUSMANN, 2009; HEYNS & HUTSON, 1995; FAVORITO & SAMPAIO, 1998; FAVORITO & SAMPAIO, 2014) (Figura 3).

Figura 3 - Desenho esquemático retirado do artigo de Favorito & Sampaio de 1998, evidenciando a cronologia da migração testicular

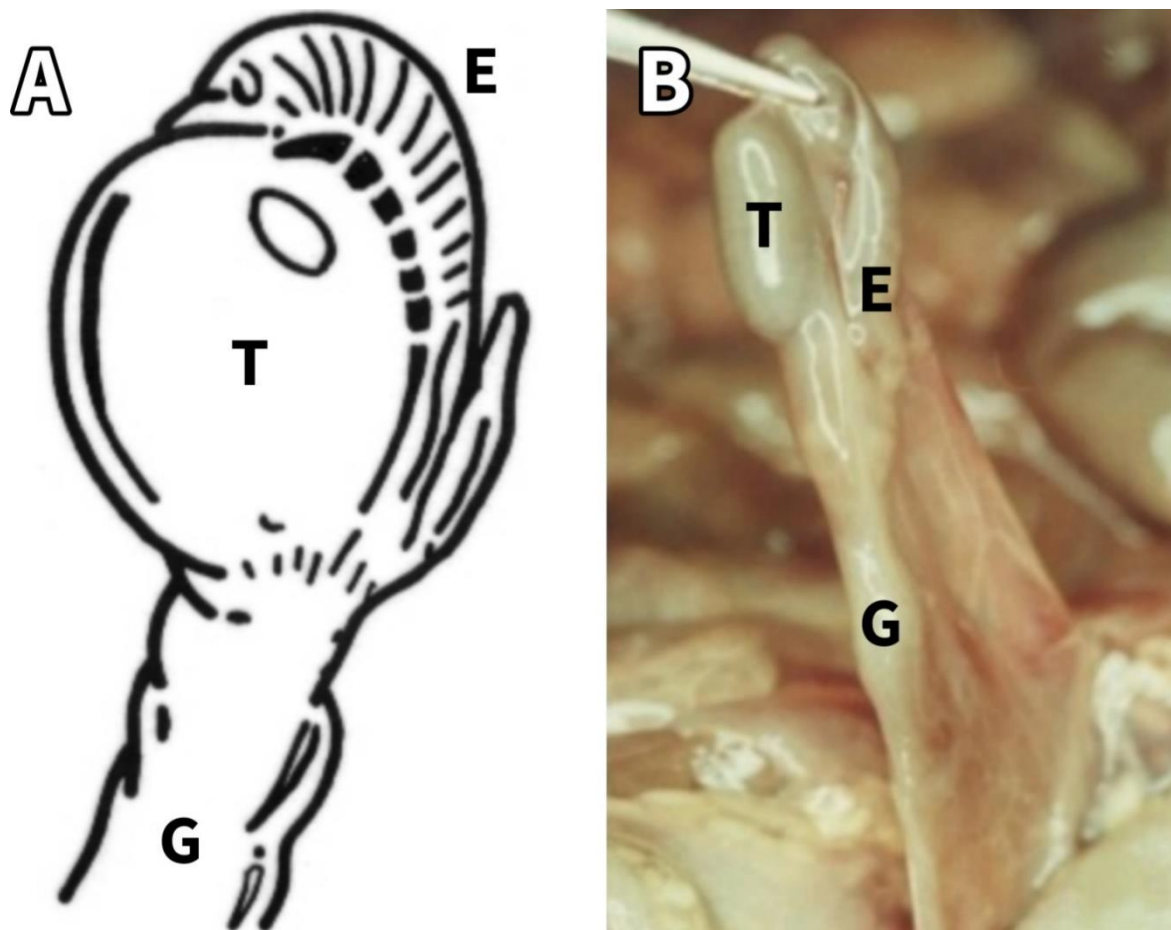


Legenda: Esquema mostrando a cronologia da migração testicular. Fetos com idade gestacional entre 10 e 20 SPC apresentam a maioria dos testículos situados no abdome; fetos com idade entre 21 e 25 SPC apresentam a maioria dos testículos situados no canal inguinal; e todos os fetos com mais de 30 SPC apresentam os testículos na bolsa escrotal.

Fonte: Favorito & Sampaio, 1998.

Durante o processo de migração o testículo, epidídimo e a porção proximal do gubernáculo se movem através do canal inguinal como uma única unidade (BEASLEY & HUTSON, 1988). Durante a migração o gubernáculo proximal está sempre aderido ao final do processo vaginal (JOHANSEN & BLOOM, 1988). Jackson *et al.* (1987), estudando 60 indivíduos masculinos submetidos à orquidopexia, encontraram o gubernáculo aderido ao polo testicular inferior em todos os casos, mas não mencionaram sua relação com o epidídimo (Figura 4).

Figura 4 - Esquema e foto do gubernáculo aderido ao polo inferior do testículo



Legenda: (A) Esquema mostrando as relações entre o testículo, o epidídimo e a porção proximal do gubernáculo.

(B) Foto do gubernáculo ligado ao epidídimo e ao testículo.

T: Testículo; E: Epidídimo; G: Gubernáculo.

Fonte: Favorito & Sampaio, 2014.

Criptorquidia

Anomalias do trato urogenital humano, que ocorrem durante a formação fetal são relativamente comuns, com implicações clínicas que vão desde o espectro sem consequências clínicas até aquelas onde há uma necessidade de intervenção médica ou reconstrução cirúrgica (SHEN *et al.*, 2018).

A criptorquidia é uma dessas anomalias que pode se desenvolver neste período. Esta anomalia ocorre quando alguns fatores, durante o desenvolvimento fetal, interferem no processo de migração testicular, fazendo com que essa migração não se complete (HUSMANN & LEVY, 1995).

O termo criptorquidia vem do grego kriptos, oculto e orquis, testículos. Sinonímia: “síndrome do escroto vazio”, “testículo não descido”.

Muitos fatores internos e externos influenciam essa migração. É provável, portanto, que não exista uma única causa, sendo a criptorquidia, a consequência da falta ou insuficiência dos mecanismos de descida testicular que ocorrem durante a vida fetal (GRINSPON *et al.*, 2018; GURNEY *et al.*, 2017).

Uma das consequências da criptorquidia é a exposição do testículo a uma temperatura cerca de 2°C mais elevada que a temperatura do escroto, o que geralmente pode causar danos ao epitélio germinativo, acarretando infertilidade bilateral futura além de também estar associada a uma maior incidência de câncer testicular na fase adulta (GILL & KOGAN, 1997).

Classificação dos testículos não descidos

A criptorquidia (testículos não descidos) pode ser classificada como congênita ou adquirida. O diagnóstico tardio ou esquecido de criptorquidia pode contribuir para uma intervenção cirúrgica tardia o que não seria aconselhável (SHARMA *et al.*, 2020).

Os testículos não descidos podem ser classificados como:

- a) testículo criptorquídico - o testículo está no caminho esperado de descida, mas nunca esteve presente no escroto;
- b) testículo ectópico - o testículo é palpado em um local fora do caminho normal de descida, como o períneo ou a área femoral;
- c) testículo ascendente - um testículo inicialmente descendente anterior que não se encontra mais no escroto. O pico de incidência é em torno dos 10 anos de idade e afeta de 1% a 2% das crianças. Também pode ocorrer como uma complicação da cirurgia de hérnia inguinal em crianças (Cho *et al.*, 2019).

É relativamente comum em recém-nascidos do sexo masculino, especialmente naqueles nascidos prematuramente, observarmos a presença de testículos não descidos. (KURZ, 2016).

Segundo Braz (2013) e Virtanen *et al.* (2007), de 2% a 8% dos recém-nascidos a termo têm 1 ou ambos os testículos não descidos ao nascer. Goel *et al.* (2015) relataram um percentual de nascidos com criptorquidia entre 1% e 4% nos recém-nascidos a termo e 30% nos prematuros.

Cerca de 20% dos testículos criptorquídicos são impalpáveis e cerca de 20% dos testículos não palpáveis estão ausentes. O exame clínico é fundamental para o diagnóstico, mas o teste de estímulo hormonal é de grande importância, nos casos em que ambos os testículos são impalpáveis (ABACI *et al.*, 2013; GILL & KOGAN, 1997).

Se o testículo não palpável for bilateral, a testosterona basal é medida. Após a dosagem de testosterona, é realizado a estimulação hormonal com HCG (gonadotrofina coriônica humana); se após o teste a testosterona aumentar, isso é um sinal de que ao menos um testículo está presente e a laparoscopia é indicada. Mesmo se o teste for negativo, a laparoscopia deve ser realizada para confirmar a agenesia testicular (ASHLEY *et al.*, 2010).

Embora haja evidências crescentes defendendo o uso de terapia hormonal com HCG ou análogos de LHRH (hormônio hipotalâmico liberador de gonadotrofina) como adjuvante à orquidopexia para melhorar as perspectivas de fertilidade de pacientes com criptorquidia, a possibilidade dos efeitos prejudiciais dos hormônios na espermatogênese futura está potencialmente presente. Portanto, pode-se concluir que o papel exato da terapia hormonal pré ou pós-orquidopexia ainda não foi definido de forma conclusiva (Goel *et al.*, 2015).

Na absoluta maioria dos casos de criptorquidia com testículos impalpáveis, recomenda-se a laparoscopia diagnóstica para determinar se há um testículo abdominal. São indicados ensaios clínicos prospectivos com acompanhamento na adolescência e na idade adulta para avaliar o sucesso de várias abordagens cirúrgicas (ELDER, 2016).

Tratamento Cirúrgico

O objetivo do tratamento cirúrgico é a colocação do testículo no escroto sem atrofia ou recorrência.

Orquidopexia, ou orquiopexia, é a terapia mais indicada (padrão-ouro) para realocar o testículo no escroto (KOLON *et al.*, 2014).

Em 2018, BOEHME *et al.*, publicaram um estudo recomendando a orquidopexia durante o primeiro ano de vida. DOCIMO *et al.* (2000) mostram que o tratamento para os testículos não descidos é cirúrgico e deve ser realizada entre 6 e 12 meses de idade, entretanto, KOLON *et al.* em 2014, sugerem que a cirurgia seja realizada até os 18 meses de idade. Em todos esses estudos os pesquisadores relatam altas taxas de sucesso na cirurgia.

Exames de imagem para diagnosticar a criptorquidia não são recomendados antes do encaminhamento para o especialista, o que deve ocorrer aos 6 meses de idade. Alguns estudos mostram que a solicitação de USU (Ultrassonografia Urológica) não altera o diagnóstico nem o tratamento da criptorquidia, apenas onera os custos (SHIELDS *et al.*, 2019).

Como descrito anteriormente, a terapia cirúrgica é realizada por meio de orquidopexia ou orquiectomia. No primeiro, os testículos são reposicionados e fixados no escroto após a criação de uma bolsa sob o dartos, enquanto no segundo são removidos cirurgicamente. Ambos os tratamentos cirúrgicos podem ser realizados laparoscopicamente ou por cirurgia aberta (ELYAS *et al.*, 2010).

A orquiectomia é adotada nos casos de criptorquidia unilateral em que: o testículo afetado é atrófico, há atresia ou pequeno comprimento dos canais deferentes, as veias testiculares estão localizadas no retroperitônio por serem muito curtas ou na presença de testículo intra-abdominal no pós-operatório de pacientes púberes associados a testículo contralateral sem alterações anatômicas e morfológicas (KOLON *et al.*, 2010). É um

consenso fazê-lo nos casos de risco aumentado de neoplasia testicular (CHUNG & LEE, 2015). Nos demais casos de criptorquidia, é realizada orquidopexia, que em pacientes pré-púberes com testículos intra-abdominais é aplicada uma das quatro técnicas cirúrgicas: (1) orquidopexia convencional, (2) orquidopexia laparoscópica, (3) orquidopexia de Fowler-Stephens em um tempo e (4) orquidopexia de Fowler-Stephens em dois tempos cirúrgicos. Nos quatro tipos de técnicas, a cirurgia consiste em localizar o testículo, dissecá-lo próximo ao cordão espermático, obter a tensão livre e, em seguida, reposicioná-lo no escroto (FOWLER & STEPHENS, 1959; DOCIMO *et al.*, 2000).

Em 2019, duas outras técnicas cirúrgicas foram descritas como alternativas viáveis à orquidopexia laparoscópica convencional de Fowler-Stephens, que envolve divisão arriscada dos vasos testiculares. A primeira é a modalidade cirúrgica denominada orquidopexia laparoscópica poupadora de gubernáculo (BRAGA *et al.*, 2019) e a segunda, a nova técnica Shehata de alongamento de tração laparoscópica em estágios para testículos abdominais, descrita como segura, fácil e conveniente, conforme evidenciado por uma limitada experiência inicial, não apresentando complicações (ABOUHEBA *et al.*, 2019).

Ao analisarmos todos os tipos de cirurgias realizadas para a correção de testículos criptorquídicos, observamos que o tipo de tratamento cirúrgico vai depender da localização do testículo e da disponibilidade do material cirúrgico para a técnica escolhida (LONGUI, 2005; AGGARWAL & KOOGAN, 2014; KURZ, 2016).

Orquidopexia Convencional

A orquidopexia convencional é realizada quando o testículo tem uma localização baixa e os vasos testiculares e canais deferentes são longos o suficiente para serem reposicionados próximos a eles no escroto.

Orquidopexia Laparoscópica

A laparoscopia é frequentemente usada para diagnosticar o testículo não palpável, avaliando a posição testicular se o testículo está atrófico ou ausente, permite a realização simultânea de orquidopexia com altas taxas de sucesso. A maioria das orquidopexias pode ser realizada por acesso inguinal e até escrotal. (AGGARWAL & KOOGAN, 2014; KURZ, 2016).

Caso os testículos não sejam palpáveis, é necessária a exploração laparoscópica ou cirúrgica aberta, permitindo identificar a morfologia e as localizações anatômicas do testículo, ducto deferente e vasos testiculares e, assim, selecionar a técnica cirúrgica mais adequada para o tratamento. Portanto, a abordagem terapêutica é essencialmente cirúrgica e deve ser realizada preferencialmente até os dezoito meses de vida ou assim que o diagnóstico for feito (KOLON *et al.*, 2014).

Atualmente a abordagem laparoscópica para os testículos palpáveis e intra-abdominais não palpáveis é a primeira escolha da maioria dos cirurgiões (THORUP & CORTES, 2019). Permite uma identificação precisa da localização testicular, das características do funículo espermático e do epidídimo. É um dos métodos mais seguros para a confirmação da criptorquidia unilateral, dependendo diretamente da experiência do cirurgião e da disponibilidade de material especializado para sua realização em crianças pequenas (LONGUI, 2005).

Cirurgia Fowler-Stephens

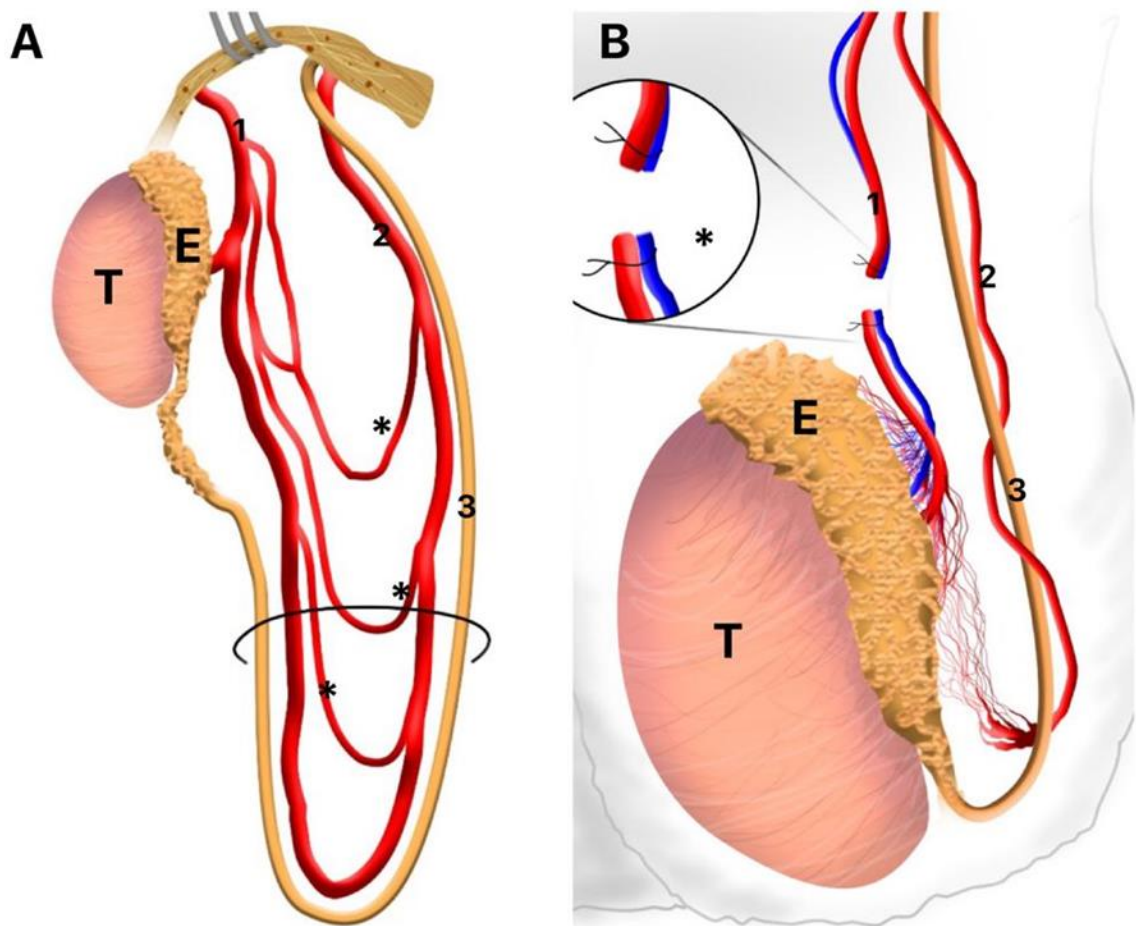
Fowler e Stephens em 1959, revolucionaram o manejo do testículo intra-abdominal. Estudaram o suprimento vascular dos testículos e sua aplicação no tratamento cirúrgico do testículo alto que não desceu e mostraram uma importante circulação colateral por meio da artéria deferente e da artéria cremastérica.

A orquidopexia de Fowler-Stephens, pode ser realizada tanto em um como em dois tempos cirúrgicos. É uma cirurgia de escolha quando o testículo está localizado na cavidade

abdominal alta e tem vasos testiculares muito curtos que impedem a extensão para que o testículo seja fixado no escroto (ALAGARATNAM *et al.*, 2014).

Na técnica da cirurgia de Fowler-Stephens, a artéria testicular é clampeada e a vascularização do testículo fica mantida pelas artérias deferencial e cremastérica. Por isso é importante conhecer o padrão de vascularização dos testículos localizados no abdome durante a realização da orquidopexia (FAVORITO & SAMPAIO, 2014) (Figura 5).

Figura 5 - Esquema mostrando suprimento vascular do testículo



Legenda: Padrão das artérias testiculares mostrado no artigo original de Fowler-Stephens . A) Desenho esquemático mostrando o suprimento vascular do testículo onde podemos observar uma importante circulação colateral (*) através da artéria Testicular (1) e artéria deferencial (2), Vaso deferente (3); B) Desenho esquemático mostrando o local de ligadura dos vasos testiculares (*) na cirurgia de Fowler-Stephens, T- testículo, E- Epidídimo.

Fonte: Benzi *et al.*, 2022.

Cirurgia Fowler-Stephens em 1 tempo cirúrgico

Na técnica de Fowler-Stephens, em um tempo cirúrgico, a ligadura e a fixação dos testículos são realizadas em uma única cirurgia (AGGARWAL & KOOGAN, 2014; KURZ, 2016).

Cirurgia Fowler-Stephens em 2 tempos cirúrgicos

Na técnica de dois tempos, na primeira fase do tratamento cirúrgico é realizada a ligadura dos vasos testiculares e na segunda operação, três a seis meses após o primeiro tempo cirúrgico, o testículo é reposicionado e fixado na bolsa escrotal.

Esta técnica é realizada a fim de permitir que o organismo tenha tempo para que os vasos colaterais se proliferem antes da mobilização, sendo esse procedimento, como descrito anteriormente, realizado em duas etapas com alguns meses de intervalo (RANSLEY *et al.*, 1984).

Comparando as duas técnicas de Fowler-Stephens, a técnica de dois tempos apresenta taxas de sucesso mais altas do que a técnica de 1 tempo cirúrgico. (KOLON *et al.*, 2014).

Cirurgia Laparoscópica Poupadora de Gubernáculo

Na técnica cirúrgica poupadora de gubernáculo, ocorre a preservação do suprimento vascular adicional para o testículo (vasos cremastéricos e artéria deferente) podendo se traduzir em melhores taxas de sobrevida testicular após orquidopexia laparoscópica (BRAGA *et al.*, 2019).

Cirurgia pela técnica Shehata

Nesta técnica, o cirurgião realiza um alongamento preliminar dos vasos testiculares por dissecação lateral, tração e fixação em um ponto 1-2 cm superolateral à espinha ilíaca ântero-superior contralateral. Após 12 semanas o paciente é submetido a uma orquidopexia subdartos ipsilateral assistida por laparoscopia de segundo estágio para os testículos sob tração (ABOUHEBA *et al.*, 2019).

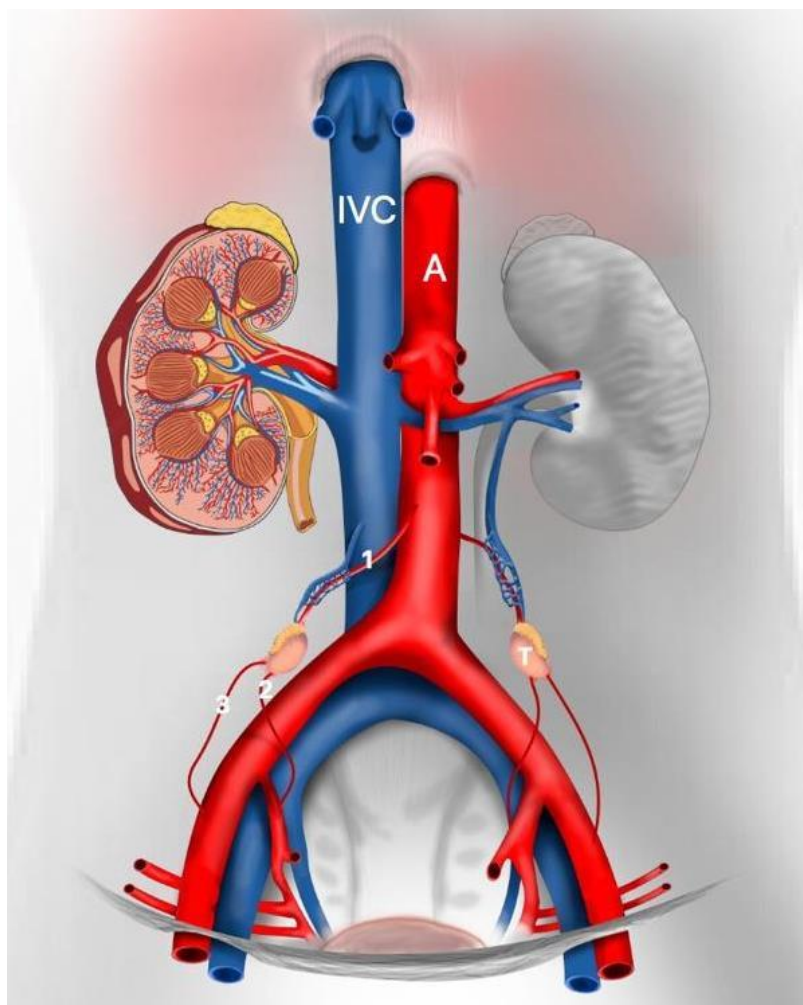
Vascularização do Testículo

O que observamos na literatura é que independentemente da técnica cirúrgica utilizada, a preservação de um suprimento arterial adequado para o testículo é crucial para uma orquidopexia bem-sucedida, garantindo o tamanho e textura testiculares normais. A anatomia das artérias testiculares é muito importante no sucesso dos procedimentos cirúrgicos (BENZI *et al.*, 2022).

A irrigação normal do testículo se dá por 3 artérias: artéria testicular - ramo direto da aorta, artéria deferencial e artéria cremastérica.

As 3 artérias penetram no órgão na região do mediastino testicular e se intercomunicam.

As veias que drenam o testículo formam o plexo pampiniforme, que na região do anel inguinal profundo, origina a veia testicular. A veia testicular esquerda desemboca na veia renal esquerda e a veia testicular direita desemboca diretamente na veia cava inferior (FAVORITO; COSTA; SAMPAIO, 2007) (Figura 6).



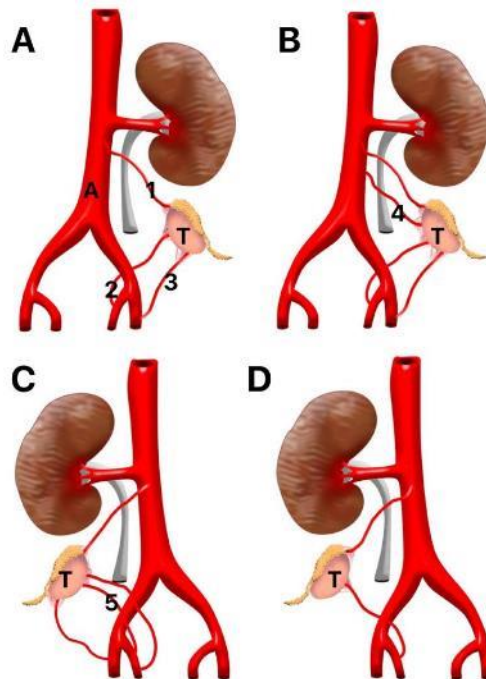
Legenda: Desenho esquemático mostrando a vascularização testicular durante o período fetal humano.

Podemos observar o testículo situado em posição abdominal e as três artérias que irrigavam a gônada, 1- artéria testicular, 2- artéria deferencial, 3- artéria cremastérica, A- artéria aorta e VCI- veia cava inferior.

Fonte: Benzi *et al.*, 2022.

A grande maioria dos testículos são irrigados pelas 3 artérias citadas anteriormente, mas em alguns casos podemos encontrar alterações anatômicas, como é mostrado no estudo de Sampaio *et al.* de 1999. Esse estudo sobre suprimento arterial do testículo fetal humano durante sua migração mostrou em 32 fetos humanos (64 testículos), que o testículo fetal é sempre suprido por, pelo menos, 2 artérias em 23,4% (1 artéria testicular e 1 artéria deferente) e por 3 ou 4 artérias em cerca de 80% dos casos, onde 71,9% têm 3 artérias (1 testicular, 1 deferente e 1 cremastérica) e apenas 4,7% dos testículos têm 4 artérias (1 testicular, 2 deferentes e 1 cremastérica ou 2 testiculares, 1 deferente e 1 cremastérica). Esses dados são uma importante informação para a cirurgia de testículo alto não descido (Figura 7).

Figura 7 - Variações anatômicas do suprimento arterial do testículo



Legenda: Variações da vascularização testicular em fetos com testículo em posição abdominal. A) Desenho esquemático mostrando o padrão arterial de vascularização testicular mais frequente - Testículo (T) possui três artérias: Testicular (1), Deferente (2) e Cremastérica (3); B) Desenho esquemático mostrando a vascularização testicular com quatro artérias, podemos observar uma variação anatômica - presença de uma segunda artéria testicular (4) originada na artéria aorta; C) Esquema mostrando a vascularização testicular com quatro artérias, podemos observar uma variação anatômica - presença de uma segunda artéria deferente (5) originada na artéria ilíaca interna e D) Esquema mostrando a vascularização testicular com apenas duas artérias, a artéria testicular e artéria deferente, a artéria cremastérica não está presente, A- artéria aorta, T- Testículo.

Fonte: Sampaio *et al.*,1999.

Em um trabalho de revisão de literatura sobre o papel da anatomia das artérias testiculares no tratamento do testículo alto não descido, concluíram que a preservação de um suprimento arterial adequado para o testículo é crucial para a orquidopexia bem-sucedida e

para garantir tamanho e textura testiculares normais. A transecção laparoscópica dos vasos testiculares pela divisão dos vasos espermáticos (cirurgia de Fowler-Stephens) é segura em pacientes com testículos abdominais altos porque há grande suprimento vascular colateral entre as artérias testiculares, deferentes e cremastéricas. Além disso a orquidopexia de Fowler-Stephens em dois tempos parece levar a uma taxa de sucesso maior do que a abordagem de um tempo cirúrgico (Benzi *et al.*, 2022),

Após analisar vários estudos sobre a vascularização dos testículos, observamos a importância de se aprofundar neste tópico. Por isso, entendemos que o presente estudo, no qual analisamos a densidade da área ocupada pelos vasos no testículo em fetos humanos, pode contribuir cientificamente no campo da urologia pediátrica.

1 OBJETIVO GERAL

O conhecimento da anatomia vascular testicular é um ponto chave na cirurgia de Fowler-Stephens. O objetivo deste estudo é analisar a histologia e a distribuição dos vasos testiculares abdominais em fetos humanos.

Objetivo específico

Avaliar se existe diferença no percentual de área ocupada pelos vasos entre as porções superior e inferior dos testículos fetais humanos.

Analisar a correlação entre os parâmetros fetais e a concentração de vasos durante o período fetal humano.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa, bem como todos os documentos pertinentes, foram submetidos à Plataforma Brasil (www.saude.gov.br/plataformabrasil), avaliados e aprovados pelo comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital Universitário Pedro Ernesto (CEP/HUPE) (CAAE: 30706720.8.0000.5259) (Anexo A), em conformidade com o termo de cooperação/doação de fetos entre o Instituto Fernandes Figueiras (IFF) e a Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) (Anexo B).

O trabalho foi desenvolvido na Unidade de Pesquisa Urogenital do Centro Biomédico da UERJ.

Após constatado o óbito, os fetos foram mantidos em ambiente refrigerado, cerca de 4°C negativos, por um período que variou de 24 a 72 horas. No Laboratório de Pesquisa Urogenital da UERJ, os fetos foram descongelados, limpos, identificados e analisados quanto ao seu aspecto morfológico. Inicialmente os fetos foram avaliados quanto ao comprimento vértice-cóccix (CVC) (em centímetros) (Figura 8A), comprimento total (CT) (em centímetros) (Figura 8B), tamanho do pé (em milímetros) (Figura 9A) e peso (em gramas) (Figura 9B) e, em seguida, iniciada a etapa de dissecação (Figura 10). A idade gestacional dos fetos foi determinada em semanas pós-concepção (SPC), de acordo com o critério do comprimento do maior pé (medida aferida do calcanhar até a extremidade do dedo mais proeminente). Foram feitas 3 medidas de cada um dos pés e calculada a média de cada pé. A maior média foi utilizada para o cálculo da idade gestacional. Esse critério é o parâmetro considerado mais aceitável para calcular a idade gestacional (HERN, 1984; PLATT *et al.*, 1988; SAMPAIO, 1989; SAMPAIO & ARAGÃO, 1990). O mesmo observador aferiu todas as medidas. Para essas mensurações, foram utilizados: balança digital de precisão de 1,0g para o peso; fita métrica para tamanho total e vértice-cóccix; e paquímetro digital de 0,01cm de precisão (Starrett) para a medida do pé.

Figura 8A e 8B - Fotos da aferição das medidas CT e CVC



Legenda: Fotos mostram as aferições do CVC (8 A) e do CT (8 B) do feto, utilizando-se uma fita métrica.

Fonte: A autora, 2023.

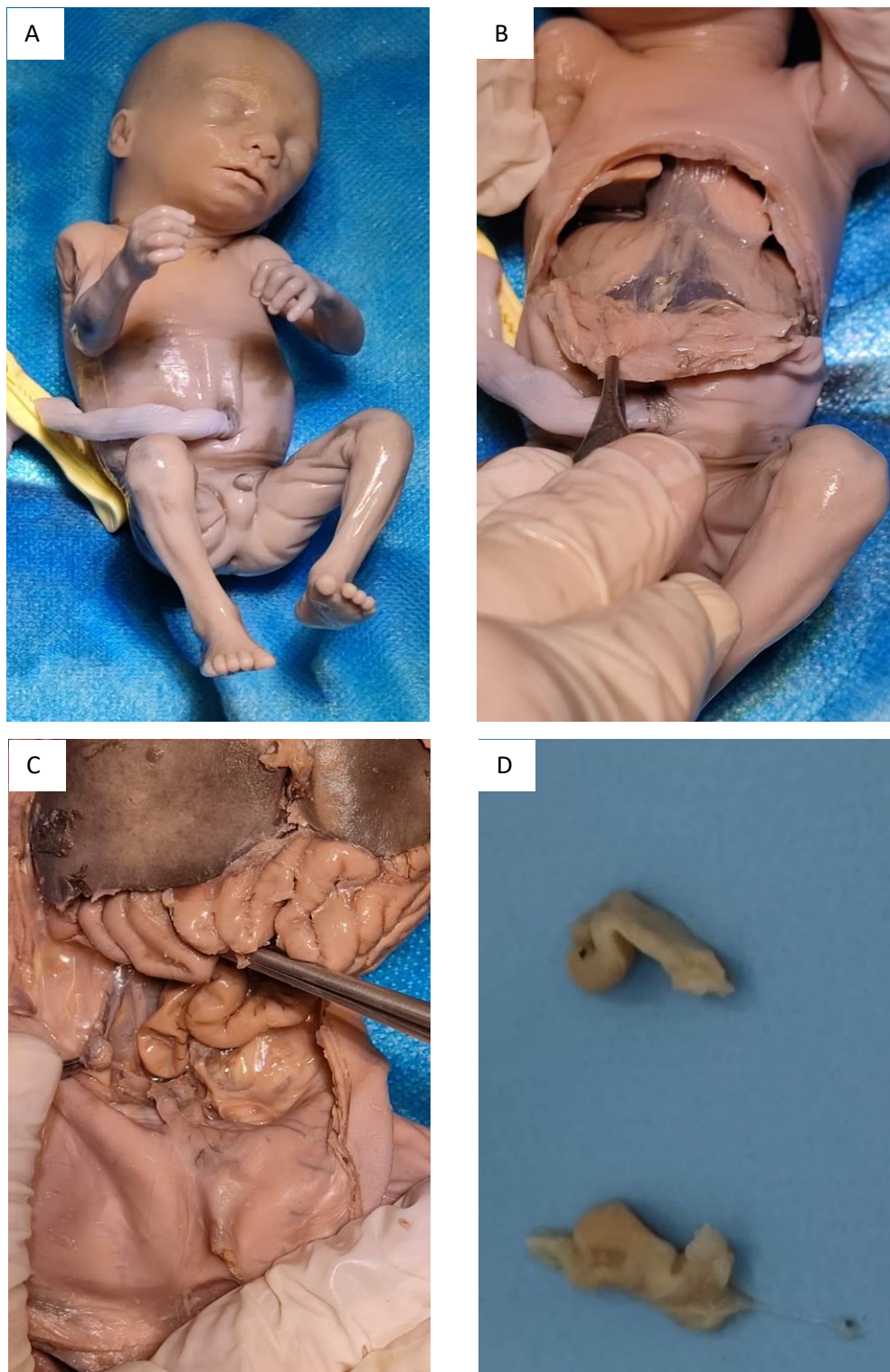
Figura 9A e 9B - Foto das aferições do tamanho do pé e peso



Legenda: Foto mostrando a aferição do tamanho do pé do feto analisado com o uso de um paquímetro digital (9 A) e pesagem do feto utilizando balança digital (9 B). Medidas realizadas para cálculo da idade fetal em SPC.

Fonte: A autora, 2023.

Figura 10 – Etapas da dissecação de feto



Legenda: 10A- Feto de 19 SPC, avaliado para iniciar a dissecação;
10B- Etapa da dissecação, onde é realizado o corte da parede abdominal;
10C- Etapa da dissecação, onde são localizados os testículos que serão retirados;
10D- Testículos retirados do feto, para posterior análise histológica.

Fonte: A autora, 2023.

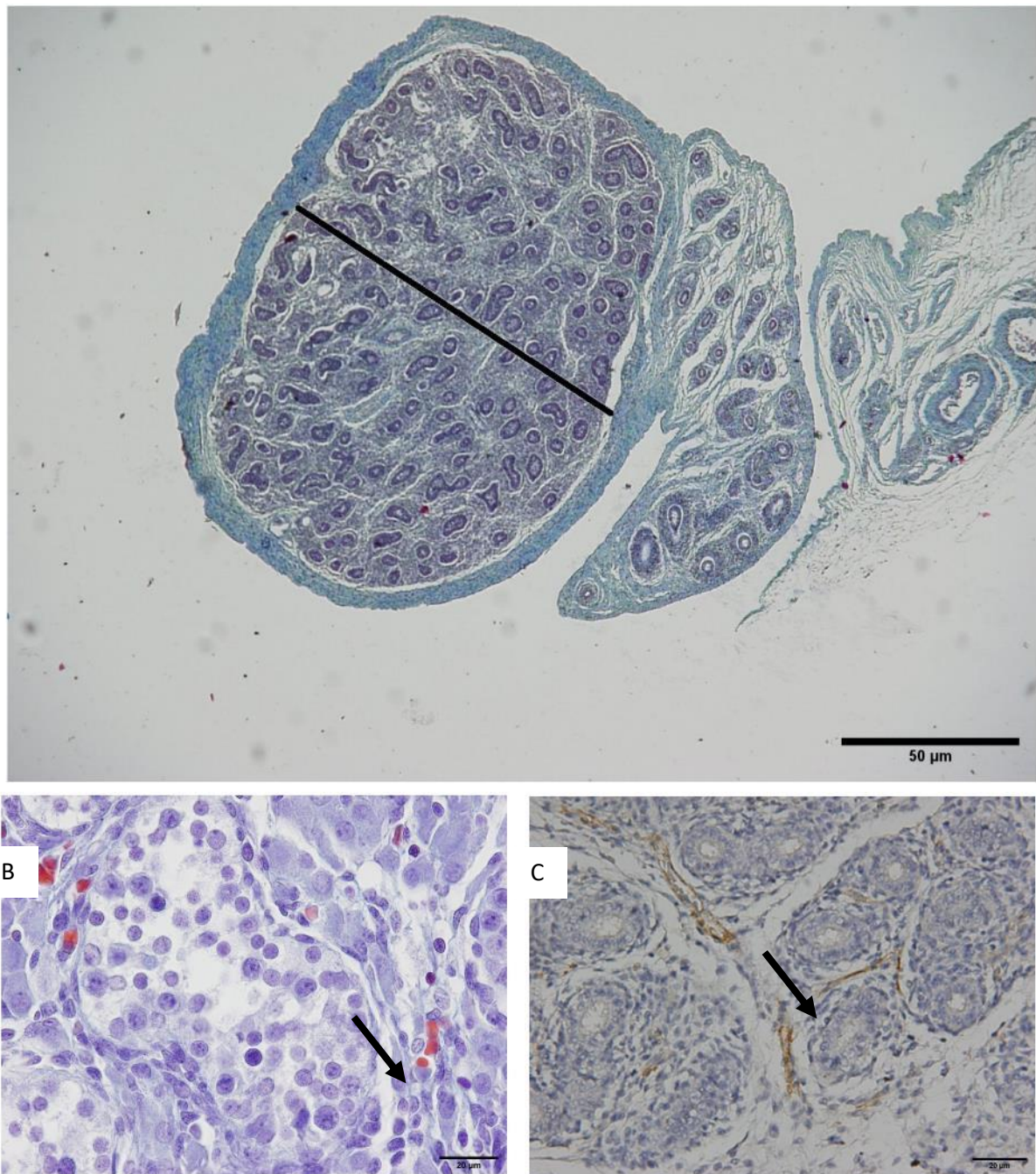
Foram estudados 34 testículos de 19 fetos humanos com idades entre 12 e 19 semanas pós-concepção (SPC). Quatro testículos foram eliminados por não apresentarem condições para uma análise microscópica confiável.

Foi traçada uma linha, aproximadamente na parte mediana, no sentido transversal, dividindo o testículo em porção superior e porção inferior (Figura 11A).

Os testículos foram dissecados e processados para inclusão em parafina. De cada testículo foram feitos 5 cortes de 5 µm de espessura com intervalo de 15 µm entre cada corte. Foram fotografados 3 campos da porção superior e 3 campos da porção inferior. A quantificação utilizou 1040 imagens com um aumento de aproximadamente 1000 vezes.

Os cortes foram corados pela Hematoxilina e Eosina, Tricrômico de Masson (Figura 11B), e marcados com anticorpo CD31(ABCAM, policlonal, Ref: ab28364, Cambridge, USA) para identificação e quantificação dos vasos (Figura 11C). Todos os cortes foram fotografados sob as mesmas condições, com uma resolução 2040 X 1536 pixels, com uma câmera Digital (Olympus DP70, Tokyo, Japan) diretamente acoplada ao microscópio. As imagens foram obtidas com um microscópio Olympus BX51 (Tokyo, Japan).

Figura 11 – Fotomicrografias de cortes histológicos de testículo de feto humano.

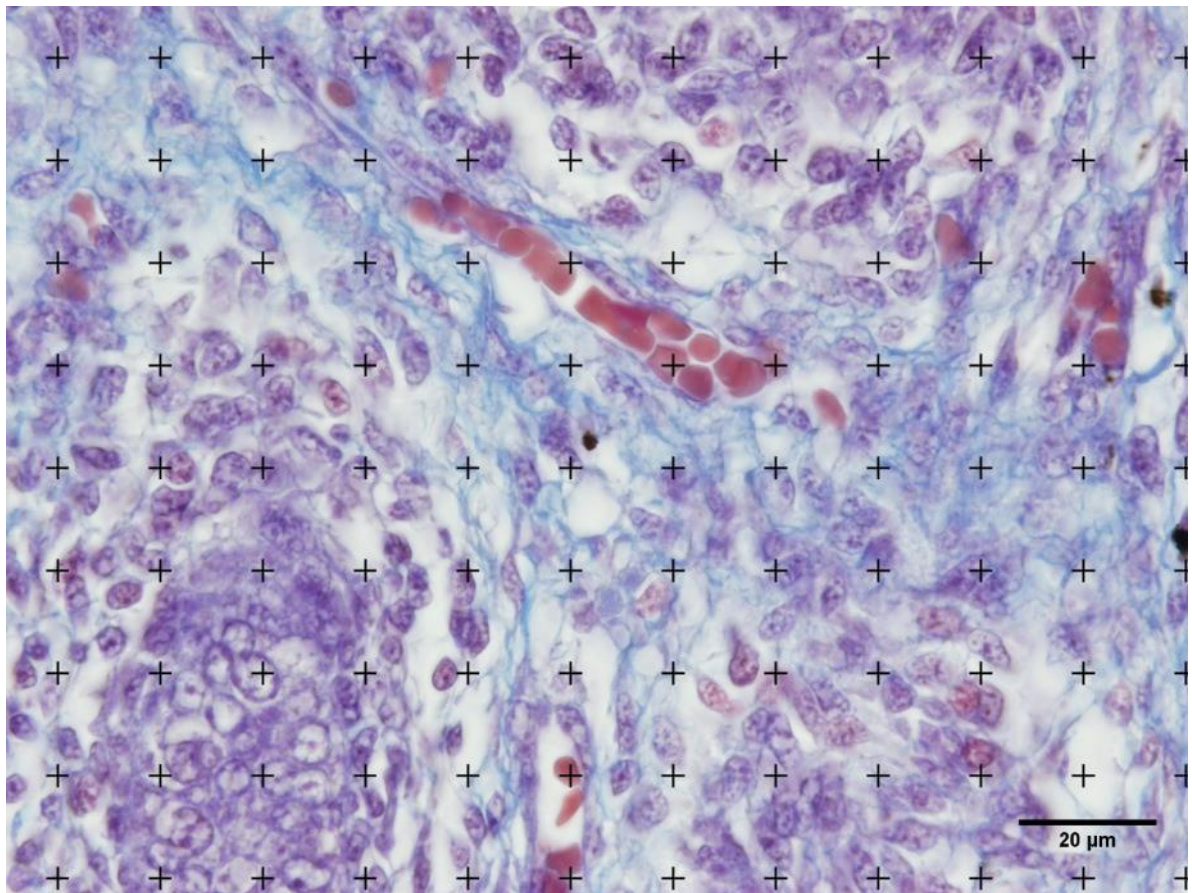


Legenda: A - Fotomicrografia de testículo fetal humano de 16 SPC, evidenciando a divisão em porção superior e inferior para contagem dos vasos;
 B - Fotomicrografia de corte histológico de testículo fetal humano de 18SPC corado pelo Tricrômico de Masson. Corte com aumento de 1000x. Seta mostrando vaso sanguíneo com hemácias no seu interior;
 C - Fotomicrografia de corte histológico de testículo fetal humano de 16 SPC utilizando marcador CD31.

Fonte: A autora, 2022.

A densidade de área ocupada pelos vasos sanguíneos foi calculada em cada uma das porções, superior e inferior. A contagem foi feita utilizando-se o programa ImageJ software 1.46 (*Image Processing and Analysis in Java*, NIH, Bethesda, Maryland, EUA), utilizando-se as ferramentas grid crosses e cel counter. Os vasos foram quantificados utilizando-se uma grade com cem (100) cruces superpostas resultando em um valor percentual (Figura 12).

Figura 12 - Análise estatística com programa GraphPad Prism



Legenda: Fotomicrografia de testículo humano de 18 SPC, mostrando a utilização da grade de 100 cruces do programa ImageJ, para a contagem dos vasos sanguíneos.

Fonte: A autora, 2022.

A análise estatística foi feita utilizando-se o programa GraphPad Prism 5.03 versão Windows (GraphPad Software, San Diego, California, USA). Para a comparação da densidade de área ocupada pelos vasos da porção superior e inferior dos testículos, foi utilizado o teste T não pareado, utilizando o teste de kolmogorov- smirnov para verificação da distribuição dos dados.

Foi realizada a análise de regressão linear, onde os parâmetros analisados foram apresentados graficamente.

Analizamos os graus de correlação linear entre as seguintes variáveis citadas abaixo, onde o valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Correlações lineares simples (valores de r^2 menores que 0,4 refletem correlação muito fraca; r^2 entre 0,4 e 0,7 reflete correlação moderada; r^2 maior que 0,7 indica correlação forte; r^2 igual a 1 indica correlação perfeita) foram calculadas pesos dos fetos, idade fetal em semanas pós-concepção e densidade de área ocupada pelos vasos em percentual nas porções superior e inferior dos testículos direito e esquerdo.

- 1) Idade x Peso
- 2) Idade x Testículo direito e esquerdo inferior
- 3) Idade x Testículo direito e esquerdo superior
- 4) Idade x Testículo esquerdo inferior e superior
- 5) Idade x Testículo direito inferior e superior
- 6) Peso x Testículo direito e esquerdo inferior
- 7) Peso x Testículo direito e esquerdo superior
- 8) Peso x Testículo esquerdo inferior e superior
- 9) Peso x Testículo direito inferior e superior

3 RESULTADOS

Todos os dados obtidos, percentual de área ocupada pelos vasos e dados morfométricos, foram colocados em uma tabela de acordo com a idade fetal (Tabela 1).

Tabela 1 - Percentual de área ocupada pelos vasos na porção superior e inferior dos testículos direito/esquerdo e dados morfométricos dos fetos analisados

SPC	Densidade % Test Dir Porção Sup	Densidade % Test Dir Porção Inf	Densidade % Test Esq Porção Sup	Densidade % Test Esq Porção Inf	PESO (g)	CVC (cm)	CT (cm)	Pé Direito (mm)	Pé Esquerdo (mm)
12,9	7,3	3,6	6,0	4,0	58	8,0	11,0	15,9	16,6
13,1	6,6	4,4	5,7	4,7	66	15,0	21,5	17,3	16,5
13,1	9,8	5,0	10,0	6,3	70	11,0	14,0	17,3	16,6
13,8			6,4	3,8	80	14,0	17,0	19,4	18,4
13,9	8,6	6,8	15,0	9,8	107	17,5	21,0	19,6	19,2
14,7	7,8	4,8	7,0	4,5	170	15,0	18,5	22,2	22,4
16,0	5,5	3,8			130	15,5	22,0	26,8	26,7
16,0	7,2	5,4	5,3	2,3	246	18,9	24,7	25,7	26,4
16,0	8,0	4,3	5,5	3,5	286	18,2	24,2	26,2	27,0
16,1	5,6	7,4	7,0	4,3	192	8,5	18,0	29,1	28,5
16,3	5,0	4,8	7,5	5,5	247	13,5	18,5	28,2	28,0
16,3	10,0	5,0	5,8	3,3	250	17,0	23,0	28,4	26,8
16,5	7,0	5,4	6,3	3,3	230	17,5	25,0	29,0	26,7
17,0	5,8	3,3	8,2	7,6	348	14,0	56,5	29,4	28,8
17,4			7,6	8,6	252	18,0	24,5	31,3	31,8
17,6	6,5	4,0	9,0	6,0	250	16,5	24,0	31,8	32,5
18,1	9,2	5,0	4,6	4,4	214	11,5	20,0	33,1	34,0
19,1	4,8	3,3	12,0	6,2	481	17,0	25,0	36,5	37,3
19,4	14,2	9,8			551	25,0	32,5	38,3	34,7

Legenda: SPC= semana pós – concepção; CVC= comprimento vértice cóccix; o testículo direito dos fetos de 13,8 SPC e 17,4SPC e o testículo esquerdo dos fetos de 16 SPC e 19,4 SPC. Foram excluídos da amostra por não apresentarem boas condições histológicas.

Fonte: A autora, 2023

Durante o estudo, realizamos uma análise dividindo os fetos em 3 grupos o mais homogêneo possível, em relação as suas idades, a fim de avaliar se havia ou não alguma alteração na área ocupada pelos vasos a medida em que o feto ia se desenvolvendo. Esta análise foi realizada, pois sabemos que rápidas e contínuas modificações ocorrem no período fetal e indicam que o desenho metodológico deve levar em consideração essas mudanças. Esse procedimento minimiza o vies causado quando, idades separadas por períodos

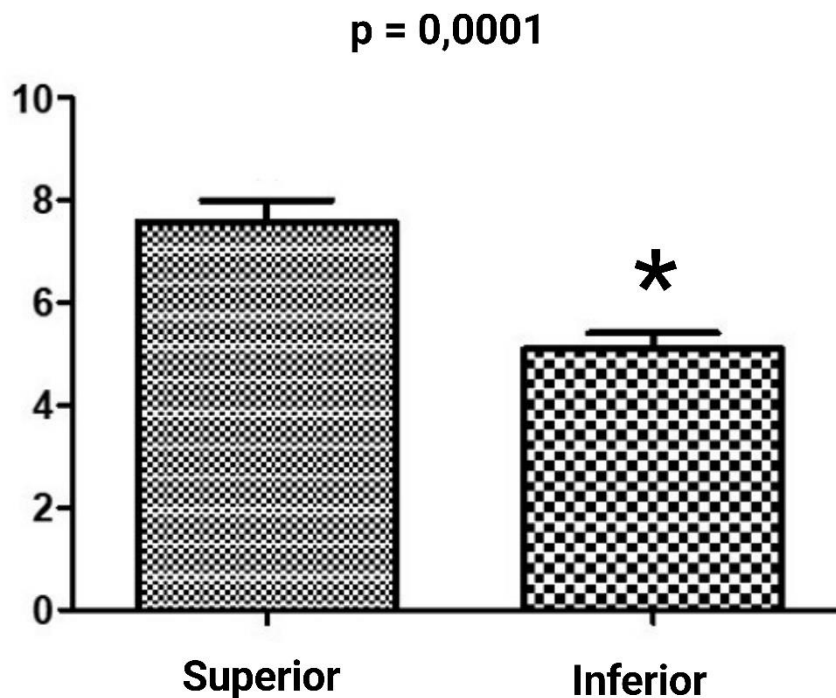
embriologicamente distantes, são analisadas como um único grupo. O resultado mostrou que não havia diferença estatística, sendo assim possível a análise como um único grupo, conforme seguiu o estudo.

A densidade de área ocupada pelos vasos sanguíneos de todos os testículos analisados mostrou uma diferença estatística entre a porção superior e inferior dos testículos.

Porção superior x Porção inferior (n=34)

A comparação entre a densidade de área ocupada pelos vasos da porção superior com a porção inferior de todos os testículos analisados apresentou $p = 0,0001$; Porção superior: média 7,6%, $\pm 0,42\%$; Porção inferior: média 5,1%, $\pm 0,31\%$. (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Teste T não pareado



Legenda: Análise entre porção superior e inferior em relação ao percentual de vasos avaliando todos os 34 testículos.

Análise de regressão linear

A análise de regressão linear (idade x peso) indicou que o peso fetal ($y = 60,36x - 741,0$; $r^2=0,7870$; $p<0,0001$) aumentou, significativa e positivamente, com a idade (gráfico 2).

A análise de regressão linear (idade x testículo direito e esquerdo porção inferior), indicou que a densidade de área ocupada pelos vasos em ambos os testículos, direito ($y = 0,1720x + 2,312$; $r^2=0,04234$; $p = 0,4282$) e esquerdo ($y = 0,08122x + 3,902$; $r^2=0,005674$; $p = 0,7739$), não apresentou valor significativo (gráfico 3A).

A análise de regressão linear (idade x testículo direito e esquerdo porção superior), indicou que a densidade de área ocupada pelos vasos em ambos os testículos, direito ($y = 0,1303x + 5,497$; $r^2=0,01212$; $p = 0,6740$) e esquerdo ($y = 0,003862x + 7,521$; $r^2=0,000007362$; $p = 0,9918$), não apresentou valor significativo (gráfico 3B).

A análise de regressão linear (idade x testículo esquerdo porção superior e inferior), indicou que a densidade de área ocupada pelos vasos em ambas as porções superior ($y = 0,003862x + 7,521$; $r^2=0,000007362$; $p = 0,9918$) e inferior ($y = 0,08122x + 3,902$; $r^2=0,005674$; $p = 0,7739$), não apresentou valor significativo (gráfico 3C).

A análise de regressão linear (idade x testículo direito porção superior e inferior), indicou que a densidade de área ocupada pelos vasos em ambas as porções superior ($y = 0,3163x + 12,16$; $r^2=0,1233$; $p = 0,1823$) e inferior ($y = 0,1720x + 2,312$; $r^2=0,04234$; $p = 0,4282$), não apresentou valor significativo (gráfico 3D).

A análise de regressão linear (Peso x testículo esquerdo porção superior e inferior), indicou que a densidade de área ocupada pelos vasos em ambas as porções superior ($y = 0,006440x + 6,362$; $r^2=0,09690$; $p = 0,2086$) e inferior ($y = 0,001423x + 4,886$; $r^2=0,006150$; $p = 0,7648$), não apresentou valor significativo (gráfico 4A).

A análise de regressão linear (Peso x testículo direito e esquerdo porção superior), indicou que a densidade de área ocupada pelos vasos em ambos os testículos, direito ($y = 0,003964x + 6,674$; $r^2=0,05385$; $p = 0,3711$) e esquerdo ($y = 0,006440x + 6,362$; $r^2=0,09690$; $p = 0,2086$), não apresentou valor significativo (gráfico 4B).

A análise de regressão linear (Peso x testículo direito e esquerdo porção inferior), indicou que a densidade de área ocupada pelos vasos em ambos os testículos, direito ($y =$

$0,003416x + 4,282$; $r^2=0,07985$; $p= 0,2718$) e esquerdo ($y= 0,001423x + 4,886$; $r^2=0,006150$; $p= 0,7648$), não apresentou valor significativo (gráfico 4C).

A análise de regressão linear (Peso x testículo direito porção superior e inferior), indicou que a densidade de área ocupada pelos vasos em ambas as porções, superior ($y= 0,003964x + 6,674$; $r^2=0,05385$; $p= 0,3711$) e inferior ($y= 0,003416x + 4,282$; $r^2=0,07985$; $p= 0,2718$), não apresentou valor significativo (gráfico 4D).

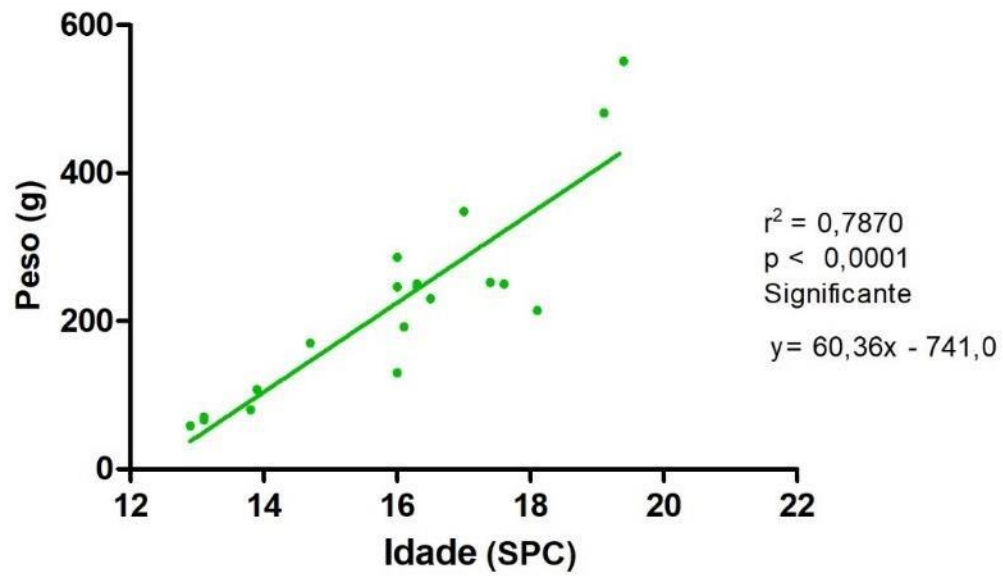
Tabela 2 – Análise de regressão linear

Correlação	y	r	p
Idade x Peso	$60,36x - 741,0$	0,787	<0,0001
Idade x testículo direito porção inferior	$0,1720x + 2,312$	0,04234	0,4282
Idade x testículo esquerdo porção inferior	$0,08122x + 3,902$	0,005674	0,7739
Idade x testículo direito porção superior	$0,1303x + 5,497$	0,01212	0,674
Idade x testículo esquerdo porção superior	$0,003862x + 7,521$	0,000007362	0,9918
Idade x testículo esquerdo porção superior	$0,003862x + 7,521$	0,000007362	0,9918
Idade x testículo esquerdo porção inferior	$0,08122x + 3,902$	0,005674	0,7739
Idade x testículo direito porção superior	$0,3163x + 12,16$	0,1233	0,1823
Idade x testículo direito porção inferior	$0,1720x + 2,312$	0,04234	0,4282
Peso x testículo esquerdo porção superior	$0,006440x + 6,362$	0,0969	0,2086
Peso x testículo esquerdo porção inferior	$0,001423x + 4,886$	0,00615	0,7648
Peso x testículo direito porção superior	$0,003964x + 6,674$	0,05385	0,3711
Peso x testículo esquerdo porção superior	$0,006440x + 6,362$	0,0969	0,2086
Peso x testículo direito porção inferior	$0,003416x + 4,282$	0,07985	0,2718
Peso x testículo esquerdo porção inferior	$0,001423x + 4,886$	0,00615	0,7648
Peso x testículo direito porção superior	$0,003964x + 6,674$	0,05385	0,3711
Peso x testículo direito porção inferior	$0,003416x + 4,282$	0,07985	0,2718

Legenda: Resumo das análises de regressão linear realizadas no estudo, mostrando os valores de y, r e p de cada grupo.

Fonte: A autora, 2023.

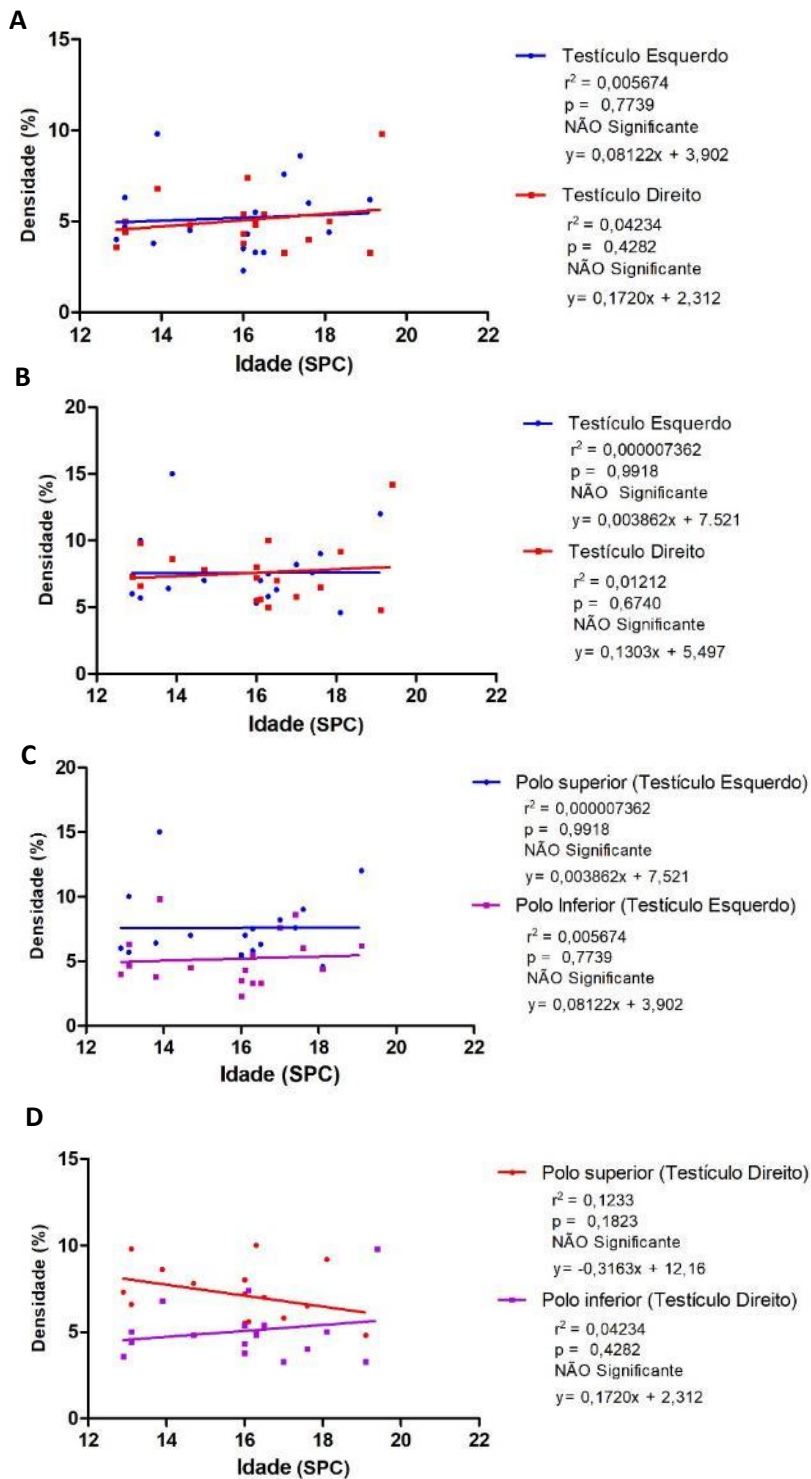
Gráfico 2 - Idade x Peso



Legenda: Gráfico de regressão linear idade (Semanas pós concepção) x peso (gramas), de todos os tesículos da amostra.

Fonte: A autora, 2023.

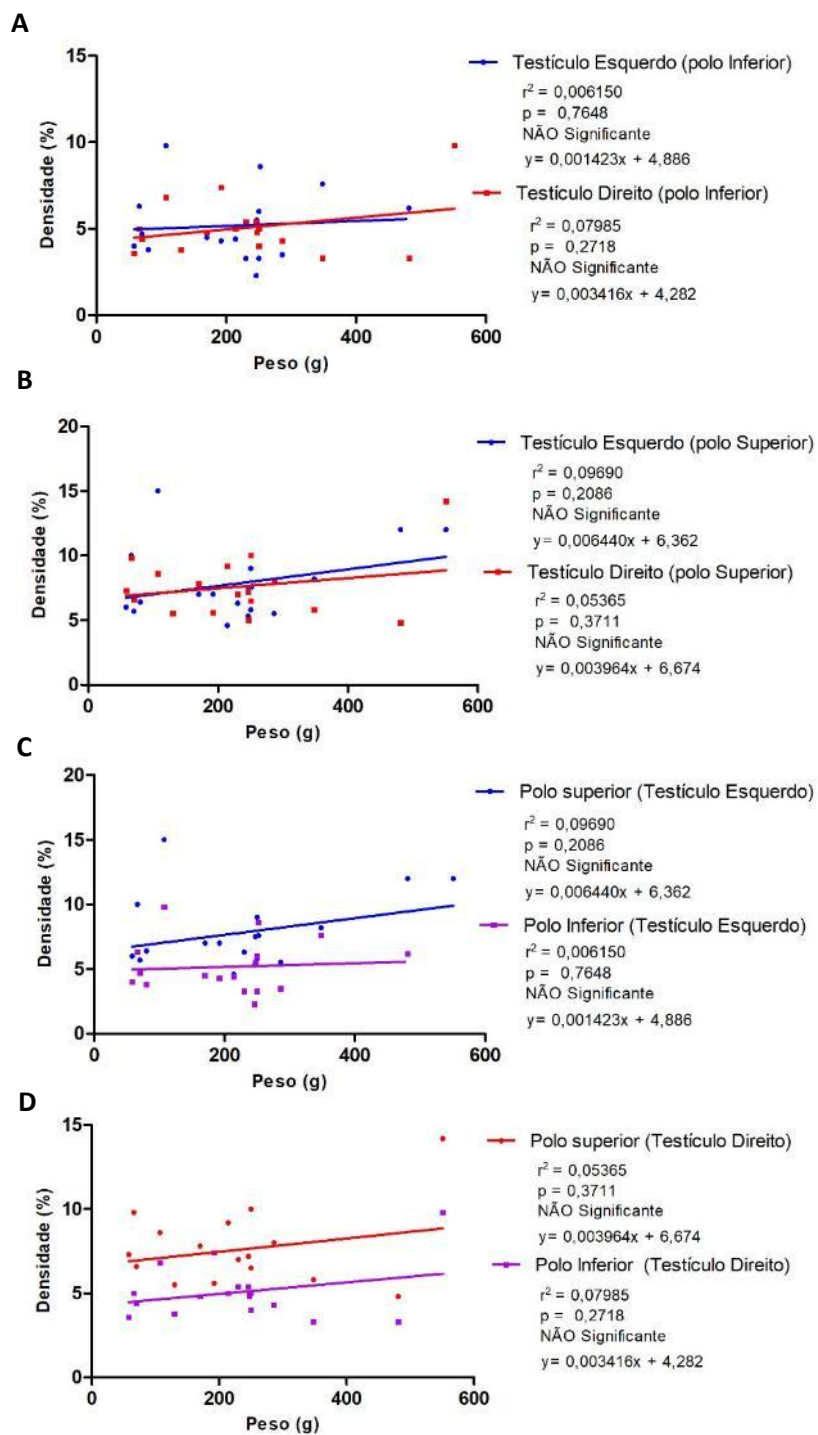
Gráfico 3 - Idade x Densidade vasos



Legenda: 3a - Idade x Testículo direito e esquerdo porção inferior;
 3b - Idade x Testículo direito e esquerdo porção superior;
 3c - Idade x Testículo esquerdo porção superior e inferior;
 3d - Idade x Testículo direito porção superior e inferior

Fonte: A autora, 2023.

Gráfico 4 - Peso x Densidade vasos



Legenda: 4a - Peso x Testículos direito e esquerdo porção inferior;
 4b - Peso x Testículo direito e esquerdo porção superior;
 4c - Peso x Testículo esquerdo porção superior e inferior;
 4d - Peso x Testículo direito porção inferior e superior.

Fonte: A autora, 2023.

4 DISCUSSÃO

O testículo abdominal alto não descido, é uma situação desafiadora em urologia pediátrica. Independentemente da técnica cirúrgica, a preservação de um suprimento arterial adequado para o testículo é crucial para o sucesso da orquidopexia, garantindo tamanho e textura testiculares normais (CHUNG & LEE, 2015). As características anatômicas das artérias testiculares são muito importantes para o sucesso dos procedimentos cirúrgicos. Cada testículo é irrigado por três artérias: a artéria testicular (artéria espermática interna), um ramo direto da aorta; artéria deferente (artéria vasal), um ramo da artéria vesicular inferior que se origina do tronco anterior da artéria ilíaca interna e artéria cremastérica (artéria espermática externa), um ramo da artéria epigástrica inferior. Essas três artérias penetram no órgão na região mediastinal, onde proporcionam ampla comunicação (BENZI *et al.*, 2022).

Quando a orquidopexia é realizada em pacientes com testículos intra-abdominais, uma das quatro técnicas cirúrgicas é aplicada: orquidopexia convencional, orquidopexia laparoscópica, orquidopexia de Fowler-Stephens em um tempo e orquidopexia de Fowler-Stephens em dois tempos (FOWLER & STEPHENS, 1959). Nos quatro tipos, a cirurgia consiste em localizar cada testículo, dissecá-lo próximo ao cordão espermático, adquirir tensão livre e, em seguida, reposicioná-lo perto do escroto. Quando realizada aberta, uma incisão inguinal medial é feita da coluna ilíaca anterossuperior para a fáscia oblíqua externa permitindo a exploração da cavidade peritoneal (DOCIMO *et al.*, 2000). As vantagens de realizar essas técnicas por laparoscopia incluem melhor visualização, capacidade de dissecação vascular mais extensa para a origem dos vasos, menor morbidade, capacidade de criar um anel interno medial para os vasos epigástricos inferiores e realizar um curso reto para o escroto (ELYAS *et al.*, 2010).

A orquidopexia de Fowler-Stephens laparoscópica convencional tanto em um, quanto em dois tempos, é adotada quando os testículos estão localizados na cavidade abdominal alta, e os vasos testiculares são muito curtos que impedem a extensão para que o testículo seja fixado no escroto. Os vasos são ligados e o suprimento sanguíneo para os testículos é preservado através da circulação colateral entre as artérias testicular e deferente, seguida de reposição e fixação dos testículos (ALAGARATNAM, 2014). Nessa cirurgia, o gubernáculo é

dividido, cada testículo é trazido medialmente para baixo e um curso reto para o escroto é realizado (AGGARWAL & KOGAN, 2014; KURZ, 2016).

A orquidopexia de Fowler-Stephens laparoscópica convencional é uma técnica aceita quando o comprimento dos vasos espermáticos é curto e para realizar a mobilização testicular livre de tensão no escroto. As taxas de atrofia utilizando-se esta técnica podem chegar a 33% (DOCIMO *et al.*, 2000). Nessa técnica, cirurgias testiculares prévias e anormalidades no vaso são fatores associados à atrofia testicular (BAKER *et al.*, 2001; BRAGA *et al.*, 2007).

A orquidopexia de Fowler-Stephens (FSO) realizada em 1 ou 2 estágios, aberta ou laparoscópica, para correção de testículo intra-abdominal alto, teve uma taxa de sucesso aceitável, de 81% a 89%. Entretanto, considerando a maior taxa de sucesso e menor taxa de atrofia, a cirurgia de Fowler-Stephens laparoscópica de 2 estágios é a primeira escolha para o tratamento de criptorquidia intra-abdominal alta (ZHANG *et al.*, 2018).

Quando se comparara o resultado de uma amostra na qual foi realizada orquidopexia de Fowler-Stephens laparoscópica em um estágio (LFSO), com outra amostra semelhante que foi realizada LFSO em dois estágios, sendo que ambos os grupos incluíram apenas testículo intra-abdominal alto com vasos espermáticos curtos, conclui-se que, embora a LFSO em um estágio possa parecer tentador, ela ainda apresenta uma taxa mais alta de atrofia testicular, o que não justifica sua escolha (Elzeneini *et al.*, 2020).

Song *et al.* (2020), avaliaram o efeito clínico da orquidopexia de Fowler-Stephens laparoscópica em dois estágios no tratamento do testículo abdominal alto e compararam com o tratamento da orquidopexia laparoscópica sem desconectar os vasos espermáticos. Eles concluíram que a cirurgia de estadiamento laparoscópico de Fowler-Stephens é um método eficaz para o tratamento de pacientes com criptorquidia alta, merecendo maior promoção e, além disso, observaram que a ruptura dos vasos do cordão espermático tem impacto nas alterações hormonais. Sendo a escolha desse procedimento cirúrgico ser avaliada de forma cuidadosa e completa.

Recentemente, foi descrita uma alternativa para a orquidopexia de Fowler-Stephens laparoscópica convencional com preservação do gubernáculo e entrega anatômica do testículo através do anel inguinal interno. Essa técnica, denominada orquidopexia laparoscópica poupadora de gubernáculo, melhora o fornecimento da circulação colateral aos testículos, preservando o gubernáculo e os vasos cremastéricos, acarretando menor atrofia do que a observada na técnica convencional (BRAGA *et al.*, 2019).

Estudo anatômico prévio de cadáveres com testículos não descidos, demonstrou que todos os testículos estudados, incluindo os não descidos, têm artérias testiculares, deferentes e cremastéricas e boa comunicação entre as três artérias, com canais anastomóticos visíveis entre as artérias testicular e deferente (YALÇIN *et al.*, 2005).

Uma análise interessante em fetos humanos mostrou que a incidência de artérias extra numéricas em fetos com testículos localizados no abdômen é rara e, em casos de cirurgia pela técnica de Fowler-Stephens, elas seriam mantidas pelas artérias deferente e cremastérica (SAMPAIO *et al.*, 1999).

Este estudo é o primeiro a avaliar microscopicamente os vasos testiculares em fetos humanos com os testículos posicionados no abdômen. Os resultados mostram uma diferença significativa entre a densidade vascular nas extremidades superior e inferior do testículo. Esses resultados reforçam a importância da preservação dos vasos que darão origem à circulação colateral testicular na extremidade inferior. O estudo mostrou também que a densidade vascular não se correlacionou positivamente com a idade e o peso dos fetos estudados. Os resultados também mostraram que a região inferior do testículo tem uma concentração vascular significativamente menor e corrobora com a importância de se preservar a vascularização que chega ao testículo pela região do guberáculo testicular e dos vasos cremastéricos. Como descrito para orquidopexia laparoscópica poupadora de guberáculo, isso pode ser de grande benefício e explica as menores taxas de atrofia observadas com esta técnica (BRAGA *et al.*, 2019).

Algumas limitações do nosso estudo devem ser mencionadas: (a) o tamanho da amostra foi pequeno. No entanto, fetos são raros, o que torna as observações, mesmo de amostras pequenas relevantes; (b) a amostra ideal para o presente estudo seria de crianças com idade inferior a 1 ano, com criptorquidia. Devido à raridade desta amostra ideal, o estudo com fetos humanos pode fornecer informações importantes para o tratamento da criptorquidia.

CONCLUSÃO

A porção superior do testículo apresentou maior densidade de área ocupada por vasos sanguíneos quando comparado à porção inferior. Esses resultados confirmam a importância de se realizar uma mínima manipulação na extremidade inferior do testículo durante a realização da cirurgia de Fowler-Stephens.

REFERÊNCIAS

- ABACI, A. *et al.* Epidemiologia, classificação e manejo de testículos que não desceram: a medicação tem valor em seu tratamento? *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* v. 5, p. 65-72, 2013.
- ABOUHEBA, M.A.S. *et al.* Early Clinical Outcome of Staged Laparoscopic Traction Orchidopexy for Abdominal Testes. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* v. 29, n.4, p.531-537, 2019.
- AGGARWAL, H.; KOGAN, B. A., The role of laparoscopy in children with groin problems. *Transl Androl Urol.* v. 3, n. 4, p. 418-428, 2014.
- ALAGARATNAM, S. *et al.* Testicular outcome following laparoscopic second stage Fowler-Stephens orchidopexy. *J Pediatr Urol.* v. 10, p. 186-192, 2014.
- ASHLEY R. A.; BARTHOLD J. S.; KOLON T. F. Cryptorchidism: pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis. *Urol Clin North Am.* v. 37, p. 183–193, 2010.
- BAKER, LA. *et al.* A multiinstitutional analysis of laparoscopic orchidopexy. *BJU Int.* v. 87, n. 6, p. 484-489, 2001.
- BEASLEY, S. W.; HUTSON, J. M. The role of the gubernaculum in testicular descent. *J Urol.* v. 140, n. 5, p. 1191-1193, 1988.
- BOEHME, P. *et al.* Deficiências no manejo do testículo não descido: intenção diretriz versus realidade e as causas subjacentes - percepções da maior coorte alemã. *BJU Int.* v. 122, p. 644-653, 2018.
- BENZI, T. C. *et al.* Testicular arteries anatomy applied to fowler-sthephens surgery in high undescended testis – a narrative review. *Int Braz J Urol.* v. 48, n. 1, p. 8-17, 2022.
- BRAGA, L. H. *et al.* Outcomeanalysis of severe chordee correction using tunica vaginalis as a flap in boys withproximal hypospadias. *J Urol.* v.178(4 Pt 2), p.1693-1697; discussion 1697, 2007.
- BRAGA, L. H. *et al.* Gubernaculum Testis and Cremasteric Vessel Preservation during Laparoscopic Orchiopexy for Intra-Abdominal Testes: Effect on Testicular Atrophy Rates. *J Urol.* v. 201, n. 2, p. 378-385, 2019.
- BRAZ, A. Anomalies of testicular migration in Pediatrics. *Pediatr. mod;* v. 49, 2013.
- CHO, A. *et al.* Undescended testis. *BMJ.* v. 364, p. 1926, 2019.
- CHUNG, J. M.; LEE, S. D. Individualized Treatment Guidelines for Postpubertal Cryptorchidism. *World J Mens Health.* v. 33, n. 3, p.161-166, 2015.

DOCIMO, S. G.; SILVER, R. I.; CROMIE, W. The Undescended Testicle: Diagnosis and Management. *Am Fam Physician*. v. 62, n. 9, p. 2037-2044, 2000.

ELDER, J. S. Surgical Management of the Undescended Testis: Recent Advances and Controversies. *Eur J Pediatr Surg*. v. 26, n. 5, p. 418-426, 2016.

ELYAS, R. *et al.* Is staging beneficial for Fowler-Stephens orchiopexy? A systematic review. *J Urol*. v. 183, p. 2012-2028, 2010.

ELZENEINI, W.M.; MOSTAFA, M.S.; DAHAB, M.M. *et al.* How far can one-stage laparoscopic Fowler- Stephens orchiopexy be implemented in intra-abdominal testes with short spermatic vessels? *J Pediatr Urol*. v. 16, p.197.e1-197.e7, 2020.

FAVORITO, L. A.; SAMPAIO, F. J. Anatomical relationships between testis and epididymis during the fetal period in humans (10 to 36 weeks post conception). *Eur Urol*. v. 33, n. 1, p. 121-123, 1998.

FAVORITO L. A.; COSTA W. S.; SAMPAIO F. J. Estudo anatômico aplicado das veias testiculares em cadáveres adultos e em fetos humanos. *Int Braz J Urol*. v. 33, p. 176-180, 2007.

FAVORITO, L. A.; SAMPAIO, F. J. Morfologia Urogenital Aplicada à Urologia Pediátrica. 1. ed., Rio de Janeiro: MGSC. v. 1, p. 1-47, 2014.

FOWLER, R.; STEPHENS, F. D. O papel da anatomia vascular testicular no resgate de testículos altos que não desceram. *Aust NZJ Surg*. v. 29, p. 92-106, 1959.

GILL, B.; KOGAN, S. F. Criptorquidismo. Conceitos atuais. *Pediatr Clin North Am*. v. 44, p. 1211-1227, 1997.

GOEL, P. *et al.* Undescended testicle: An update on fertility in cryptorchid men. *Indian J Med Res*. v. 141, n. 2, p. 163-171, 2015.

GRINSPON, R. P. *et al.* Anti-Müllerian Hormone and Testicular Function in Prepubertal Boys with Cryptorchidism. *Front Endocrinol (Lausanne)*. n. 9, p. 182, 2018.

GURNEY, J. K. *et al.* Risk Factor for Cryptorchidism. *Nat Rev Urol*. v. 14, n. 9, p. 534-548, 2017.

HERN, W. M. Correlation of fetal age and measurements between 10 and 26 weeks of gestation. *Obst Gynecol*. v. 63, n. 1, p. 26-32, 1984.

HEYNS, C. F.; HUTSON, J. M. Historical review of theories on testicular descent. *J Urol*. v. 153, n. 3, p. 754-767, 1995.

HILL, M. A. Developing the Digital Kyoto Collection in Education and Research. *The Anatomical Record*. v. 301, n. 6, p. 998–1003, 2018.

HUSMANN, D. A. Testicular descent: a hypothesis and review of current controversies. *Pediatr Endocrinol Rev.* v. 6, n. 4, p. 491-495, 2009.

HUSMANN, D. A.; LEVY, J. B. Current concepts in the pathophysiology of testicular undescend. *Urologia.* v. 46, n. 2, p. 267-276, 1995.

JACKSON, M. B.; GOUGH, M. H.; DUDLEY, N. E. Anatomical findings at orchiopexy. *Br J Urol.* v. 59, n. 6, p. 568-571, 1987.

JOHANSEN, T. E. B.; BLOOM, G. P. Histological studies of gubernaculum testis taken during orchiopexies. *Scand J Urol Nephrol.* v. 22, n. 2, p. 107-108, 1988.

KOLON, T. F. *et al.* Evaluation and treatment of cryptorchidism: AUA guideline. *J Urol.* v. 192, n. 2, p. 337-345, 2014.

KOPTA, M. M.; MAY, R. R.; CRANE, J. P. A comparison of the reliability of the estimated date of confinement predicted by crown-rump length and biparietal diameter. *Am J Obstet Gynecol.* v. 145, n. 5, p. 562-565, 1983.

KURZ, D. Current Management of Undescended Testes. *Curr Treat Options Pediatr.* v. 2, n. 1, p. 43-51, 2016.

LONGUI, C. A. Cryptorchidism: diagnosis and treatment. *Arq Bras Endocrinol Metab.* v. 49, n. 1, p. 165-171, 2005.

MANTONI, M.; PEDERSEN, J. F. Fetal growth delay in threatened abortion: an ultrasound study. *Br J Obstet Gynecol.* v. 89, n. 7, p. 525-527, 1982.

MERCER, B. M. *et al.* Fetal foot length as a predictor of gestational age. *Am J Obstet Gynecol.* v. 156, n. 2, p. 350-355, 1987.

MOORE, K.L.; PERSAUD, T.V.N.; TORCHIA, M.G. The Developing Human - Clinically Oriented Embryology. *Elsevier*, 10 ed. 2016.

PASK, A. The Reproductive System. *Adv Exp Med Biol.* v. 886, p. 1-12, 2016.

PLATT, L. D. *et al.* Fetal foot length: relationship to menstrual age and fetal measurements in the second trimester. *Obstet Gynecol.* v.71, n. 4, p. 526-531, 1988.

RANSLEY, P.G. *et al.* Preliminary ligation of the gonadal vessels prior to orchidopexy for the intra-abdominal testicle. A staged Fowler-Stephens procedure. *World J Urol.* v. 2, p. 266-268, 1984.

ROZANSKI, T.A.; BLOOM, D.A. The undescended testis. Theory and management. *Urol Clin North Am.* v. 22, n. 1, p. 107-118, 1995.

SAMPAIO, F. Estudo do crescimento do rim humano durante o período fetal [tese]. *Universidade Federal de São Paulo.* 1989.

SAMPAIO, F. J.; ARAGÃO, A. H. Study of the fetal kidney length growth during the second and third trimesters of gestation. *Eur Urol.* v. 17, n. 1, p. 62-65, 1990.

SAMPAIO, F. J.; FAVORITO, L. A. Analysis of testicular migration during the fetal period in humans. *J Urol.* v. 159, p. 540-542, 1998.

SAMPAIO, F. J. *et al.* Arterial supply of the human fetal testis during its migration. *J Urol.* v. 161, n. 5, p. 1603-1605, 1999.

SHARMA, D. *et al.* Identifying and addressing training deficiencies in the examination of cryptorchidism-a quality improvement study. *J Pediatr Urol.* v. 16, n. 1, p. 61.e1-61 e 8, 2020.

SHEN, J. *et al.* Macroscopic Whole-Mounts of the Developing Human Fetal Urogenital-Genital Tract: Indifferent Stage to Male and Female Differentiation. *Differentiation.* v. 103, p. 5-13, 2018.

SHIELDS, L. B. E. *et al.* Scrotal Ultrasound Is Not Routinely Indicated in the Management of Cryptorchidism, Retractable Testes, and Hydrocele in Children. *Glob Pediatr Health.* n. 6, e-Collection, 2019.

SONG, J.Q.; BAI, D.S.; HAO, C.S. *et al.* Clinical efficacy of two-staged Fowler-Stephens laparoscopic orchidopexy in the treatment of children with high cryptorchidism. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* v. 100, p. 3520-3524, 2020.

STREETER, G. L. Weight, sitting height, head size, foot length and menstrual age of the human embryo. *Contr Embryol Carnegie Instn.* v. 11, p. 143-170, 1920.

THORUP, J.; CORTES, D. Surgical Management of Undescended Testis – Timetable and Outcome: A Debate. *Sex Dev.* v. 13, n. 1, p. 11-19, 2019.

VIRTANEN, H. E. *et al.* Development and descent of the testis in relation to cryptorchidism. *Acta Pediatr.* v. 96, n. 5, p. 622-627, 2007.

WEIN, A. *et al.* Campbell-Walsh Urology. 11th ed, *Saunders Elsevier.* Philadelphia. 2016.

YALÇIN, B. *et al.* Vascular anatomy of normal and undescended testes: surgical assessment of anastomotic channels between testicular and deferential arteries. *Urology.* v. 66, p. 854-857, 2005.

ZHANG, J. *et al.* Testicular blood supply and growth in children with high cryptorchidism treated with gubernaculum preserving vs. cutting laparoscopic orchiopexy: A pilot trial. *J Pediatr Urol.* v.17, n. 6, p. 835.e1-835.e6, 2021.

APÊNDICE A - Submissão no sistema Plataforma Brasil e aprovação pelo comitê de ética


 principal
  sair

Público
 Pesquisador
 Alterar Meus Dados

TATIANA SILVA COSTA GREGORY BENZI - Pesquisador | V3.2

Cadastros
 Sua sessão expira em: 37min 38

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Passagem dos testículos pelo canal inguinal Análise em fetos humanos
Pesquisador Responsável: TATIANA SILVA COSTA GREGORY BENZI
Área Temática:
Versão: 1
CAAE:
Submetido em: 12/02/2020
Instituição Proponente: PROGRAMA de PÓS-GRADUAÇÃO em FISIOPATOLOGIA e CIÊNCIAS CIRÚRGICAS
Situação da Versão do Projeto: Em Recepção e Validação Documental
Localização atual da Versão do Projeto: UERJ - Hospital Universitário Pedro Ernesto/ Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Patrocinador Principal: Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ



DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA

- Versão em Tramitação (PO) - Versão 1
 - Projeto Original (PO) - Versão 1
 - Documentos do Projeto
 - Folha de Rosto - Submissão 1
 - Informações Básicas do Projeto - Subm
 - Projeto Detalhado / Brochura Investigaç
 - TCLE / Termos de Assentimento / Justif
 - Apreciação 1 - UERJ - Hospital Universitári
 - Projeto Completo

Tipo de Documento	Situação	Arquivo	Postagem	Ações
Folha de Rosto	Postado	 FolhaRostoAssinada.pdf	22/08/2019 13:51:11	

DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Passagem dos testículos pelo canal inguinal Análise em fetos humanos
Pesquisador Responsável: TATIANA SILVA COSTA GREGORY BENZI
Área Temática:
Versão: 1
CAAE: 30706720.8.0000.5259
Submetido em: 12/02/2020
Instituição Proponente: PROGRAMA de PÓS-GRADUAÇÃO em FISIOPATOLOGIA e CIÊNCIAS CIRÚRGICAS
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ



Comprovante de Recepção:  PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_1403222

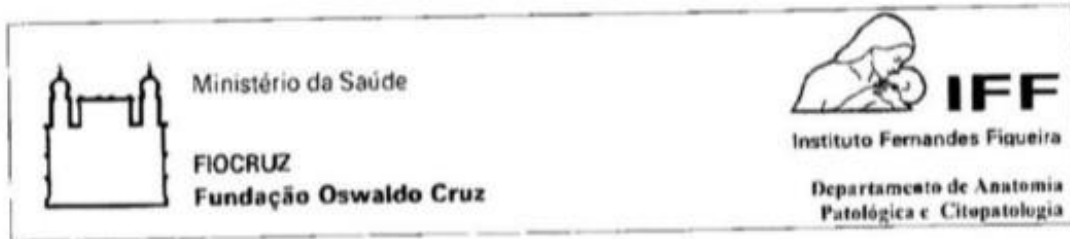
DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA

- Versão Atual Aprovada (PO) - Versão 1
 - Projeto Original (PO) - Versão 1
 - Documentos do Projeto
 - Comprovante de Recepção - Submissã
 - Folha de Rosto - Submissão 1
 - Informações Básicas do Projeto - Subm
 - Projeto Detalhado / Brochura Investigaç
 - TCLE / Termos de Assentimento / Justif
 - Apreciação 1 - UERJ - Hospital Universitári
 - Projeto Completo

Tipo de Documento	Situação	Arquivo	Postagem	Ações
-------------------	----------	---------	----------	-------

LISTA DE APECIAÇÕES DO PROJETO

Apreciação	Pesquisador Responsável	Versão	Submissão	Modificação	Situação	Exclusiva do Centro Coord.	Ações
PO	TATIANA SILVA COSTA GREGORY BENZI	1	12/02/2020	17/04/2020	Aprovado	Não	   

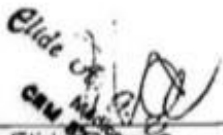
APÊNDICE B - Solicitação de doação de fetos

Rio de Janeiro 5 de outubro de 2010

Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ

Ilmo Chefe do Departamento de Anatomia Humana

Em conformidade com a legislação Lei nº 8.501, de 30 de novembro de 1992 em seu artigo quarto, efetivamos a doação de fetos, relacionados em anexo, à Universidade Estadual do Rio de Janeiro – UERJ – para fins de pesquisa e estudos.


Dra. Elide Gomes
Chefe do Departamento



Testicular arteries anatomy applied to fowler-stephens surgery in high undescended testis – a narrative review

Tatiana C. Benzi ¹, Natasha T. Logsdon ¹, Francisco J. B. Sampaio ¹, Luciano Alves Favorito ¹

¹ Unidade de Pesquisa Urogenital - Universidade do Estado do Rio de Janeiro - Uerj, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

ABSTRACT

Objectives: In this review we will describe the testicular vessels anatomy and the implications of these vessels in surgical treatment of high undescended testis.

Material and Methods: We performed a narrative review of the literature about the role of the testicular arteries anatomy in the treatment of high undescended testis. We also studied two human testes to illustrate the testicular vascularization.

Results: Each testis is irrigated by three arteries: testicular artery (internal spermatic artery), a branch of the right aorta; deferential artery (vasal artery), a branch of the inferior vesicle artery that originates from the anterior trunk of internal iliac artery and cremasteric artery (external spermatic artery), a branch of the inferior epigastric artery. There are important communications among the three arteries with visible anastomotic channels between the testicular and deferential arteries.

Conclusions: Laparoscopic transection of the testicular vessels by dividing the spermatic vessels (Fowler-Stephens surgery) is safe in patients with high abdominal testis due to the great collateral vascular supply between testicular, vasal and cremasteric arteries; also, two-stage Fowler-Stephens orchiopexy appears to carry a higher rate of success than the single stage approach.

ARTICLE INFO

 **Luciano Alves Favorito**
<http://orcid.org/0000-0003-1562-6068>

Keywords:
Cryptorchidism; Anatomy; Testis

Int Braz J Urol. 2022; 48: 8-17

Submitted for publication:
March 20, 2021

Accepted after revision:
April 10, 2021

Published as Ahead of Print:
May 10, 2021

INTRODUCTION

Cryptorchidism is the consequence of lack or insufficiency of the process of testicular descent taking place during fetal life (1). Undescended testis is one of the most common genital diseases identified at birth and the most common surgical problem in pediatric urology. The main justification for treatment is to reduce the increased risks of infertility, testicular malignancy, and/or torsion/trauma as well as inguinal hernia associated with the undescended testis (2).

Studies show that, in Europe, the percentage of individuals with cryptorchidism ranges from 2% to 8%, 6% in the United Kingdom (3). According to some papers, 2% to 8% of full-term newborns have one or both testes not descended at birth (4, 5). Goel (6) reports a percentage between 1% and 4% in full-term newborns and 30% in preterm infants.

Approximately 20% of the cryptorchid testes are non-palpable (7, 8). A subset of these patients may represent a surgical challenge once identifying the correct location of the undescended testis is important to select the proper surgical

treatment. The non-palpable testis may be intra-abdominal and thus associated with either an open or closed internal inguinal ring. Alternatively, some testes may migrate back and forth across the internal inguinal ring thus being palpable on first exam but not on subsequent exam and are referred as peeping testes. The testis may also be completely absent or atrophic (9).

In this review we will describe the testicular vessels anatomy and the implications of these vessels in surgical treatment of high undescended testis.

MATERIAL AND METHODS

In this study we carried out a review about the role of the testicular arteries anatomy in the treatment of high undescended testis. We analyzed papers published in the past 60 years on Pubmed, Embase and Scielo databases searching by key the following expressions: "Undescended testis", "Cryptorchidism", "Fowler-Stephens Surgery", "High undescended testis", "Testicular artery", "Cremasteric artery" and "vasal artery". In this review we found several papers, but we included only papers published in English and excluded case reports, editorials, and opinions of specialists.

We also studied two human fetuses (one with 20 weeks post conception and the second with 32 weeks post conception) to illustrate the testicular vascularization. The fetuses were well preserved and have been demised due to spontaneous or induced abortion. The gestational age of the fetuses was determined in weeks post conception (WPC) according to the foot-length criterion, which is currently considered the most acceptable parameter to estimate the fetal gestational age (10-12).

After measuring the fetuses, microvascular silicone rubber resin (red or white) was injected through the thoracic aorta to fill the arterial tree. The testes were identified and the vessels were dissected under low magnification using a surgical microscope. (Figure-1)

RESULTS

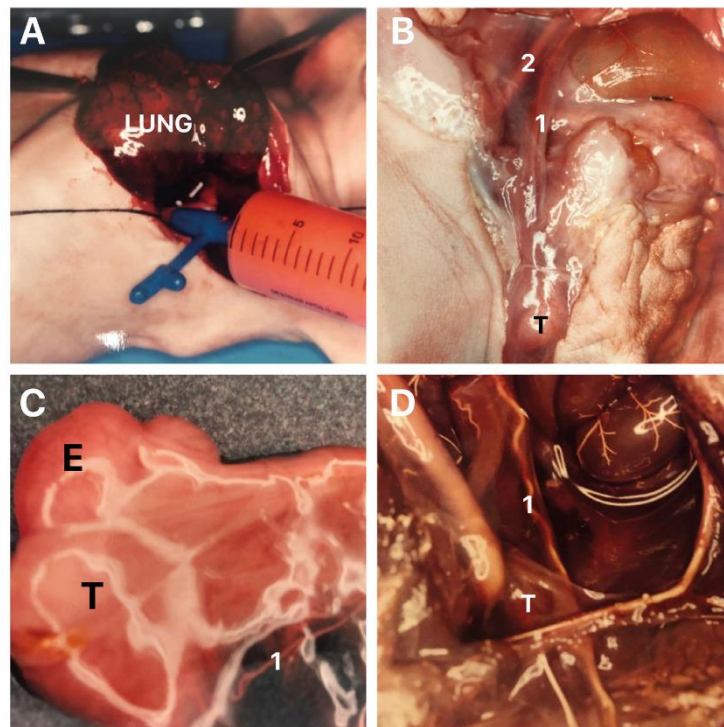
In 2014, the American Urologic Association (AUA) guidelines for evaluation and treatment of cryptorchidism were published and recommended

that: 1) at initial evaluation a complete gestational history of all boys suspected of cryptorchidism must be obtained; 2) the testicles should be palpated at each recommended well-child visit for appropriate quality and position; 3) all infants who are found to have cryptorchidism at birth and who do not have spontaneous descent by age of 6 months (corrected for gestational age) must be referred to a surgeon for appropriate evaluation; 4) all boys with a possible new diagnosis of acquired cryptorchidism after 6 months of corrected gestational age be referred for possible surgical correction; 5) any phenotypic male newborns with bilateral non-palpable testes be referred for evaluation of possible disorder of sexual development (DSD); 6) ultrasound and other imaging studies (which are rarely sensitive diagnostic tools) not be ordered prior to referral to a surgical specialist; 7) severe proximal hypospadias and cryptorchidism alert the provider to assess for DSD; 8) a boy who is found to have bilateral non-palpable testes and who does not have congenital adrenal hyperplasia, Müllerian inhibiting substance, or other additional hormones be tested to evaluate for anorchia; and 9) at least annual physical exams be used to assess for secondary ascent in boys found to have retractile testicles (2).

Current guidelines recommend orchidopexy during the first year of life; however, this seems not to be implemented in practice. Currently, only a small proportion of boys with undescended testicles are operated upon during their first year of life. The level of knowledge in attending physicians remains in need of improvement (13). The recommended age for orchidopexy was reduced to below 1 year based on findings of germ cell loss in the undescended testicle at 1 to 2 years of age and findings that orchidopexy performed at 9 months compared with 3 years had a more significant beneficial effect on the growth of the previously undescended testicles (2).

The purpose of surgical treatment is the placement of the testis in the scrotum without atrophy or recurrence (14). In case the testicles are not palpable, laparoscopic, or open surgical exploration is necessary, allowing to identify the morphology and anatomical locations of the testis, deferens and testicular vessels to select the most appropriate surgical technique for treatment.

Figure 1 - The figure shows the two human fetuses studied with the microvascular silicone rubber resin technique. A) The figure shows a fetuses with 32 weeks post-conception injected through the thoracic aorta with a microvascular silicone rubber red resin to fill in the arterial tree; B) After the injection the fetuses were dissected under low magnification using a surgical microscope and in this figure we can observe the right testis (T) in scrotal position and the testicular artery (1) and the external iliac artery (2); C) In the same fetuses the testis (T) was resected and we can observe the vassal artery (1), E- Epididymis and D) In this figure we can observe a fetus of the 2nd gestational trimester with the testis (T) in abdominal position, near the internal ring injected with the with rubber silicone resin, the testicular artery (1) is easily identified.



Laparoscopy has an advantage over open surgery as it better identifies the anatomy, viability, and location of the impalpable testis (15).

Testicular Arteries

Regardless of the surgical technique used, preservation of an adequate arterial supply for the testis is crucial for successful orchiopexy to ensure normal testicular size and texture. The anatomy of testicular arteries is very important in the success of the surgical procedures.

The vascularization of the XX and XY gonads is a highly dynamic process. The XY gonad recruits and patterns vasculature by a novel remodeling mechanism beginning with the breakdown of an existing mesonephric vessel. The gonads are highly vascularized and they present an important collateral circulation since the beginning of development (16).

Each testis is irrigated by three arteries: testicular artery (internal spermatic artery), a branch of the right aorta; deferential artery (va-

sal artery), a branch of the inferior vesicle artery that originates from the anterior trunk of internal iliac and cremasteric arteries (external spermatic artery), a branch of the inferior epigastric artery (Figure-2). These three arteries penetrate the organ in the mediastinal region providing ample communication (17-19).

Modifications in the position and anatomy of the testicular arteries during the process of testicular migration needs to be related. The testicular migration has two phases: the abdominal and the inguinoscrotal stages (20-22). During the abdominal stage testes migrate from the abdomen to the internal inguinal ring. This process begins around the 8th WPC and lasts until the 15th WPC. The second stage (inguinoscrotal stage) is the transition

of the testes through the inguinal canal until their definitive arrival in the scrotum (19, 23). Distally, the gubernaculum approaches the inguinal region (Figure-3). During this stage, after the testes crosses the external inguinal ring the gubernaculum migrates across the pubic region to reach the scrotum (24, 25). The passage of the testis through

Figure 3 - The figure shows a male fetus with 15 weeks post-conception with both testes situated in the abdomen. The abdominal wall was dissected to show the position of the left testis (T) above the internal ring, G- gubernaculum testis and E- Epididymis.

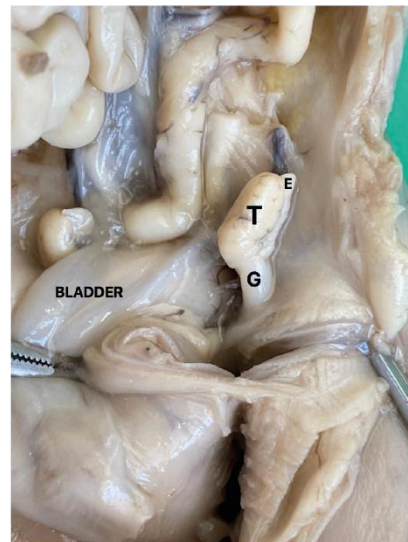
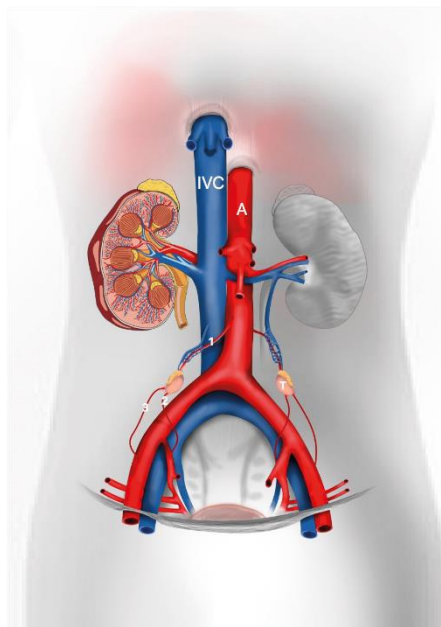


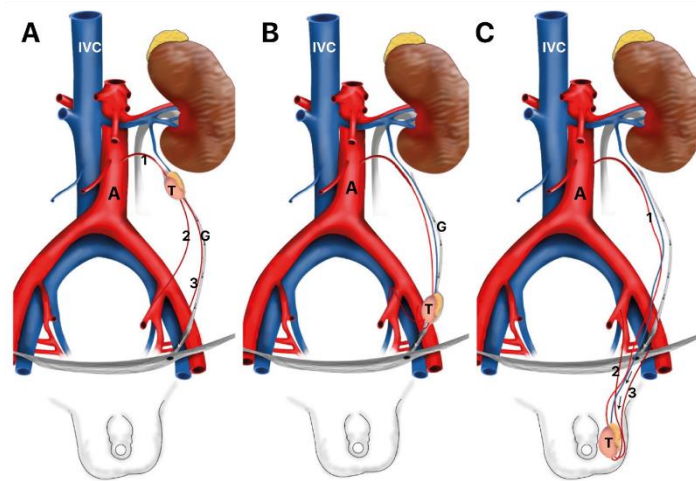
Figure 2 - Schematic drawing showing the testicular vascularization during the human fetal period. We can observe the testis situated in abdominal position and the three arteries that irrigated the gonad, 1- testicular artery, 2- vassal artery, 3- cremasteric artery, A- Aorta artery and IVC- Inferior vena cava.



the inguinal canal occurs very quickly, between 21 and 25 WPC, and the testicular migration process completes around the 30th week post conception (26). In Figure4 we show the chronology of testicular migration and the arterial branches of the testis when the testis is in high abdominal position, near the inguinal ring and in scrotum.

In an interesting anatomical study in cadavers and undescended testis, using the injection-corrosion casting technique, it was demonstrated for all testes studied, including the

Figure 4 - Schematic drawing showing the steps of testicular migration and the testicular arteries. A) Testis (T) in high abdominal position, we can observe that the testicular artery (1) is short and the vasal artery (2) and cremasteric artery (3) are longer; B) Testis in abdominal position near the internal inguinal ring and C) Testis in scrotal position, G- gubernaculum, A- Aorta Artery and IVC- Inferior Vena Cava.



undescended ones, had testicular, they presented deferential and cremasteric arteries (27). This study shows that exists an important communication among the three arteries with visible anastomotic channels between the testicular and deferential arteries. This important paper suggested that the concept of high ligation of the testicular artery is valid to preserve vascularity to the testis during the vascular transection orchiopexy (27).

In an experimental study with 32 human fetuses (64 testis), the authors studied the testicular vascularization in fetuses with the testis in abdominal position (28). The authors demonstrated 23.4% of testes have 2 arteries (1 testicular and 1 deferential), 71.9% have 3 arteries (1 testicular, 1 deferential and 1 cremasteric) and only 4.7% of the testes had 4 arteries (1 testicular, 2 deferentials and 1 cremasteric or 2 testiculars, 1 deferential and 1 cremasteric). This important paper concluded that the fetal testicle is always irrigated by at least 3 arteries (testicular, cremasteric and deferential) in almost 80% of cases and in the other 20% of the cases there were only 2 arteries irri-

gating the abdominal testis, an important information to the surgery of high undescended testis. Figure-5 shows the anatomical variations showed in this important paper.

Knowledge about the anatomy of the veins that drain the testes is clinically important. The testes are drained by the pampiniform venous plexus, which in the region of the deep inguinal ring originates the testicular veins. The left testicular vein opens into the left renal vein and the right testicular vein opens directly into the inferior cava vein (29).

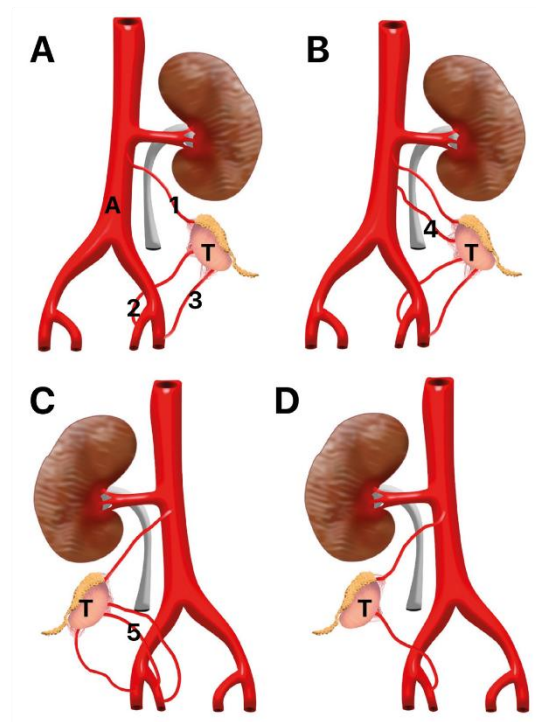
Fowler-Stephens Surgery

Today, the laparoscopic approach to the inguinal and intra-abdominal non-palpable testicles is the first choice of most surgeons (30), it allows an accurate identification of testicular location, spermatic funiculus characteristics and epididymis. It is one of the safest methods for the confirmation of unilateral cryptorchidism, depending directly on the experience of the surgeon and the availability of specialized material for its realization in young children (31).

Orchidodopexy in patients with intra-abdominal testicles is applied using one out of three surgical techniques: conventional orchiopexy, laparoscopic orchiopexy, Fowler-Stephens orchiopexy at one stage, and Fowler-Stephens orchiopexy in two stages. In the three types of techniques, the surgery consists of locating the testis, dissecting it near the spermatic cord, obtaining free tension, and then repositioning it near the scrotum.

When performed open, a medial inguinal incision is made from the anterosuperior iliac spine to the external oblique fascia allowing exploration of the peritoneal cavity. The advantages of performing these techniques by laparoscopy include improved visualization, extensive vascular dissection capacity at vessel origin, lower morbidity, and ability to create a medial inner ring for the lower epigastric vessels, also performing a direct course to the scrotum (32).

Figure 5 - Testicular vascularization variations in fetuses with the testis in abdominal position. A) Schematic drawing showing the most frequent arterial pattern of testicular vascularization - Testis (T) has three arteries: Testicular (1), Deferential (2) and Cremasteric (3); B) Schematic drawing showing testicular vascularization with four arteries, we can observe an anatomical variation - presence of a second testicular artery (4) originated at the aorta artery; C) Schematic drawing showing testicular vascularization with four arteries, we can observe an anatomical variation - presence of a second vasal artery (5) originated at the internal iliaca artery and D) Schematic drawing showing testicular vascularization with two arteries only, the testicular artery and vasal artery, the cremasteric artery is not present, A- Aorta artery, T- Testis.



Fowler and Stephens in 1959 show the vascular supply of the testes applied in the surgical treatment of high undescended testis and showed an important collateral circulation through the deferential artery and the cremasteric artery (33). In this important paper the authors showed some points where the arteries have communications (Figure-6).

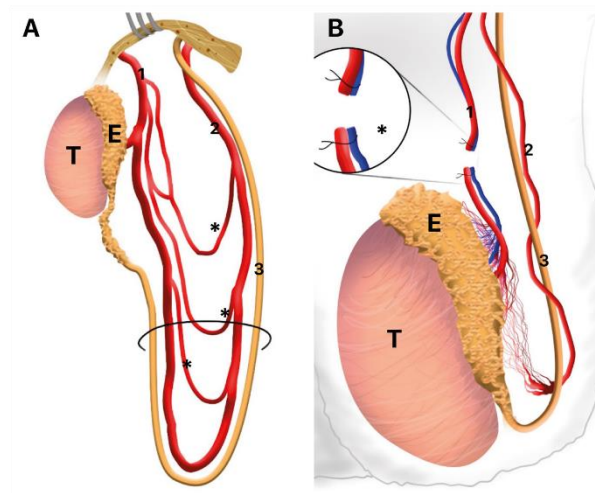
Fowler-Stephens orchiopexy, both in one and two stages, is adopted when the testis is located high and the testicular vessels are too short to be fixed in the scrotum. The vessels are ligated and the blood supply to the testis preserved via collateral circulation and proceeding with the repositioning and fixation of the testis (34). In the one-time Fowler-Stephens technique, the ligation and fixation of the testis are performed in a single surgical time, while in the two-stage, the first phase of the surgical treatment is performed to ligate the testicular vessels and in a second surgery, three to six months after the first surgical time, the testis is repositioned and fixed to the scrotal pouch (35, 36). Whenever possible, primary orchiopexy

is adopted, which has the highest efficiency rate. Comparing the two Fowler-Stephens techniques, the two-step technique has higher success rates (36, 37).

According to Igarashi (38), in a study with seventy-two impalpable testes diagnosed in 68 patients, it is recommended starting inguinal exploration for impalpable testis, considering the relatively low incidence of high abdominal testis. When an extra-abdominal testis is not detected, transinguinal laparoscopic scanning should be indicated.

Geuvbashian et al. (39) reported in their study a high success rate after surgical management of non-palpable testicles regardless of technique. The rate of testicular atrophy is similar in both artery preservation and SF for non-palpable testis. There is no significant difference between 1- and 2-stage FSO. In 2019, Abouheba et al. (40), evaluated the short-term clinical outcome of the new Shehata laparoscopic tensile stretching technique for abdominal testis. They concluded that this new Shehata technique is safe, easy and con-

Figure 6 - Testicular arteries pattern showed in the original Fowler-Stephens paper (x). A) Schematic drawing showing the vascular supply of the testis, we can observe an important collateral circulation (*) through the Testicular artery (1) and deferential artery (2), 3- Vas deferens; B) Schematic drawing showing the place of ligation of testicular vessels (*) in Fowler-Stephens surgery, T- testis, E- Epididymis.



venient. They observed that neither the internal hernia complicated the traction period, nor testicular atrophy (due to undue tension) complicated traction or follow-up periods. Thus, they reported that it is a good alternative to staged Fowler-Stephens orchiopexy, which entails a risky division of testicular vessels.

In an interesting study with patients undergoing a second-stage FS procedure the authors photographed prior to pexy of the testis in the Dartos pouch. The photographs were evaluated for the extent of vascular collateralization between gubernacular, deferential and the ligated spermatic artery, and concluded that exists an important collateral communication between the cremasteric and deferential vessels at second-stage FS procedure (41).

Braga et al. (42) showed that the gubernaculum sparing laparoscopic orchiopexy is a feasible alternative to conventional laparoscopic Fowler-Stephens orchiopexy. This study concluded that this technique preserves an additional vascular supply to the testis (cremasteric, vessels and deferential arteries) during the laparoscopic orchiopexy.

Orchiectomy is adopted in cases of unilateral cryptorchidism in which the affected testis is atrophic, there is atresia or small length of the vas deferens, the testicular veins are located in the retroperitoneum because they are too short or in the presence of intra-abdominal testis in the postoperative pubescent patients, associated with the contralateral testis without anatomical and morphological alterations (36). However, in post-pubescent children, there is controversy regarding the adoption of this approach as it would impair the patient's quality of life and increase the risk of postoperative mortality, with consensus in cases of increased risk of testicular neoplasia (43, 44).

CONCLUSIONS

Preservation of an adequate arterial supply for the testis is crucial for successful orchiopexy to ensure normal testicular size and texture so the anatomy of testicular arteries is very important to success of the surgical procedures. La-

paroscopic transection of the testicular vessels by dividing the spermatic vessels (Fowler-Stephens surgery) is safe in patients with high abdominal testes because the great collateral vascular supply between testicular, vasal and cremasteric arteries, and two-stage Fowler-Stephens orchiopexy appears to carry a higher rate of success than the single stage approach.

CONFLICT OF INTEREST

None declared.

REFERENCES

1. Grinspon RP, Gottlieb S, Bedecarrás P, Rey RA. Anti-Müllerian Hormone and Testicular Function in Prepubertal Boys With Cryptorchidism. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018; 9:182.
2. Smith SC, Nguyen HT. Barriers to implementation of guidelines for the diagnosis and management of undescended testis. *F1000Res*. 2019; 8:F1000 Faculty Rev-326.
3. Cho A, Thomas J, Perera R, Cherian A. Undescended testis. *BMJ*. 2019; 364:1926.
4. Braz, Albany. Anomalias da migração testicular em Pediatria / Anomalies of testicular migration in Pediatrics *Pediatr*. 2013;49. [Internet] Available at: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-691705?lang=pt%3E>>
5. Virtanen HE, Cortes D, Rajpert-De Meyts E, Ritzén EM, Nordenskjöld A, et al. Development and descent of the testis in relation to cryptorchidism. *Acta Paediatr*. 2007; 96:622-7.
6. Goel P, Rawat JD, Wakhlu A, Kureel SN. Undescended testicle: An update on fertility in cryptorchid men. *Indian J Med Res*. 2015; 141:163-71.
7. Abacı A, Çatlı G, Anık A, Böber E. Epidemiology, classification and management of undescended testes: does medication have value in its treatment? *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2013; 5:65-72.
8. Gill B, Kogan S. Cryptorchidism. Current concepts. *Pediatr Clin North Am*. 1997; 44:1211-27.
9. Geuvbashian G, Jednak R, Capolicchio JP, El-Sherbiny M. Outcome of surgical management of non-palpable testes. *Urol Ann*. 2013; 5:273-6.
10. Hern WM. Correlation of fetal age and measurements between 10 and 26 weeks of gestation. *Obstet Gynecol*. 1984; 63:26-32.

11. Mercer BM, Sklar S, Shariatmadar A, Gillieson MS, D'Alton ME. Fetal foot length as a predictor of gestational age. *Am J Obstet Gynecol.* 1987; 156:350-5.
12. Platt LD, Medearis AL, DeVore GR, Horenstein JM, Carlson DE, Brar HS. Fetal foot length: relationship to menstrual age and fetal measurements in the second trimester. *Obstet Gynecol.* 1988; 71:526-31.
13. Boehme P, Geis B, Doerner J, Wirth S, Hensel KO. Shortcomings in the management of undescended testis: guideline intention vs reality and the underlying causes - insights from the biggest German cohort. *BJU Int.* 2018; 122:644-53.
14. Henna MR, Del Nero RG, Sampaio CZ, Atallah AN, Schettini ST, Castro AA, et al. Soares BG. Hormonal cryptorchidism therapy: systematic review with metanalysis of randomized clinical trials. *Pediatr Surg Int.* 2004; 20:357-9.
15. Aggarwal H, Kogan BA, Feustel PJ. One third of patients with a unilateral palpable undescended testis have a contralateral patent processus. *J Pediatr Surg.* 2012; 47:1711-5.
16. Coveney D, Cool J, Oliver T, Capel B. Four-dimensional analysis of vascularization during primary development of an organ, the gonad. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105:7212-7.
17. Kirsch AJ, Escala J, Duckett JW, Smith GH, Zderic SA, Canning DA, et al. Surgical management of the nonpalpable testis: the Children's Hospital of Philadelphia experience. *J Urol.* 1998; 159:1340-3.
18. Song JQ, Bai DS, Hao CS, Wang HY, Qiu Y, Niu ZS, et al. [Clinical efficacy of two-staged Fowler-Stephens laparoscopic orchidopexy in the treatment of children with high cryptorchidism]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2020; 100:3520-4.
19. Stedman F, Bradshaw CJ, Kufeji D. Current Practice and Outcomes in the Management of Intra-abdominal Testes. *Eur J Pediatr Surg.* 2015; 25:409-13.
20. Heyns CF, Hutson JM. Historical review of theories on testicular descent. *J Urol.* 1995;153 (3 Pt 1):754-67.
21. Backhouse KM. Embryology of testicular descent and maldescent. *Urol Clin North Am.* 1982; 9:315-25.
22. Heyns CF. The gubernaculum during testicular descent in the human fetus. *J Anat.* 1987; 153:93-112.
23. Frey HL, Rajfer J. Role of the gubernaculum and intraabdominal pressure in the process of testicular descent. *J Urol.* 1984; 131:574-9.
24. Favorito LA, Costa SF, Julio-Junior HR, Sampaio FJ. The importance of the gubernaculum in testicular migration during the human fetal period. *Int Braz J Urol.* 2014; 40:722-9.
25. Favorito LA, Sampaio FJ, Javaroni V, Cardoso LE, Costa WS. Proximal insertion of gubernaculum testis in normal human fetuses and in boys with cryptorchidism. *J Urol.* 2000; 164 (3 Pt 1):792-4.
26. Sampaio FJ, Favorito LA. Analysis of testicular migration during the fetal period in humans. *J Urol.* 1998; 159:540-2.
27. Yalçın B, Komesli GH, Özgök Y, Özan H. Vascular anatomy of normal and undescended testes: surgical assessment of anastomotic channels between testicular and deferential arteries. *Urology.* 2005; 66:854-7.
28. Sampaio FJ, Favorito LA, Freitas MA, Damião R, Gouveia E. Arterial supply of the human fetal testis during its migration. *J Urol.* 1999; 161:1603-5.
29. Favorito LA, Costa WS, Sampaio FJ. Applied anatomic study of testicular veins in adult cadavers and in human fetuses. *Int Braz J Urol.* 2007; 33:176-80.
30. Thorup J, Cortes D. Surgical Management of Undescended Testis - Timetable and Outcome: A Debate. *Sex Dev.* 2019; 13:11-19.
31. Longui CA. Diagnóstico e tratamento do criptorquismo [Cryptorchidism: diagnosis and treatment]. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2005; 49:165-71.
32. Elyas R, Guerra LA, Pike J, DeCarli C, Betolli M, Bass J, et al. Is staging beneficial for Fowler-Stephens orchiopexy? A systematic review. *J Urol.* 2010; 183:2012-8.
33. Fowler R, Stephens FD. The role of testicular vascular anatomy in the salvage of high undescended testes. *Aust N Z J Surg.* 1959; 29:92-106.
34. Alagaratnam S, Nathaniel C, Cuckow P, Duffy P, Mushtaq I, Cherian A, et al. Testicular outcome following laparoscopic second stage Fowler-Stephens orchidopexy. *J Pediatr Urol.* 2014; 10:186-92.
35. Agarwal PK, Diaz M, Elder JS. Retractable testis--is it really a normal variant? *J Urol.* 2006; 175:1496-9.
36. Kolon TF, Herndon CD, Baker LA, Baskin LS, Baxter CG, Cheng EY, et al. Evaluation and treatment of cryptorchidism: AUA guideline. *J Urol.* 2014; 192:337-45.
37. Elzeneini WM, Mostafa MS, Dahab MM, Youssef AA, AbouZeid AA. How far can one-stage laparoscopic Fowler-Stephens orchiopexy be implemented in intra-abdominal testes with short spermatic vessels? *J Pediatr Urol.* 2020; 16:197.e1-197.e7.
38. Igarashi A, Kikuchi K, Ogushi K, Hasegawa M, Hatanaka M, Fujino J, et al. Surgical exploration for impalpable testis: Which should be first, inguinal exploration or laparoscopic abdominal exploration? *J Pediatr Surg.* 2018; 53:1766-9.

39. Geuvbashian G, Jednak R, Capolicchio JP, El-Sherbiny M. Outcome of surgical management of non-palpable testes. *Urol Ann.* 2013; 5:273-6.
40. Abouheba MAS, Younis W, Elsokary A, Roshdy W, Waheeb S. Early Clinical Outcome of Staged Laparoscopic Traction Orchidopexy for Abdominal Testes. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* 2019; 29:531-7.
41. Ellis R, Lahiri R, Mahomed A. Mapping testicular blood supply in gubernaculum-sparing second-stage Fowler-Stephens procedure. *Surg Endosc.* 2014; 28:3158-61.
42. Braga LH, Farrokhyar F, McGrath M, Lorenzo AJ. Gubernaculum Testis and Cremasteric Vessel Preservation during Laparoscopic Orchiopexy for Intra-Abdominal Testes: Effect on Testicular Atrophy Rates. *J Urol.* 2019; 201:378-85.
43. Chung JM, Lee SD. Individualized Treatment Guidelines for Postpubertal Cryptorchidism. *World J Mens Health.* 2015; 33:161-6.
44. Daher P, Nabbout P, Feghali J, Riachy E. Is the Fowler-Stephens procedure still indicated for the treatment of nonpalpable intraabdominal testis? *J Pediatr Surg.* 2009; 44:1999-2003.

Correspondence address:

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

ANEXO D – Comprovante Submissão

em Urology

luciano favorito | Logout

HomeMain MenuSubmit a ManuscriptAboutHelp

← Submissions Being Processed for Author ⓘ

Page: 1 of 1 (1 total submissions)Results per page 10

Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Status Date	Current Status
Action Links	URL-D-23-00333	Abdominal Testicular Vessel Distribution in Human Fetuses - Basis for Fowler-Stephens Surgery	23 Feb 2023	05 Mar 2023	Under Review

Page: 1 of 1 (1 total submissions)Results per page 10

ANEXO E – Artigo Submetido**ABDOMINAL TESTICULAR VESSEL DISTRIBUTION IN HUMAN FETUSES -
BASIS FOR FOWLER-STEPHENS SURGERY**

Tatiana S.C.G.Benzi¹, Carla M. Gallo¹, Anneliese Fortuna¹, Waldemar S.Costa¹,
Francisco JB Sampaio¹, Luciano A. Favorito¹.

1- Urogenital Research Unit – State University of Rio de Janeiro – RJ, Brazil

Running head: BASIS FOR FOWLER-STEPHENS SURGERY

Keywords: Fowler-Stephens surgery, Cryptorchidism, Gubernaculum testis, Human fetuses, Testicular migration.

Conflict of interests – None

Corresponding Author:

Luciano Alves Favorito

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

CEP: 20271-320

Telephone number: 55(21) 22644679/ Fax number: 55(21) 38728802

E-mail: lufavorito@yahoo.com.br

**ABDOMINAL TESTICULAR VESSEL DISTRIBUTION IN HUMAN FETUSES
- BASIS FOR FOWLER-STEPHENS SURGERY**

Running head: BASIS FOR FOWLER-STEPHENS SURGERY

Keywords: Fowler-Stephens surgery, Cryptorchidism, Gubernaculum testis, Human fetuses,
Testicular migration.

ABSTRACT

Background: The knowledge of testicular vascular anatomy is a key point in Fowler-Stephens surgery. The objective of this study was to analyze the histology and distribution of abdominal testicular vessels in human fetuses

Patients and Methods: We studied 19 fetuses (34 testes) ranging in age from 12 to 19 weeks post-conception. The fetuses were evaluated regarding crown-rump length (CRL), total length (TL) and body weight immediately before dissection. Each testis was dissected and embedded in paraffin, from which 5 μ m thick sections were obtained and stained with Masson's trichrome and Anti-CD31 antibody to quantify the vessels. The stereological analysis was carried out with the Image Pro and Image J programs, using a grid to determine volumetric densities (Vv). Means were statistically compared using the unpaired T-test ($p < 0.05$).

Results: The fetuses presented weight between 58 g and 551 g (mean=222.5 g), had CRL between 8 cm and 25 cm (mean=15.3 cm), and TL between 11 cm and 56.5 cm (mean= 23.2 cm). All testes were in the abdominal position. The mean percentage of vessels (Vv) in the upper portion of the testis was 7.6% (4.6 to 15%) and in the lower portion the mean was 5.11% (2.3 to 9.8%), with a significant difference ($p=0.0001$). In the analysis between the upper portion of the right and left testes ($p=0.99$) and in the analysis of the lower portion of the right and left testes ($p=0.83$), we did not observe significant differences.

Conclusion: The upper portion of the abdominal testis in human fetuses had a higher concentration of vessels compared to the lower portion. These results confirm the importance of performing minimal manipulation of the lower end of the testis during Fowler-Stephens surgery.

Level of evidence: Level IIc

INTRODUCTION

The testes can be located in the abdomen, inguinal canal, or external inguinal ring (prepubic), or retractable in patients with cryptorchidism [1]. The purpose of surgical treatment of undescended testes is the placement of the testes in the scrotum without atrophy or recurrence. Surgical complications are more common in cases of testicular anomalies, such as small or short vessel testicles [2].

In cases where the testicles are not palpable, laparoscopic or open surgical exploration is necessary to identify the morphology and anatomical locations of the testes, vas deferens and testicular vessels and thus select the most appropriate surgical technique [3]. Most orchidopexies can be performed through inguinal or even scrotal access. Laparoscopy is often used to diagnose non-palpable testes, by assessing testicular position if the testes are atrophic or absent [4,5]. Laparoscopy allows simultaneous performance of orchidopexy with high success rates [6,7].

Two-stage Fowler-Stephens surgery is one of the surgical options to treat high abdominal undescended testis [8]. The knowledge of testicular vascular anatomy is a key point in this procedure. We hypothesized that there are no differences in vessel distribution between the superior and inferior testicular portions. The objective of this study was to analyze the histology and distribution of testicular vessels during the human fetal period.

MATERIAL AND METHODS

The study was approved according to the ethical standards of the hospital's institutional committee on experimentation with human beings (IRB number: 30706720.8.0000.5259).

We studied 34 testes obtained from 19 human male fetuses ranging in age from 12 to 19 weeks post-conception (WPC) during the period from January 2021 to October 2022. All the fetuses were obtained from the maternity service of our hospital with parental approval. The fetuses were macroscopically well preserved, without anomalies of the urinary and genital system, and fetuses with syndromes were excluded.

The gestational age of the fetuses was determined in WPC according to the foot-length criterion, which is currently considered the most acceptable parameter to calculate gestational age [9-12]. The fetuses were also evaluated regarding crown-rump length (CRL) and body weight immediately before dissection. The same observer performed the measurements.

After the measurements, the fetuses were carefully dissected with the aid of a stereoscopic lens with 16/25X magnification. The abdomen and pelvis were opened to expose and identify the urogenital organs. Each testis was separated from the other structures and was fixed in 10% buffered formalin, and routinely processed for paraffin embedding, after which 5 μ m thick sections were obtained at 15 μ m intervals (Figure 1A).

The testicular vessels were studied by histochemical and immunohistochemical methods. The sections were stained with hematoxylin-eosin to assess the integrity of the tissue. We also performed the following staining: Masson's trichrome and CD-31 antibody (ABCAM- rabbit polyclonal anti- human and mouse CD31 with 1:50 dilution) to quantify and observe the testicular vessels. [13].

Five sections were stained and five fields of each section were selected. All selected fields were photographed with a digital camera (Olympus DP70, Tokyo, Japan) under the same conditions at a resolution of 2040 x 1536 pixels, directly coupled to the microscope (Olympus BX51, Tokyo, Japan). and stored in a TIFF file. A line was drawn approximately in the middle part of the cut, dividing the testicle into upper and lower half. The area density of blood vessels was calculated in each of the upper and lower parts (Figure 1B).

We used the Image J software, version 1.46r, loaded with its own plug-in to determine the vessels' volumetric density (Vv). Results for each field were obtained through the quantification assessment method, by superimposing a 100-point test grid (multipurpose test system) on the video monitor screen (Figure 1C). The arithmetic mean of the quantification in 5 fields of each section was determined. Afterwards, we obtained the mean quantification value for the 5 sections studied from each testis (total of 25 test areas).

Statistical Analysis

All parameters were statistically processed and graphically described. The Student t-test was used for comparison of quantitative data between upper and lower testicular portions. The results obtained were compared using analysis of variance (ANOVA) with Tukey's multiple comparisons post-test ($p < 0.05$). Simple linear correlations were calculated for all variables (where r^2 values less than 0.4 reflect very weak correlation, r^2 between 0.4 and 0.7 reflect moderate correlation and r^2 greater than 0.7 indicate strong correlation): fetal weight, fetal age in post-conception weeks and percentage of vessel density in the upper and lower portions of the right and left testicles.

The statistical analysis was performed with GraphPad Prism.

RESULTS

The fetuses ranged in age from 12 to 19 WPC, weighed between 58 g and 551 g (mean=222.5 g), had CRL between 8 cm and 25 cm (mean=15.3cm) and total length between 11 cm and 56.5 cm (mean= 23.2cm). In 19 fetuses, all the 38 testes were in abdominal position. Table 1 reports all biometric data of the 19 fetuses in our sample.

During the histologic preparation we lost 4 testes, so we only analyzed 34 of the 38 testes. The statistical analysis of vessel volumetric density in the upper and lower portion of the testes studied is reported in Table 2. In turn, Figure 2 shows the histological aspects of the vessel distribution in the upper and lower portions of the testes. The histological analysis showed that the upper pole had more vessels during the gestational period studied.

The quantitative analysis indicated no significant differences comparing the upper portion of the right and left testes ($p=0.99$) and in the analysis of the lower portion of the right and left testes ($p=0.83$), but the mean vessel volumetric density in the upper portion of the testes was 7.6% (4.6 to 15%, $SD=0.42$) and in the lower portion the average was 5.11% (2.3 to 9.8%, $SD=0.31$), with a significant difference ($p=0.0001$).

Linear regression analysis showed that gestational age was weakly positively correlated with the vessel density in the upper portion ($y=0.003862x + 7.521$; $r^2=0.000007362$; $p=0.9918$, not significant) and lower portion ($y= 0.08122x + 3.902$; $r^2=0.005674$; $p= 0.7739$, not significant) of the left testes. The gestational age was also weakly positively correlated with vessel density in the upper portion ($y=0.3163x + 12.16$; $r^2=0.1233$; $p= 0.1823$, not significant) and lower portion ($y=0.1720x + 2.312$; $r^2=0.04234$; $p= 0.4282$, not significant) of the right testes (Figure 3).

The linear regression analysis also showed that the fetal weight was weakly positively correlated with vessel density of the upper portion ($y=0.006440x + 6.362$; $r^2=0.09690$; $p=0.2086$, not significant) and lower portion ($y=0.001423x + 4.886$; $r^2=0.006150$; $p=0.7648$, not significant) of the left testes. The fetal weight was weakly positively correlated with the vessel density in the upper portion of the right testes ($y= 0.003964x + 6.674$; $r^2=0.05385$; $p=0.3711$, not significant) and the vessel density in the

DISCUSSION

High abdominal undescended testis is a challenging situation in pediatric urology. Irrespective of the surgical technique, preservation of an adequate arterial supply for the testes is crucial for successful orchidopexy to ensure normal testicular size and texture [14]. The anatomy of testicular arteries is very important to the success of the surgical procedures [15]. Each testis is irrigated by three arteries: the testicular artery (internal spermatic artery), a branch of the right aorta; deferential artery (vasal artery), a branch of the inferior vesicle artery that originates from the anterior trunk of internal iliac artery and cremasteric artery (external spermatic artery), a branch of the inferior epigastric artery. These three arteries penetrate the organ in the mediastinal region, where they provide ample communication [15].

When orchidopexy is performed in patients with intra-abdominal testicles, one of four surgical techniques is applied: conventional orchidopexy, laparoscopic orchidopexy, Fowler-Stephens orchidopexy in one stage, and Fowler-Stephens orchidopexy in two stages [16]. In the four types, surgery consists of locating each testis, dissecting it near the spermatic cord, acquiring free tension, and then repositioning it near the scrotum. When performed open, a medial inguinal incision is made from the anterior superior iliac spine to the external oblique fascia to allow exploration of the peritoneal cavity [17]. Advantages of performing these techniques by laparoscopy include improved visualization, more extensive vascular dissection ability to vessel origin, lower morbidity, and ability to create a medial inner ring to the lower epigastric vessels and perform a straight course to the scrotum [18].

Conventional laparoscopic Fowler-Stephens orchidopexy (CLO), both in one and two stages, is adopted when the testes are located high, and the testicular vessels are too short to be fixed in the scrotum. The vessels are ligated and the blood supply to the testes is preserved via collateral circulation between testicular and deferential arteries, followed by repositioning and fixation of the testes [19]. In this surgery, the gubernaculum is divided, and each testis is brought down medially to the inferior epigastric vessels and a straight course to the scrotum is performed [4,5].

CLO is an accepted technique when the spermatic vessels' length is short and to perform tension-free testicular mobilization at the scrotum. CLO atrophy rates can be as high as 33% [17]. In this technique, previous testicular surgery and vas abnormalities are factors associated with testicular atrophy [20-22].

Recently, an alternative of CLO with gubernaculum preservation and anatomical delivery of the testis through the internal inguinal ring was described, called gubernaculum-sparing laparoscopic orchidopexy (GLSO) [23]. It improves the collateral blood supply to the testes by preserving the gubernaculum and cremasteric vessels, with less atrophy than in CLO [23].

A previous anatomical study of cadavers with undescended testes demonstrated that all testicles studied, including the undescended ones, had testicular, deferential and cremasteric arteries and good communication among the three arteries, with visible anastomotic channels between the testicular and deferential arteries [24]. An interesting study in human fetuses showed that the incidence of extra-numerical arteries in fetuses with testicles located in the abdomen is rare, and in cases of surgery by the Fowler-Stephens technique, they would be maintained by the deferential and cremasteric arteries [25].

This article is the first to evaluate the histology of testicular vessels in human fetuses with the testes positioned in the abdomen, and demonstrates a significant difference between the vascular density in the upper and lower ends of the testicle, which reinforces the importance of preserving the vessels that will give rise to testicular collateral circulation in the lower extremity. Our study demonstrates that vascular density was positively correlated with the age and weight of the studied fetuses. Our results also show that the lower region of the testes has a significantly lower vascular concentration and corroborates the importance of preserving the vascularization that reaches the testes through the region of the testicular gubernaculum and the cremasteric vessels. As described for GSLO, this can be of great benefit and explain the lower atrophy rates observed with this technique [23].

Some limitations of our study should be mentioned: (a) the sample size was small (however, fetuses are rare, so observations of small samples are still relevant); and (b) the ideal sample for the present study would be children aged less than 1 year with cryptorchidism, but due to the rarity of this ideal sample, the study with human fetuses can provide important information for the treatment of cryptorchidism.

CONCLUSIONS:

The upper portion of the abdominal testis in human fetuses had a higher concentration of vessels than the lower portion. These results confirm the importance of performing minimal manipulation of the lower end of the testis during Fowler-Stephens surgery.

REFERENCES

- [1] Heyns CF, Hutson JM. Historical review of theories on testicular descent. *J Urol.* 1995;153(3 Pt 1):754-67.
- [2] Henna MR, Del Nero RG, Sampaio CZ, Atallah AN, Schettini ST, Castro AA, et al. Hormonal cryptorchidism therapy: systematic review with metanalysis of randomized clinical trials. *Pediatr Surg Int.* 2004;20(5):357-9.
- [3] Kolon TF, Herndon CD, Baker LA, Baskin LS, Baxter CG, Cheng EY, et al. Evaluation and treatment of cryptorchidism: AUA guideline. *J Urol.* 2014;192(2):337-45.
- [4] Aggarwal H, Kogan BA. The role of laparoscopy in children with groin problems. *Transl Androl Urol.* 2014;3(4):418-28.
- [5] Kurz D. Current Management of Undescended Testes. *Curr Treat Options Pediatr.* 2016;2(1):43-51.
- [6] Thorup J, Cortes D. Surgical Management of Undescended Testis - Timetable and Outcome: A Debate. *Sex Dev.* 2019;13(1):11-9.
- [7] Virtanen HE, Cortes D, Rajpert-De Meyts E, Ritzén EM, Nordenskjöld A, Skakkebaek NE, et al. Development and descent of the testis in relation to cryptorchidism. *Acta Paediatr.* 2007;96(5):622-7.
- [8] Alagaratnam S, Nathaniel C, Cuckow P, Duffy P, Mushtaq I, Cherian A, et al. Testicular outcome following laparoscopic second stage Fowler-Stephens orchidopexy. *J Pediatr Urol.* 2014;10(1):186-92.
- [9] Hem WM. Correlation of fetal age and measurements between 10 and 26 weeks of gestation. *Obstet Gynecol.* 1984;63(1):26-32.
- [10] Mercer BM, Sklar S, Shariatnadar A, Gillieson MS, D'Alton ME. Fetal foot length as a predictor of gestational age. *Am J Obstet Gynecol.* 1987;156(2):350-5.
- [11] Platt LD, Medearis AL, DeVore GR, Horenstein JM, Carlson DE, Brar HS. Fetal foot length: relationship to menstrual age and fetal measurements in the second trimester. *Obstet Gynecol.* 1988;71(4):526-31.

- [12] Vieiralves RR, Ribeiro GS Jr, Alves EF, Sampaio FJ, Favorito LA. 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.
- [13] Mandarin-de-Lacerda CA, Fernandes-Santos C, Aguila MB. Image analysis and quantitative morphology. *Methods Mol Biol.* 2010; 611:211-25.
- [14] Chung JM, Lee SD. Individualized Treatment Guidelines for Postpubertal Cryptorchidism. *World J Mens Health.* 2015;33(3):161-6.
- [15] Benzi TC, Logsdon NT, Sampaio FJB, Favorito LA. Testicular arteries anatomy applied to fowler-stephens surgery in high undescended testis - a narrative review. *Int Braz J Urol.* 2022;48(1):8-17.
- [16] Fowler R, Stephens FD. The role of testicular vascular anatomy in the salvage of high undescended testes. *Aust N Z J Surg.* 1959; 29:92-106.
- [17] Docimo SG, Silver RI, Cromie W. The undescended testicle: diagnosis and management. *Am Fam Physician.* 2000;62(9):2037-44, 2047-8.
- [18] Elyas R, Guerra LA, Pike J, DeCarli C, Betolli M, Bass J, et al. Is staging beneficial for Fowler-Stephens orchiopexy? A systematic review. *J Urol.* 2010;183(5):2012-8.
- [19] Alagaratnam S, Nathaniel C, Cuckow P, Duffy P, Mushtaq I, Cherian A, et al. Testicular outcome following laparoscopic second stage Fowler-Stephens orchidopexy. *J Pediatr Urol.* 2014;10:186-92.
- [20] Baker LA, Docimo SG, Surer I, Peters C, Cisek L, Diamond DA, et al. A multi-institutional analysis of laparoscopic orchidopexy. *BJU Int.* 2001;87(6):484-9.
- [21] Papparella A, Noviello C, Amici G, Parmeggiani P. Laparoscopic Fowler-Stephens procedure is contraindicated for intraabdominal testicular major duct anomalies. *Surg Endosc.* 2004;24. Epub ahead of print.
- [22] Braga LH, Pippi Salle JL, Dave S, Bagli DJ, Lorenzo AJ, Khoury AE. Outcome analysis of severe chordee correction using tunica vaginalis as a flap in boys with proximal hypospadias. *J Urol.* 2007;178(4 Pt 2):1693-7; discussion 1697.

- [23] Braga LH, Farrokhyar F, McGrath M, Lorenzo AJ. Gubernaculum Testis and Cremasteric Vessel Preservation during Laparoscopic Orchiopexy for Intra-Abdominal Testes: Effect on Testicular Atrophy Rates. *J Urol*. 2019;201(2):378-85.
- [24] Yalçın B, Komesli GH, Özgök Y, Ozan H. Vascular anatomy of normal and undescended testes: surgical assessment of anastomotic channels between testicular and deferential arteries. *Urology*. 2005;66(4):854-7.
- [25] Sampaio FJ, Favorito LA, Freitas MA, Damião R, Gouveia E. Arterial supply of the human fetal testis during its migration. *J Urol*. 1999;161(5):1603-5.

FIGURES

Figure 1: A) The figure shows a fetus with 17 weeks post conception (WPC) with the testis in abdominal position. After the dissection, the bladder (B), the testis (T), the gubernaculum (g), epididymis (e) and the internal inguinal ring (IR) can be observed; B) The photomicrograph shows the testis of a fetus with 16 WPC. A line was drawn, approximately in the middle part of the cut, dividing the testicle into upper (1) and lower half (1). Masson's trichrome X40; and C) morphometric analysis of the fetal testis. The photomicrograph shows the quantification of the vessels in a fetus with 16 WPC using the Image J Test grid software (Masson's trichrome X1000).

Figure 2: Histologic analysis of the testicular vessels A) Photomicrograph showing the distribution of the vessels (arrowhead) in the lower portion of a fetus with 16 weeks post-conception (WPC). Masson's trichrome X1000; B) Photomicrograph showing the distribution of the vessels (arrowhead) in upper portion in a fetus with 17 WPC. Masson's trichrome X1000; C) Photomicrograph showing the distribution of the vessels (arrowhead) in lower portion in a fetus with 19 weeks post-conception (WPC). Immunohistochemical with CD-31 antibody x1000 and D) Photomicrograph showing the distribution of the vessels (arrowhead) in lower portion in a fetus with 18 weeks post-conception (WPC). Immunohistochemical with CD-31 antibody x1000.

Figure 3: Linear regression analysis. The points plotted represent the mean values obtained for each week studied. A) The figure shows linear regression analysis comparing the vessel density of the left testis with fetal age (WPC); B) the figure shows linear regression comparing the vessel density of the right testis with fetal age (WPC); C) the figure shows linear regression comparing the vessel density of the left testis with fetal weight; and D) the figure shows linear regression comparing the vessel density of the right testis with fetal weight.

Figure

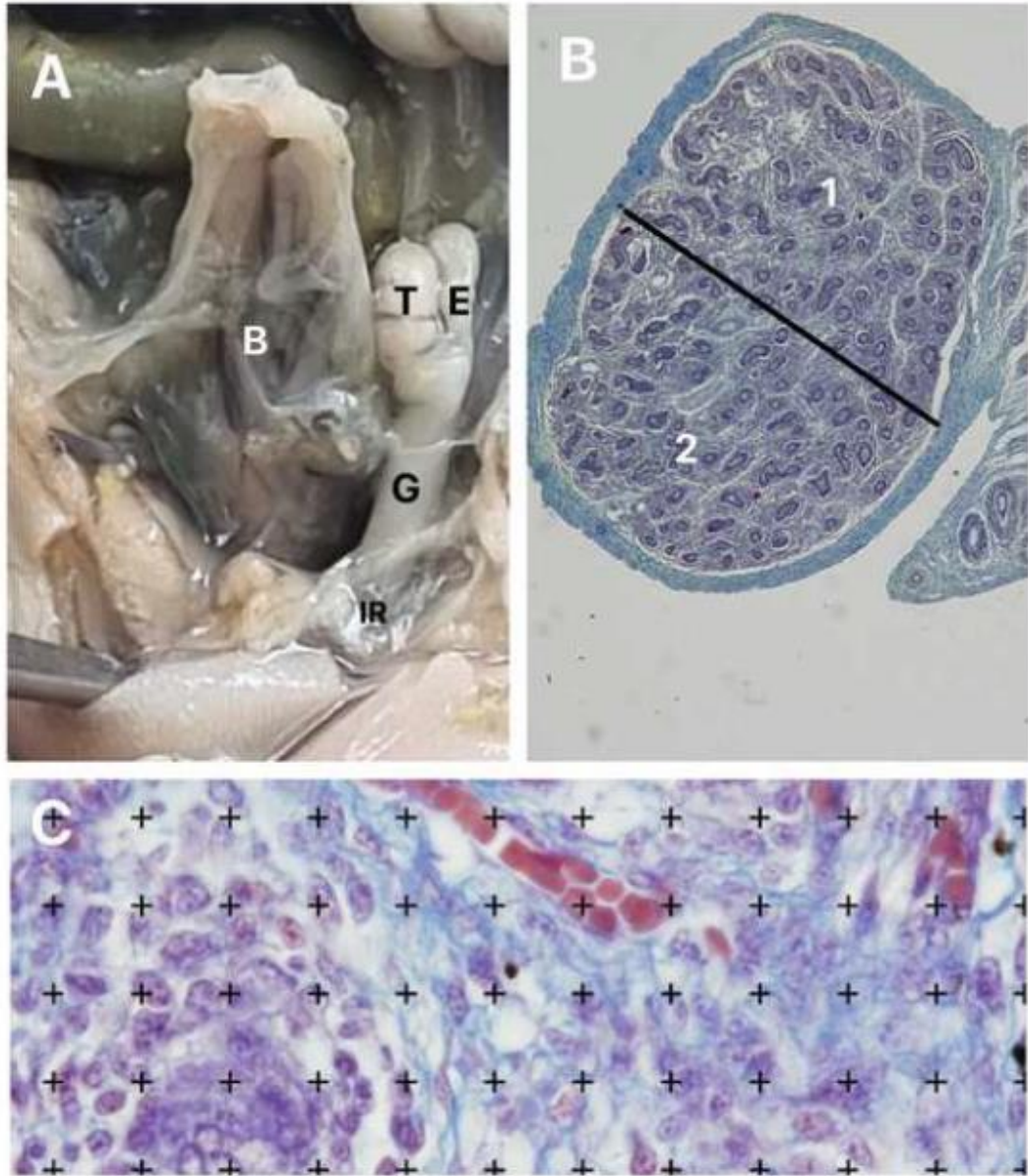
[Click here to access/download;Figure;FIGURE 1.jpg](#)

Figure 2

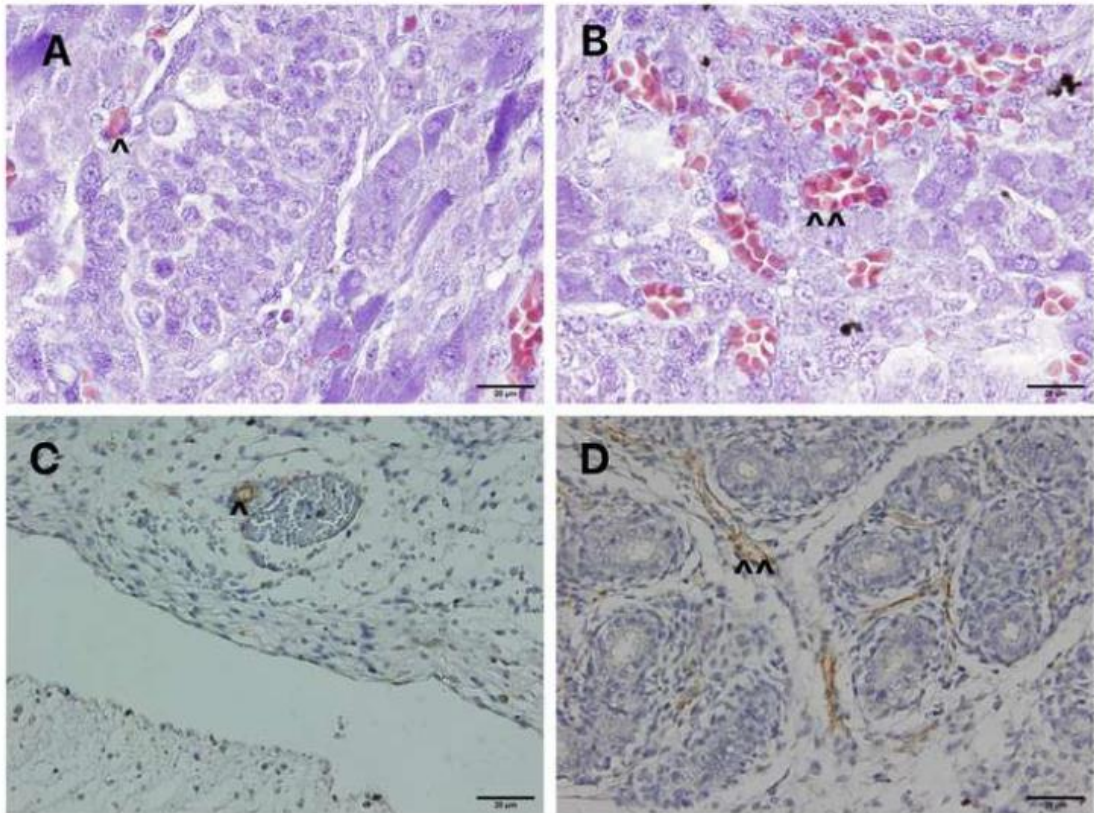
[Click here to access/download;Figure;figure 2 .jpg](#)

Figure 3

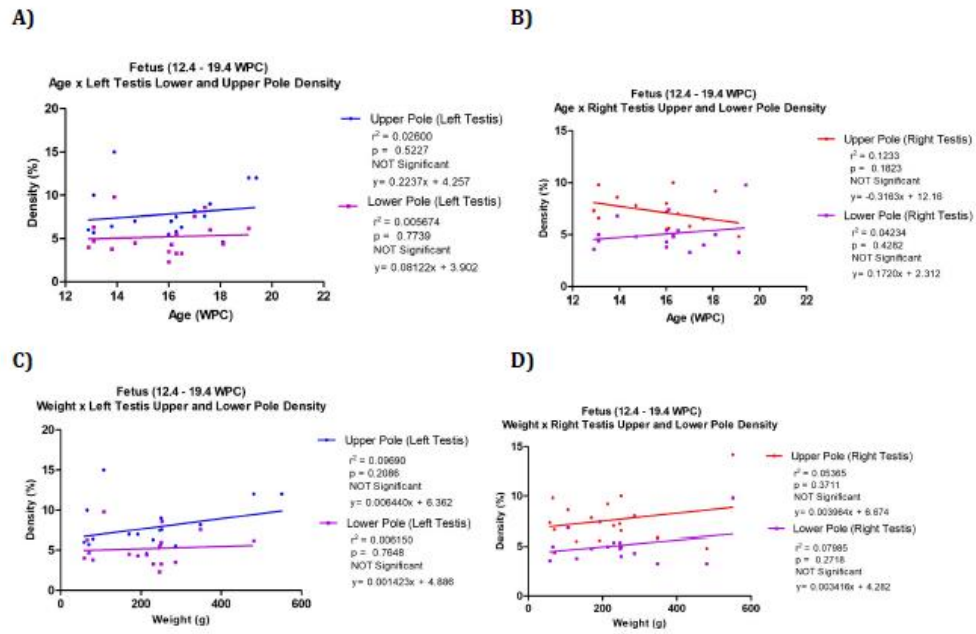
[Click here to access/download;Figure;Figure 3.pdf](#)


Table (Editable version)

[Click here to access/download;Table \(Editable version\);Table 1.docx](#)

Table 1: The table shows the biometric data of the fetus studied and the analysis of the vascular density in the 19 fetuses of our sample. WPC – weeks post conception, RT- Right testis, LT – Left testis, UP – Upper extremity of the testis, LP- Lower Extremity of the testis, CRL- crown rump length, TL- Total Length

Fetus	WPC	RT UP Density (%)	RT LP Density (%)	LT UP Density (%)	LT LP Density (%)	Weight(g)	CRL(cm)	TL(cm)
1	12.9	7.3	3.6	6.0	4.0	58	8.0	11.0
2	13.1	6.6	4.4	5.7	4.7	66	15.0	21.5
3	13.1	9.8	5.0	10.0	6.3	70	11.0	14.0
4	13.8	x	x	6.4	3.8	80	14.0	17.0
5	13.9	8.6	6.8	15.0	9.8	107	17.5	21.0
6	14.7	7.8	4.8	7.0	4.5	170	15.0	18.5
7	16.0	5.5	3.8	x	x	130	15.5	22.0
8	16.0	7.2	5.4	5.3	2.3	246	18.9	24.7
9	16.0	8.0	4.3	5.5	3.5	286	18.2	24.2
10	16.1	5.6	7.4	7.0	4.3	192	8.5	18.0
11	16.3	5.0	4.8	7.5	5.5	247	13.5	18.5
12	16.3	10.0	5.0	5.8	3.3	250	17.0	23.0
13	16.5	7.0	5.4	6.3	3.3	230	17.5	25.0
14	17.0	5.8	3.3	8.2	7.6	348	14.0	56.5
15	17.4	x	X	7.6	8.6	252	18.0	24.5
16	17.6	6.5	4.0	9.0	6.0	250	16.5	24.0
17	18.1	9.2	5.0	4.6	4.4	214	11.5	20.0
18	19.1	4.8	3.3	12.0	6.2	481	17.0	25.0
19	19.4	14.2	9.8	x	x	551	25.0	32.5
Mean	15.9	7.58	5.06	7.58	5.18	222.53	15.35	23.21