



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Kleber Moreira Anderson

Testículo retrátil: estudo do músculo cremaster e de anomalias associadas

Rio de Janeiro

2018

Kleber Moreira Anderson

Testículo retrátil: estudo do músculo cremaster e de anomalias associadas

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Alves Favorito

Rio de Janeiro

2018

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

A543 Anderson, Kleber Moreira.
Testículo retrátil: estudo do músculo cremaster e de anomalias associadas /
Kleber Moreira Anderson. – 2018.
56 f.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Alves Favorito.

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

1. Testículos – Anomalias e Deformidades – Teses. 2. Criptorquidismo. 3.
Músculos abdominais. 4. Doenças testiculares. I. Favorito, Luciano Alves. II.
Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III.
Título.

CDU 618.681-007.41

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira
CRB7/6382

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

Assinatura

Data

Kleber Moreira Anderson

Testículo retrátil: estudo do músculo cremaster e de anomalias associadas

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 6 de junho de 2018.

Banca Examinadora:

Profº Dr. Luciano Alves Favorito (Orientador)

Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Profº Dr. Atila Victal Rondon

Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Profº Dr. Fabricio Borges Carrerette

Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Profº Dr. Nicolino Cesar Rosito

Universidade Federal de Ciências de Saúde de Porto Alegre

Profª Dra. Lisieux Eyer de Jesus

Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro

2018

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais Nelson e Eunice (*in memoriam*), com todo o meu amor e gratidão pela confiança em mim empregada desde a infância. À minha esposa Elisabeth, pelo total apoio e fundamental colaboração para a execução desse trabalho. Aos meus filhos Vinícius, Igor e Bernardo, razões do meu viver. E ao meu enteado Arthur, por fazer parte também dessa família.

AGRADECIMENTOS

A elaboração deste trabalho não teria sido possível sem a colaboração, estímulo e empenho de diversas pessoas. Gostaria, por este fato, de expressar toda a minha gratidão e apreço a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para que esta tarefa se tornasse uma realidade. A todos, quero manifestar os meus sinceros agradecimentos.

Em especial, agradeço ao professor Luciano Alves Favorito, orientador desta tese, pessoa amiga e que acreditou na realização deste trabalho. Um exemplo a ser seguido pelo seu conhecimento e ilimitado incentivo ao ensino e pesquisa.

Aos profissionais integrantes do Laboratório de Pesquisa Urogenital da UERJ, em particular à pesquisadora Suelen Freitas Costa, fundamental na análise histoquímica do material avaliado, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

ANDERSON, Kleber Moreira. **Testículo retrátil: estudo do músculo cremaster e de anomalias associadas**. 2018. 56f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Esta tese tem como objetivo avaliar a incidência de anomalias anatômicas em pacientes com testículos retráteis (TR) e analisar a estrutura do músculo cremaster nesses pacientes, comparando a distribuição dos nervos, sistema elástico e da musculatura com a dos pacientes portadores de criptorquidia e hérnia inguinal (HI). Utilizou-se 20 pacientes com testículos verdadeiramente retráteis (28 testículos), que foram comparados com 25 fetos humanos com o testículo em posição escrotal (50 testículos). Foram analisadas as relações entre testículo, epidídimo e patência do conduto peritônio-vaginal (PV). Para avaliar as relações entre o testículo e o epidídimo, foi utilizada uma classificação de Scorer e Farrington modificada. Para analisar a estrutura do PV, foram consideradas duas situações: (a) obliteração do PV entre anel inguinal interno e polo superior do testículo e (b) patência do PV. Foi utilizado o teste qui-quadrado para análise das populações em estudo. Em continuidade ao trabalho, foram estudados 31 pacientes, 17 com TR (idade média = 5,17anos); nove com HI (idade média = 2,6 anos) e cinco com criptorquidia (idade média = 3 anos). Foi realizada biópsia do cremaster, cujo material obtido foi submetido aos processamentos histológicos de rotina. O músculo liso, os nervos, o tecido conectivo e fibras elásticas foram estudados mediante a utilização de métodos histoquímicos e imunohistoquímicos. Os 25 fetos tinham idades entre 26 a 35 semanas após concepção (SPC) e os 20 pacientes com testículo retrátil tinham idade entre 1 a 12 anos (média 5,8). Nos 50 testículos fetais, foi observada a patência completa do PV em dois casos (4%) e anomalias epididimais (EAs) em apenas um testículo (2%). Dos 28 testículos retráteis, foi observada a patência do PV em seis casos (21,4%) e EAs em quatro pacientes (14,28%). Quando comparada a incidência de EAs e patência do PV nos testículos retráteis com o feto, foi observada uma prevalência significativamente maior destas anomalias nos testículos retráteis ($p=0,0116$). No estudo comparativo entre pacientes com testículo retrátil, criptorquídicos e com hérnia inguinal, não foi observada diferença ($p=0,08$) no diâmetro da fibra muscular entre os grupos: TR (média = $22,80\mu$, DP=9,84), HI (média= $22,76\mu$, DP= 3,01) e criptorquidia (média= $24,75\mu$, DP=7,02). A densidade da fibra muscular apresentou diferença entre os pacientes com TR e o grupo com HI ($p=0,02$): retrátil (média= $17,71\%$, DP=16,67), HI (média= $38,06\%$, DP=14) e criptorquidia (média= $21,47\%$, DP=16,18). Não houve diferença ($p=0,07$) na densidade das fibras elásticas entre os três grupos: TR (média= $8,9\%$, DP=2), HI (média= $8,92\%$, DP= 1,55) e criptorquidia (média= $10,47\%$, DP=1,95). Observou-se menor concentração dos nervos no cremaster de pacientes com TR quando comparados com HI ($p=0,0362$): TR (média= $1,72\%$, DP=0,58), HI (média= $3,28\%$, DP= 0,94) e criptorquidia (média= $2,52\%$, DP=0,53). Conclui-se que o testículo retrátil não é uma variante normal, podendo apresentar patência do conduto peritônio-vaginal, anomalias do epidídimo e alterações significativas na estrutura do cremaster, com menos fibra muscular e nervos quando comparado com os pacientes com hérnia inguinal e similar aos pacientes com criptorquidia.

Palavras-chave: Testículo retrátil. Anomalias associadas. Músculo cremaster. Criptorquidia.

Morfologia.

ABSTRACT

ANDERSON, Kleber Moreira. **Retractile testicle: study of the cremaster muscle and associated anomalies.** 2018. 56f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

This thesis aims to evaluate the incidence of anatomical anomalies in patients with retractile testicles and to analyze the structure of the cremaster muscle in patients with retractile testis (TR), comparing the distribution of nerves, elastic system and musculature with patients with cryptorchidia and hernia inguinal (HI). Twenty patients (28 testicles) were used as materials and methods with truly retractile testicles and compared to 25 human fetuses (50 testicles) with the testicle in a scrotal position. The relationships between testis, epididymis and patency of the vaginal process (PV) were analyzed. To evaluate the relationship between the testis and the epididymis, a specific classification was used. To analyze the PV structure, two situations were considered: (a) obliteration of the PV between the inner inguinal ring and the upper pole of the testis; (b) patency of PV. The chi-square test was used to analyze the populations under study ($p < 0.05$). In continuation of the study, 31 patients were studied, 17 with TR (mean age = 5.17 years); nine with HI (mean age = 2.6 years) and five with cryptorchidism (mean age = 3 years). We performed a biopsy of the cremaster that was submitted to routine histological procedures and studied histochemical and immunohistochemical methods of smooth muscle, nerves, connective tissue and elastic fibers. The 25 fetuses were between 26 and 35 weeks after conception (SPC) and 20 patients with retractile testicles were aged between one and 12 years (mean 5.8). In the 50 fetal testicles, complete patency of the PV was observed in two cases (4%) and AEs in only one testicle (2%). Of the 28 retractile testicles we observed patency of PV in six cases (21.4%) and EAs in four patients (14.28%). When we compared the incidence of AEs and PV patency in the retractile testicles with the fetus, we observed a significantly higher prevalence of these abnormalities in the retractile testicles ($p = 0.0116$). In the comparative study between patients with retractile testicles, cryptorchidics and inguinal hernia, we observed no difference ($p = 0.08$) in muscle fiber diameter, between the groups: TR (mean = 22.80μ , SD = 9.84), HI (mean = 22.76μ , SD = 3.01) and cryptorchidia (mean = 24.75μ , SD = 7.02). The muscle fiber density had a difference between the patients with TR and the group with HI ($p = 0.02$): Retractable (mean = 17.71%, SD = 16.67), HI (mean = 38.06%, SD = 14) and cryptorchidism (mean = 21.47%, SD = 16.18). There was no difference ($p = 0.07$) in elastic fiber density among the three groups: TR (mean = 8.9%, SD = 2), HI (mean = 8.92%, SD = 1.55) and cryptorchidism (mean = 10.47%, SD = 1.95). There was a lower concentration of nerve in the cremaster of patients with TR when compared to HI ($p = 0.0362$): TR (mean = 1.72%, SD = 0.58), HI (mean = 3.28%, SD = 0.94) and cryptorchidism (mean = 2.52%, SD = 0.53). Finally, the thesis concludes that the retractile testis is not a normal variant, with the risk of showing patency of the vaginal peritoneal canal and abnormalities of the epididymis. The retractile testis presented significant alterations in cremaster structure, with less musculature and nerves when compared to patients with inguinal hernia. The same is not a normal variant, presenting the structure of the cremaster muscle similar to the patients with cryptorchidism.

Keywords: Test-coretractile. Associated anomalies. Cremaster muscle. Cryptorchidism. Morphology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Cronologia da migração testicular.....	10
Figura 2 – Desenvolvimento do conduto peritônio-vaginal e sua relação com o gubernáculo e o canal inguinal durante o período de migração do testículo.....	12
Figura 3 – Feto do segundo trimestre gestacional com o testículo situado no abdômen.....	13
Figura 4 – Relações entre o testículo, o epidídimo e a porção proximal do gubernáculo.....	14
Figura 5 – Cadáver adulto do sexo masculino, onde a região inguino-abdominal foi dissecada.....	15
Figura 6 – Desenho esquemático demonstrando o conduto peritônio-vaginal patente (esquerda) e ocluso (direita).....	18
Figura 7 – Desenho esquemático evidenciando a classificação anatômica das relações entre o testículo e o epidídimo.....	19
Figura 8 – Estado de conservação dos fetos utilizados no trabalho.....	20
Figura 9 – Biópsia do músculo cremaster.....	22
Figura 10 – Análise morfométrica do músculo cremaster.....	23
Figura 11 – Paciente de 6 anos de idade portador de testículo retrátil com disjunção total do epidídimo.....	27
Figura 12 – Paciente de 3 anos (A) e 9 anos (B) de idade, portadores de testículo retrátil.....	28
Figura 13 – Densidade muscular do cremaster.....	30
Figura 14 – Sistema elástico do cremaster.....	31
Figura 15 – Nervos do cremaster.....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Idade, a posição testicular e os parâmetros fetais da amostra.....	25
Tabela 2 –	Idade, a posição testicular e a presença de patência do conduto peritônio-vaginal.....	26
Tabela 3 –	Resultados da quantificação nos três grupos estudados.....	29

SUMÁRIO

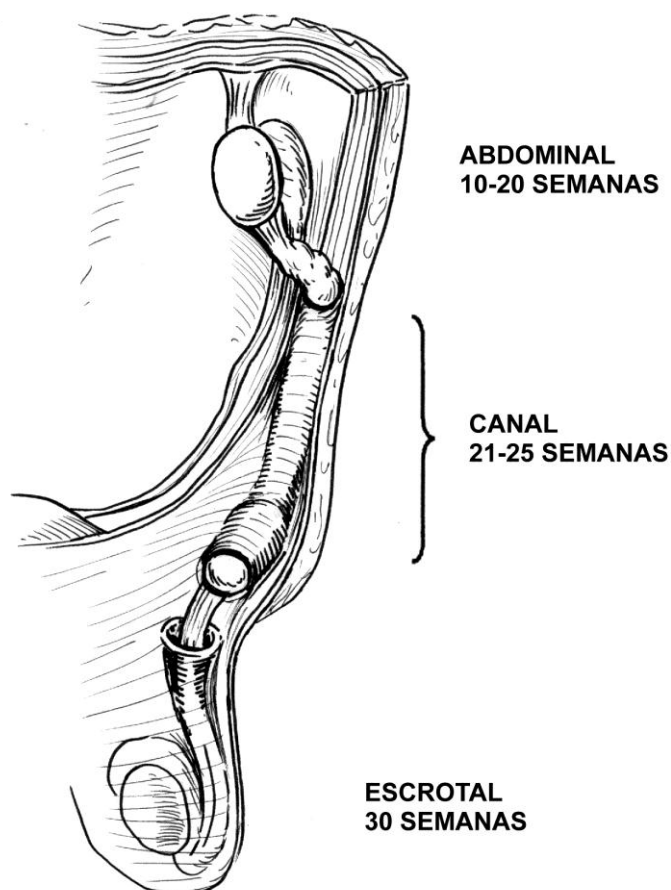
	INTRODUÇÃO	10
1	OBJETIVOS	17
2	MÉTODO	18
2.1	Pacientes estudados	18
2.2	Fetos estudados	20
2.3	Histologia e morfometria	21
2.4	Análise estatística	22
3	RESULTADOS	24
3.1	Análise histológica	29
4	DISCUSSÃO	33
4.1	Testículo retrátil <i>versus</i> anomalias epididimais	34
4.2	Testículo retrátil <i>versus</i> alteração do músculo cremaster	35
	CONCLUSÕES	37
	REFERÊNCIAS	38
	ANEXO A – Structural study of the cremaster muscle in patients with retractile testis (Artigo publicado).....	43
	ANEXO B - Do retractile testes have anatomical anomalies? (Artigo publicado)..	47
	ANEXO C - Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética.....	54

INTRODUÇÃO

O testículo se origina no abdômen e durante o período fetal humano migra através do canal inguinal em direção ao escroto, entre a 15^a e a 28^a semana pós-concepção (Heyns & Hutson, 1995; Sampaio & Favorito, 1998; Hutson *et al*, 2015).

Em trabalho realizado por Sampaio & Favorito (1998), fetos com idade gestacional entre 10 e 20 semanas pós-concepção tinham a maioria dos testículos situada no abdômen; os fetos com a idade entre 21 e 25 semanas pós-concepção tinham a maioria dos testículos situada no canal inguinal e todos os fetos com mais de 30 semanas tinham os testículos situados no escroto (Figura 1).

Figura 1 - Cronologia da migração testicular



Fonte: Sampaio & Favorito, 1998.

Existem alterações que podem afetar este processo, fazendo com que a migração testicular não se complete, originando uma anomalia de posição denominada criptorquidia ou testículo não descido (Hutson *et al*, 2015). Esta condição expõe o testículo à uma temperatura cerca de 2 graus centígrados mais elevada que a temperatura do escroto, o que geralmente pode causar danos ao epitélio germinativo, podendo acarretar infertilidade futura ao paciente, além de estar associada com maior incidência de câncer testicular (Gill & Kogan, 1997; Kollin & Ritzen, 2014; Mikuz, 2015).

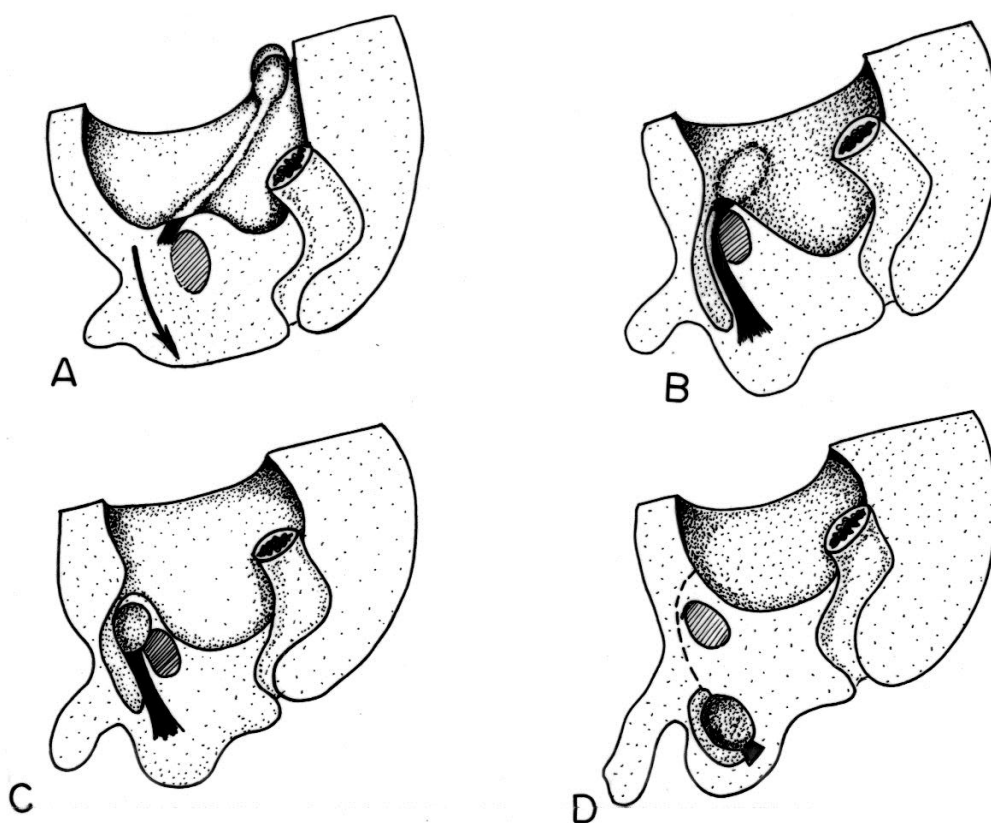
A criptorquidia é uma das alterações congênicas mais comuns no sexo masculino, com uma incidência de 2% a 5% dos nascimentos a termo e apresentando uma incidência que pode chegar a 30% nos nascimentos prematuros (Gill & Kogan, 1997; Lee & Houk, 2013; Hutson *et al*, 2015).

Diversos fatores estão envolvidos na criptorquidia: genético, hormonal e anatômico (Virtanen *et al*, 2007). O risco de criptorquidia é 3,5 vezes maior em pacientes com irmãos portadores da doença e 2,5 vezes maior se o pai tiver tido criptorquidia (Hutson *et al*, 2010). O testículo não descido é também um achado muito frequente nas desordens de diferenciação sexual em pacientes com baixo peso ao nascimento e prematuridade (Virtanen *et al*, 2007). Diversos fatores ambientais parecem estar associados ao testículo não descido e a outras anomalias da genitália masculina, como a hipospádia. Alguns desses fatores são a exposição à organofosforados, o tabagismo materno e o diabetes materno (Mathers *et al*, 2009).

A migração testicular é um processo complexo, sendo mediada por fatores endócrinos e mecânicos. A integridade do eixo entre o hipotálamo, hipófise e o testículo, que regula a produção da testosterona, é importante para esse processo. A criptorquidia é um evento comum em enfermidades nesse eixo, como, por exemplo, o hipogonadismo hipogonadotrófico e a deficiência de 5-alfa-redutase (Hutson *et al*, 2010). A testosterona parece desempenhar papel ativo na migração do testículo, induzindo o desenvolvimento de estruturas importantes para a migração testicular, como o conduto peritônio-vaginal, o ducto deferente, o epidídimo, o canal inguinal e o escroto. Outro mecanismo de ação da testosterona seria através de estímulo do nervo genitofemoral, que induziria a produção do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), que atua estimulando o desenvolvimento do gubernáculo testicular.

Tanto o gubernáculo como o conduto peritônio-vaginal se modificam em sincronia durante a migração testicular. A manutenção deste mesênquima indiferenciado ao longo do canal inguinal e do escroto é essencial para, chegado o momento adequado, ocorrer a extensão inferior do conduto peritônio-vaginal, que mergulha no trajeto definido e dilatado pelo gubernáculo, formando o canal por onde o testículo chegará ao escroto (Figura 2) (Bachouse, 1982; Heyns, 1987; Johansen & Bloom, 1988).

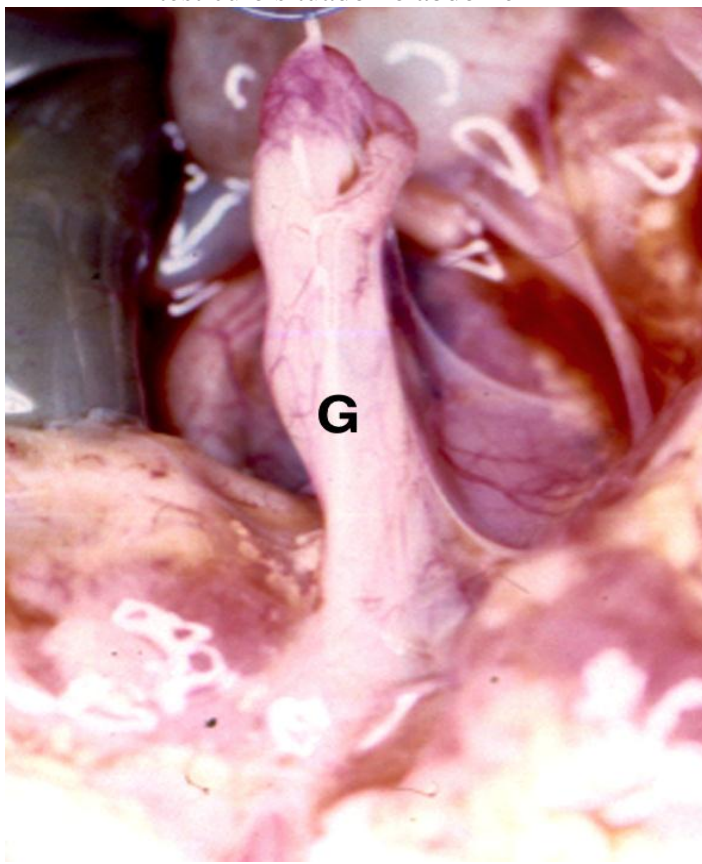
Figura 2 - Desenvolvimento do conduto peritônio-vaginal e sua relação com o gubernáculo e o canal inguinal durante o período de migração do testículo



Legenda: A - Feto no segundo mês de gestação; B - Feto no terceiro mês de gestação; C - Sétimo mês de gestação e D - após o nascimento.
Fonte: Sadler, 1995.

O gubernáculo é uma estrutura cilíndrica, coberta por peritônio em todos os lados, exceto posteriormente, por onde correm os vasos testiculares e o ducto deferente. Macroscopicamente, ele lembra a geléia de Wharton do cordão umbilical (Figura 3). Histologicamente, é constituído por células indiferenciadas de formato alongado, cercadas por grande quantidade de material extracelular onde não se consegue identificar células musculares lisas ou estriadas (Heyns, 1987; Johansen & Bloom, 1988).

Figura 3 - Feto no segundo trimestre gestacional, com o testículo situado no abdômen



Legenda: G - Gubernáculo.

Nota: Observar a relação do gubernaculo testicular com o testículo e o epidídimo.

Fonte: O autor, 2016.

A porção proximal do gubernáculo está aderida ao polo inferior do testículo e ao epidídimo (Figura 4). Durante a migração testicular, estas estruturas se movem através do canal inguinal como se fossem uma só unidade (Beasley & Hutson, 1988; Heyns, 1987; Abe *et al*, 1996; Clarnette & Hutson, 1996). Quando o testículo está no abdômen, o gubernáculo tem sua porção distal identificada no canal inguinal, ao passo que, quando o testículo se localiza no canal inguinal, sua extremidade distal chega até o escroto (Heyns, 1987).

Figura 4 - Relações entre o testículo, o epidídimo e a porção proximal do gubernáculo



Legenda: T - Testículo, E - Epidídimo e G - Gubernáculo.
Fonte: Sadler, 1995.

As gonadotrofinas placentárias e fetais também estão implicadas no processo da migração testicular. Essas substâncias atuam estimulando a produção dos androgênios testiculares, que induzem o crescimento e o desenvolvimento do ducto deferente, do epidídimo, do conduto peritônio-vaginal e do próprio gubernáculo (Henys & Hutson, 1995). É de conhecimento geral que o tratamento da criptorquidia com gonadotrofinas induz a migração do testículo em níveis que variam de 25% a 55% dos casos (Cortes *et al*, 2003).

Outra substância endócrina envolvida na migração testicular seria a descendina. Essa substância secretada pelo testículo, independente dos androgênios, teria um papel importante no crescimento das células mesenquimais do gubernáculo. O gubernáculo seria, portanto, uma das estruturas fetais implicadas na migração testicular mais modificadas pela ação hormonal.

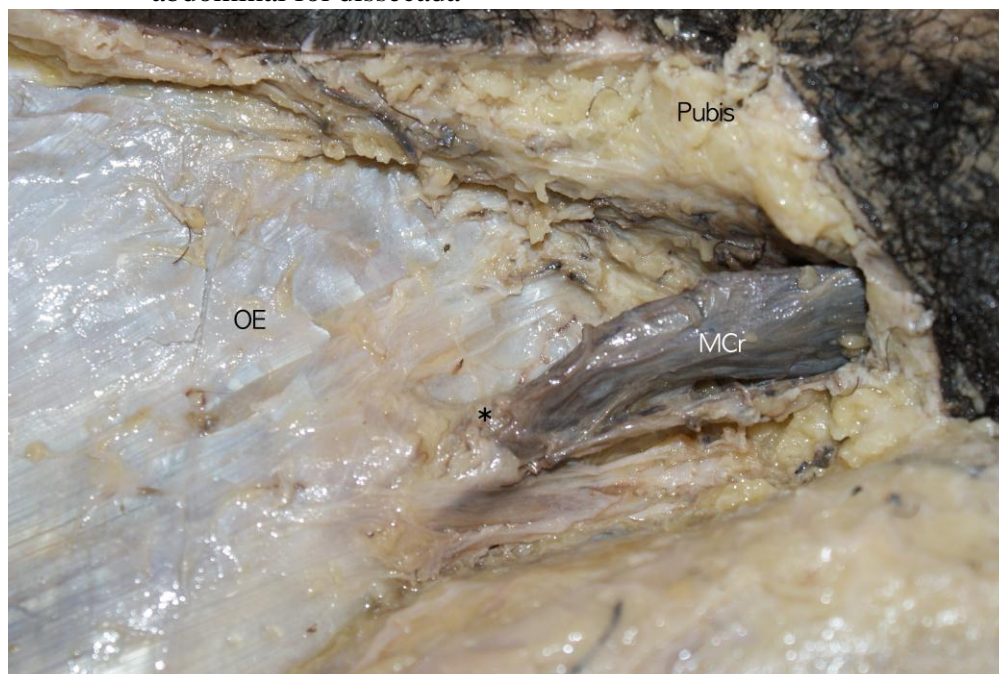
Não completada a migração testicular, caracterizada está a criptorquidia, que pode ser unilateral ou bilateral, sendo mais frequente à direita (Ashley *et al*, 2010). Em geral, 80% dos testículos são palpáveis e 20% não o são, estando na cavidade abdominal ou ausentes (Kaefer, 2002). O testículo não descido pode ser classificado de acordo com a sua posição ao longo do trajeto normal da migração testicular ou em sítios ectópicos, podendo estar localizado no

abdômen, no canal inguinal, no anel inguinal externo (pré-púbico), no períneo, suprapeniano ou ser retrátil (Heyns & Hutson, 1995).

O testículo retrátil é definido como um testículo supra-escrotal que pode ser levado até o escroto, permanecendo nesta região sem tração até que o reflexo cremastérico atue e o tracione para a região supra-escrotal ou inguinal (La Scala & Ein, 2004). A presença do reflexo cremastérico ativo, por si, não define se o testículo é retrátil.

O músculo cremaster constitui-se de fibras musculares contínuas ao músculo oblíquo interno do abdômen (Figura 5).

Figura 5 - Cadáver adulto do sexo masculino, onde a região inguino-abdominal foi dissecada



Nota: Observar a aponeurose do músculo oblíquo externo (OE), o anel inguinal externo (*) e o músculo cremaster (Mcr) envolvendo o funículo espermático.

Fonte: O autor, 1998.

Os testículos retráteis são geralmente considerados como variante fisiológica do normal, tornando-se tópicos na época da puberdade. Porém, o manejo dos pacientes portadores de testículo retrátil permanece controverso entre a observação até a adolescência e a intervenção cirúrgica precoce (Jack Elder 2006).

Os testículos retráteis têm uma prevalência de 4,5 a 13 por 1000 pacientes ou em torno de 35% na idade escolar (5 a 6 anos) e são frequentemente referidos ao cirurgião erroneamente como “testículo não descido” (La Scala e Ein, 2004).

Estudos recentes aconselham apenas observação nos casos de testículo retrátil (Goede *et al.*, 2011; Keys e Heloury, 2012), uma vez que mais de 70% desses pacientes apresentam evolução favorável, sem necessidade de tratamento cirúrgico (La Scala e Ein, 2004); no entanto, o risco destes testículos ascenderem, tornando-se criptorquídicos, pode ocorrer em 25% dos casos na adolescência (Agarwal *et al.*, 2006).

Não obstante, estudos estruturais e ultrassonográficos já demonstraram alterações morfológicas no epitélio germinativo e nas células de Sertoli do testículo retrátil (Cinti *et al.*, 1997; Han *et al.*, 1999), assim como estudo prévio em adultos jovens com testículo retrátil em idade pré-púbere mostrou que somente 28,8% dos pacientes com testículo retrátil tinham espermograma normal (Cauci *et al.*, 1997).

É sabido que anomalias do conduto peritônio-vaginal (PV) e do epidídimo estão associadas à torção testicular (Favorito *et al.*) e são frequentes em pacientes com criptorquidia (Favorito *et al.*). Entretanto, a anatomia do PV e a relação entre o testículo e epidídimo em pacientes com testículo retrátil é desconhecida.

Alguns autores analisaram e compararam as alterações estruturais do músculo cremaster em pacientes com criptorquidia, hidrocele e hérnia inguinal (Esteban *et al.*, 2007; Lie e Hutson, 2011; Tanyel *et al.*, 2000), contudo, estudos da estrutura do músculo cremaster em pacientes com testículos retráteis são raros na literatura.

A hipótese deste estudo é: o músculo cremaster nos pacientes portadores de testículo retrátil apresenta alterações estruturais na sua matriz extracelular, na quantidade e disposição do tecido muscular ou nos nervos? Essas alterações seriam diferentes de pacientes com outras patologias escrotais?

Este estudo se justifica por ser inédito e pela importância da alteração anatômica avaliada, em virtude de sua frequência e da controvérsia da indicação cirúrgica.

1. OBJETIVOS

Avaliar a incidência de anomalias anatômicas em pacientes com testículo retrátil comparando com a anatomia de testículo em fetos normais.

Analisar a estrutura do músculo cremaster em pacientes com testículo retrátil, comparando quantitativamente a densidade por área dos nervos, sistema elástico e da fibra muscular com pacientes portadores de criptorquidia e hérnia inguinal.

2. MÉTODO

O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética e pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto / Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). (ANEXO C).

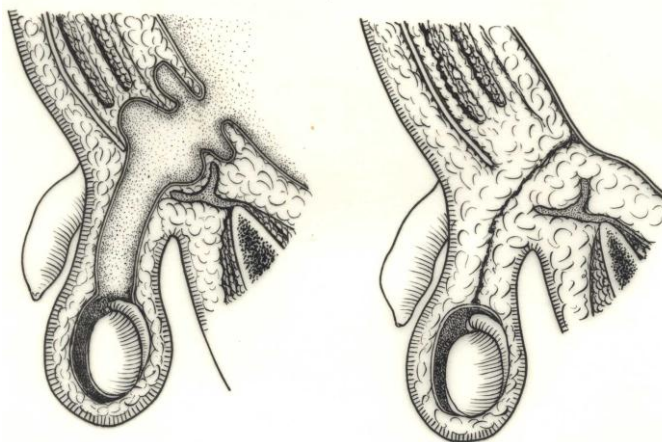
2.1 Pacientes estudados

No período de janeiro de 2014 a janeiro de 2016, foram estudados 20 pacientes (28 testículos) com testículos verdadeiramente retráteis, submetidos ao tratamento cirúrgico, com idade entre um e 12 anos (média=5,8); nove pacientes portadores de hérnia inguinal com idade entre um a sete anos (média=2,6) e cinco pacientes com criptorquidia com idade entre um a quatro anos (média=3). Todos os pacientes com testículo retrátil foram operados por meio de uma incisão paratesticular (técnica de Bianchi) e os demais pacientes por meio de uma incisão transversa na região inguinal.

Durante o procedimento cirúrgico, foram analisados dois parâmetros:

- a) Persistência do conduto peritônio-vaginal - para analisar esse parâmetro foram consideradas duas situações (Figura 6):
 - patência completa do conduto entre o anel inguinal interno e o polo superior do testículo;
 - obliteração do conduto peritônio-vaginal.

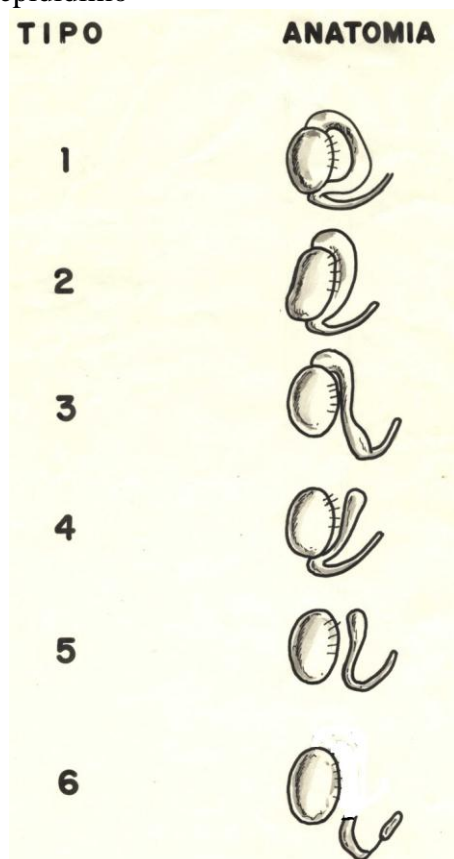
Figura 6 - Desenho esquemático demonstrando o conduto peritônio-vaginal patente (esquerda) e ocluído (direita)



Fonte: Testut e Latarjet, 1978.

- b) Relação entre o testículo e o epidídimo - para análise das relações entre o testículo e o epidídimo durante a cirurgia utilizou-se a classificação de Scorer e Farrington (1971) modificada (Turek *et al*, 1994) (Figura 7). Segundo essa classificação, existem seis tipos de relação entre o testículo e o epidídimo: Tipo I - epidídimo unido ao testículo pela cabeça e pela cauda; Tipo II - epidídimo totalmente unido ao testículo; Tipo III - epidídimo unido ao testículo apenas pela cabeça; Tipo IV - epidídimo unido ao testículo apenas pela cauda; Tipo V - disjunção total entre o testículo e o epidídimo; Tipo VI - atresia epididimária. As relações do tipo I e II são consideradas variantes normais e as classificações do tipo III, IV, V e VI são consideradas anomalias anatômicas (Favorito & Sampaio, 1998).

Figura 7 - Desenho esquemático evidenciando a classificação anatômica das relações entre o testículo e o epidídimo



Nota: Tipo I mostra o epidídimo unido ao testículo pela cabeça e pela cauda; o tipo II evidencia epidídimo totalmente unido ao testículo; o tipo III evidencia o epidídimo unido ao testículo apenas pela cabeça; o tipo IV mostra o epidídimo unido ao testículo apenas pela cauda; o tipo V demonstra a existência de disjunção total entre o testículo e o epidídimo e o tipo VI evidencia a presença de atresia epididimária.

Fonte: Turek, 1994

2.2 Fetos estudados

Foram estudados como grupo controle e comparados com os pacientes portadores de testículo retrátil 25 fetos humanos (50 testículos) com testículo em posição escrotal. Todos os fetos estudados encontravam-se em perfeito estado de conservação, com classificação grau I, segundo Streeter (Streeter, 1920); ou seja, róseo, brilhante, tecidos firmes, sem traumatismos, hematomas ou malformações congênitas (Figura 8). Após constatado o óbito, os fetos foram mantidos à uma refrigeração menor que 4 graus centígrados, por um período de 24 a 72 horas.

Após chegarem ao Laboratório de Pesquisa Urogenital da UERJ, os fetos foram descongelados, limpos, identificados e analisados quanto ao seu aspecto morfológico.

Como primeira medida, os fetos foram pesados numa balança de precisão de 1,0 grama. Em seguida, foram tomadas medidas lineares: Comprimento Total (CT), Comprimento Vértice-Cóccix (VC) e Comprimento do Maior Pé. Para as medidas lineares, usou-se uma fita métrica e para o comprimento do maior pé (região mais posterior do calcanhar até a extremidade do dedo mais proeminente, 1º ou 2º), foi utilizado um paquímetro de 0,01 cm de precisão. Todas as medidas foram feitas pelo mesmo investigador e anotadas em protocolo próprio.

Para se estimar a idade gestacional dos fetos, foi utilizada a medida do comprimento do maior pé (Hern, 1984; Mercer, 1987, Platt, 1988). Essa medida foi analisada em um gráfico (Streeter, 1920) que correlaciona o comprimento do maior pé com a idade gestacional em semanas pós-concepção.

Figura 8 – Bom estado de conservação de um dos fetos utilizados no trabalho



Fonte: O autor, 2016.

Após a realização das medidas, os fetos foram dissecados cuidadosamente com o auxílio de uma lupa com magnificação 16/25x. O abdômen e pelve foram expostos para identificar os órgãos urogenital, o canal inguinal e posição dos testículos.

A posição testicular foi classificada após dissecção em: a) abdominal, quando o testículo se situava próximo ao canal inguinal interno; b) inguinal, quando este era encontrado entre o anel inguinal interno e externo; c) escrotal, quando o testículo tinha passado além do

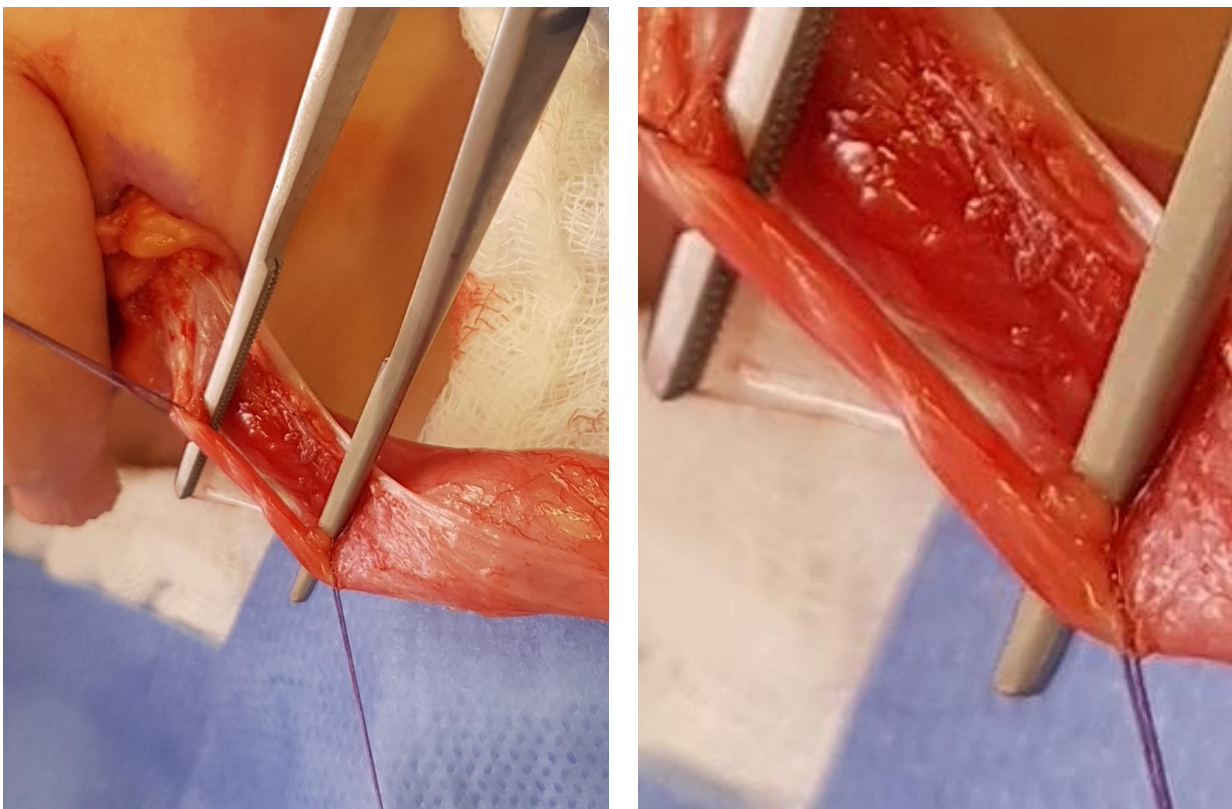
canal inguinal externo e estava dentro da bolsa escrotal. Foi observado nos fetos e nos pacientes a patência ou não do conduto peritônio-vaginal e a relação entre testículo e epidídimo.

2.3 **Histologia e morfometria**

Durante o procedimento cirúrgico, no momento da dissecação do testículo e do cordão espermático, foi realizada uma biópsia do músculo cremaster (Figura 9), cuja amostra era separada das outras estruturas e fixada em formalina a 10%, e rotineiramente processada para inclusão em parafina. Músculo liso, tecido conectivo e fibras elásticas foram estudados por histoquímica e os nervos por imuno-histoquímica.

As amostras foram processadas de acordo com a técnica de rotina do Laboratório de Pesquisa Urogenital da UERJ, desidratado em banhos sucessivos de álcool, diafanizado em xilol e incluído em parafina. Destes blocos foram feitos cortes de 5 µm com intervalos de 200 µm que posteriormente foram submetidos a diferentes marcações. Para a análise histoquímica, os cortes foram corados com Hematoxilina e Eosina, para a verificação da integridade do material, Tricrômico de Masson, para a observação e quantificação do tecido muscular, Resorcina Fucsina de Weigert com prévia oxidação pela oxona para a observação das fibras do sistema elástico. A análise imuno-histoquímica dos nervos do cremaster foi realizada com anticorpo tubulina (Tubulina, beta III, 1:100 Abcam, monoclonal, Ref; Ab78078 VK).

Figura 9 – Biópsia do músculo cremaster realizada durante o ato cirúrgico

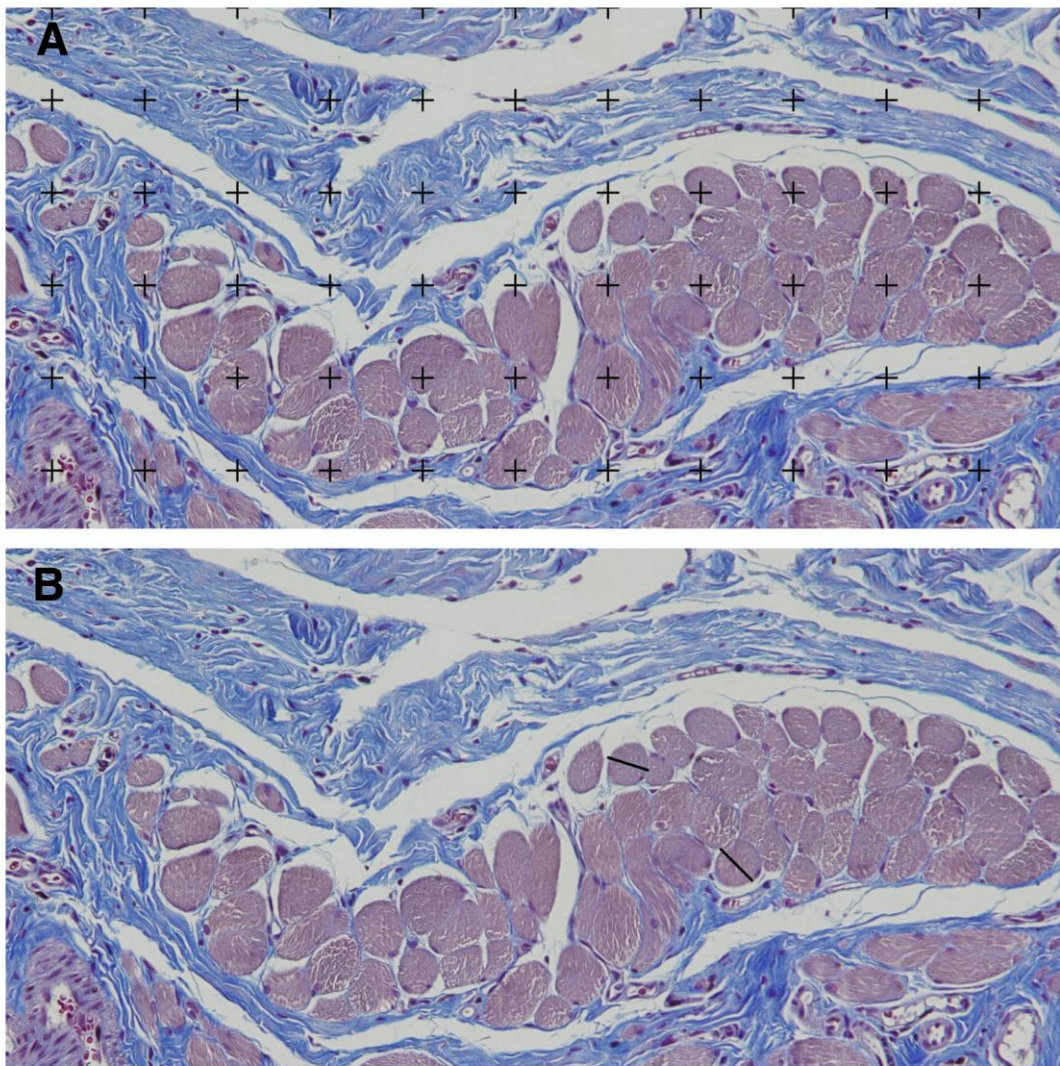


Fonte: O autor, 2016.

2.4 Análise estatística

Foi utilizado teste qui-quadrado para análise das populações em estudo ($p < 0,05$), com software Graph Pad Prism e o teste one way ANOVA com pós teste de Bonferroni para a análise estatística. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Médias foram comparadas usando ANOVA e o Teste T não-pareado ($p < 0,05$).

Figura 10 - Análise morfométrica do músculo cremaster



Nota: A) Quantificação do tecido muscular com o software do Image J usando a grade de 100 pontos. Paciente de 10 anos com testículo retrátil. Tricrômico de Masson X200. B) Quantificação do diâmetro da fibra muscular utilizando o software Image J e a ferramenta "straight" onde uma linha reta (em preto) entre as duas extremidades da fibra muscular foi marcada e a distância medida. Paciente com 10 anos de idade com testículo retrátil. Tricrômico de Masson X200.

Fonte: O Autor, 2016.

3. RESULTADOS

Os fetos apresentaram idade gestacional entre 25 a 35 semanas pós-concepção (SPC), com peso variando entre 741 e 2.600 gramas, e tinham comprimento cabeça-nádega variando entre 23 e 34cm. A tabela 1 mostra os parâmetros fetais e a posição dos testículos dessas amostras. Nos 50 testículos fetais, foram observadas completas patências do PV em dois casos (4%) e EAs em somente um testículo (2%). Dois fetos apresentaram patência do PV no testículo esquerdo e somente um feto tinha anomalia no epidídimo (disjunção caudal – tipo III), no lado direito.

Dos 20 pacientes, 12 tinham testículo retrátil unilateral e oito tinham testículo retrátil bilateral. Os pacientes tinham idades entre 1 e 12 anos (média 5.8). Nesse grupo de pacientes, cujo testículo estava situado na bolsa escrotal, o PV não estava patente e não foi observada anomalia. Podemos observar na tabela 2 a idade dos pacientes, a posição dos testículos, a permeabilidade ou não do PV e a presença ou não de anomalia do epidídimo nessa amostragem.

Dos 28 testículos retráteis, observamos patência do PV em seis casos (21,4%) e EAs em quatro casos (14,28%). Dos seis casos de patência do PV, quatro (66,6%) eram do lado direito e dois (33,3%) do lado esquerdo. Dos quatro casos de anomalia do epidídimo, dois (50%) estavam do lado direito e dois do lado esquerdo. A maioria das anomalias do epidídimo (3) era da disjunção da cauda (tipo III) e somente em um caso foi observada a disjunção total do epidídimo (tipo IV). Um dos pacientes teve testículo retrátil bilateral com patência bilateral do PV e anomalia epididimal no testículo esquerdo. Foram observados casos de anomalias do epidídimo e de patência do conduto peritoneo-vaginal em pacientes portadores de testículo retrátil, como pode ser observado nas figuras 11 e 12. Quando comparada a incidência de EAs e patência do PV nos testículos retráteis com o feto, observou-se significativa prevalência dessas anomalias nos testículos retráteis ($p=0,0116$).

Tabela 1 – Parâmetros fetais da amostra: peso, tamanho, idade e posição testicular

Feto	Peso (g)	CCN (cm)	Idade (SPC)	TD	TE
1	751	24	25	Escroto	Escroto
2	741	23	26	Escroto	Escroto
3	1010	25,5	27	Escroto	Escroto
4	1075	26	27	Escroto	Escroto
5	1277	29,5	27	Escroto	Escroto
6	1330	28	27	Escroto	Escroto
7	990	25,5	28	Escroto	Escroto
8	1027	25	28	Escroto	Escroto
9	1029	26	28	Escroto	Escroto
10	1100	26	28	Escroto	Escroto
11	1195	27	28	Escroto	Escroto
12	1291	27,5	28	Escroto	Escroto
13	1414	36,5	28	Escroto	Escroto
14	1475	29,5	28	Escroto	Escroto
15	1634	30	28	Escroto	Escroto
16	1190	27	29	Escroto	Escroto
17	1640	27	29	Escroto	Escroto
18	1790	29,5	30	Escroto	Escroto
19	1800	29	30	Escroto	Escroto
20	1790	28	31	Escroto	Escroto
21	1740	32	31	Escroto	Escroto
22	1520	28	32	Escroto	Escroto
23	2124	30,5	33	Escroto	Escroto
24	2530	33	35	Escroto	Escroto
25	2600	34	35	Escroto	Escroto

Legenda: SPC = idade em semanas na pós-concepção, g = gramas; CCN = comprimento cabeça-nádega; cm = centímetros; TD = testículo direito e TE = testículo esquerdo.

Nota: A idade dos fetos variou entre 25 e 35 SPC, com peso entre 2600 e 741 g, e tinha o comprimento cabeça-nádega entre 23 e 34 cm. Os fetos número 2 e 3 tinham patência do conduto peritônio-vaginal no testículo esquerdo e somente o feto 10 tinha uma anomalia epididimal (disjunção de cauda) no lado direito.

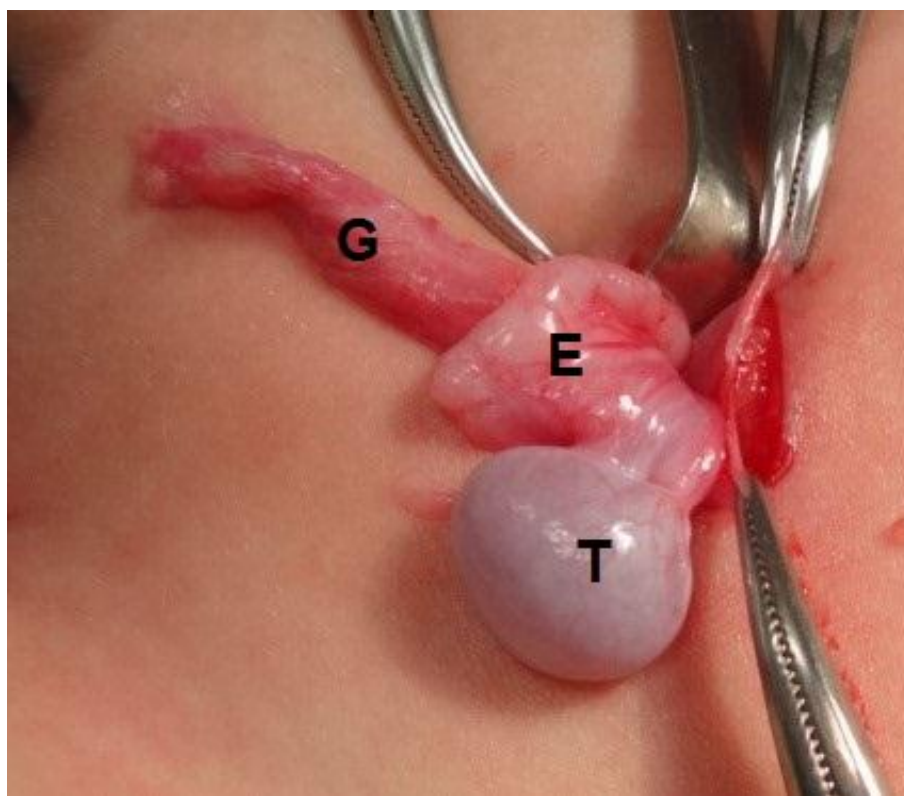
Tabela 2 - Idade, a posição testicular e a presença de patência do conduto peritônio-vaginal

Paciente	Idade	TD	TE	PV	Epidídimo
1	1	Retrátil	Retrátil	Obliterado	Normal
2	2	Retrátil	Escroto	Obliterado	Normal
3	2	Escroto	Retrátil	Obliterado	Normal
4	3	Escroto	Retrátil	Obliterado	Normal
5	3	Escroto	Retrátil	Obliterado	Normal
6	3	Retrátil	Escroto	Patência	Anomalia
7	3	Retrátil	Escroto	Obliterado	Normal
8	4	Escroto	Retrátil	Obliterado	Normal
9	5	Retrátil	Escroto	Obliterado	Normal
10	6	Retrátil	Retrátil	Patência Bil	Anomalia no LT
11	6	Retrátil	Retrátil	Obliterado	Normal
12	7	Retrátil	Retrátil	Obliterado	Normal
13	7	Retrátil	Escroto	Obliterado	Normal
14	8	Retrátil	Retrátil	Obliterado	Normal
15	8	Retrátil	Retrátil	Obliterado	Normal
16	9	Retrátil	Retrátil	Obliterado	Normal
17	9	Retrátil	Escroto	Patência	Anomalia
18	11	Escroto	Retrátil	Patência	Normal
19	11	Retrátil	Escroto	Patência	Anomalia
20	12	Retrátil	Retrátil	Obliterado	Normal

Legenda: PV = conduto Peritônio-vaginal; Bil = bilateral, TD = testículo direito e TE = testículo esquerdo.

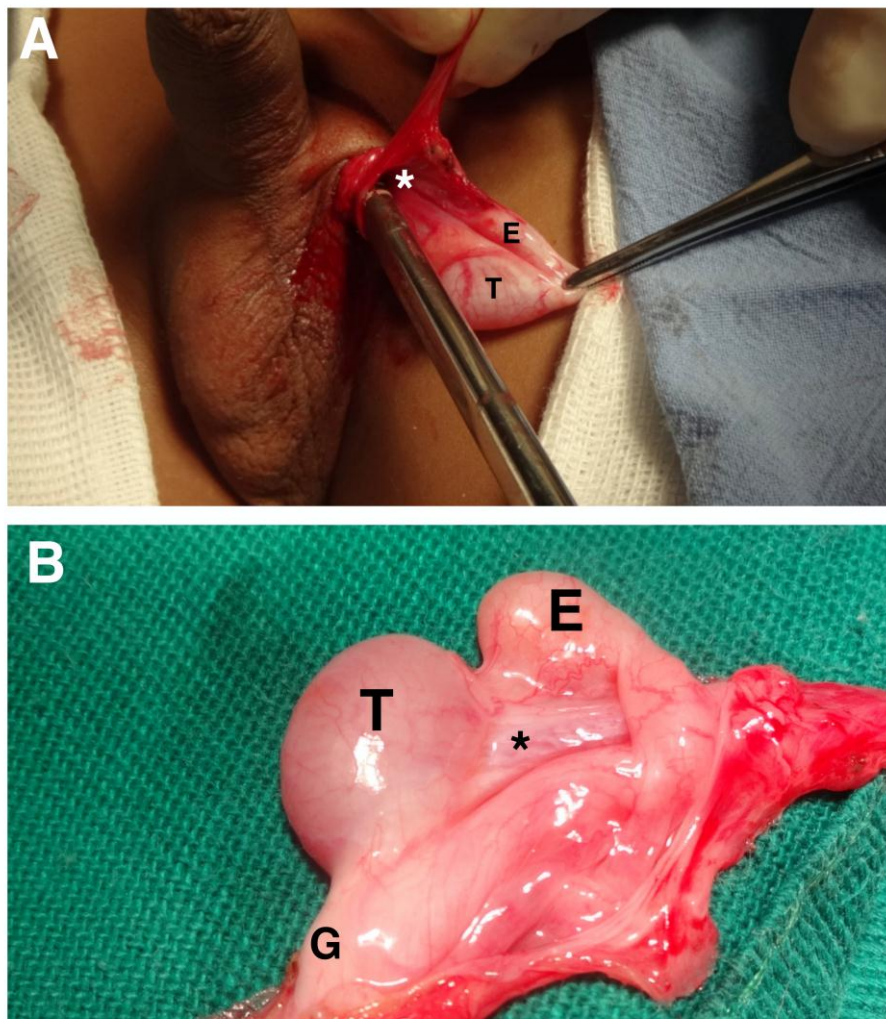
Nota: Nesta amostra, todos os testículos situados no escroto tinham condutos peritônio-vaginal obliterados e não observamos anomalias epididimais nos testículos escrotais. O paciente número 10 tinha testículo retrátil bilateral com patência bilateral do conduto peritônio-vaginal e anomalia epididimal no testículo esquerdo.

Figura 11 - Paciente de seis anos de idade portador de testículo retrátil com disjunção total do epidídimo



Legenda: T= Testículo, E=Epididimo, G= Gubernaculo
Fonte: O autor, 2016.

Figura 12 - Pacientes de três anos (A) e nove anos (B) de idade, portadores de testículo retrátil



Nota: (A) Durante a cirurgia foi evidenciada a patência do conduto peritônio-vaginal (*). A pinça anatômica se encontra no interior do conduto peritônio-vaginal patente. No segundo caso, observar que o epidídimo se encontra unido apenas à cabeça do testículo.

Legenda: T= Testículo, E=Epididimo, G= Gubernaculo e * = mesorquio.

Fonte: O autor, 2016.

3.1 Análise histológica

Os resultados da quantificação realizada nos três grupos estudados podem ser observados na tabela 3.

Tabela 3- Quantificação nos três grupos estudados

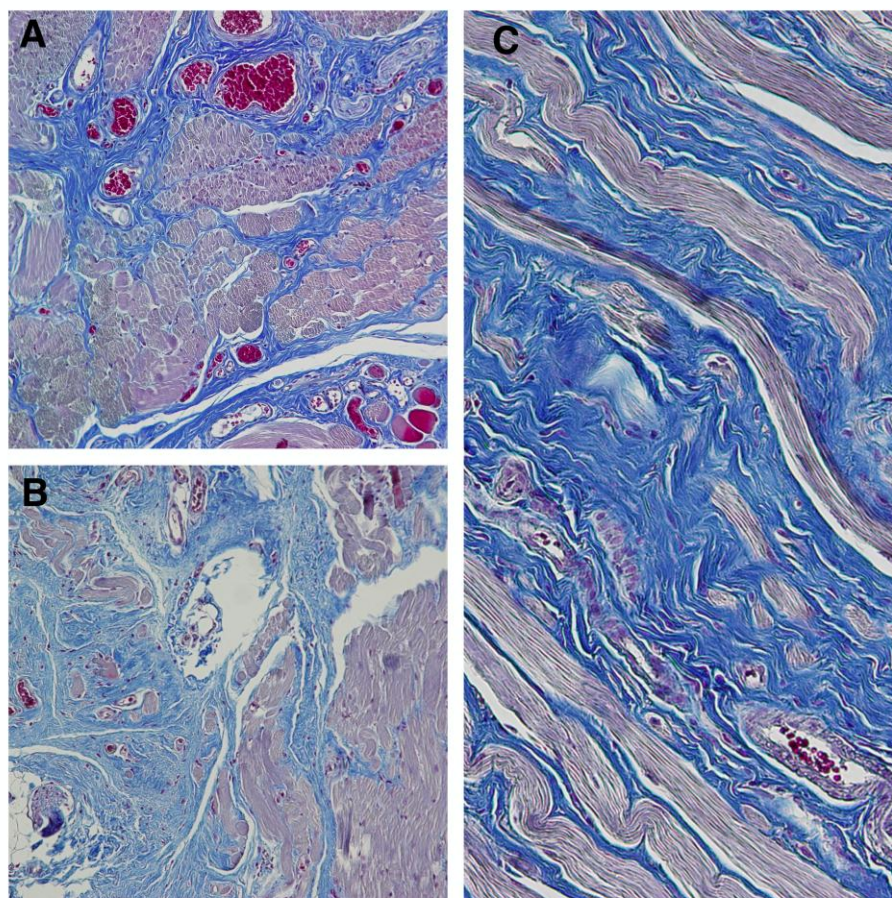
Grupo	Idade	Fibra muscular M (μ) /DP	Musc M (%) /DP	Elástico M (%) /DP	Nervo M (%) /DP
Retrátil	5,17	22,8/9,84	17,71/16,67	8,9/2	1,72/0,58
Hérnia	2,6	22,76/3,01	38,06/14	8,92/1,55	3,28/0,94
Criptorquidia	3	24,75/7,02	21,47/16,18	10,47/1,95	2,52/0,53

Nota: Estão discriminados a média de idade nos três grupos e os resultados da quantificação dos seguintes parâmetros: diâmetro das fibras musculares em micrômetros; a densidade muscular, sistema elástico e a quantificação dos nervos.

Legenda: Média (M); desvio padrão (DP); μ = micrômetros; fibras musculares (Fibra); densidade muscular (Musc).

A análise quantitativa não mostrou diferença ($p=0,08$) no diâmetro da fibra muscular, medida em micrômetros(μ), entre os três grupos: retrátil (média=22,80 μ , desvio padrão (DP)=9,84), hérnia inguinal (média=22,76 μ , DP= 3,01) e criptorquidia (média=24,75 μ , DP=7,02). A densidade da fibra muscular teve diferença significativa entre os pacientes com testículo retrátil e o grupo com hérnia inguinal ($p=0,02$): retrátil (média=17,71%, DP=16,67), hérnia inguinal (média=38.06%, DP=14) e criptorquidia (média=21.47%, DP=16,18). A Figura 13 evidencia a distribuição da musculatura nos três grupos estudados.

Figura 13 - Densidade muscular do cremaster



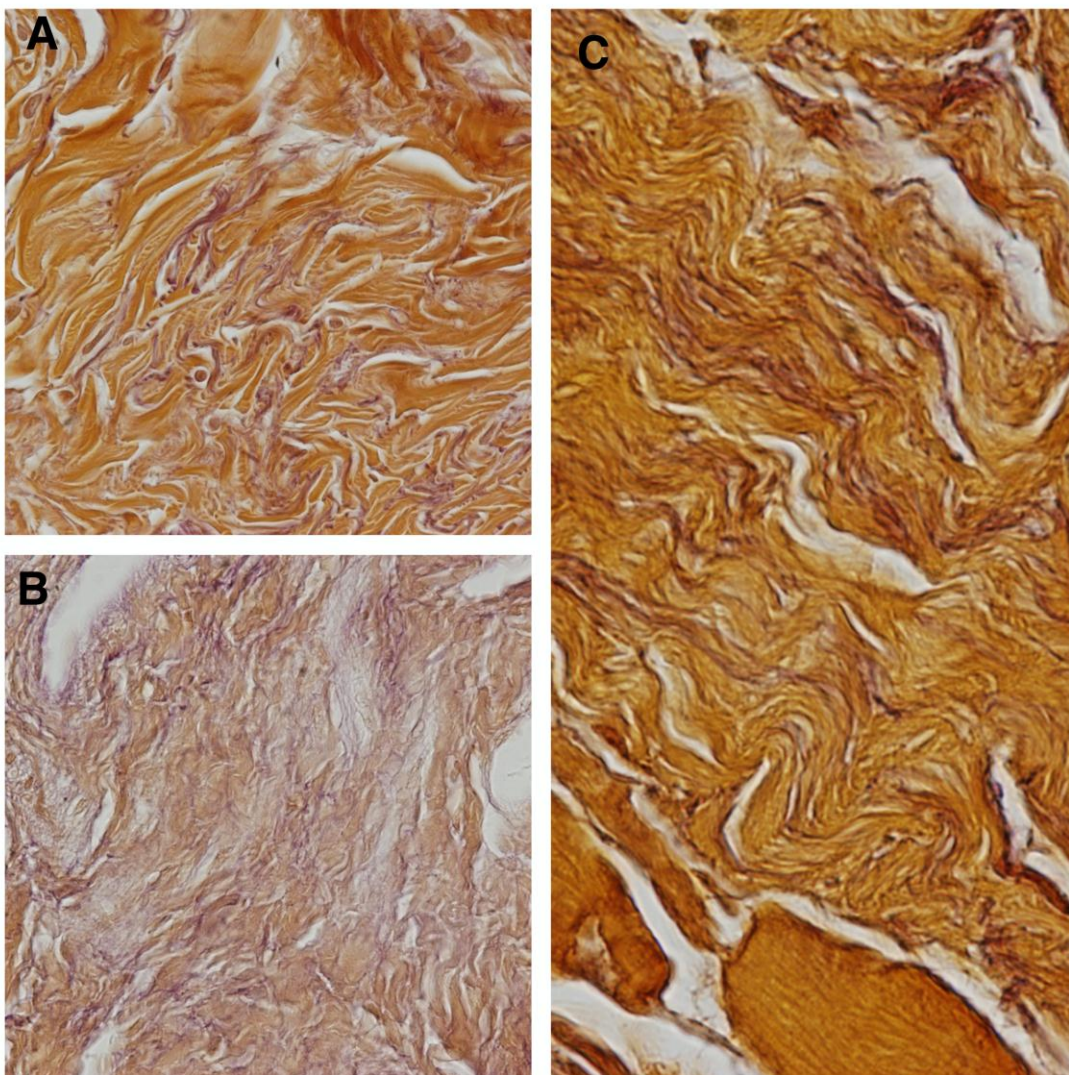
Legenda: A) Fotomicrografia mostrando a musculatura (vermelho) do cremaster de um paciente com 2 anos de idade portador de hérnia inguinal. Tricrômico de Masson X200; B) Fotomicrografia mostrando a musculatura (vermelho) do cremaster de um paciente com 3 anos de idade portador de criptorquidia. Tricrômico de Masson X200, C) Fotomicrografia mostrando a musculatura (vermelho) do cremaster de um paciente com 5 anos de idade portador de testículo retrátil. Tricrômico de Masson X200.

Fonte: O Autor, 2016.

A análise quantitativa não mostrou diferença ($p=0,07$) na densidade das fibras elásticas, entre os três grupos: Retrátil (média=8,9%, DP=2), hérnia inguinal (média=8,92%, DP= 1,55) e criptorquidia (média=10,47%, DP=1,95). A distribuição do sistema elástico no músculo cremaster nos três grupos estudados pode ser vista na figura 14.

A análise quantitativa dos nervos do cremaster mostrou uma menor concentração das fibras nervosas nos pacientes com testículo retrátil quando comparados com o grupo dos portadores de hérnia inguinal ($p=0,0362$): Retrátil (média=1,72%, DP=0,58), hérnia inguinal (média=3,28%, DP= 0,94) e criptorquidia (média=2,52%, DP=0,53). A distribuição dos nervos do cremaster nos três grupos estudados pode ser vista na figura 15.

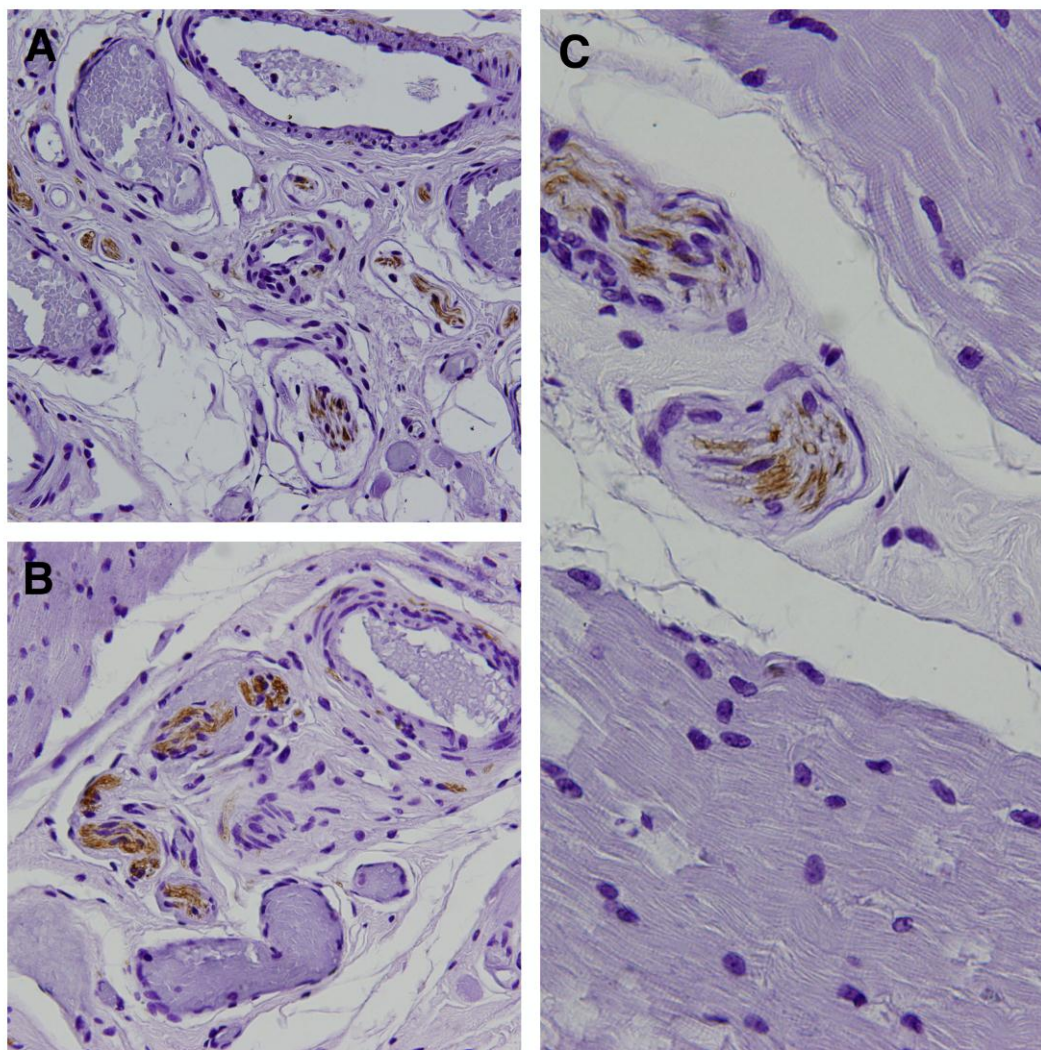
Figura 14 - Sistema elástico do cremaster



Legenda: A) Fotomicrografia mostrando as fibras elásticas (marrom) do cremaster de um paciente com 3 anos de idade portador de hérnia inguinal. Coloração de Weigert X200; B) Fotomicrografia demonstrando as fibras elásticas (marrom) do cremaster de um paciente com 1 ano de idade portador de criptorquidia. Coloração de Weigert X200; C) Fotomicrografia mostrando as fibras elásticas (marrom) do cremaster de um paciente com 4 anos de idade portador de testículo retrátil. Coloração de Weigert X200.

Fonte: O autor, 2016.

Figura 15 - Nervos do cremaster



Legenda: A) Fotomicrografia mostrando os nervos (marrom) do cremaster de um paciente com 2 anos de idade portador de hérnia inguinal. Tubulina X200; B) Fotomicrografia mostrando os nervos (marrom) do cremaster de um paciente com 2 anos de idade portador de criptorquidia. Tubulina X200, C) Fotomicrografia mostrando os nervos (marrom) do cremaster de um paciente com 4 anos de idade portador de testículo retrátil. Tubulina X200.

Fonte: O autor, 2016.

4 DISCUSSÃO

O testículo retrátil tem sido considerado como uma variante do testículo normal, pois geralmente completa sua migração até o escroto durante a adolescência (Kolon *et al.*, 2004). Pacientes com essa alteração devem ser periodicamente avaliados até o final da adolescência ou até o término da migração testicular ao escroto (Tekgul *et al.*, 2012). As diretrizes da *European Association of Urology* corroboram essa conduta, reiterando que casos de testículo retrátil não necessitam tratamento ou intervenção cirúrgica e devem apenas ser monitorados periodicamente até a adolescência (Tekgul *et al.*, 2012). Entretanto, as avaliações periódicas podem causar desconforto, transtorno com o deslocamento e preocupação em alguns pais, que preferem a intervenção cirúrgica ao invés do acompanhamento (Anderson *et al.*, 2016).

Um estudo de grande relevância analisou 204 testículos retráteis e observou risco de testículo ascendente em mais de 30% dos casos. Nos pacientes desse estudo, o tratamento cirúrgico foi realizado em 61 testículos e em 13% dos casos o conduto peritônio-vaginal foi encontrado patente, enquanto nos outros foi observado apenas vestígio fibroso do conduto peritônio-vaginal (Agarwal *et al.*, 2006). Os autores concluíram que o testículo retrátil não pode ser considerado uma variante normal devido ao alto risco de ascensão e patência do conduto peritônio-vaginal.

No presente estudo, em que o procedimento cirúrgico foi realizado em 28 testículos retráteis, foi encontrada patência do conduto peritônio-vaginal em 21,4% dos casos. Esses achados confirmam que a chance de pacientes com testículo retrátil apresentarem conduto peritônio-vaginal não é negligenciável. No grupo de controle, composto de fetos em que os testículos completaram sua migração, a permeabilidade só foi observada em 4% dos casos, uma taxa muito menor do que nos pacientes com testículo retrátil.

4.1 Testículo retrátil *versus* anomalias epididimais

O criptorquidismo pode ser associado a várias anomalias anatômicas, mas as anomalias epididimais e a permeabilidade do conduto peritônio-vaginal estão entre as mais frequentes. As anomalias epididimais estão associadas ao criptorquidismo em mais de um terço desses casos (Molhaeian *et al*, 1994, Barthold e Redman, 1996). Outro estudo mostrou que indivíduos sem criptorquidismo têm uma incidência muito baixa de anomalias epididimais (Turek *et al*, 1994). Além disso, fetos humanos sem anomalias aparentes apresentam anormalidades epididimais em menos de 3% dos casos, independentemente da posição testicular (Favorito e Sampaio, 1998). As anomalias epididimais podem ser classificadas como disjunção ou atresia (Turek *et al*, 1994) e podem ser associadas à infertilidade.

Pacientes com anomalias de disjunção (distúrbios da cabeça, da cauda ou total) podem apresentar uma distância mais longa entre os testículos e os epidídimos; essa região é denominada mesorquio (Favorito *et al*, 2004, Turek *et al*, 1994, Favorito e Sampaio, 1998). A torção testicular pode ser intravaginal ou extravaginal. A torção testicular intravaginal pode ocorrer devido a anomalia na implantação da túnica vaginal (deformidade sino-palmeta) ou à presença de mesorquio alongado devido a anomalias de disjunção do epidídimo (Favorito *et al*, 2004). Portanto, os pacientes que sofrem de anomalias epididimais enfrentam maior risco de desenvolver torção testicular intravaginal (Favorito *et al*, 2004). A taxa de anomalias epididimais em pacientes com testículo retrátil não está bem definida na literatura.

Na amostra deste estudo, observou-se que 14% dos pacientes com testículo retrátil submetidos a orquidopexia apresentaram anomalias epididimais. Em três casos, foi observada a disjunção da cauda, uma anomalia em que o mesorquio é alongado, e em um caso houve disjunção total entre os testículos e os epidídimos, situação associada à infertilidade e aumento do tamanho do mesorquio. Este estudo apresenta a primeira descrição na literatura da presença de anomalias epididimais associadas a testículos retráteis. Esses achados podem ser significativos. Estudos futuros com amostras maiores serão necessários para confirmar esta associação entre anomalias epididimais e testículos retráteis para fornecer evidências adicionais de que o testículo retrátil não é uma variante normal e precisa de tratamento.

4.2 Testículo retrátil *versus* alteração do músculo cremaster

O músculo cremaster é uma das camadas que reveste o testículo e deriva do músculo oblíquo interno do abdômen (Brooks, 2002). O músculo cremaster retrai o testículo em resposta ao estímulo do nervo genitofemoral (L1-L2); este reflexo, chamado de reflexo cremastérico, ausente ao nascimento, se torna ativo em torno dos três meses de idade e deve estar presente em todas as crianças neurologicamente normais depois de dois anos de idade (Baker *et al.*, 2001). O período entre a infância e o início da puberdade geralmente é o período onde o testículo apresenta mais retratibilidade em virtude dos baixos índices hormonais nesta fase (Belmann, 1988).

O efeito do reflexo cremastérico pode ser uma tração do testículo até a região do canal inguinal, onde pode ficar situado por um longo período (Bingol-Kologlu *et al.*, 2001). Esta hiperatividade do músculo cremaster parece ser o principal fator envolvido na ocorrência do testículo retrátil. No entanto, estudos recentes questionam que a ocorrência de alterações estruturais nesse músculo poderia ser responsável pela origem de enfermidades inguino-escrotais, como a criptorquidia e a hérnia inguinal (Keys e Heloury, 2012). Muitos autores mostraram modificações importantes no músculo cremaster em pacientes portadores de criptorquidia, indicando que, nesses casos, ocorreria uma alteração muscular primária associada a defeitos na inervação do músculo cremaster (Keys e Heloury, 2012; Bingol-Kologlu *et al.*, 2001; Bingol-Kologlu *et al.*, 2001).

Estudos sobre a estrutura do músculo cremaster em pacientes com testículo retrátil são extremamente raros na literatura. Este trabalho é um dos primeiros a abordar esse tópico em pacientes com testículo retrátil e o pioneiro em estudar a distribuição dos nervos em pacientes portadores desta alteração anatômica. Observou-se que não ocorreram alterações no sistema elástico nos três grupos estudados. O colágeno e as fibras elásticas são os componentes fibróticos da matriz extracelular e estão relacionados a alterações patológicas em diferentes tecidos. A diminuição da concentração de fibras elásticas é típica de processos cicatriciais e as concentrações aumentadas de fibras elásticas estão relacionadas com maior distensibilidade tecidual (Cavalcanti *et al.*, 2007). Como não foram observadas alterações significativas na distribuição do sistema elástico nos três grupos estudados, o músculo cremaster parece não apresentar modificação importante de sua matriz extracelular em pacientes portadores de testículo retrátil, hérnia e criptorquidia.

No entanto, neste estudo foram observadas modificações significativas na estrutura muscular do cremaster e de sua inervação. O cremaster se desenvolve mais lentamente do que outros músculos do corpo e a persistência de proteínas miogênicas imaturas, vistas também na musculatura cardíaca, estariam envolvidas na contração rítmica do cremaster, que seria um dos fatores envolvidos na migração testicular (Lie e Hutson, 2011). Nossos achados mostraram que o diâmetro das fibras musculares não se alterou nos três grupos estudados. Porém, a densidade das fibras musculares foi significativamente menor no testículo retrátil quando comparado ao grupo da hérnia inguinal e semelhante aos pacientes com criptorquidia. Esses achados corroboram o fato de que o testículo retrátil não é uma variante normal, uma vez que o músculo cremaster nos pacientes com testículo retrátil apresenta características morfológicas similares ao músculo cremaster de pacientes com criptorquidia.

A análise dos nervos do cremaster de pacientes portadores de testículo retrátil também demonstrou alterações significativas. Observou-se que os pacientes com testículo retrátil apresentaram menor concentração de fibras nervosas quando comparados com os pacientes portadores de hérnia inguinal, não tendo sido observadas diferenças na concentração de fibras nervosas entre os pacientes com testículo retrátil e os pacientes com criptorquidia. A inervação do cremaster e do gubernáculo testicular se origina do nervo genitofemoral (Baker *et al.*, 2001; Belman, 1988). O nervo genitofemoral, por meio de regulação androgênica e do papel do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (PRGC), apresentam papel importante durante o processo de migração testicular, estimulando contrações rítmicas do cremaster durante o período fetal, mediante estímulos na junção neuromuscular (Clarnette e Hutson, 1996; Heyns e Hutson, 1995). Ao analisar os achados, foi possível constatar que a presença de nervos no cremaster nos pacientes com testículo retrátil é muito similar ao encontrado nos pacientes com criptorquidia.

Apesar das relevantes constatações, o estudo apresenta algumas limitações: 1) ausência de um grupo controle de crianças sem enfermidades inguino-escrotais. O estudo desse grupo agrega muita dificuldade, seja por questões éticas, seja pela pouca disponibilidade de doações de corpos de crianças para estudo. No entanto, os pacientes com hérnia inguinal constituem um grupo controle adequado, uma vez que o testículo se encontra situado no escroto; 2) o número da amostra é pequeno, porém os três grupos apresentaram alterações significativas; e 3) a média mais alta de idade nos pacientes com testículo retrátil, o que pode ser explicado pela maior incidência desta alteração anatômica na infância e da controvérsia na realização de intervenção cirúrgica nesses pacientes.

CONCLUSÕES

O testículo retrátil não é uma variante normal e sim uma anomalia inguino-escrotal.

O testículo retrátil apresenta um número considerável de patência do conduto peritônio-vaginal e anomalias epididimais.

O músculo cremaster no testículo retrátil apresentou, neste estudo, características morfológicas muito similares às dos pacientes com criptorquidia.

REFERÊNCIAS

1. Abe T, Aoyama K, Gotoh T, Akiyama T, Iwamura Y, Kumori K: Cranial attachment of the gubernaculum associated with undescended testes. *J Ped Surg*, 31: 652-655, 1996.
2. Agarwal PK, Diaz M, Elder JS. Retractable testis - is it really a normal variant? *J Urol*; 175: 1496-1499, 2006.
3. Anderson KM, Costa SF, Sampaio FJ, Favorito LA: Do retractile testes have anatomical anomalies? *Int Braz J Urol* 2016.
4. Ashley RA, Barthold JS, Kolon TF. Cryptorchidism: pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis. Ashley RA et al. *Urol Clin North Am.* (2010). *Urol Clin North Am.*;37(2):183-1993, 2010.
5. Backhouse KM: Embryology of testicular descent and maldescent. *Urol Clin N Am*, 9: 315-325, 1982.
6. Baker LA, Silver RI, Docimo SG: Cryptorchidism, in Gearhart JP, Rink RC, Mouriquand PDE, editors. *Pediatric Urology*. Philadelphia, PA, Saunders, 2001, pp 738-753.
7. Barthold JS1, Redman JF: Association of epididymal anomalies with patent processus vaginalis in hernia, hydrocele and cryptorchidism. *J Urol*. 1996, 156:2054-2056.
8. Beasley SW, Hutson JM: The role of the gubernaculum in testicular descent. *J Urol*, 140: 1191-1193, 1988.
9. Belman AB. Acquired undescended (ascended) testis: Effects of human chorionic gonadotropin. *J Urol*; 140:1189-1190, 1988.
10. Bingol-Kologlu M, Tanyel FC, Anlar B. Cremasteric reflex and retraction of a testis. *J Pediatr Surg* 2001; 36:863-867.
11. Brooks JD. Anatomy of the lower urinary tract and male genitalia. In: Walsh P, Retik AB, Wein AJ, Novick AC, Partin AW, Peters CA, editors. *Campbell's Urology*, 8a ed., New York, Saunders, P. 41-65, 2002.
12. Caucci M, Barbatelli G, Cinti S. The retractile testis can be a cause of adult infertility. *Fertil Steril* 1997; 68:1051-1058.
13. Cavalcanti AG, Costa WS, Baskin LS, McAninch JA, Sampaio FJ: A morphometric analysis of bulbar urethral strictures. *BJU Int* 2007; 100: 397-402.
14. Chagas MA, Babinski MA, Costa WS, Sampaio FI: Stromal and acinar components of the transition zone in normal and hyperplastic human prostate. *BJU Int* 2002; 89: 699-704.
15. Cinti S, Barbatelli G, Pierleoni C, Caucci M. The normal, cryptorchid and retracyile prepuberal human testis: a comparative morphomeric ultrastructural study of 101 cases. *Scanning Microsc*, 7(1:351-8: discussion 358-362, 1993.

16. Clarnette TD, Hutson JM: The genitofemoral nerve may link testicular inguinoscrotal descent with congenital inguinal hernia. *Aust N Z J Surg*, 66: 612-617, 1996.
17. Esteban RM, Cueva C, Sánchez BV, Mariscal MG, Vargas JR, García AL, Ruiz MG. Histological alterations of the muscle cremaster in certain inguinal-scrotal anomalies. *Cir Pediatr* 2007; 20: 44-48.
18. Favorito LA, Cavalcante AG, Costa WS: Anatomic aspects of epididymis and tunica vaginalis in patients with testicular torsion. *Int Braz J Urol.*, 30:420-424, 2004.
19. Favorito LA, Sampaio FJB: Anatomical relationships between testis and epididymis during the fetal period in humans (10 to 36 weeks postconception). *Eur Urol*, 33: 121-123, 1998.
20. Fernández-Arjona M, Díaz J, Cortes I, González J, Rodríguez JM, Alvarez E Relationship between gonadotrophin secretion, inhibin B and spermatogenesis in oligozoospermic men treated with highly purified urinary follicle-stimulating hormone (uFSH-HP): a preliminary report. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 26;107(1):47-51, 2003.
21. Gill B, Kogan S: Cryptorchidism. Current concepts. *Ped Clin N Amer*, 44: 1211-1227, 1997.
22. Goede J, Van der Voort-Doedens LM, Slistemans K, Hack WW. The volume of retractile testes. *J Urol* 2011; 186: 2050-2054.
23. Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 1988; 196: 379-394.
24. Han SW, Lee T, Kim JH, Choi SK, Cho NH, Han JY. Pathological difference between retractile and cryptorchid testes. *J Urol* 1999; 162; 878-880.
25. Hern WM: Correlation of fetal age and measurements between 10 and 26 weeks of gestation. *Obst Gynecol.* 1984, 63:26-32.
26. Heyns CF, Hutson JM. Historical review of theories on testicular descent. *J Urol* 1995; 153: 754-762.
27. Heyns CF: The gubernaculum during testicular descent in the human fetus. *J Anat*, 153: 93-112, 1987.
28. Hutson JM, Balic A, Nation T, Southwell B: Cryptorchidism. *Semin Pediatr Surg.*; 19:215-224, 2010.
29. Hutson JM, Thorup J. Evaluation and management of the infant with cryptorchidism. *Curr Opin Pediatr*, 27:520-524, 2015.
30. Johansen TEB, Bloom GP: Histological studies of gubernaculum testis taken during orchiopexies. *Scand J Urol Nephrol*, 22: 107-108, 1988.

31. Keys C, Heloury Y. Retractable testes: a review of the current literature. *J Pediatr Urol*; 8: 2-6, 2012
32. Kollin C, Ritzén EM: Cryptorchidism: a clinical perspective. *Pediatr Endocrinol Rev*, 11 (Suppl 2): 240-250, 2014.
33. Kolon TF, Patel RP, Huff DS. Cryptorchidism: diagnosis, treatment, and long-term prognosis. *Urol Clin North Am*; 31:469–480, 2004.
34. L. Testut / A. Latarjet. Editorial Salvat: Anatomía Humana (Tomos I, II, III) : 9ª ed: 1978
35. La Scala GC, Ein SH. Retractable testis: an outcome analysis on 150 patients. *J Pediatr Surg*; 39:1014-1017, 2004.
36. Lee PA, Houk CP: Cryptorchidism. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 20: 210-216, 2013.
37. Lie G, Hutson JM. The role of cremaster muscle in testicular descent in humans and animal models. *Pediatr Surg Int* 2011; 27:1255-1265.
38. Mandarim-de-Lacerda CA, Fernandes-Santos C, Aguila MB. Image analysis and quantitative morphology. *Methods Mol Biol* 2010; 611:211-215.
39. Mathers MJ, Sperling H, Rübben H, Roth S. *Dtsch Arztebl*. The undescended testis: diagnosis, treatment and long-term consequences;106(33):527-532, 2009.
40. Melchior D, Kaefer M, Eugster E, Havlik R. A novel microvascular approach to treatment of the high undescended testicle. *J Pediatr Surg*;37(10):1501-3. 2002.
41. Mercer BM, Sklar S, Shariatmadar A, Gillieson MS, D'Alton ME. Fetal foot length as a predictor of gestational age. *J Obstet Gynecol.*; 156(2):350-5; 1987.
42. Mikuz G, Update on the pathology of testicular tumors. *Anal Quant Cytopathol Histpathol*; 37: 75-85, 2015.
43. Mollaeian M1, Mehrabi V, Elahi B: Significance of epididymal and ductal anomalies associated with undescended testis: study in 652 cases. *Urology*. 43:857-860. 1994.
44. 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*, 71: 526-531, 1988.
45. Agarwal PK, Diaz M, Elder 2006JS. Retractable testis--is it really a normal variant? *J. Urol*;175(4):1496-1499, 2006.
46. Sadler TW: Langman's Medical Embryology, 7th Ed. Baltimore, Maryland: Williams & Wilkins, 1995.

47. Sampaio FJB, Favorito LA: Analysis of testicular migration during the fetal period in humans. *J Urol*, 159: 540-542, 1998.
48. Scorer CG, Farrington GH: Congenital deformities of the testis and epididymis. London: Butter Worths e Co, 1971.
49. Sharma S, Sen A. Complete testicular epididymal dissociation in the abdominal cryptorchid testis. *J Pediatr Urol*. 2013 Dec;9(6 Pt B):10
50. Streeter GL: Weight, sitting height, head size, foot length and menstrual age of the human embryo. *Contr Embryol Carnegie Instn*, 11: 143-170, 1920.
51. Tanyel FC, Erdem S, Büyükpamukçu N, Tan E. Cremaster muscles obtained from boys with an undescended testis show significant neurological changes. *BJU Int* 2000; 85: 116-119.
52. Tekgül S, Riedmiller H, Dogan HS, Gerharz E, Hoebeke P, Kocvara R, Nijman R, Radmayr C, Stein R: Cryptorchidism pg 11-12 in *Guidlines on Paediatric Urology*, European Association of Urology, 2012.
53. Turek PJ, Ewalt DH, Snyder III H, Duckett JW: Normal epididymal anatomy in boys. *J Urol*, 151:726-727, 1994.
54. Virtanen HE, Cortes D, Rajpert-De Meyts E, Ritzén EM Nordenskjöld A, Skakkebaek NE, Toppari J. Development and descent of the testis in relation to cryptorchidism. *Acta Paediatr*;96(5):622-627, 2007.

ANEXO A – Structural study of the cremaster muscle in patients with retractile testis (Artigo publicado)

Journal of Pediatric Surgery 53 (2018) 780–783



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Pediatric Surgery

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jped surg



Inguinal Conditions

Structural study of the cremaster muscle in patients with retractile testis



Luciano A. Favorito*, Kleber M. Anderson, Suelen F. Costa, Waldemar S. Costa, Francisco JB Sampaio

Urogenital Research Unit, State University of Rio de Janeiro, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 13 February 2017

Received in revised form 16 March 2017

Accepted 23 April 2017

Key words:

Cremaster muscle
Retractile testis
Cryptorchidism
Histology

ABSTRACT

Objective: To analyze the structure of the cremaster in patients with retractile testis (RT), comparing the distribution of nerves, elastic system and muscles with patients having cryptorchidism and inguinal hernia (IH).

Patients and methods: We studied 31 patients, 17 with RT (mean age = 5.17 years); 9 with IH (mean age = 2.6) and 5 with cryptorchidism (mean age = 3). A cremaster biopsy was performed and submitted to routine histological processing and studied using histochemistry and immunohistochemistry. The samples were photographed under an Olympus BX51 microscope. The images were processed with the Image J software and the cremaster muscle structures were quantified. Means were compared statistically using ANOVA and the unpaired t-test ($p < 0.05$).

Results: There were no differences ($p = 0.08$) in diameter of muscle fiber between the groups. The muscle fiber density differed between patients with RT and IH ($p = 0.02$): RT (mean = 17.71%, SD = 16.67), IH (mean = 38.06%, SD = 14) and cryptorchidism (mean = 21.47%, SD = 16.18). There was no difference ($p = 0.07$) in the density of elastic fibers in the three groups. We observed a lower concentration of cremaster nerves of patients with RT compared with IH ($p = 0.0362$): RT (mean = 1.72%, SD = 0.58), IH (mean = 3.28% SD = 0.94) and cryptorchidism (mean = 2.52%, SD = 0.53).

Conclusions: Retractable testis is not a normal variant, and presented a similar cremaster muscle structure as in patients with cryptorchidism.

Level of evidence: II; prospective comparative study.

© 2017 Elsevier Inc. All rights reserved.

Retractile testis is defined as a suprascrotal testis that can be manipulated into the scrotum and will remain there without traction until the cremasteric reflex acts [1]. The management of this condition is still controversial.

Recent articles have recommended only observation of retractile testis cases [2,3]. In more than 70% of patients with retractile testis, the condition evolves favorably without the need for surgery [1]. However, a 25% risk exists of these testes ascending and becoming cryptorchidic in adolescence [4].

Structural and ultrasound studies have demonstrated morphological alterations in the germinal epithelium and Sertoli cells of retractile testes [5,6]. A study of young adults who had retractile testis during prepuberty showed that only 28.8% of the patients had normal spermogram [7].

Other studies have analyzed and compared the structural alterations of the cremaster muscle in patients with cryptorchidism, hydrocele and inguinal hernia [8–10]. However, studies of the structure of the cremaster muscle in patients with retractile testes are rare in the literature.

We hypothesize that the patients with retractile testis present structural alterations in the extracellular matrix, muscles and nerves in the cremasteric muscle. We propose to test these hypotheses by evaluating

the structure of the cremaster muscle in patients with retractile testis and quantitatively compared the distribution of the nerves, elastic system and musculature of patients suffering from cryptorchidism and inguinal hernia.

1. Methods

The experimental protocol described herein was approved by the Ethical Committee for Human Experimentation of our University. This prospective study was carried out in accordance with the ethical standards of the hospital's institutional committee on human experimentation.

From January 2016 to January 2017, we studied 31 patients with testicular pathologies who had undergone surgery at our hospital. Of them 17 presented true retractile testis, with age between 1 and 10 years (mean = 5.17); 9 had inguinal hernia, with age between 1 and 7 years (mean = 2.6) and 5 had cryptorchidism, with age from 1 to 4 years (mean = 3). All the patients with retractile testis were surgically treated through an incision in the raphe of the scrotum, while in the other patients the operation involved a transverse incision in the inguinal region. All 31 patients had unilateral testicular anomalies.

The retractile testis in this sample was defined based on physical examination findings. In 17 cases included in this study the retractile testis can be brought down into the scrotum without tension and, after gentle

* Corresponding author at: Rua Professor Gabizo, 104/201, Tijuca, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, CEP: 20271-320. Tel.: +55 21 22644679; fax: +55 21 38728802.
E-mail address: lufavorito@yahoo.com.br (L.A. Favorito).

massaging of the cord, stay there upon release for a while. The boys with retractile testis need periodic follow-up. A great number of our patients have a difficult economic situation and live far from our institution. So, the surgical indication is preferred instead of monitoring [11].

During the surgical procedure, at the moment of dissecting the testis and spermatic cord, tissue samples were obtained from the cremaster muscle for biopsy. Smooth muscle, connective tissue and elastic fibers were studied by histochemical and immunohistochemical methods.

The samples were processed by routine laboratory techniques, involving dehydration in successive alcohol baths, diaphonization in xylene and embedding in paraffin. From these blocks, sections were cut with thickness of 5 μm at intervals of 200 μm and subjected to different staining. For the histochemical analysis, the sections were stained with hematoxylin and eosin to confirm the material's integrity, Masson's trichrome for observation and quantification of the muscle tissue, and Weigert's resorcin fuchsin after oxidation by oxone to observe the elastic system fibers. The immunohistochemical analysis of the cremaster nerves was performed with tubulin (tubulin, beta III, mouse monoclonal antibody). The histochemical and immunohistochemical analysis was performed by a single pathologist.

1.1. Morphometry

All the images were captured by an Olympus SD70 camera coupled to an Olympus BX51 microscope (Fig. 1A). The images were processed

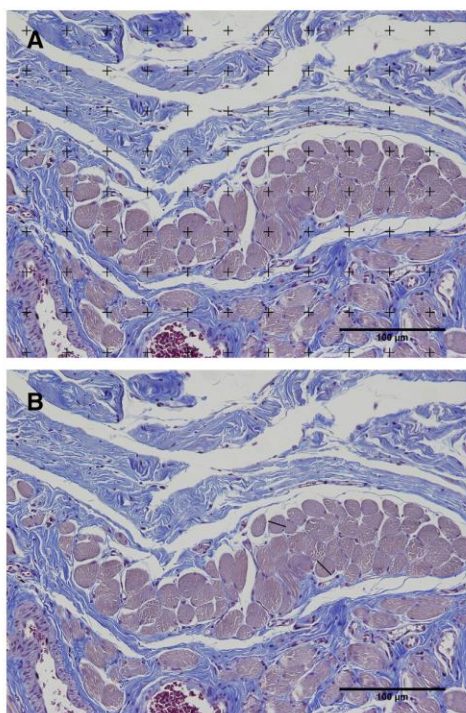


Fig. 1. Morphometric analysis of the cremaster muscle. A) Quantification of the muscle tissue with the ImageJ software using a 100-point grid. 10-year-old patient with retractile testis. Masson's trichrome $\times 200$. B) Measurement of the muscle fiber diameter using the "straight" tool of the ImageJ software, where a straight line (black) is marked between the two ends a muscle fiber and the distance is measured. 10-year-old patient with retractile testis. Masson's trichrome $\times 200$.

with the ImageJ software, using its plugin (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>), by which the cremaster muscle structures were quantified by the stereological method [12–15]. We studied 5 microscopic fields chosen at random, totaling 25 test areas studied for each cremaster sample for the quantitative analysis. We used the ImageJ software, version 1.46r, loaded with its own plug-in (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>). All sections were photographed with a digital camera (DP70, Olympus America, Inc., Melville, New York) under the same conditions at a resolution of 2040 1536 pixels, directly coupled to the microscope (BX51, Olympus America, Inc.) and stored in a TIFF file. To quantify the smooth muscle tissue we used the Color Segmentation of ImageJ software, where the program selected structures of different colors and calculates the amount of each component. The muscle fiber diameters were also determined using the "straight" tool of the ImageJ program, which involves marking a straight line between the two sides of a fiber and measuring the distance (Fig. 1B).

For quantifying the elastic fibers and nerves we used the ImageJ software to determine the volumetric density (Vv) of each component. 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. 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 cremaster sample (total of 25 test areas).

1.2. Statistical analysis

We applied one-way ANOVA with the Bonferroni post-test for statistical analysis, using the Graph Pad Prism software, with significance of $p < 0.05$. Means were compared statistically using ANOVA and the unpaired t-test, also with $p < 0.05$.

2. Results

The results of the stereological quantification of the muscle fiber diameter, the muscle fiber density, the density of elastic fibers and the cremaster muscle nerves of the three groups studied are reported in Table 1.

The quantitative analysis did not show a significant difference ($p = 0.08$) in the muscle fiber diameter, measured in micrometers (μ), among the three groups: retractile testis (mean = 22.80 μ ; SD = 9.84), inguinal hernia (mean = 22.76 μ ; SD = 3.01) and cryptorchidism (mean = 24.75 μ ; SD = 7.02). However, the muscle fiber density was significantly different between the patients with retractile testis and those with inguinal hernia ($p = 0.02$): retractile testis (mean = 17.71%; SD = 16.67), inguinal hernia (mean = 38.06%; SD = 14) and cryptorchidism (mean = 21.47%; SD = 16.18).

The quantitative analysis also did not show significant difference ($p = 0.07$) in the density of elastic fibers among the three groups: retractile testis (mean = 8.9%; SD = 2), inguinal hernia (mean = 8.92%; SD = 1.55) and cryptorchidism (mean = 10.47%; SD = 1.95).

Finally, the quantitative analysis of the cremaster muscle nerves showed a significantly lower concentration of nerve fibers in patients with retractile testis compared to those having inguinal hernia ($p = 0.0362$): retractile testis (mean = 1.72%; SD = 0.58), inguinal hernia (mean = 3.28%; SD = 0.94) and cryptorchidism (mean = 2.52%;

Table 1

The table shows the mean (M) and standard deviation (SD) of the stereological quantification, of muscle fiber diameter (Fiber), in micrometers; muscular density (Musc), elastic system (Elastic) and quantification of nerves (Nerve) in the three groups studied.

Group	Mean age (years)	Fiber M (μ)/SD	Musc M(%) /SD	Elastic M(%) /SD	Nerve M(%) /SD
Retractile testis	5.1	22.8/9.8	17.7/16.6	8.9/2	1.7/0.5
Inguinal hernia	2.6	22.76/3.0	38/14	8.9/1.5	3.2/0.9
Cryptorchidism	3	24.75/7.0	21.4/16.1	10.4/1.9	2.5/0.5
Statistical analysis	–	$p = 0.08$	$p = 0.02$	$p = 0.07$	$p = 0.0362$

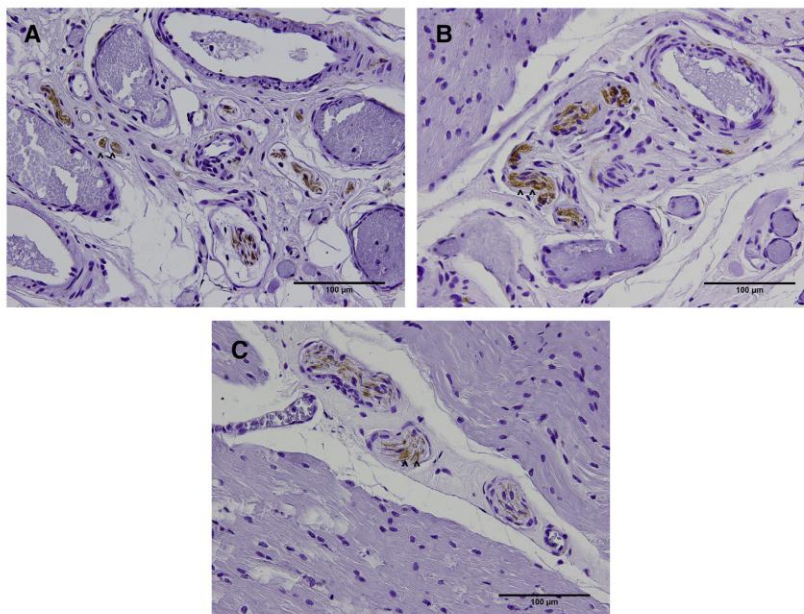


Fig. 2. Cremaster nerves. A) Photomicrograph of the cremaster muscle nerves (brown) of a 2-year-old patient with inguinal hernia. Tubulin $\times 200$; B) Photomicrograph of the cremaster muscle nerves (brown) of a 2-year-old patient with cryptorchidism. Tubulin $\times 200$; C) Photomicrograph of the cremaster muscle nerves (brown) of a 4-year-old patient with retractile testis. Tubulin $\times 200$.

SD = 0.53). Fig. 2 shows the distribution of the cremaster nerves in the three groups studied.

3. Discussion

Retractile testis has generally been considered a normal variant, because usually the affected testicle completes its migration to the scrotum during adolescence [16]. Patients with retractile testis should be periodically examined until adolescence or the end of testicular migration to the scrotum [17].

The treatment of retractile testis remains controversial. The more common indication for surgery in retractile testis was given if there is any decrease in testicular volume and when retractile testes ascended. In the present paper we studied only truly retractile testis.

The cremaster muscle forms one of the layers of the testicle, and derives from the internal oblique muscle of the abdomen [18]. Recent papers show that the cremaster muscle appears to differentiate from the gubernacular tip during elongation to the scrotum [8,19,20]. The cremaster muscle retracts the testicle in response to genitofemoral stimulus (L1-L2). This cremasteric reflex is absent at birth but generally becomes active at around 3 months of age, and should be present in all neurologically normal children after 2 years of age [21]. The period between infancy and the start of puberty is when the testes show greatest retractibility, because of the low hormone indices in this phase [22].

The cremasteric reflex can cause the testicle to retract to the inguinal canal region, where it can remain for an extended period [23]. Hyperactivity of the cremaster muscle appears to be the main factor involved in the occurrence of retractile testis, but recent studies have cast doubt on the assumption that structural alterations in the cremaster muscle are responsible for the origin of inguinoscrotal pathologies such as cryptorchidism and inguinal hernia [3,23]. These studies have demonstrated important differences in the cremaster muscle in patients with

cryptorchidism, indicating that in these cases a primary muscular alteration occurs associated with defects in the innervation of the cremaster muscle [3,23,24].

Studies of the structure of the cremaster muscle in patients having retractile testis are very rare in the literature. This article is one of the first to address this topic in patients with retractile testis, and the first to investigate the distribution of nerves in patients with this pathology. We did not observe any alterations in the elastic system in the three groups studied. Collagen and elastic fibers are the fibrotic components of the extracellular matrix and are related with pathological changes in various tissues. A reduction in the concentration of elastic fibers is typical of wound healing (scarring) processes and increased concentrations of these fibers are related to greater tissue distensibility [25]. Since we did not observe significant alterations in the distribution of the elastic system in the three groups, the extracellular matrix of the cremaster muscle appears not to be substantially different in patients with retractile testis, inguinal hernia and cryptorchidism.

We did observe significant modifications in the structure of the cremaster muscle and its innervation. This muscle typically develops more slowly than other muscles of the body and the persistence of immature myogenic proteins, also noted in the cardiac muscle, is likely involved in the rhythmic contraction of the cremaster, which is one of the factors causing testicular migration [8]. The diameter of the muscle fibers was not significantly different in the three groups studied, but the density of these fibers was significantly lower in the patients with retractile testis than in the inguinal hernia group, and similar to the patients with cryptorchidism. These findings corroborate the supposition that retractile testis is not a normal variant, since the cremaster muscle in the patients with that anomaly showed similar morphological characteristics to the muscle in the patients with cryptorchidism, but we do not have samples from normal boys to compare our findings, so new studies will be necessary to confirm that the cremaster muscle in retractile testis is anomalous.

Analysis of the nerves of the cremaster muscle of patients with retractile testis also revealed significant differences. These patients had a lower concentration of nerve fibers compared to those with inguinal hernia, but no differences in relation to the group with cryptorchidism. The innervation of the cremaster muscle and the gubernaculum testis originates in the genitofemoral nerve [18,21,22]. This nerve, through androgenic regulation and the influence of the calcitonin gene-related peptide (CGRP), plays an important role during the testicular migration process, by neuromuscular junction stimulation of the rhythmic contractions of the cremaster muscle during the fetal period [26,27]. We found that the nerves present in the cremaster muscle of the patients with retractile testis were very similar to those found in the patients with cryptorchidism. The cremasteric muscle is similar to undescended testes, but how will this impact the clinical management of retractile testes? More studies with great samples will be necessary to confirm these findings.

Some limitations of this study must be mentioned: 1) absence of a control group of boys without inguinoscrotal anomalies. The study of this group is very difficult, because of ethical questions and the scant availability of cadavers of children donated for scientific study. Nevertheless, we believe that the group with inguinal hernia served as an adequate control, since in this group the testes are located in the scrotum. 2) The small sample size. 3) The older mean age of the patients with retractile testis. This can be explained by the higher incidence of this pathology at the start of infancy and the controversy over surgical intervention in these patients.

4. Conclusion

The findings to this study tend to confirm that retractile testis is not a normal variant, and instead is an inguinoscrotal anomaly. The cremaster muscle in the group with retractile testis presented a lesser concentration of muscle and nerve fibers compared to the patients with inguinal hernia, but similar morphology to that of patients with cryptorchidism, but more studies will be necessary to confirm this impact in the clinical management of retractile testes.

Conflict of interest

No conflict.

Acknowledgments

This study was supported by grants from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq – Brazil) and the Rio de Janeiro State Research Foundation (FAPERJ).

References

- [1] La Scala GC, Ein SH. Retractable testis: an outcome analysis on 150 patients. *J Pediatr Surg* 2004;39:1014–7.
- [2] Goede J, Van der Voort-Doedens LM, Slistemans K, et al. The volume of retractile testes. *J Urol* 2011;186:2050–4.
- [3] Keys C, Heloury Y. Retractable testes: a review of the current literature. *J Pediatr Urol* 2012;8:2–6.
- [4] Agarwal PK, Diaz M, Elder JS. Retractable testis- is it really a normal variant? *J Urol* 2006;175:1496–9.
- [5] Han SW, Lee T, Kim JH, et al. Pathological difference between retractile and cryptorchid testes. *J Urol* 1999;162:878–80.
- [6] Cinti S, Barbatelli G, Pierleoni C, et al. The normal, cryptorchid and retractile prepubertal human testis: a comparative morphometric ultrastructural study of 101 cases. *Scanning Microsc* 1993;7:351–8.
- [7] Caucci M, Barbatelli G, Cinti S. The retractile testis can be a cause of adult infertility. *Fertil Steril* 1997;68:1051–8.
- [8] Lie G, Hutson JM. The role of cremaster muscle in testicular descent in humans and animal models. *Pediatr Surg Int* 2011;27:255–65.
- [9] Esteban RM, Cueva C, Sánchez BV, et al. Histological alterations of the muscle cremaster in certain inguinal-scrotal anomalies. *Cir Pediatr* 2007;20:44–8.
- [10] Tanyel FC, Erdem S, Büyükpamukçu N, et al. Cremaster muscles obtained from boys with an undescended testis show significant neurological changes. *BJU Int* 2000;85:116–9.
- [11] Anderson KM, Costa SF, Sampaio FJ, et al. Do retractile testes have anatomical anomalies? *Int Braz J Urol* 2016;42:803–9.
- [12] Chagas MA, Babinski MA, Costa WS, et al. Stromal and acinar components of the transition zone in normal and hyperplastic human prostate. *BJU Int* 2002;89:699–702.
- [13] Mandarim-de-Lacerda CA. Stereological tools in biomedical research. *An Acad Bras Cienc* 2003;75:469–86.
- [14] Mandarim-de-Lacerda CA, Fernandes-Santos C, Aguilã MB. Image analysis and quantitative morphology. *Methods Mol Biol* 2011;611:211–25.
- [15] Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 1988;196:379–94.
- [16] Kolon TF, Patel RP, Huff DS. Cryptorchidism: diagnosis, treatment, and long-term prognosis. *Urol Clin North Am* 2004;31:469–80.
- [17] Tekgöl S, Riedmiller H, Dogan HS, et al. Stein in Guidelines on Paediatric Urology, European Association of Urology cryptorchidism; 2012 11–2.
- [18] Brooks JD. Anatomy of the lower urinary tract and male genitalia. *Campbell's Urology*. 8a. ed. New York: Saunders; 2002. p. 41.
- [19] Harnaen EJ, Na AF, Shenker NS, et al. The anatomy of the cremaster muscle during inguinoscrotal testicular descent in the rat. *J Pediatr Surg* 2007;42:1982–7.
- [20] Sanders N, Buraundi S, Balic A, et al. Cremaster muscle myogenesis in the tip of the rat gubernaculum supports active gubernaculum elongation during inguinoscrotal testicular descent. *J Urol* 2011;186(Suppl. 4):1606–13.
- [21] Baker LA, Silver RI, Docimo SG. Cryptorchidism. In: Gearhart JP, Rink RC, editors. *Mouriquand PDE: Pediatric Urology*. Philadelphia, PA: Saunders; 2001. p. 738–53.
- [22] Belman AB. Acquired undescended (ascended) testis: effects of human chorionic gonadotropin. *J Urol* 1988;140:1189–90.
- [23] Bingöl-Koçulu M, Tanyel FC, Anlar B, et al. Cremasteric reflex and retraction of a testis. *J Pediatr Surg* 2001;36:863–7.
- [24] Bingöl-Koçulu M, Tanyel FC, Akçören Z, et al. A comparative histopathologic and immunohistopathologic evaluation of cremaster muscles from boys with various inguinoscrotal pathologies. *Eur J Pediatr Surg* 2001;11:110–5.
- [25] Cavalcanti AG, Costa WS, Baskin LS, et al. A morphometric analysis of bulbar urethral strictures. *BJU Int* 2007;100(2):397–402.
- [26] Clannette TD, Hutson JM. The genitofemoral nerve may link testicular inguinal-scrotum descente with congenital inguinal hernia. *Aust N Z J Surg* 1996;66:612–7.
- [27] Heyns CF, Hutson JM. Historical review of theories on testicular descent. *J Urol* 1995;153:754–67.

ANEXO B – Do retractile testes have anatomical anomalies? (Artigo publicado)



ORIGINAL ARTICLE

Vol. 42 (4): 803-809, July - August, 2016

doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2015.0538

Do retractile testes have anatomical anomalies?

Kleber M. Anderson ¹, Suelen F. Costa ¹, Francisco J.B. Sampaio ¹, Luciano A. Favorito ¹

¹ Unidade de Pesquisa Urogenital, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, RJ, Brasil

ABSTRACT

Objectives: To assess the incidence of anatomical anomalies in patients with retractile testis.

Materials and Methods: We studied prospectively 20 patients (28 testes) with truly retractile testis and compared them with 25 human fetuses (50 testes) with testis in scrotal position. We analyzed the relations among the testis, epididymis and patency of the processus vaginalis (PV). To analyze the relations between the testis and epididymis, we used a previous classification according to epididymis attachment to the testis and the presence of epididymis atresia. To analyze the structure of the PV, we considered two situations: obliteration of the PV and patency of the PV. We used the Chi-square test for contingency analysis of the populations under study ($p < 0.05$).

Results: The fetuses ranged in age from 26 to 35 weeks post-conception (WPC) and the 20 patients with retractile testis ranged in ages from 1 to 12 years (average of 5.8). Of the 50 fetal testes, we observed complete patency of the PV in 2 cases (4%) and epididymal anomalies (EAs) in 1 testis (2%). Of the 28 retractile testes, we observed patency of the PV in 6 cases (21.4%) and EA in 4 (14.28%). When we compared the incidence of EAs and PV patency we observed a significantly higher prevalence of these anomalies in retractile testes ($p=0.0116$).

Conclusions: Retractable testis is not a normal variant with a significant risk of patent processus vaginalis and epididymal anomalies.

ARTICLE INFO

Keywords:

Testis; Epididymis; Cryptorchidism; Retractable testicle, Anatomic

Int Braz J Urol. 2016; 42: 803-9

Submitted for publication:
September 23, 2015

Accepted after revision:
January 03, 2016

INTRODUCTION

A retractile testis is defined as a supra-scrotal testis that can be manipulated easily into the scrotum and remain there without traction until the cremasteric reflex is induced (1). Recent studies generally urge observation of the evolution testicular position in cases of retractile testes (2, 3), because over 70% of patients with this condition show favorable evolution without the need for surgery (1). However, ascended testis or acquired undescended testis can occur in about 30% of cases (4).

Structural and ultrastructural studies have demonstrated morphological alterations in retractile testicle cases (5, 6), and one study of young adults who had been treated for retractile testis

during the prepubertal period showed that only 28.5% had normal spermiograms (7).

Anomalies of the tunica vaginalis and the epididymis are associated with testicular torsion (8) and are very frequent in patients with cryptorchidism (9), but the anatomy of the processus vaginalis and mainly the relations between testis and epididymis in patients with retractile testis are unknown.

The objective of the present study was to assess the incidence of anatomical anomalies in patients with retractile testes.

MATERIALS AND METHODS

This study was approved and was carried out in accordance with the ethical standards of

the hospital's institutional committee on human experimentation.

We studied 62 patients prospectively with truly retractile testis during the period from January 2010 through January 2015. The retractile testis in this sample was defined based on physical examination findings. We included only patients with testis that can be brought down into the scrotum without tension and, after gentle massaging of the cord stay there upon release for a while.

We submitted to surgery 20 (32.25%) of the 62 patients. In eight cases of operated patients the retractile testis was bilateral. The surgery was performed because of parent anxiety and/or the impossibility for the periodic follow-up. We compared the anatomical findings of 28 retractile testes with 25 human fetuses (50 testes) with the testes in the scrotal position.

During the surgery, after the induction of anesthesia all patients had the testis in scrotal position and we used the trans-scrotal approach with a little midline scrotal incision with dissection of the cremaster muscle and fixation of the testis in dartos tunica in all cases.

The 25 fetuses were macroscopically well preserved. Their gestational age was determined in WPC, according to the foot-length criterion, which is currently considered the most acceptable parameter to calculate gestational age (10-12). The fetuses were also evaluated regarding crown-rump length (CRL) and body weight immediately before dissection. The same observer conducted the measurements.

After measurement, the fetuses were carefully dissected with the aid of a stereoscopic lens with 16/25X magnification. The abdomen and pelvis were opened to identify and expose the urogenital organs and inguinal canal and to show the testicular position. We observed patency of the processus vaginalis and the relationship between the testis and epididymis in fetuses and the patients.

To analyze the relations between the testis and epididymis in surgical patients and fetuses, we used a previous classification (13, 14): Type I - epididymis attached to the testis at the head and tail; Type II - epididymis totally attached to the testis; Type III - epididymis attached to the testis only

at the head; Type IV - epididymis attached to the testis only at the tail; Type V - no visible connection between the testis and epididymis; and Type VI - epididymal atresia. Type I and II relationships are considered normal; while the other types are considered to be epididymal anomalies (EAs). To analyze the structure of the PV, we considered two situations: (a) complete obliteration of the PV between the internal inguinal ring and the upper pole of the testis; and (b) complete patency of the PV.

We used the Chi-square test for contingency analysis of the populations under study ($p < 0.05$), calculated by the Graph Pad Prism software.

RESULTS

The patients ranged in ages from 1 to 12 years old (average of 5.8). Table-1 reports the age of the patients, testicular position, PV patency and the presence of epididymal anomalies. The fetuses presented gestational ages between 25 to 35 WPC, weighed between 741 and 2600g, and had crown-rump length between 23 and 34cm. Of the 50 fetal testes, we observed complete patency of the PV in 2 cases (4%) and EAs in only 1 testis (2%). Table-2 reports the fetal parameters and the testis position. We observed two fetuses with patency of PV in the left testis and only one fetus had an epididymal anomaly (tail disjunction - Type III) on the right side.

Of the 28 retractile testes, we observed patency of the PV in 6 cases (21.4%) and EAs in 4 cases (14.28%). Of the 6 cases of PV patency, 4 (66.6%) were on the right side and 2 (33.3%) on the left side. Of the 4 cases of epididymal anomalies, 2 (50%) were on the right side and 2 (50%) on the left side. The majority of epididymal anomalies (3 - 75%) were tail disjunction (Type III - Figure-1) and only in one case (25%) did we observe total disjunction of the epididymis (Type IV). One of the patients had bilateral retractile testes with bilateral processus vaginalis patency and epididymal anomaly in the left testis.

When we compared the incidence of EAs and PV patency in the retractile testes with the fetuses, we observed a significantly higher prevalence of these anomalies in retractile testes ($p=0.0116$).

Table 1 - The table shows the age, the testicular position and the presence of patency of the processus vaginalis (PV) and epididymal anomalies. The patient number 10 had bilateral retractile testis with bilateral patency of processus vaginalis and epididymal anomaly in the left testis.

Patient	AGE	RT	LT	PV	Epididymis
1	1	Retractile	Retractile	Obliterated	Normal
2	2	Retractile	Scrotum	Obliterated	Normal
3	2	Scrotum	Retractile	Obliterated	Normal
4	3	Scrotum	Retractile	Obliterated	Normal
5	3	Scrotum	Retractile	Obliterated	Normal
6	3	Retractile	Scrotum	Patency (RT)	Anomaly in RT
7	3	Retractile	Scrotum	Obliterated	Normal
8	4	Scrotum	Retractile	Obliterated	Normal
9	5	Retractile	Scrotum	Obliterated	Normal
10	6	Retractile	Retractile	Patency Bil	Anomaly in LT
11	6	Retractile	Retractile	Obliterated	Normal
12	7	Retractile	Retractile	Obliterated	Normal
13	7	Retractile	Scrotum	Obliterated	Normal
14	8	Retractile	Retractile	Obliterated	Normal
15	8	Retractile	Retractile	Obliterated	Normal
16	9	Retractile	Retractile	Obliterated	Normal
17	9	Retractile	Scrotum	Patency (RT)	Anomaly in RT
18	11	Scrotum	Retractile	Patency (LT)	Normal
19	11	Retractile	Scrotum	Patency (RT)	Anomaly in RT
20	12	Retractile	Retractile	Obliterated	Normal

Bil = bilateral; **RT** = right testis and **LT** = left testis.

DISCUSSION

Retractile testis has traditionally been considered a variant of normal testis because it usually descends into the scrotum during adolescence (15). In general, patients with retractile testis are periodically reviewed until the end of adolescence or until the testis has completely descended into the scrotum. According to the guidelines of the European Association of Urology, cases of retractile testis do not warrant medication or surgical intervention, and instead should only be monitored periodically until adolescence (16). Nevertheless, this condition can cause discomfort and also worry parents, some-

times prompting the choice for surgery to bring the affected testis into the scrotum.

Although the question is controversial, some authors have reported histological changes and spermogram abnormalities in follow-up of adult patients with retractile testis (7, 17). Previous studies suggest surgical correction is necessary in some cases to prevent histological alterations in the germinative epithelium of patients with retractile testis (6, 18). Some previous studies conducted with boys with retractile testis reported that 18 to 32% of patients required surgical correction due to the development of ascending testes or decreases in testicular volume (1, 4), although in a retrospective study with 274

Table 2 - The table shows the fetal age in weeks post conception (WPC) and the presence of epididymal anomalies and patency of processus vaginalis (PV) in 25 fetus studied. The fetuses ranged in age between 25 to 35 WPC, weighted between 741 and 2600g, and had crown-rump length between 23 and 34 cm. The fetus number 2 and 3 had a PV patency in the left testis and only the fetus 10 had a epididymal anomaly (EA) a tail disjunction on the right side. RT = right testis and LT = left testis.

Fetus	Age (WPC)	RT	LT
1	25	Normal	Normal
2	26	Normal	PV patente
3	27	Normal	PV patente
4	27	Normal	Normal
5	27	Normal	Normal
6	27	Normal	Normal
7	28	Normal	Normal
8	28	Normal	Normal
9	28	Normal	Normal
10	28	Tail disjunction	Normal
11	28	Normal	Normal
12	28	Normal	Normal
13	28	Normal	Normal
14	28	Normal	Normal
15	28	Normal	Normal
16	29	Normal	Normal
17	29	Normal	Normal
18	30	Normal	Normal
19	30	Normal	Normal
20	31	Normal	Normal
21	31	Normal	Normal
22	32	Normal	Normal
23	33	Normal	Normal
24	35	Normal	Normal
25	35	Normal	Normal

retractile testis only 6.9% of the patients needed surgical intervention; showing that the incidence of ascending testis is not always as high as has been reported in other studies (19).

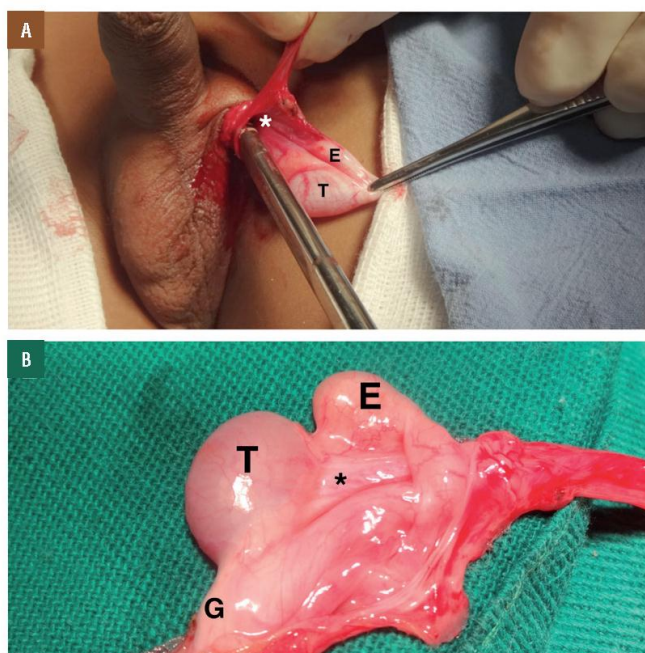
In an interesting study with 3433 boys the authors observed that the prevalence of undescended testis in 6-year, 9-year and 13-year olds had a variation from 1.2% to 2.2% and after the age of 5 years, only acquired UDT was observed (20).

Studies applying ultrasound confirm that retractile testes show reduced volume in relation

to normal testes (21). One recent retrospective study of 43 boys who had been diagnosed as having retractile testis noted that surgical intervention had been found necessary in 16.3% of the cases and the probability of surgery was higher in cases that had been diagnosed at younger ages (22).

Agarwal (4), in an important study, analyzed 204 retractile testicles and observed a risk of ascending testis in more than 30% of the cases. Of the patients in this study, surgery was performed on 61 testes and in 13% of the cases

Figure 1 - Anatomic anomalies in retractile testis. A) Patient with 3 years-old with retractile testis presents complete patency of processus vaginalis (*). We can observe the surgical instrument inside the processus vaginalis. T=Testis and E=Epididymis. B) Patient with 9 years-old with retractile testis presents the epididymis attached to the testis only at the head. T = Testis; E = Epididymis; G = Gubernaculum and *Mesorquium.



the processus vaginalis was found to be patent, while in the other cases of surgical intervention there was only observation of fibrous vestige of the processus vaginalis (4). The authors concluded that retractile testis can not be considered a normal variant because of the high risk of ascension and patency of the processus vaginalis.

In our sample, in which surgery was performed on 28 retractile testes, we found processus vaginalis patency in 21.4% of the cases. These findings confirm that the chance of patients with retractile testis presenting patent processus vaginalis is not negligible. In the control group composed of fetuses in which the testes had completed their migration, patency was only observed in 4% of the cases, a much lower rate than in the patients with retractile testes.

Cryptorchidism can be associated with various anatomical anomalies, but epididymal anomalies and patency of the processus vaginalis are among the most frequent. Epididymal anomalies are associated with cryptorchidism in over one-third of these cases (23, 24). Another study showed that individuals without cryptorchidism have a very low incidence of epididymal anomalies (13). Furthermore, human fetuses without apparent anomalies present epididymal anomalies in less than 3% of the cases, regardless of the testicular position (14). Epididymal anomalies can be classified as disjunction or atresia (13) and can be associated with infertility.

Patients with disjunction anomalies (head, tail or total disjunction) can present a longer distance between the testis and epididymis, the region

called the mesorchium (8, 13, 14). Testicular torsion can be intravaginal or extravaginal. Intravaginal testicular torsion can occur because of an anomaly in the implantation of the tunica vaginalis (bell-clapper deformity) or due to the presence of an elongated mesorchium because of disjunction anomalies of the epididymis (8). Therefore, patients suffering from epididymal anomalies face a higher risk of developing intravaginal testicular torsion (8).

The rate of epididymal anomalies in patients with retractile testis is not well defined in the literature. In our sample, we observed that 14% of the patients with retractile testis submitted to orchiopexy presented epididymal anomalies. In three cases we observed tail disjunction, an anomaly where the mesorchium is elongated, and in one case there was total disjunction between the testis and epididymis, a situation associated with infertility and also increased size of the mesorchium.

This article presents the first description in the literature of the presence of epididymal anomalies associated with retractile testes. Despite the small sample, these findings can be significant. Future studies with larger samples will be necessary to confirm this association between epididymal anomalies and retractile testes, to provide further evidence that retractile testis is not a normal variant and does need treatment.

The main limitation of this work is the small sample of patients with retractile testis, but because of the controversy over treatment, surveys with large samples of patients having this condition who underwent surgery are not common in the literature. Another limitation is the control group. The ideal control group would be boys without inguinal-scrotal anomalies having the same average age as the group with such anomalies. However, ethical considerations regarding use of living subjects and the extreme rarity of cadavers to study requires the use of human fetuses with testicles located in the scrotum as the control group.

CONCLUSIONS

Retractile testis is not a normal variant with a significant risk of patent processus vaginalis and epididymal anomalies.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by grants from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq – Brazil) and the Rio de Janeiro State Research Foundation (FAPERJ).

CONFLICT OF INTEREST

None declared.

REFERENCES

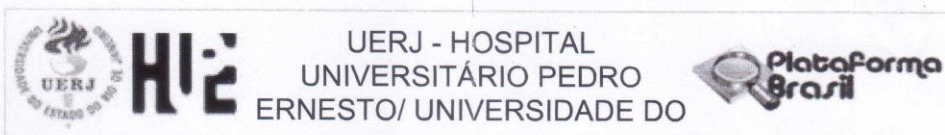
1. La Scala GC, Ein SH. Retractable testes: an outcome analysis on 150 patients. *J Pediatr Surg*. 2004;39:1014-7.
2. Goede J, van der Voort-Doedens LM, Sijstermans K, Hack WW. The volume of retractile testes. *J Urol*. 2011;186:2050-4.
3. Keys C, Heloury Y. Retractable testes: a review of the current literature. *J Pediatr Urol*. 2012;8:2-6.
4. Agarwal PK, Diaz M, Elder JS. Retractable testis--is it really a normal variant? *J Urol*. 2006;175:1496-9.
5. Han SW, Lee T, Kim JH, Choi SK, Cho NH, Han JY. Pathological difference between retractile and cryptorchid testes. *J Urol*. 1999;162:878-80.
6. Cinti S, Barbatelli G, Pierleoni C, Caucci M. The normal, cryptorchid and retractile prepuberal human testis: a comparative morphometric ultrastructural study of 101 cases. *Scanning Microsc*. 1993;7:351-8; discussion 358-62.
7. Caucci M, Barbatelli G, Cinti S. The retractile testis can be a cause of adult infertility. *Fertil Steril*. 1997;68:1051-8.
8. Favorito LA, Cavalcante AG, Costa WS. Anatomic aspects of epididymis and tunica vaginalis in patients with testicular torsion. *Int Braz J Urol*. 2004;30:420-4.
9. Hutson JM, Balic A, Nation T, Southwell B. Cryptorchidism. *Semin Pediatr Surg*. 2010;19:215-24.
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. Turek PJ, Ewalt DH, Snyder HM 3rd, Duckett JW. Normal epididymal anatomy in boys. *J Urol*. 1994;151:726-7.

14. Favorito LA, Sampaio FJ. Anatomical relationships between testis and epididymis during the fetal period in humans (10-36 weeks postconception). *Eur Urol.* 1998;33:121-3.
15. Kolon TF, Patel RP, Huff DS. Cryptorchidism: diagnosis, treatment, and long-term prognosis. *Urol Clin North Am.* 2004;31:469-80.
16. S. Tekgül, H. Riedmiller, H.S. Dogan, Gerharz, P. Hoebeke, R. Kocvara, R. Nijman, Chr. Radmayr, R. Stein. Cryptorchidism pp. 11-12 in *Guidlines on Paediatric Urology*, European Association of Urology 2012.
17. Nistal M, Paniagua R. Infertility in adult males with retractile testes. *Fertil Steril.* 1984;41:395-403.
18. Ito H, Kataumi Z, Yanagi S, Kawamura K, Sumiya H, Fuse H, et al. Changes in the volume and histology of retractile testes in prepubertal boys. *Int J Androl.* 1986;9:161-9.
19. Stec AA, Thomas JC, DeMarco RT, Pope JC 4th, Brock JW 3rd, Adams MC. Incidence of testicular ascent in boys with retractile testes. *J Urol.* 2007;178:1722-4.
20. Hack WW, Sijstermans K, van Dijk J, van der Voort-Doedens LM, de Kok ME, Hobbelt-Stoker MJ. Prevalence of acquired undescended testis in 6-year, 9-year and 13-year-old Dutch schoolboys. *Arch Dis Child.* 2007;92:17-20.
21. Jedrzejewski G, Wozniak MM, Madej T, Kryza R, Zielonka-Lamparska E, Wieczorek AP. The differences in testicular volumes in boys 8-36 months old with undescended, retractile and hydrocele testis--usefulness of scrotal screening ultrasound. *Early Hum Dev.* 2012;88:185-9.
22. Bae JJ, Kim BS, Chung SK. Long-term outcomes of retractile testis. *Korean J Urol.* 2012;53:649-53.
23. Mollaeian M, Mehrabi V, Elahi B. Significance of epididymal and ductal anomalies associated with undescended testis: study in 652 cases. *Urology.* 1994;43:857-60.
24. Barthold JS, Redman JF. Association of epididymal anomalies with patente processus vaginalis in hernia, hydrocele and cryptorchidism. *J Urol.* 1996;156:2054-6.

Correspondence address:

Luciano Alves Favorito, MD
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 C – Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: TESTÍCULO RETRÁTIL: ESTUDO DO MUSCULO RETRÁTIL E DE ANOMALIAS ASSOCIADAS

Pesquisador: KLEBER MOREIRA ANDERSON

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 67954114.2.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto/ UERJ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.069.511

Apresentação do Projeto:

Avaliar a incidência de anomalias anatômicas em pacientes com testículos retráteis. Serão estudados 20 pacientes (28 testículos) com testículo realmente retráteis e comparados com 25 fetos humanos (50 testículos) com testículos tópicos na bolsa escrotal.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Mostrar incidência de anomalias do epidídimo e presença de conduto peritônio-vaginal no testículos retráteis

Objetivo Secundário:

Estudar a estrutura do músculo cremaster em pacientes com testículo retrátil

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

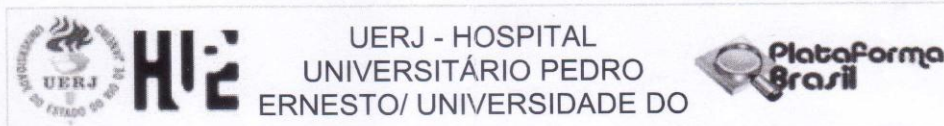
Riscos:

Riscos mínimos relacionados aos procedimentos de rotina, o pesquisador se responsabiliza por amenizar danos inerentes relacionados aos projeto caso ocorram.

Benefícios:

Provar que a cirurgia mais cedo pode evitar alterações morfológicas nos testículos retráteis

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 2.069.511

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa está bem estruturada e o referencial teórico e metodológico estão explicitados, demonstrando aprofundamento e conhecimento necessários para sua realização. As referências estão adequadas e a pesquisa é exequível.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A solicitação de isenção de TCLE procede para o tipo de pesquisa proposta. Todos os documentos de apresentação obrigatória foram enviados a este Comitê, estando dentro das boas práticas e apresentando todas as informações necessárias para apreciação ética.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto pode ser realizado da forma como está apresentado. Diante do exposto e à luz da Resolução CNS nº466/2012, o projeto pode ser enquadrado na categoria – APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente, o CEP recomenda ao Pesquisador: Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e no termo de consentimento livre e esclarecido, para análise das mudanças; Informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa; O Comitê de Ética solicita a V. S^a., que encaminhe relatórios parciais de andamento a cada 06 (seis) Meses da pesquisa e ao término, encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto; Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_427420.pdf	02/05/2017 16:09:08		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_OFICIAL.doc	02/05/2017 16:08:14	KLEBER MOREIRA ANDERSON	Aceito
Outros	Declaracao_ciencia.pdf	02/05/2017 15:50:07	KLEBER MOREIRA ANDERSON	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	Justificativa_para_ausencia_de_TCLE.pdf	02/05/2017 15:48:50	KLEBER MOREIRA ANDERSON	Aceito

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

Bairro: Vila Isabel

CEP: 20.551-030

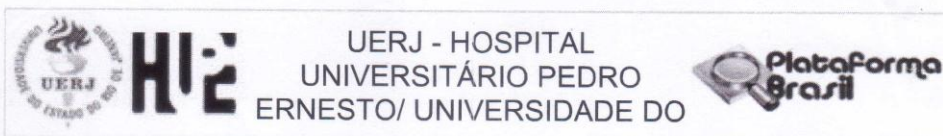
UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253

Fax: (21)2264-0853

E-mail: cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 2.069.511

Justificativa de Ausência	Justificativa_para_ausencia_de_TCLE.pdf	02/05/2017 15:48:50	KLEBER MOREIRA ANDERSON	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto_assinada.pdf	02/05/2017 15:46:06	KLEBER MOREIRA ANDERSON	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_427420.pdf	13/11/2014 16:48:57		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 17 de Maio de 2017

Assinado por:
DENIZAR VIANNA ARAÚJO
(Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br