

SAULO RODRIGUES JÚNIOR

**HISTOLOGIA DO TESTÍCULO APOSTO A UM RETALHO
INTESTINAL (CECAL) EM RATOS**

**Dissertação apresentada ao programa de
Pós-graduação em Ciências da Saúde, da
Faculdade de Medicina, da Universidade
Federal de Uberlândia, como requisito
parcial para obtenção de grau de mestre.**

Orientador: Professor Dr. Augusto Diogo Filho

Faculdade de Medicina

**Universidade Federal de Uberlândia
2008**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

R696h Rodrigues Júnior, Saulo, 1966-

Histologia do testículo aposto a um retalho intestinal (cecal) em ratos / Saulo Rodrigues Júnior. - 2008.

108 f. : il.

Orientador: Augusto Diogo Filho.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

Inclui bibliografia.

1. Testículos - Histologia - Teses. I. Diogo Filho, Augusto. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDU:

611.631.018

SAULO RODRIGUES JÚNIOR

**HISTOLOGIA DO TESTÍCULO APOSTO A UM RETALHO
INTESTINAL (CECAL) EM RATOS**

BANCA EXAMINADORA

Presidente da banca: Prof. Dr. Augusto Diogo Filho (Orientador – UFU)

TITULARES

Professor Dr. Duvaldo Eurídes

Professor Dr. Edson Samesima Tatsuo

Professor Dr. Paulo Gonçalves Oliveira

SUPLENTES

Professor Dr. Luzmar de Paula Faria

Dra. Mariza Rodrigues de Faria

Aprovada em: ____ / ____ / ____

DEDICATÓRIA

A Deus, que está antes de tudo!

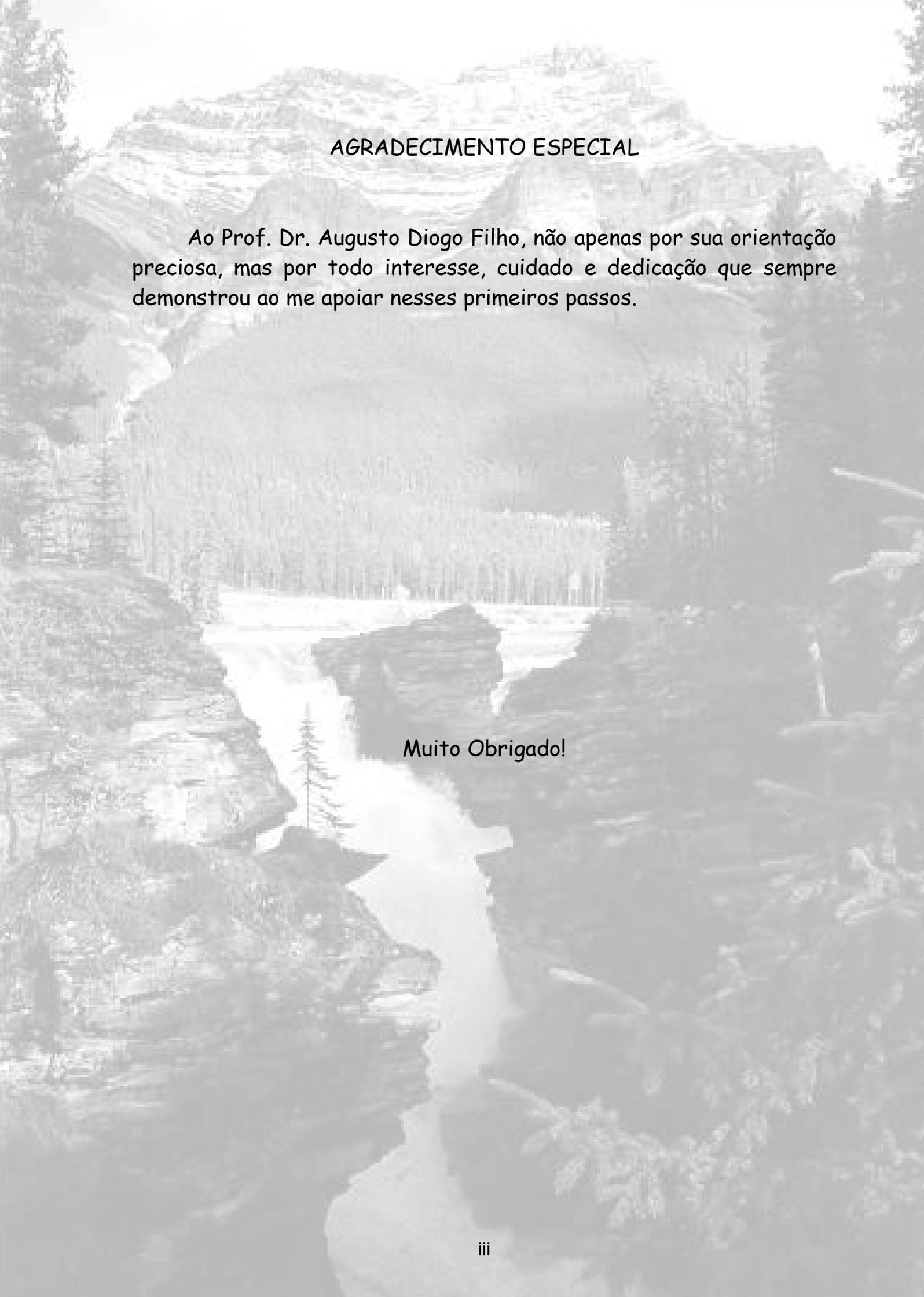
A minha esposa e filhas, por seu carinho e estímulo!

Aos meus pais e familiares, que sempre acreditaram no meu potencial!

Aos meus mestres, que, desde o primeiro dia, na primeira escola
forjaram o que sou hoje!

Aos pacientes, que são o motivo da minha vontade de crescer e
melhorar!

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a
realização deste projeto!



AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. Augusto Diogo Filho, não apenas por sua orientação preciosa, mas por todo interesse, cuidado e dedicação que sempre demonstrou ao me apoiar nesses primeiros passos.

Muito Obrigado!

AGRADECIMENTOS

A Professora Dra. Tânia Machado de Alcântara, pela grande contribuição nos achados histopatológicos.

Aos alunos do Curso de Medicina da FAMED-UFU Thiago, Lázaro e Ricardo, pela indispensável ajuda na confecção do trabalho.

Aos professores da Pós-graduação, pela sua dedicação e interesse em transmitir seus inestimáveis conhecimentos.

A todos os servidores e colaboradores ligados ao programa de Pós-graduação, que muitas vezes doaram seu tempo sem exigir nada em troca.

Ao Professor Dr. Carlos Henrique, pela sua grande disponibilidade em ajudar.

Meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

Este trabalho experimental tem como objetivo estudar histologicamente a vascularização testicular, depois da aposição cirúrgica de um retalho intestinal (ceco) ao testículo de ratos Wistar, bem como as conseqüências do procedimento para a gônada.

Utilizou-se 53 ratos, adultos, machos, com idade entre 12 meses e 16 meses, da linhagem Wistar e pesando entre 290g e 440g selecionados de uma população de ratos de laboratório, aparentemente sadios e divididos em quatro grupos, GI, GII, GIII e GIV. Os ratos, em jejum para sólidos por 12h, foram anestesiados com Cloridrato de cetamina (40mg/Kg) e Cloridrato de xilazina a 2% (1mL / Kg). Os pesos foram aferidos 30 minutos antes dos procedimentos cirúrgicos e 30 minutos antes da eutanásia. Foram operados aleatoriamente ratos dos grupos (I, II, e III). Para o GIV os ratos foram apenas separados, nas mesmas condições, como grupo controle. Após as intervenções cirúrgicas, todos os animais foram tratados com a mesma alimentação (ração), iniciada após a recuperação anestésica, “*ad libitum*” e colocados em ambientes com as mesmas características. Foram excluídos sete animais.

Grupo I: celiotomia, identificação do ceco, mobilização do testículo direito (TD), por tração, para o abdome, sutura do retalho cecal ao testículo e fechamento da cavidade.

Grupo II: celiotomia, mobilização, do TD para o abdome, fixação do testículo ao peritônio e fechamento da cavidade.

Grupo III: celiotomia e mobilização do TD para o abdome por três minutos, reposicionamento na bolsa testicular e fechamento da cavidade.

Grupo IV: não foram operados.

A eutanásia foi feita 20 dias depois e os testículos foram enviados para análise histológica.

Realizou-se análise morfométrica (histometria) e classificação segundo escore de lesão (EL). Avaliou-se a vascularização testicular, comparando-se os grupos I e III. Compararam-se estatisticamente as médias dos pesos entre os grupos. Considerou-se um $p < 0,05$.

Os diâmetros dos TD no GI foram iguais aos do GII (TD menores) e diferentes dos mesmos diâmetros de GIII e GIV. A média dos escores de lesão nos TD foi de 5,83 pontos para o GI, de 3,3 pontos para o GII, não havendo diferença significativa entre esses. No entanto, foram diferentes de GIII e GIV (sem lesão). A vascularização no GI teve média de 16,9 vasos por campo de grande aumento (400X) no TD. No GIII a média foi de 0,96 no TD e 0,92 no TE, com diferença significativa. O peso médio dos ratos no GI foi igual ao GII e diferente de GIII e GIV.

Houve aumento significativo da vascularização dos testículos apostos aos retalhos intestinais. As lesões testiculares encontradas não puderam ser relacionadas à presença do retalho intestinal. A anestesia, a resposta ao trauma cirúrgico, a manipulação dos testículos e a variação dos pesos não provocaram lesões ou redução dos diâmetros testiculares.

Descritores: Criptorquia. Vascularização. Retalho intestinal. Ratos.

ABSTRACT

The aim of this experiment is to study, histologically, the testicular vascularization, after apposition of an intestinal pedicle flap to the testicle of Wistar rats, as well as the consequences of procedure for the gonads.

It was used 53 Wistar male rats with age varying between 12 and 16 months, and weighing between 290g and 440g were selected into a laboratory rats population, apparently healthy and divided into 4 groups, GI, GII, GIII and GIV. The rats, with a 12h fast for solid food were submitted to anesthesia using Cetamine hydrochloride (40 mg /Kg) and a 2% Xylazine hydrochloride solution (1mL /Kg). The animals were weighed 30 minutes before procedures and 30 minutes before euthanasia. The surgical procedures were randomly made in rats of GI, GII and GIII, but the rats of GIV were only reserved, in the same conditions, as a control group.

After procedures, the animals were treated with the same food, offered after anesthetic recovery, "*ad libitum*" and placed in an environmental with the same characteristics. Seven rats were excluded.

GI: submitted to celiotomy, mobilization, by traction, of the right testicle (RT) to the abdomen, cecal flap suture to the RT and cavity closure.

GII: celiotomy, mobilization of the RT to the abdomen, fixation of RT into abdomen (peritoneum) and cavity closure.

GIII: celiotomy, mobilization of the RT to the abdomen, RT exposition to air (3 minutes), reposition into scrotum and cavity closure.

GIV: not operated on (control group).

Euthanasia was done 20 days after and the testicles were submitted to histological analysis.

A Morfometric analysis (histometry) was done and lesions score classification was applied. Testicular vascularization was studied with comparison between GI and GIII. The weight's averages were compared among the groups. A $p < .05$ was considered.

The GI RT diameters were not different to GII RT and all have decreased size in comparison with RT of GIII and GIV. The lesions score's average was 5.83 in the RT of GI and 3.3 in GII, without statistical difference. The vascularization's average in the RT of GI was 16.9 vessels in 400X augmentation field. In the GIII the average was 0.96 to the RT and 0.92 to left testicles. The weight's average in GI was similar with GII but different of GIII and GIV.

There was significant vascularization in the testicles with intestinal flaps. Testicle lesions were observed, but the intestinal flap wasn't a proved cause. The anesthesia, the surgical trauma response the manipulation of the testicles and the weigh variations didn't cause lesions or diameters decrease in the testicles.

KEY WORDS: Cryptorquidism. Vascularization. Intestinal pedicle flap. Rats.

LISTA DE GRÁFICOS, QUADRO E TABELAS

GRÁFICOS	PÁGINA
Gráfico 1. Comparação entre as médias de pesos (g) dos ratos antes (P1) e depois dos procedimentos cirúrgicos (P2)	43
Gráfico 2. Representação esquemática dos diâmetros testiculares, longitudinal e transversal, nos quatro grupos (M.O.C. - 40X)	46
Gráfico 3. Médias dos valores dos escores de lesões em cada grupo	52
Gráfico 4. Comparação estatística dos escores de lesão, entre os grupos, com os respectivos valores de p - (Kruskall – Wallis)	53
Gráfico 5. Médias do número de vasos (vv), em 5 campos de grande aumento (5CGA), nos testículos direitos do GI e nos testículos direitos e esquerdos do GIII	58
QUADRO	
Quadro 1. Escores de classificação morfométrica das lesões testiculares de ratos, depois dos procedimentos cirúrgicos	38
TABELAS	
Tabela 1. Variações, médias e desvios padrões dos pesos (g), dos ratos em cada grupo, antes dos procedimentos cirúrgicos.	42
Tabela 2. Variações, médias e desvios padrões dos pesos (g), dos ratos em cada grupo, depois dos procedimentos cirúrgicos e antes da eutanásia.	42
Tabela 3. Médias, desvios padrões e DMS dos diâmetros testiculares, nos quatro grupos.	45
Tabela 4. Variações dos diâmetros longitudinais e transversais dos testículos direitos e esquerdos dos ratos, em cada grupo.	45
Tabela 5. Valores de escores de lesões nos testículos direitos e esquerdos com respectivas médias e desvios padrões, nos quatro grupos.	52
Tabela 6. Médias do número de vasos, por cinco campos de grande aumento (400X), no GI e no GIII com os respectivos desvios padrões.	58

LISTA DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. Possíveis localizações do testículo na distopia testicular.	22
Figura 2. Foto do sistema digestório do rato Wistar (<i>Rattus norvegicus albinus</i>), dissecado no Laboratório de Cirurgia Experimental da disciplina de Técnica Operatória da FAMED-UFU.	31
Figura 3. Preparo do retalho e sutura cecal em dois planos.	35
Figura 4. Retalho cecal envolvendo o testículo.	35
Figura 5. Comparação macroscópica entre os testículos direito e esquerdo de um mesmo rato no GI. Observa-se que o testículo direito é menor.	46
Figura 6. Testículos direito e esquerdo de um dos ratos de GII, com diâmetros diferentes.	47
Figura 7. Testículos direito e esquerdo de um dos ratos de GIV, com diâmetros semelhantes e normais.	49
Figura 8. Fotomicrografia do testículo direito, normal, com escore de lesões zero, em um dos ratos do GIV, (HE – 40X).	54
Figura 9. Fotomicrografia do testículo direito, normal, do mesmo rato da figura 8. Destaca-se a preservação das quatro linhagens celulares, (HE – 400X).	54
Figura 10. Fotomicrografia do testículo atrófico de um dos ratos do GII com discreto espessamento da túnica albugínea, redução dos diâmetros tubulares e ausência de necrose e inflamação, classificado com escore 2, (HE – 100X).	55
Figura 11. Fotomicrografia do túbulo seminífero com acentuada depleção de células germinativas, com escore 4 em rato do GII, (HE – 400X).	55
Figura 12. Fotomicrografia do testículo com discreto espessamento da túnica albugínea, necrose de numerosos túbulos seminíferos e ausência de inflamação em rato do GII, classificado como escore de lesão 6, (HE – 100X).	55
Figura 13. Fotomicrografia do testículo com túbulos seminíferos necróticos, circundados por intenso infiltrado inflamatório em rato do GI, com escore de lesão 8, (HE – 400X).	56
Figura 14. Fotomicrografia da área de transição entre a parede intestinal e o testículo com presença de numerosos capilares sanguíneos e de arteríola em um dos ratos do GI, (HE - 100X).	59

Figura 15. Fotomicrografia da área de transição entre o retalho cecal e o testículo com numerosos capilares e arteríola em ratos do GI, (HE - 200X). 59

LISTA DE ABREVIATURAS

	PÁGINA
TC - Tomografia computadorizada.	25
GnRH - Gonadotropin-releasing hormone.	28
GI - Grupo 1.	32
GII - Grupo 2.	32
GIII - Grupo 3.	32
GIV - Grupo 4.	32
mL – mililitro.	33
g – grama.	32
CEUA – Comissão de ética na utilização de animais.	32
UFU - Universidade Federal de Uberlândia.	32
PVPI - Polivinil pirrolidona iodada (solução iodada a 1%).	34
® - Marca Registrada.	34
HE - Hematoxilina e eosina.	37
CGA - Campos de grande aumento.	38
P1 – pesos antes dos procedimentos.	42
P2 – pesos após os procedimentos.	42
DLTD - Diâmetro longitudinal do testículo direito.	45
DLTE - Diâmetro longitudinal do testículo esquerdo.	45
DTTD - Diâmetro transversal do testículo direito.	45
DTTE - Diâmetro transversal do testículo esquerdo.	45
ELTD - Escore de lesões no testículo direito.	52
ELTE - Escore de lesões no testículo esquerdo.	52
vv - Vasos sanguíneos.	57

MD - Média do número de vasos dos testículos direitos.	58
ME - Média do número de vasos dos testículos esquerdos.	58
TD – Testículo direito	58
TE – Testículo esquerdo	58

ÍNDICE

PÁGINA

INTRODUÇÃO	15
REVISÃO DA LITERATURA	19
CONCEITOS.....	19
PATOGÊNESE.....	20
CLASSIFICAÇÃO.....	22
PROPEDÊUTICA.....	25
TRATAMENTO.....	27
PROPOSTA CIRÚRGICA EM HUMANOS.....	29
PROPOSTA CIRÚRGICA EXPERIMENTAL.....	30
MATERIAL E MÉTODO	32
PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS.....	32
CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	34
ANÁLISE HISTOLÓGICA.....	37
ESTATÍSTICA.....	40
RESULTADOS	41
EXCLUSÕES.....	41
PESO.....	41
MEDIDAS DE PESOS ANTES (P1) DOS PROCEDIMENTOS.....	42
MEDIDAS DE PESOS DEPOIS (P2) DOS PROCEDIMENTOS.....	43
DIÂMETROS TESTICULARES.....	44

COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS.....	50
ESCORES DE LESÕES.....	51
VASCULARIZAÇÃO.....	57
ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	60
PESO.....	60
DIÂMETROS TESTICULARES.....	60
ESCORES DE LESÕES.....	61
VASCULARIZAÇÃO.....	61
DISCUSSÃO	62
MODELO EXPERIMENTAL.....	63
AMOSTRA.....	64
ANESTESIA.....	64
PATOLOGIA.....	65
FIXAÇÃO E COLORAÇÃO.....	65
VARIÁVEIS DO EXPERIMENTO.....	66
PESO.....	66
DIÂMETROS TESTICULARES.....	66
LESÃO TESTICULAR.....	68
VASCULARIZAÇÃO.....	69
VANTAGENS DA UTILIZAÇÃO DO RETALHO INTESTINAL.....	71
PROPOSTAS FUTURAS.....	72
CONCLUSÕES	74
REFERÊNCIAS	75

ANEXOS	80
Anexo I - FICHA DE ACOMPANHAMENTO DOS RATOS.....	80
Anexo II - PROJETO PILOTO.....	90
Anexo III - TABELA DE DIÂMETROS, ESCORES DE LESÕES E VASCULARIZAÇÃO.....	93
Anexo IV - ANÁLISE BIOÉTICA (BIOLOGIA).....	94
Anexo V - ANÁLISE BIOÉTICA (CEUA).....	95
Anexo VI - ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	96
Anexo VII - LEGENDAS E FOTOGRAFIAS DAS LÂMINAS DA PATOLOGIA.....	105

INTRODUÇÃO

A distopia testicular foi descrita pela primeira vez, com maiores detalhes, por John Hunter, em 1786, depois de estudá-la em cadáveres de fetos humanos. Em 1820, Rosenmerkal fez a primeira tentativa de tratamento cirúrgico, sem sucesso. Em 1877, ocorreu a primeira intervenção cirúrgica bem sucedida com sobrevivência do paciente, a qual se credita a Annandale. (Hunter, 1786; Rosenmerkal, 1820; Annandale, 1877, apud Kolon, 2005, p. 1). Desde então, essa afecção tem sido um verdadeiro desafio para os que empregam procedimentos cirúrgicos como meio de tratamento.

O tema distopia testicular ainda suscita alguns questionamentos. Verifica-se, até hoje, discussão a respeito da idade ideal para se realizar a intervenção cirúrgica; que já sofreu grandes modificações com o passar dos anos. Até a década de 1980, a idade preconizada era entre nove anos e doze anos. Com as pesquisas de Hadziselimovic, nos anos de 1980, a orquiopexia passou a ser recomendada antes dos dois anos de idade. Atualmente, a orquiopexia está indicada por volta de nove meses a um ano de vida **(1,2,3,4,5)**. Outros paradigmas são: o uso de hormônios na tentativa de aumentar a taxa de fertilidade na maturidade sexual **(6)** e o uso de técnicas cirúrgicas que permitam abaixar os testículos, intrabdominais, sem que haja desvitalização com conseqüente atrofia gonadal.

O tratamento cirúrgico sofreu poucas modificações até a década de 1940, quando se inicia a era moderna da cirurgia pediátrica. Nessa época, Ladd e Gross fizeram pequenas modificações técnicas, mas, apenas em 1959, é que surgiu a primeira proposta cirúrgica para o tratamento dos testículos intrabdominais por Fowler e Stephens **(7,8)**.

Em 1984, Ransley modificou a proposta de Fowler e Stephens, conseguindo melhorar as taxas de sucesso do tratamento cirúrgico, porém ainda se observavam, aproximadamente, 30% de atrofia testicular **(9)**. Desde então, muito se tem pesquisado, mas o único avanço realmente importante foi a utilização da técnica de Fowler-Stephens-Ransley por meio de videolaparoscopia, com abaixamento testicular em um ou dois tempos cirúrgicos **(10,11)**.

Na década de 1970, idealizou-se a técnica de autotransplante testicular **(12,13)**, porém trata-se de procedimento complexo e que não se consolidou na prática cirúrgica.

No campo experimental, há relatos de aumento da vascularização testicular com o uso de tecidos autólogos apostos à gônada. Já foram utilizados retalhos músculo-aponeuróticos, de omento e de bexiga, com sinais promissores **(14,15,16,17,18)**.

JUSTIFICATIVA

É de suma importância que seja mantida a eutrofia gonadal nos procedimentos cirúrgicos para abaixamento testicular, em pacientes com criptorquia. Portanto, é necessário o estudo de alternativas para se conseguir esse objetivo. A escolha de um modelo experimental, em ratos Wistar, foi idealizada pela maior disponibilidade desses animais e pela facilidade de manipulação destes, em laboratório.

OBJETIVO GERAL

Induzir uma neoformação vascular entre um retalho intestinal e o testículo de ratos da linhagem Wistar, por meio de procedimento cirúrgico com aposição desses tecidos.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Estudar, histologicamente, a possibilidade do surgimento de vascularização entre o testículo e um retalho intestinal, apostos cirurgicamente, em ratos da linhagem Wistar, bem como avaliar as conseqüências desse procedimento para o testículo, utilizando-se a correlação das seguintes variáveis:

- Vascularização enterogonadal;
- Diâmetros testiculares;
- Lesões testiculares;
- Pesos dos ratos.

REVISÃO DA LITERATURA

CONCEITOS

Por causa da falta de uniformidade na nomenclatura, quando o assunto é distopia testicular, apresenta-se, a seguir, a descrição dos termos comumente empregados.

A distopia testicular caracteriza-se pela ausência do testículo da sua bolsa e pode ter como causa: a anorquia, a ectopia testicular, a atrofia testicular, o testículo retrátil e a **criptorquia**.

A anorquia caracteriza-se pela ausência congênita do testículo, uni ou bilateralmente.

A ectopia testicular pode ser definida como a ausência do testículo do escroto, porém em algum lugar fora do seu trajeto normal de descida, ou ainda, chamado de trajeto ontogenético.

A atrofia testicular se caracteriza pela redução do volume testicular e pode levar ao desaparecimento da gônada (*vanishing-testis*). Quando presente, ao nascimento, pode ter como causas: má-formação congênita ou torção intra-uterina.

O testículo retrátil é aquele que se encontra fora do escroto, normalmente, na região inguinal ou na base da bolsa e que resulta da excessiva força contrátil do músculo cremaster. Quando mobilizado manualmente, retorna à bolsa testicular. Não é considerado anormalidade.

A criptorquia se define pela parada de descida do testículo em algum lugar no seu trajeto ontogenético. Essa condição será o foco desta pesquisa, principalmente naqueles casos em que os testículos se localizam no abdome, o que, muitas vezes, pode resultar numa dificuldade para o tratamento cirúrgico (**19, 20, 21,22,23**).

PATOGÊNESE

A ausência do testículo do escroto ocorre por falha na embriogênese e ou na migração da gônada masculina **(19, 23, 24)**. Depois da sua formação, o testículo localiza-se no retroperitônio, junto ao pólo inferior do rim. Por volta do sétimo mês de vida intra-uterina, começa sua descida no sentido crânio-caudal. Entra no canal inguinal, carreando consigo uma dobra peritonal que dará origem ao conduto peritônio-vaginal. Depois de passar pelo ânulo inguinal interno, canal inguinal e se projetar pelo ânulo inguinal externo, atinge o escroto **(19, 20,21)**.

A descida é guiada pelo “*gubernaculum testis*” e sofre ação de andrógenos gonadais além de outros fatores, como a prensa da musculatura abdominal **(19,25)**. A migração testicular, normalmente, termina próxima do termo da gestação, mas poderá ocorrer até alguns meses depois do nascimento **(20,26)**.

A criptorquia tem uma incidência aproximada de 33% em prematuros, de 4% a 5% em nascidos vivos a termo e de 0,8% a 1% no final do primeiro ano de vida **(19, 20, 28)**. É a desordem de diferenciação sexual mais freqüente e a doença endócrina mais comum no sexo masculino. As suas conseqüências dependem, principalmente, da localização anômala do órgão e da presença de más-formações estruturais **(20, 29, 30)**. A posição anormal do testículo leva à maior propensão às torções e ao trauma. Esta condição também é causa de alterações funcionais, como a esterilidade, maior risco de neoplasia **(31)** e insuficiência androgênica. A bolsa testicular vazia pode levar a repercussões psicológicas nas crianças e dúvidas dos familiares e dos pacientes quanto a alterações na fertilidade e na atividade sexual **(1, 2, 18,19)**.

A criptorquia é mais freqüentemente encontrada unilateralmente, sendo 75% dos casos à direita. Na maioria dos pacientes, é um achado isolado, mas em 10% a 20% deles essa anormalidade poderá estar associada às disfunções hipotalâmico-hipofisárias, doenças genéticas ou embrionárias e má-formação da parede abdominal. Sua associação com outras anormalidades genitais, como a hipospádia e o micropênis, indica uma possibilidade de anomalia de diferenciação sexual **(19, 20, 24, 25)**.

CLASSIFICAÇÃO

Na distopia testicular, a gônada pode estar em posição abdominal, canalicular e pré-escrotal, classificada como testículo críptico. Pode também estar em posição pubiana (pré-peniana), femoral e perineal, denominada de testículo ectópico (Figura 1).

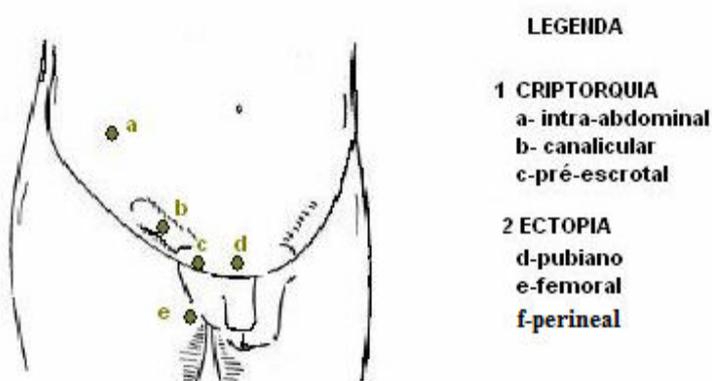


FIGURA 1. Possíveis localizações do testículo na distopia testicular

Pode-se também classificar o testículo distópico como palpável ou impalpável.

Palpável

Palpável em trajeto normal

- Retrátil: comumente, situa-se na bolsa testicular, porém em situação de tensão ou sensação de frio, ascende à base do escroto ou ao canal inguinal. Quando manuseado, desce até a bolsa, só ascendendo com nova contração do cremaster (frio, tensão etc);

- Retido: pode ter localização canalicular (*gliding testis*) e pré-escrotal;

Palpável em trajeto anormal (ectópicos)

- Inguinal superficial;
- Pubopeniano;
- Perineal;
- Femoral;
- Cruzado, chamado também de transverso. Normalmente associa-se a persistência de restos Mülllerianos. Ambos os testículos descem por um mesmo canal inguinal e se alojam, freqüentemente, na região inguinal. A apresentação clínica mais comum é de hérnia inguinal de um lado e criptorquia contralateral ou mesmo bilateral **(32)**.

Impalpáveis

- Intrabdominais ou criptorquia verdadeira;
- Anorquia. Pode ser uni ou bilateral e é uma condição extremamente rara (4% dos casos). Nas unilaterais, observa-se um fenótipo masculino. Na anorquia bilateral, o fenótipo será quase sempre feminino, tendo como

exceção os casos de “*vanishing testis*” ou testículo reabsorvido (**20, 22,23,27**).

PROPEDÊUTICA

A localização testicular por meio de exames de imagem tem valor limitado e é pouco utilizada. A ultra-sonografia realizada com transdutor de 5 -7MHz confere melhores resultados, pois permite a localização de testículos que estejam próximos ao anel inguinal interno. Nos casos em que haja suspeita de anomalias de desenvolvimento sexual, esse exame pode identificar restos Müllarianos, útero, trompas etc **(19)**. Por outro lado, Elder em 2002, num trabalho retrospectivo com 62 crianças com testículos impalpáveis avaliados por ultra-sonografia, escreveu:

Nós concluímos que a ultra-sonografia é desnecessária em meninos com testículos impalpáveis por que ela raramente, ou mesmo nunca, localiza os verdadeiros testículos impalpáveis e o seu resultado não exclui a exploração cirúrgica. Esta forma de exploração deve ser desencorajada nesses pacientes **(33)**.

A Tomografia computadorizada (TC) leva a um grande número de falsos negativos (44%) e, além disso, utiliza radiação ionizante com necessidade de sedação. A Ressonância Nuclear Magnética é pouco superior a TC, mas ainda com baixa especificidade **(20, 33, 34)**.

O melhor método de localização do testículo impalpável é a videolaparoscopia, que também é uma modalidade terapêutica, uma vez que possibilita a identificação e localização exata dos testículos abdominais **(34,35)**.

Essa via de acesso permite avaliar o testículo quanto a sua viabilidade (eutrofia) e sua localização. Nos casos em que o pedículo é longo e o testículo é bem formado é possível se realizar a orquiopexia. Nos casos onde se detectam

atrofia ou má-formação, realiza-se a orquiectomia. Se o testículo é bem formado e seu pedículo é curto, pode se executar o primeiro tempo da operação para abaixamento testicular como descrito por Fowler-Stephens e Ransley **(10,11)**

TRATAMENTO

A criptorquia é uma afecção comum na prática cirúrgica pediátrica, já que é a doença endócrina mais comum e a anormalidade de diferenciação sexual mais freqüentemente encontrada no sexo masculino **(20,29,30)**.

Desde as observações de Hunter (1786 apud Kolon, 2005) houve significativos avanços nos conhecimentos da sua fisiopatologia e terapêutica. Os grandes paradigmas dessa condição sempre estiveram relacionados à idade ideal para a realização da orquiopexia, à utilização de hormônio como adjuvante no tratamento cirúrgico, bem como à melhor técnica cirúrgica a ser empregada para evitar, ao máximo, as lesões testiculares. Várias tentativas têm sido feitas no sentido de se preservar a eutrofia gonadal, quando se emprega um procedimento cirúrgico para abaixamento testicular, sobretudo, naqueles casos em que não se tem um pedículo suficientemente longo para alcançar o escroto. Esses casos ocorrem, especialmente, nos testículos localizados no abdome.

O tratamento da distopia testicular é de observação clínica até a criança completar de nove meses a 12 meses de vida, exceto para os pacientes com hérnia inguinal, nos quais se aproveita o momento da correção da hérnia para a realização da orquiopexia **(19,20)**. A migração testicular pós-natal, em direção ao escroto, ocorre, na maioria dos casos, até o terceiro mês de vida e raramente depois do 6º mês.

A partir da década de 1980, estabeleceu-se que o momento indicado para a orquiopexia deveria ser depois do primeiro ano de vida e antes da criança completar dois anos, com o objetivo de se preservar a espermatogênese **(26)**. Estudos recentes têm demonstrado que a idade para a orquiopexia deve estar entre os seis

meses e os nove meses de vida, **(2, 3, 4)** e que o uso precoce do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) tem um papel importante nas taxas de fertilidade, na idade reprodutiva **(4)**.

PROPOSTA CIRÚRGICA EM HUMANOS

Geralmente, há grande dificuldade técnica para a realização da orquiopexia, quando o testículo se encontra em posição abdominal. Nesses casos, muitas vezes, é necessária a ligadura dos vasos do pedículo para que se possa posicionar a gônada na bolsa testicular. Em 1959, Fowler e Stephens propuseram a ligadura do pedículo e o abaixamento da gônada, porém com alto índice de atrofia testicular **(7)**. Em 1984, Ransley sugeriu uma variação desse procedimento com ligadura simples dos vasos testiculares, abdominais, no primeiro tempo cirúrgico. Depois de quatro meses a seis meses, realiza-se a secção dos vasos e a descida da gônada até a bolsa (segundo tempo). Com essa modificação, houve redução no número de atrofias testiculares, porém ainda ao redor de 20% a 30% dos casos. **(9)**.

As técnicas que propõem a ligadura da artéria testicular, para aumentar a possibilidade de descida cirúrgica da gônada, baseiam-se no fato de que, no ser humano, a irrigação do testículo se faz pelas artérias gonadal, cremastérica e deferencial. Com a ligadura da primeira, estabelecer-se-ia lentamente um fluxo colateral proveniente dos outros vasos, além de induzir uma circulação colateral com o peritônio, mediante uma neoformação vascular. Esses fenômenos deveriam ser suficientes para manter a vitalidade testicular depois da realização do segundo tempo cirúrgico. No entanto, esta circulação colateral nem sempre mantém a irrigação adequada do testículo e pode haver atrofia em muitos casos **(7,9)**.

PROPOSTA CIRÚRGICA EXPERIMENTAL

Nos últimos anos, a procura por procedimentos cirúrgicos que preservem a vitalidade gonadal nos procedimentos para abaixamento testicular tem motivado muitas pesquisas. Foram publicados resultados animadores com a utilização de retalhos para se promover um aumento da vascularização testicular.

Experimentos com retalho de bexiga **(14)**, retalho de omento **(15, 16,17)** e retalho fasciovascular **(18)** demonstraram que é possível induzir cirurgicamente uma circulação colateral entre o testículo e um retalho. Esta neoformação vascular poderia ajudar a manter a eutrofia testicular.

Muitos autores têm empregado retalhos intestinais como soluções engenhosas para a substituição de condutos naturais. Utilizou-se o apêndice cecal para substituir a uretra e o ureter. O íleo terminal e o colo também foram empregados para ampliações vesicais, na substituição total da bexiga, na confecção de neovagina e na confecção de condutos para cateterizar a bexiga **(36, 37, 38, 39, 40)**.

A abundância de tecido intestinal é uma das principais vantagens em se utilizar esse órgão. Além disso, pode se manter um longo pedículo vascular nesses retalhos, o que lhes confere grande mobilidade. Os intestinos, pelas suas características anatômicas, têm sido muito utilizados nos transplantes autólogos, para reconstrução do trato urinário **(36,37,39,40)**.

O estudo experimental em ratos é bastante difundido, quando se trata de avaliar aspectos relacionados com a criptorquia **(15, 16, 17,18, 44, 45)**. No Laboratório de Técnica Cirúrgica Experimental, da Universidade Federal de Uberlândia, há grande disponibilidade desses animais, os quais são facilmente

aclimatados em ambiente experimental. Por esses motivos, eles foram utilizados com a vantagem de evitar os vieses de uma população heterogênea de animais.

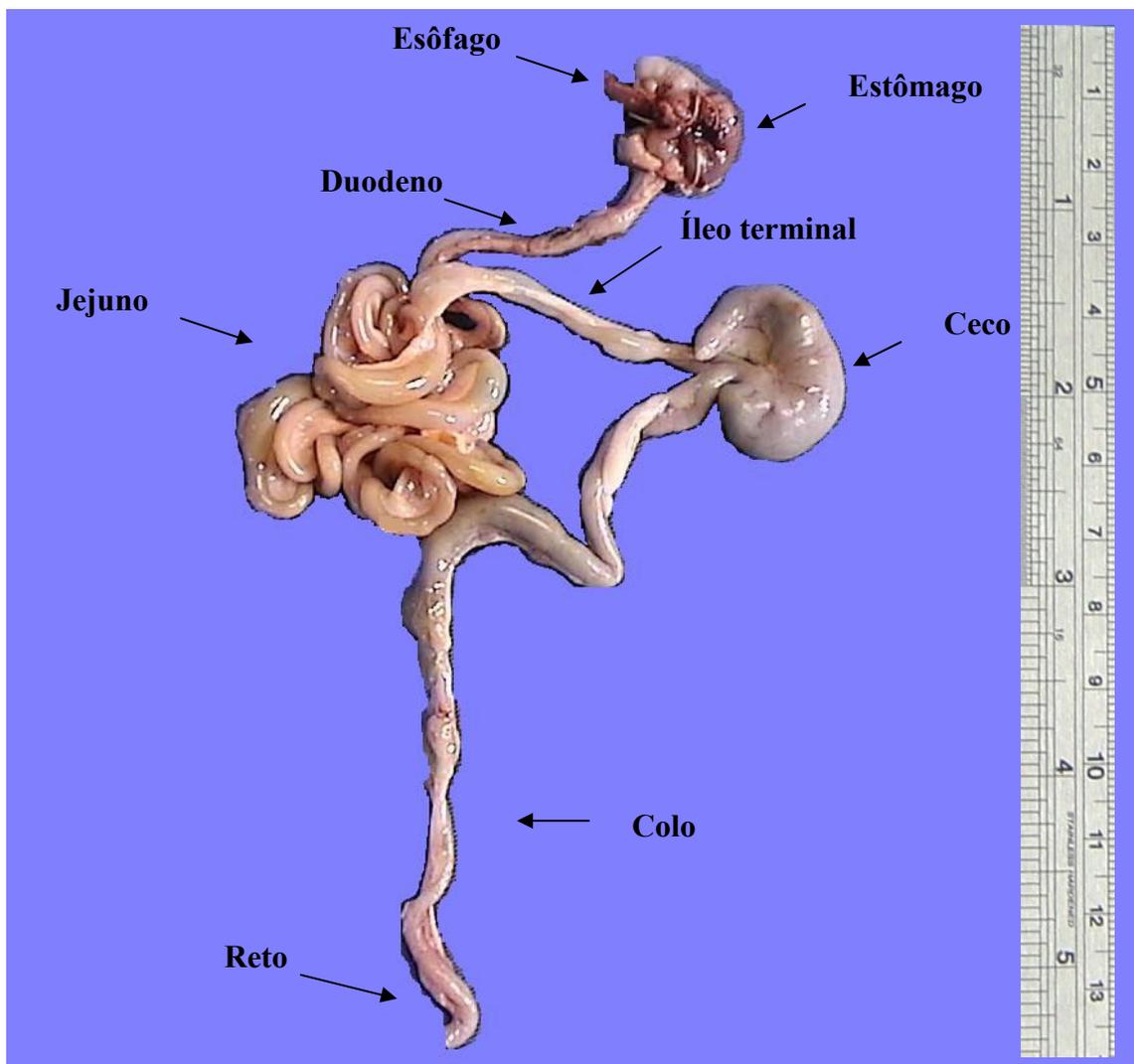


FIGURA 2. Foto do sistema digestório do rato Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), dissecado no Laboratório de Cirurgia Experimental da disciplina de Técnica Operatória da FAMED-UFU

MATERIAL E MÉTODO

Trata-se de um estudo do tipo analítico, intervencional, experimental e prospectivo.

A avaliação ética da pesquisa foi feita no Instituto de Biologia, da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), pelo Dr. Kleber Del Claro. Também foi feita a avaliação pela CEUA (Comissão de Ética na Utilização de Animais - UFU), pela qual obtivemos declaração favorável (Anexos IV e V).

A proposta da utilização de um retalho do ceco (Figura 2) foi fruto do aprendizado, depois dos resultados desfavoráveis com o uso de intestino delgado, como pode ser analisado na descrição do estudo piloto, em anexos (Anexo 2).

PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

Cinquenta e três ratos, adultos, machos, com idade entre 12 meses e 16 meses, aparentemente saudáveis, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) e com peso entre 290g e 440g, foram selecionados aleatoriamente para o estudo. Os animais foram distribuídos em quatro grupos, conforme o tipo de procedimento: 12 animais para o grupo I (GI); 12 para o grupo II (GII); 11 para o grupo III (GIII); e 11 para o grupo IV (GIV), num total de 46 ratos (sete ratos foram excluídos).

Os animais foram fornecidos pelo Laboratório de Cirurgia Experimental da disciplina de Técnica Operatória, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, já aclimatados em ambiente experimental. Eles foram colocados em jejum pré-operatório, para alimentos sólidos, por 12h, e pesados 30 minutos antes dos procedimentos cirúrgicos. Utilizou-se balança analógica Filizola®, para até 20

Kg, com intervalo mínimo de 20g. Os animais foram operados em dias diferentes em grupos de quatro ou cinco animais em cada dia. A anestesia foi feita com injeção subcutânea de uma associação de Cloridrato de cetamina (anestésico geral) na dose de 40 mg / Kg e Cloridrato de xilazina a 2% na dose de 1mL / Kg (anestésico, analgésico e relaxante muscular), conforme protocolo do Laboratório. (41, 42). Os animais foram colocados em decúbito dorsal com membros imobilizados (fita crepe), e, em seguida realizou-se tricotomia abdominal. A anti-sepsia foi feita com polivinilpirrolidona iodada alcoólica a 2%, e colocou-se um campo fenestrado estéril na área tricotomizada como medida de assepsia.

Todos os procedimentos foram realizados seguindo-se técnicas operatórias de assepsia e anti-sepsia, incluindo paramentação completa.

Em cada horário cirúrgico, sempre no período vespertino, foram operados, aleatoriamente, ratos dos grupos I, II e III. Para o grupo IV, não operados, os ratos foram selecionados, como aqueles que foram para os procedimentos cirúrgicos e reservados para a eutanásia, 20 dias depois (todos).

Depois dos procedimentos nos grupos I, II e III e da seleção do grupo IV, todos os animais foram tratados com a mesma alimentação iniciada depois da recuperação anestésica, “*ad libitum*”, e colocados em ambientes com as mesmas características (gaiolas com alimentação e água). Utilizou-se ração para animais de laboratório (Focus 1726) da marca Agrocerec.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos do estudo todos os ratos que morreram antes da eutanásia, bem como os que apresentaram impossibilidade de análise histológica dos testículos.

Grupo I (GI – retalho de ceco suturado ao testículo)

Os animais deste grupo foram submetidos à celiotomia mediana de, aproximadamente, 3cm. Selecionou-se um segmento de mais ou menos 1cm, na porção distal do ceco, com todas as camadas, para a confecção do retalho. O pedículo vascular do segmento escolhido foi preservado, e a anti-sepsia do retalho foi feita com soro fisiológico e PVPI aquosa. A porção proximal do ceco foi fechada por sutura contínua, em dois planos (total e extra-mucoso) com fio de poligalactina - 910 (Vicryl ®) 6-0 (Figura 3). Realizou-se manobra do “borracheiro” para testar a sutura cecal.

O testículo direito foi mobilizado por tração para o abdome, e o retalho foi suturado (aposto) a ele (Vicryl 6-0), envolvendo-o parcialmente, com sua face mucosa voltada para a gônada, junto ao pedículo gonadal (Figura 4). A parede abdominal foi fechada em dois planos: um plano peritônio-músculo-aponeurótico com fio de poligalactina - 910 (Vicryl®) 6-0; e a pele, com pontos separados de polipropileno (Prolene®) 4-0. O curativo foi feito com PVPI alcoólica, deixando as feridas sem bandagem ou cobertura.

Ceco



**Retalho
cecal**

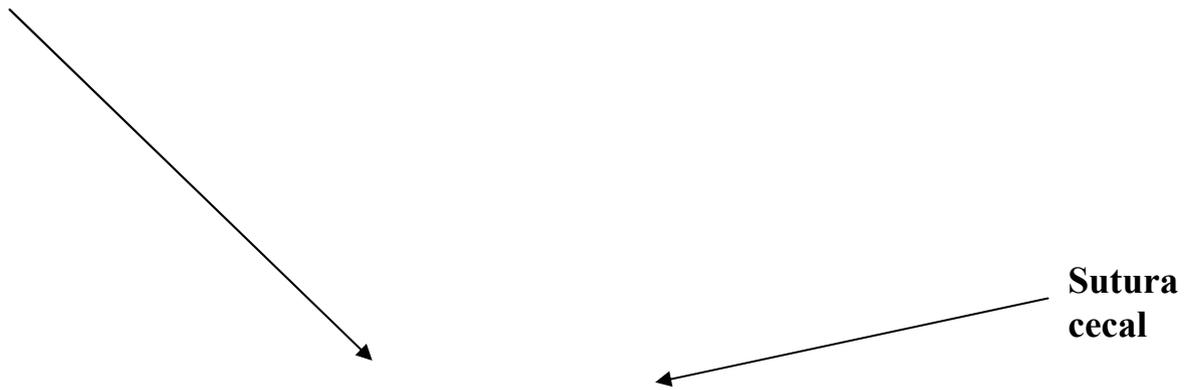


FIGURA 3. Preparo do retalho e sutura cecal em dois planos

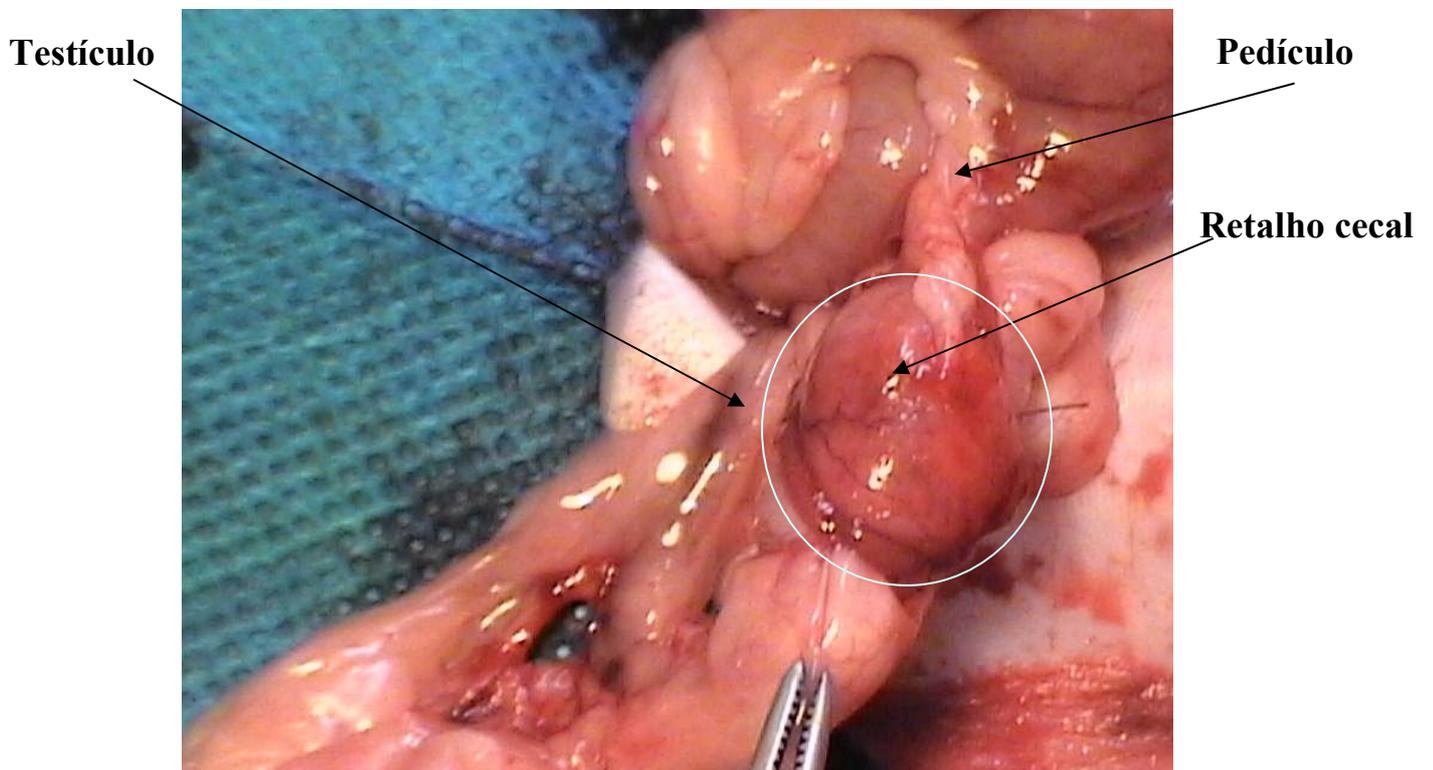


FIGURA 4. Retalho cecal envolvendo o testículo

Grupo II (GII – testículo mobilizado para o abdome, por tração)

Os animais foram submetidos a celiotomia, mobilização do testículo direito, por tração, para o abdome, como no GI, fixação da gônada ao peritônio com ponto transfixante de polipropileno (Prolene®) 6-0 e fechamento da parede, como no GI.

Grupo III (GIII – testículo mobilizado por tração e devolvido a bolsa testicular)

Neste grupo os ratos foram submetidos a celiotomia com mobilização testicular à direita para a cavidade abdominal e exposição ao ar ambiente por 3 minutos. A gônada foi reposicionada na bolsa testicular, e a parede abdominal fechada, como no GI.

Grupo IV (GIV – não operados)

No GIV, os animais não foram operados e nem anestesiados. Foram submetidos à eutanásia depois de 20 dias, sob anestesia geral.

ANÁLISE HISTOLÓGICA

Vinte dias depois dos procedimentos cirúrgicos nos grupos I,II e III e da seleção no grupo IV, procedeu-se à nova pesagem dos animais e, a seguir, eutanásia com doses letais de Cloridrato de cetamina (160mg/Kg). Ambos os testículos de cada animal, de todos os grupos foram extirpados, colocados em frascos com solução de formalina a 10%, identificados e enviados para análise histopatológica. Não havia conhecimento do grupo de animais pelo patologista, embora fossem evidentes quais testículos tinham retalho intestinal incorporado.

No Laboratório de Patologia do Hospital de Clínicas da UFU, os testículos foram desidratados em soluções crescentes de etanol, diafanizados em xilol e emblocados em parafina. Os blocos foram seccionados em micrótomo, obtendo-se cortes de 3µm de espessura, que foram montados em lâminas histológicas de vidro e corados em Hematoxilina-Eosina (HE) e pelo tricrômio de Masson, para melhor visualização de fibrose.

Por meio do microscópio óptico comum (Olympus® CH-2 de 40X a 1000X) foi realizada mensuração dos maiores diâmetros testiculares, longitudinal e transversal, em menor aumento (histometria em aumento de 40X), e o exame histopatológico, com estudo dos seguintes parâmetros: espessura da túnica albugínea, diâmetro dos túbulos seminíferos, presença dos diferentes tipos de células nos túbulos seminíferos, de fibrose peritubular, presença de necrose por coagulação e de inflamação.

Criou-se um escore de graduação de lesões, baseado no escore de Johnsen (1970, apud Mclachlan, 2007 p.3) para a avaliação do comprometimento

histopatológico dos testículos, com valores que variaram de 0 a 8, como consta no quadro a seguir (Quadro 1).

ESCORE	LESÕES
0	Ausência de comprometimento: túbulos seminíferos apresentando diâmetro uniformemente preservado, lume patente, presença de todas as células da linhagem germinativa com espermatogênese ativa e ausência de fibrose, necrose e inflamação;
2	Comprometimento testicular caracterizado por: espessamento da túnica albugínea, redução dos diâmetros tubulares, acentuada depleção das células germinativas da maioria dos túbulos e ausência de necrose e inflamação;
4	Comprometimento testicular caracterizado por: espessamento da túnica albugínea, redução dos diâmetros tubulares, acentuada depleção das células germinativas e destruição de alguns túbulos (menos da metade) por necrose e ou inflamação;
6	Comprometimento testicular com destruição da maior parte do parênquima testicular por necrose e ou inflamação;
8	Destruição de todo o parênquima testicular por necrose e ou inflamação.

Quadro 1. Escores de classificação morfométrica das lesões testiculares de ratos, depois dos procedimentos cirúrgicos

Nos testículos direitos do GI, com retalho intestinal aderido, e em ambos os testículos dos ratos do GIII, foi realizada a contagem de vasos sanguíneos (vascularização). Para tanto, foi estudada a área entre o retalho e o testículo, e contado o número de vasos em cinco campos de grande aumento (CGA) em 400X. Calculou-se a média do número de vasos por 5CGA, tanto para os testículos direitos

do GI quanto para ambos os testículos do GIII (área mais vascularizada), sendo que, neste grupo, o testículo esquerdo foi usado como controle.

ESTATÍSTICA

Os dados foram colhidos e anotados em fichas apropriadas e posteriormente avaliados por meio de método estatístico. Procedeu-se à análise de variância para averiguar a ocorrência de diferenças significativas entre os grupos. Utilizaram-se os programas Bioestat® e o Sisvar®, que são programas do tipo “freewares”, não necessitando de licença para uso.

Posteriormente, aplicou-se o teste de comparações múltiplas Tukey (Bioestat®), nas variáveis com distribuição normal, para detectar quais grupos diferiam entre si, considerando o valor de $\alpha < 5\%$ ($p < 0,05$).

Para variáveis com distribuição não normal, empregou-se o teste de Mann-Witney (Bioestat®) na avaliação da vascularização e o teste de Kruskal-Wallis (Sisvar®) para avaliação dos escores de lesão, levando-se em conta as variáveis não paramétricas.

Para a variável vascularização compararam-se os testículos direitos do GI, com retalhos, com os direitos e esquerdos do GIII, grupo considerado controle ideal. Não se comparou com o GII, já que neste poderia haver neovascularização proveniente da sua fixação ao peritônio, e isto seria um viés no estudo. Os testículos direitos do GIII foram usados como controle dos testículos operados (mobilizados e expostos ao ar), e os esquerdos foram usados como controle dos testículos não manuseados. Também não se comparou o GI com o GIV, pois, neste grupo, os ratos não foram operados ou anestesiados, tendo, assim, características diferentes dos outros grupos (GI e GIII).

RESULTADOS

De um total de 53 ratos da raça Wistar, sete animais foram excluídos, e os testículos de 46 ratos (92 testículos) foram analisados.

EXCLUSÕES

Quatro ratos do GI e um do GIII morreram, e a principal causa verificada foi infecção (peritonite) com obstrução intestinal por aderências. Um rato foi excluído por não se conseguir anestesiá-lo (GII). Este animal ficou, paradoxalmente, agitado. Outro foi excluído por supuração escrotal à direita (GI).

PESO

Depois da pesagem dos ratos, antes e depois dos procedimentos, obtivemos as médias dos pesos em cada grupo. Houve diferença entre as médias de peso na comparação entre os grupos. Os dados foram anotados em fichas individuais, conforme consta nas fichas de acompanhamento (Anexo I).

MEDIDAS DE PESOS ANTES (P1) DOS PROCEDIMENTOS.

Nesta aferição, o peso dos ratos variou de 290g a 440g (Tabela 1). Houve uma diferença estatística entre as médias de pesos dos ratos entre o grupo III e o grupo II, bem como entre o GIII e o GIV. Não houve diferença estatística entre o GIII e o GI (Tabela 1 e Gráfico 1).

TABELA 1. Variações, médias e desvios padrões dos pesos (g), dos ratos em cada grupo, antes dos procedimentos cirúrgicos.

GRUPOS	PESO EM GRAMAS (P1)			
	GI	GII	GIII	GIV
VARIAÇÃO DE PESO	290g a 400g	300g a 400g	300g a 340g	310g a 440g
MÉDIA	350	355,41	315,45	364,54
DESVIO PADRÃO	33,30	35,38	16,94	38,82

TABELA 2. Variações, médias e desvios padrões dos pesos (g), dos ratos em cada grupo, depois dos procedimentos cirúrgicos e antes da eutanásia.

GRUPOS	PESO EM GRAMAS (P2)			
	GI	GII	GIII	GIV
VARIAÇÃO DE PESO	290 a 420	280 a 440	300 a 400	310g a 420g
MÉDIA	352,5	370,41	339,09	366,36
DESVIO PADRÃO	41,80	48,35	31,76	34,71

MEDIDAS DE PESOS DEPOIS (P2) DOS PROCEDIMENTOS.

Depois dos procedimentos, o peso dos ratos variou de 290g a 440g (Tabela 2). Observou-se pequena variação quando comparadas as médias de pesos antes (P1) e as médias de pesos depois dos procedimentos (P2), com tendência a ganho de peso em todos os grupos (Tabela 1).

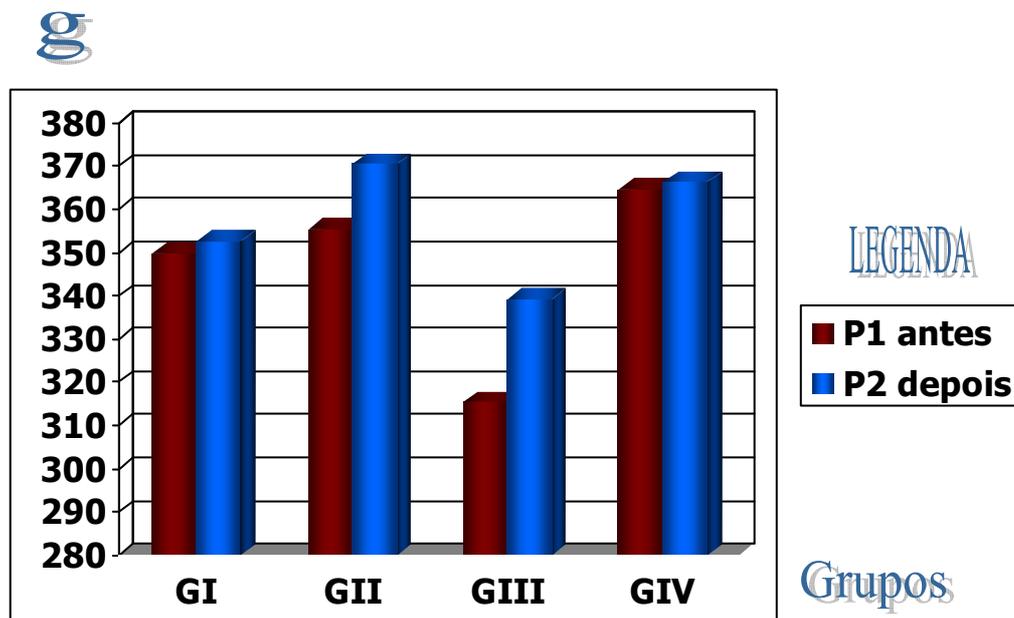


GRÁFICO 1. Comparação entre as médias de pesos (g) dos ratos antes (P1) e depois dos procedimentos cirúrgicos(P2)

Embora tenha havido diferença na variável peso entre os grupos (Gráfico 1), não houve variação significativa no tamanho dos testículos normais (não operados). Houve uma uniformidade nos diâmetros das gônadas dos ratos adultos utilizados no estudo (Gráfico 2).

DIÂMETROS TESTICULARES

Realizou-se por histometria a medida dos maiores diâmetros longitudinais e transversais de cada testículo, depois da fixação com formol a 10% e do processamento habitual do material a ser analisado. As medidas testiculares individuais podem ser encontradas nas fichas de acompanhamento (Anexo I), e as médias de cada grupo serão apresentadas a seguir:

Grupo I (Figura 5)

A média dos diâmetros longitudinais dos testículos direitos (operados) foi de 12,75mm, o que evidenciou uma redução desses testículos quando comparados aos testículos esquerdos do mesmo grupo (não operados), que obtiveram uma média de 16,54mm para os mesmos diâmetros (Tabela 3).

A média dos diâmetros transversais dos testículos direitos, de 6,65mm, também se mostrou menor quando comparada à média de 9,17mm, do mesmo diâmetro, nos testículos esquerdos.

Houve diferença estatisticamente significativa na comparação dos diâmetros dos testículos direitos do GI com os direitos do GIII e GIV. (DMS nos DLTD = 3,1691 e DMS nos DTTD = 1,97)

TABELA 3. Médias, desvios padrões e DMS dos diâmetros testiculares, nos quatro grupos.

Grupos	GI Média (s)	GII Média (s)	GIII Média (s)	GIV Média (s)
DLTD - (s) DMS = 3,1691	12,75mm (± 5, 26)	11,41mm (±1,44)	17,4mm (± 0,69)	17,04mm (± 0,78)
DLTE - (s) DMS = 9,2005	16,54mm (±2,25)	17,31mm (± 0,84)	17,59mm (± 0,99)	16,39mm (± 2,31)
DTTD - (s) DMS = 1,9748	6,65mm (± 3,65)	5,82mm (± 0,74)	8,84mm (± 0,53)	9,04mm (± 0,45)
DTTE - (s) DMS = 0,8142	9,17mm (±1,12)	9,60mm (± 0,45)	9,12mm (± 0,57)	9,11mm (± 0,54)

TABELA 4. Variações dos diâmetros longitudinais e transversais dos testículos direitos e esquerdos dos ratos, em cada grupo.

Grupos	GI	GII	GIII	GIV
Diâmetros*	Variação mm	Variação mm	Variação mm	Variação mm
DLTD	4 a 23	9 a 14	16,2 a 18,2	16 a 18,4
DLTE	10 a 19	15 a 18,5	16 a 19	11 a 19
DTTD	3 a 15	4,5 a 7	8 a 10	8 a 10
DTTE	6 a 10	9 a 10	8 a 10	8 a 10

Legenda

- *DLTD = Diâmetro Longitudinal do Testículo Direito
- *DLTE = Diâmetro Longitudinal do Testículo Esquerdo
- *DTTD = Diâmetro Transversal do Testículo Direito
- *DTTE = Diâmetro Transversal do Testículo Esquerdo
- DMS** = Diferença mínima significativa (Bioestat)
- (s)** = Desvio padrão

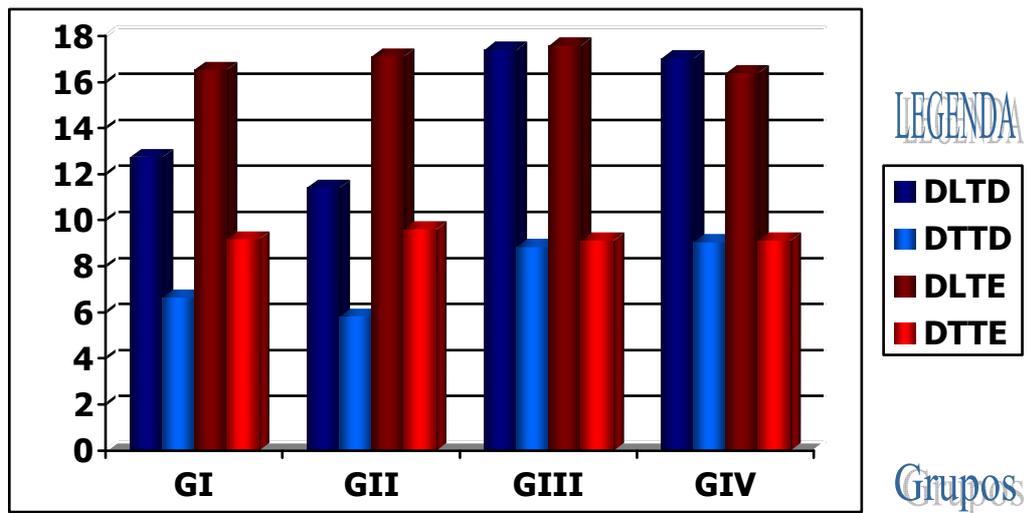


GRÁFICO 2. Representação esquemática dos diâmetros testiculares, longitudinal e transversal, nos quatro grupos (M.O.C. - 40X)

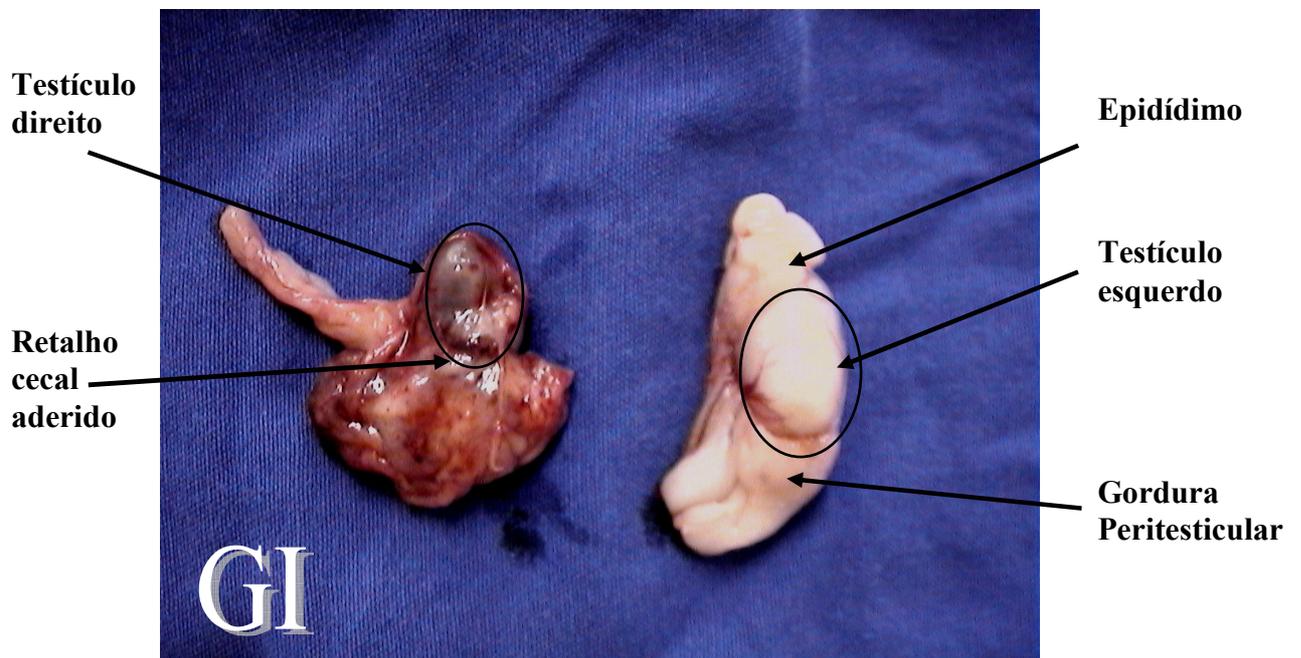


FIGURA 5. Comparação macroscópica entre os testículos direito e esquerdo de um mesmo rato no GI. Observa-se que o testículo direito é menor.

Grupo II (figura – 6)

No GII, a média dos diâmetros longitudinais dos testículos direitos, de 11,41mm, foi menor que nos esquerdos, de 17,31mm (Tabela 3).

A média dos diâmetros transversais, de 5,82mm, dos testículos direitos, também foi menor que a média dos mesmos diâmetros nos testículos esquerdos, de 9,6mm.

Nesse grupo os diâmetros dos testículos direitos, também foram menores que os dos esquerdos (Gráfico 2).

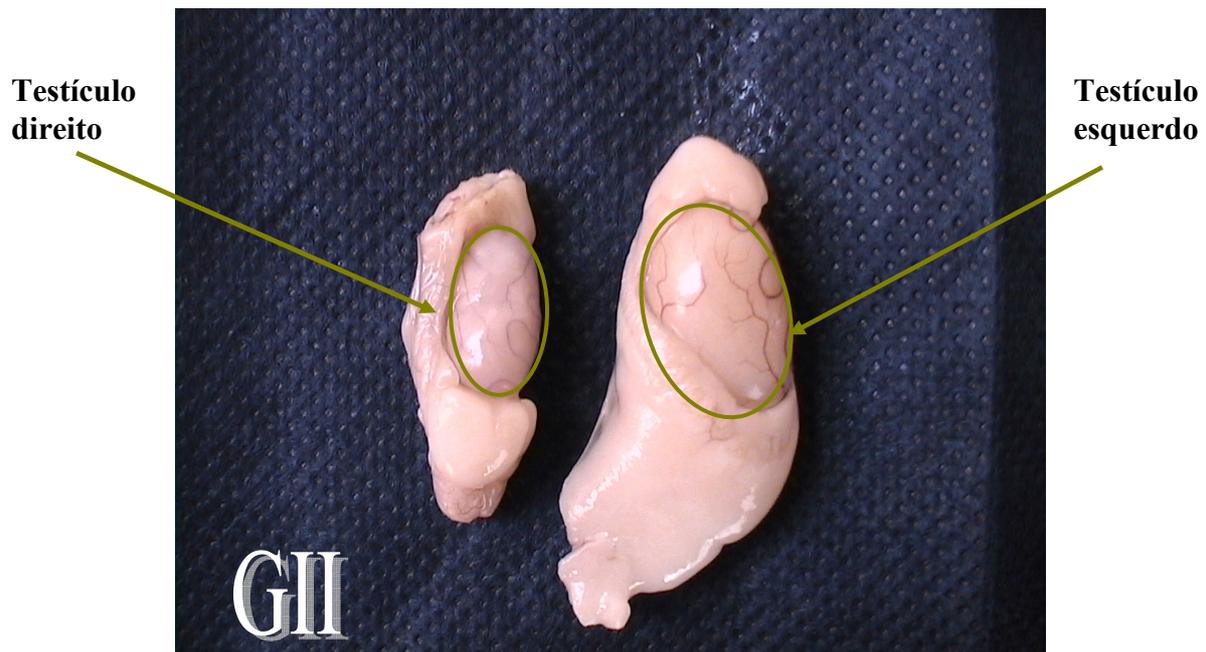


FIGURA 6. Testículos direito e esquerdo de um dos ratos do GII, com diâmetros diferentes

Grupo III

No GIII, a média dos diâmetros longitudinais dos testículos direitos foi de 17,4mm, muito semelhante à média de 17,59mm para o mesmo diâmetro nos testículos esquerdos (Tabela 3).

Nesse grupo, a média dos diâmetros transversais dos testículos direitos foi de 8,84mm e dos esquerdos de 9,12mm.

Não houve diferença estatística entre as médias dos diâmetros testiculares quando comparados os testículos direitos expostos ao ar ambiente no GIII (DMS do DLTD = 3,1691), com os direitos, não expostos, do GIV (controle).

Grupo IV (Figura 7)

No Grupo IV, a média dos diâmetros longitudinais dos testículos direitos foi de 17,04mm e dos testículos esquerdos de 16,39mm (Tabelas 3 e 4).

A média dos diâmetros transversais dos testículos direitos foi de 9,04mm e a dos esquerdos foi de 9,11mm.

Não houve diferença estatística, quando comparadas às médias dos diâmetros de ambos os testículos dos ratos do GIV.

Na comparação entre os 4 grupos, não houve diferença estatística entre todos os testículos do GIV, os direitos e esquerdos do GIII e os esquerdos dos GI e GII. (Gráfico 2).

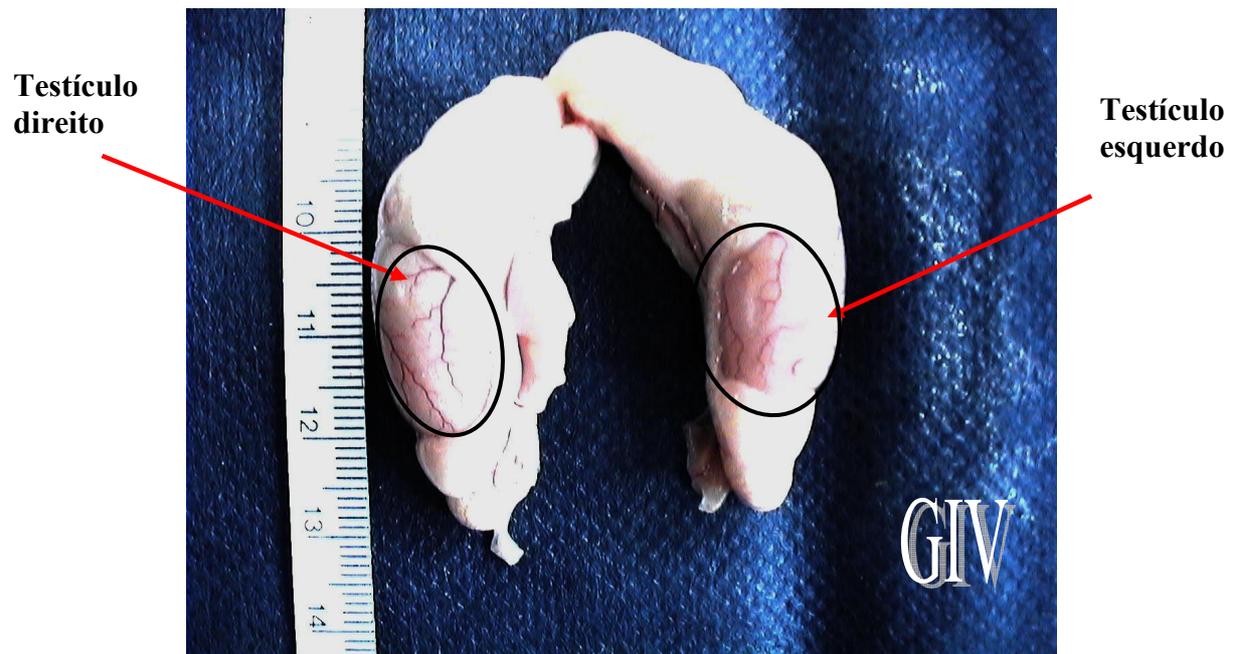


FIGURA 7. Testículos direito e esquerdo de um dos ratos do GIV, com diâmetros semelhantes e normais

COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS

Observou-se, também, diferença estatisticamente significativa (Tukey, $P < 0,05$) quando comparados: os testículos direitos do GI e do GII (ambos menores) com os direitos do GIII; os direitos do GI e do GII com os direitos do GIV; bem como entre os testículos direitos do GI e do GII e todos os esquerdos do GI, GII, GIII e GIV (Tabela 3 e Gráfico 2).

Não houve diferença significativa na comparação dos diâmetros longitudinais e transversais dos testículos direitos, entre o GI e o GII (testículo no abdome). Evidenciou-se uma redução dos diâmetros, em ambos os grupos (Gráfico 2).

ESCORES DE LESÕES

Os escores de lesões testiculares foram maiores no GI, em que, além de se posicionar o testículo no abdome, suturou-se a ele um retalho intestinal.

Observou-se intenso processo inflamatório (Figuras 12 e 13) na maioria dos testículos, nos quais os retalhos cecais foram suturados (GI) e observou-se uma inflamação menos intensa (Figuras 10 e 11) nos testículos fixados no abdome (GII).

O GI apresentou um escore médio de 5,83 ($s = \pm 1,800$) pontos para os testículos direitos e 0,166 ($s = \pm 0,577$) para os esquerdos (apenas um testículo com escore = 2). Por outro lado, no GII, em que o testículo direito ficou 20 dias na posição abdominal, houve lesões significativas com escore médio de 3,33 ($s = \pm 2,309$) pontos para os testículos direitos e zero para os esquerdos, que ficaram na bolsa testicular (Figura 8 e 9). Nos grupos III e IV, não houve dano testicular (Tabela 5).

A análise dessa variável mostra que o GI não difere estatisticamente do GII ($p > 0,05$) e que os dois diferem de GIII ($p < 0,0001$) e GIV ($p < 0,0001$). (Gráfico 4).

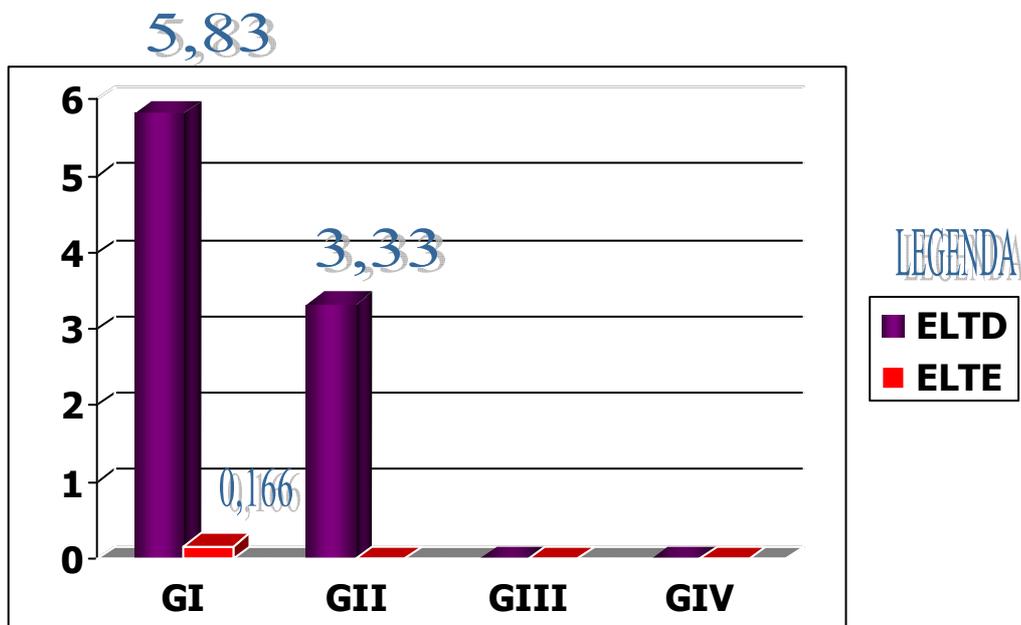
Nos ratos em que o testículo direito foi exposto ao ar e, em seguida, foi reposicionado na bolsa testicular (GIII), não se observou qualquer dano testicular (Gráficos 3 e 4).

TABELA 5. Valores de escores de lesões nos testículos direitos e esquerdos com respectivas médias e desvios padrões, nos quatro grupos.

GRUPOS	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12	MÉDIA	Desvio padrão
RATOS														

GI	TD	8	6	8	6	4	4	8	4	6	4	4	8	5,83	1,800673
	TE	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,166	0,57735
GII	TD	4	2	2	2	8	2	2	2	8	4	2	2	3,33	2,309401
	TE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GIII	TD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	TE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GIV	TD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	TE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

R1 a R12: ratos de 1 a 12.



ELTD = escores de lesões no testículo direito.

ELTE = escores de lesões no testículo esquerdo.

GRÁFICO 3. Médias dos valores dos escores de lesões em cada grupo

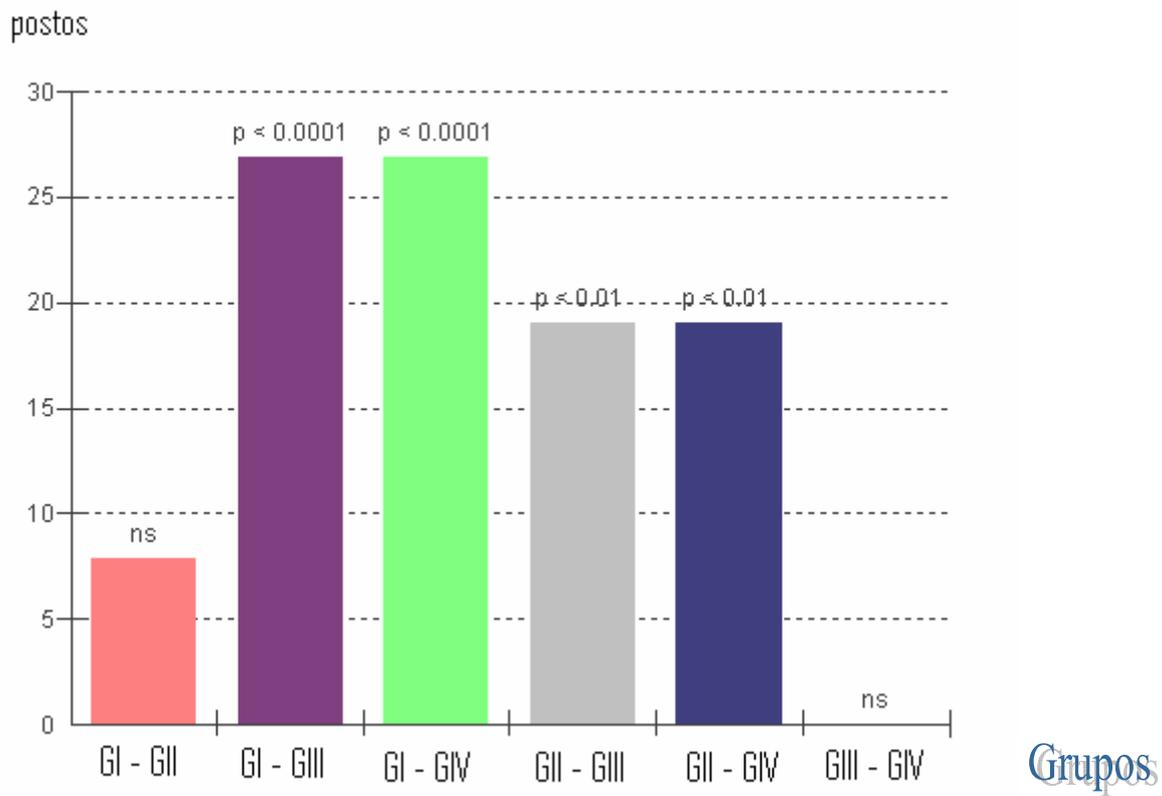
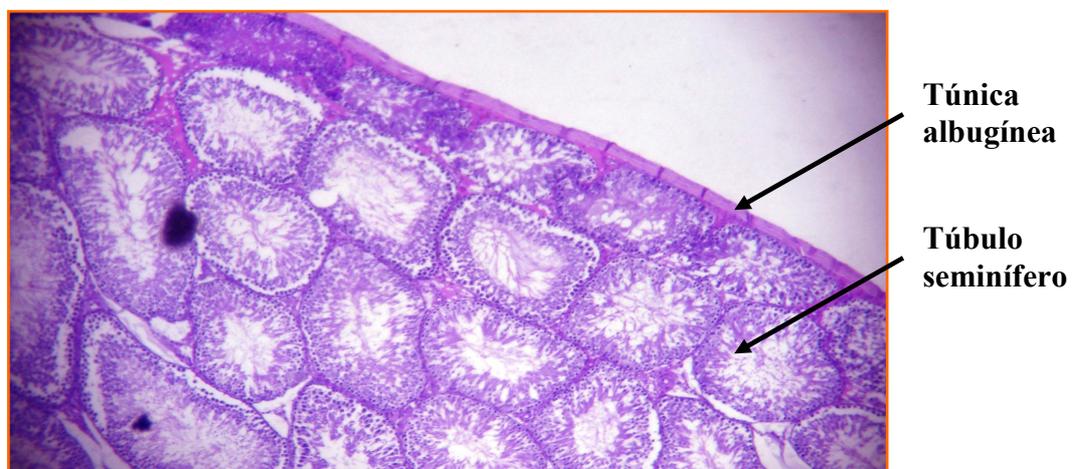


GRÁFICO 4. Comparação estatística dos escores de lesão, entre os grupos com os respectivos valores de p (Kruskall - Wallis)



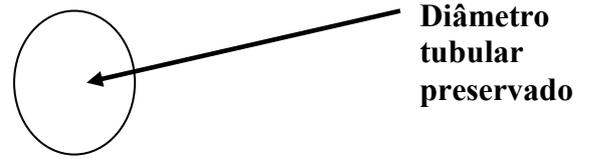


FIGURA 8. Fotomicrografia do testículo direito, normal, com escore de lesões zero, em um dos ratos do GIV, (HE – 40X)

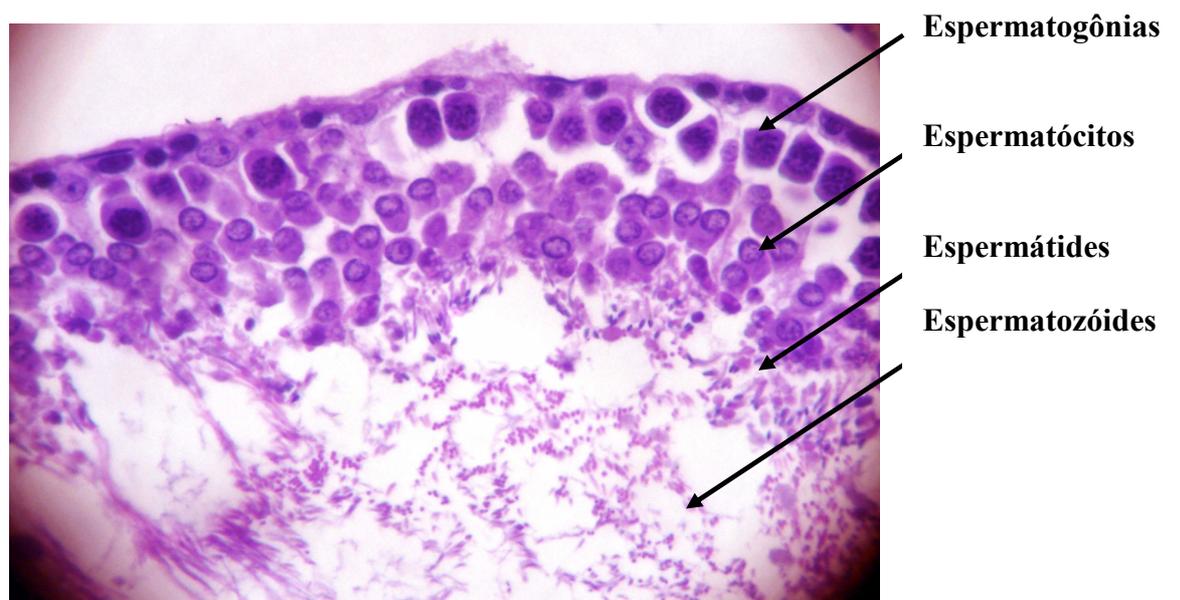


FIGURA 9. Fotomicrografia do testículo direito, normal, do mesmo rato da figura 8. Destaca-se a preservação das quatro linhagens celulares, (HE – 400X)

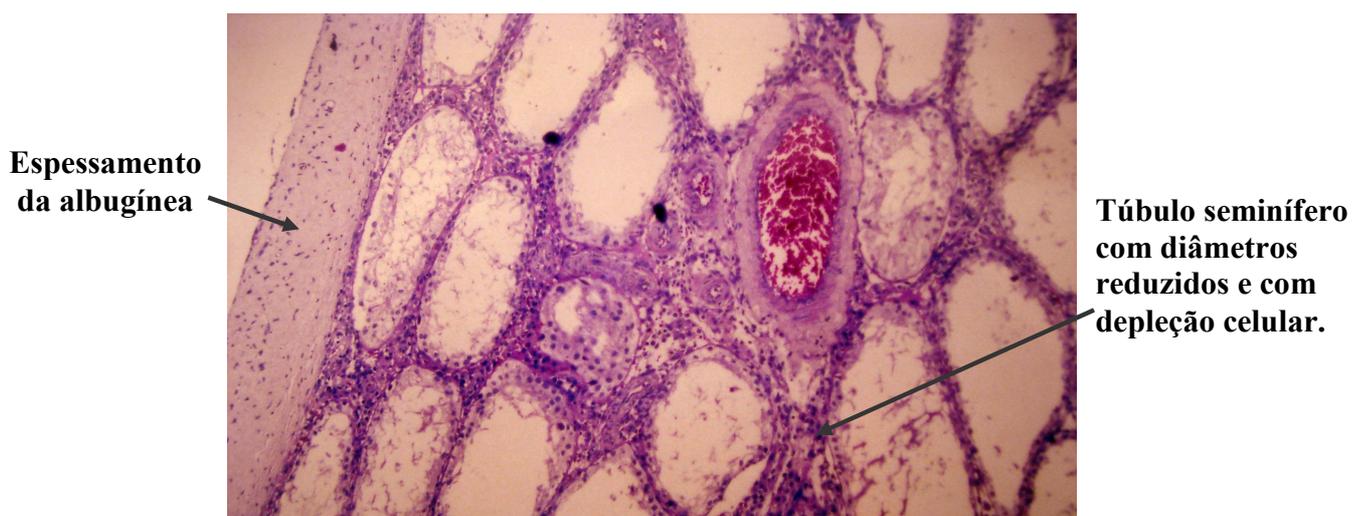
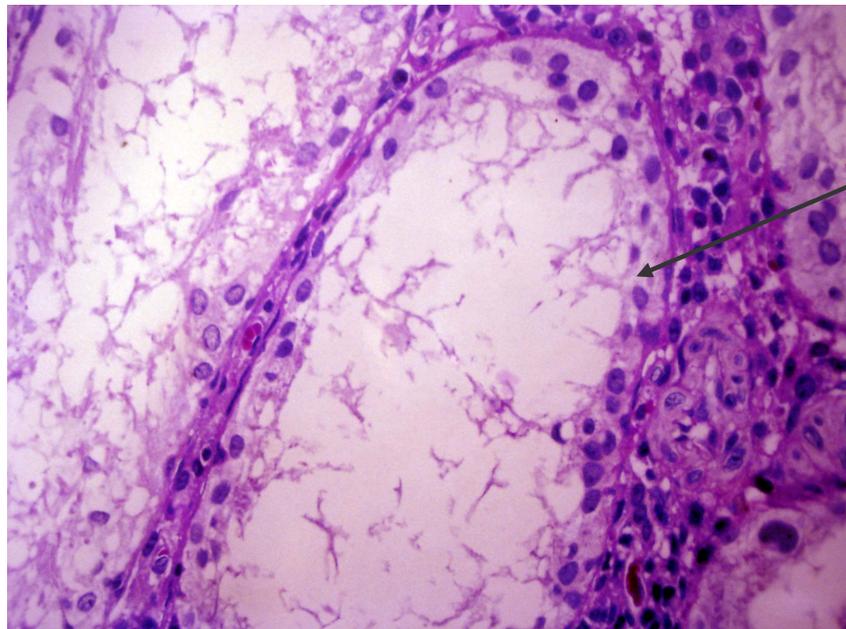


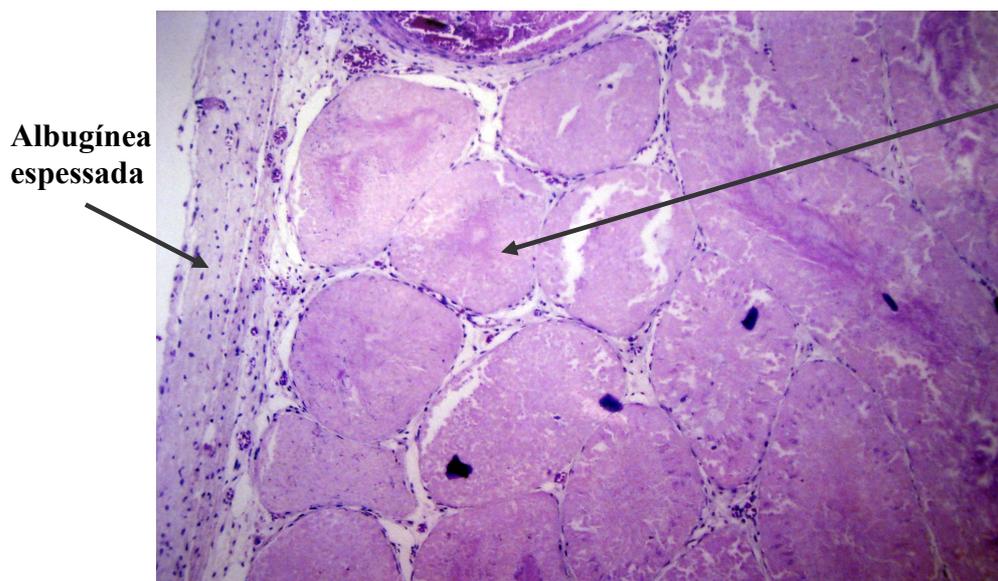


FIGURA 10. Fotomicrografia do testículo atrófico de um dos ratos do GII com discreto espessamento da túnica albugínea, redução dos diâmetros tubulares e ausência de necrose e inflamação, classificado como escore 2, (HE – 100X)



Depleção de células germinativas

FIGURA 11. Fotomicrografia do túbulo seminífero com acentuada depleção de células germinativas, com escore 4, em rato do GII, (HE – 400X)



Albugínea espessada

Necrose tubular

FIGURA 12. Fotomicrografia do testículo com discreto espessamento da túnica albugínea, necrose de numerosos túbulos seminíferos e ausência de inflamação, em um rato do G1, classificado como escore de lesão 6, (HE - 100X)

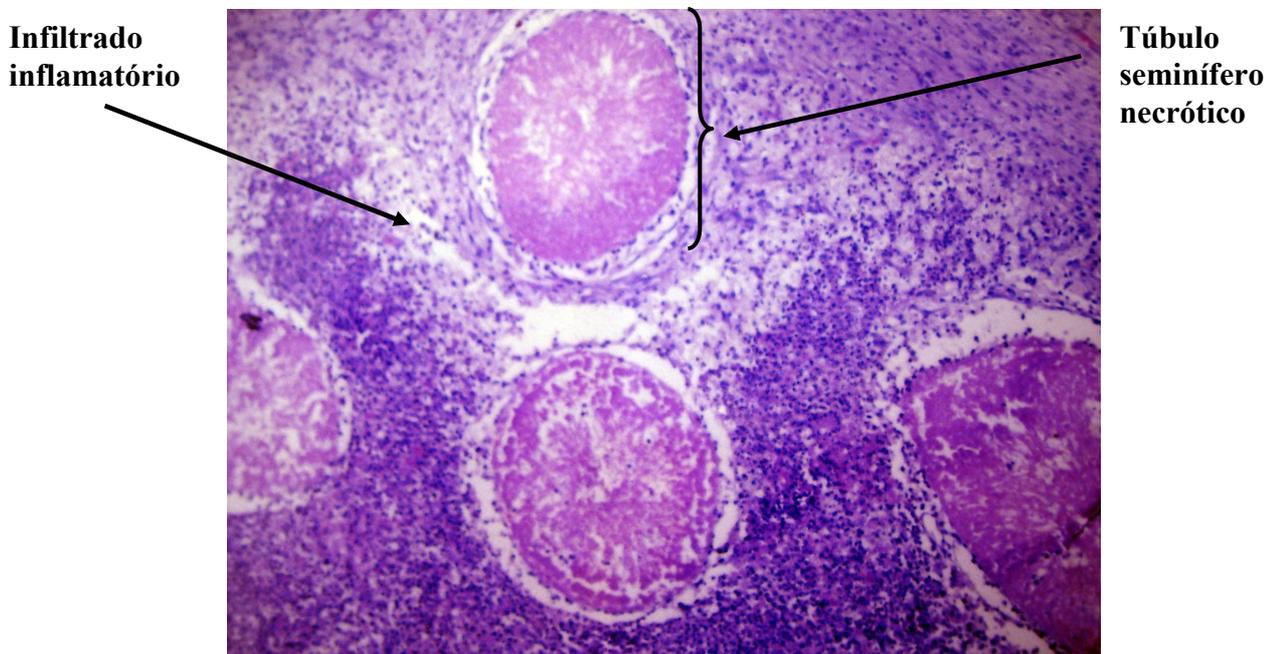


FIGURA 13. Fotomicrografia do testículo com túbulos seminíferos necróticos, circundados por intenso infiltrado inflamatório, em rato do G1, classificado como escore de lesão 8, (HE - 400X).

VASCULARIZAÇÃO

Observou-se que o retalho intestinal se incorporou bem à parede do testículo, como se pode observar na figura 14. Na área de aderência do retalho intestinal, identificou-se grande número de vasos sanguíneos e arteríolas (Figura 15), indicando aumento do número de vasos sanguíneos entre o testículo e o intestino (neovascularização).

Na análise da variável vascularização, foi feita a avaliação histológica dos testículos direitos em 10 ratos do GI. Em dois, esta análise ficou prejudicada por deterioração do material. A mesma análise foi feita nos testículos direitos e esquerdos do GIII.

Observou-se que houve uma média de 16,9 vasos (vv) em cinco campos de grande aumento (5CGA) para os testículos com retalhos no GI.

No GIII (controle) observou-se uma média de 0,96 vv/5CGA, nos testículos direitos e de 0,92 vv/5CGA, nos testículos esquerdos. Nessa análise, constatou-se uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos comparados, GI e GIII (Tabela 6 e Gráfico 5). (Mann – Witney - $p < 0,05$)

TABELA 6. Médias do número de vasos, por cinco campos de grande aumento (400X), no GI e no GIII com os respectivos desvios padrões.

GRUPOS	(variação)	- MÉDIA DE VASOS - POR 5CGA* (400X)	Desvio Padrão
GI	(4,8 a 30,4)	TD = 16,9 vv/5CGA	\pm 8,360
GIII	(0,8 a 1)	TD= 0,96 vv/5CGA	\pm 0,080
	(0,8 a 1)	TE= 0,92 vv/5CGA	\pm 0,100

*5CGA = Cinco campos de grande aumento (400X).

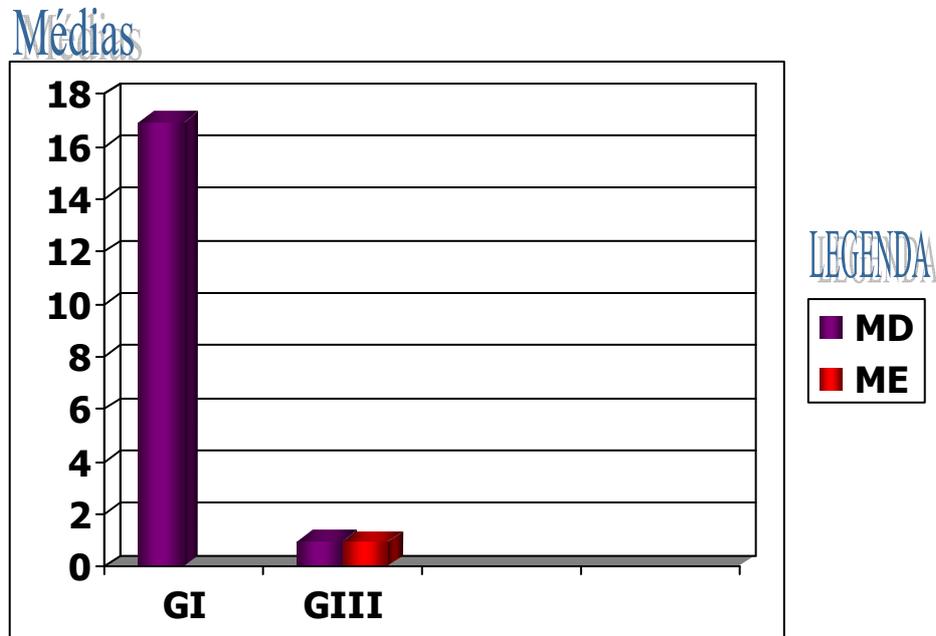


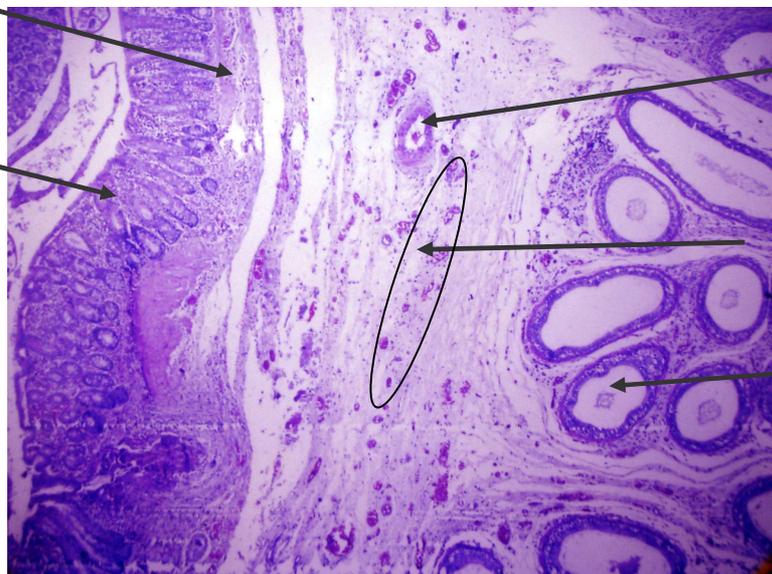
GRÁFICO 5. Médias do número de vasos (vv), em 5 campos de grande aumento (5CGA), nos testículos direitos do GI e nos testículos direitos e esquerdos do GIII

MD = média do número de vasos dos testículos direitos.

ME = média do número de vasos dos testículos esquerdos.

Albugínea

Vilosidades
intestinais



Arteríola

Capilares

Túbulos seminíferos

FIGURA 14. Fotomicrografia da Área de transição entre a parede intestinal e o testículo com presença de numerosos capilares sanguíneos e de arteríola, em um dos ratos do GI, (HE - 100X).

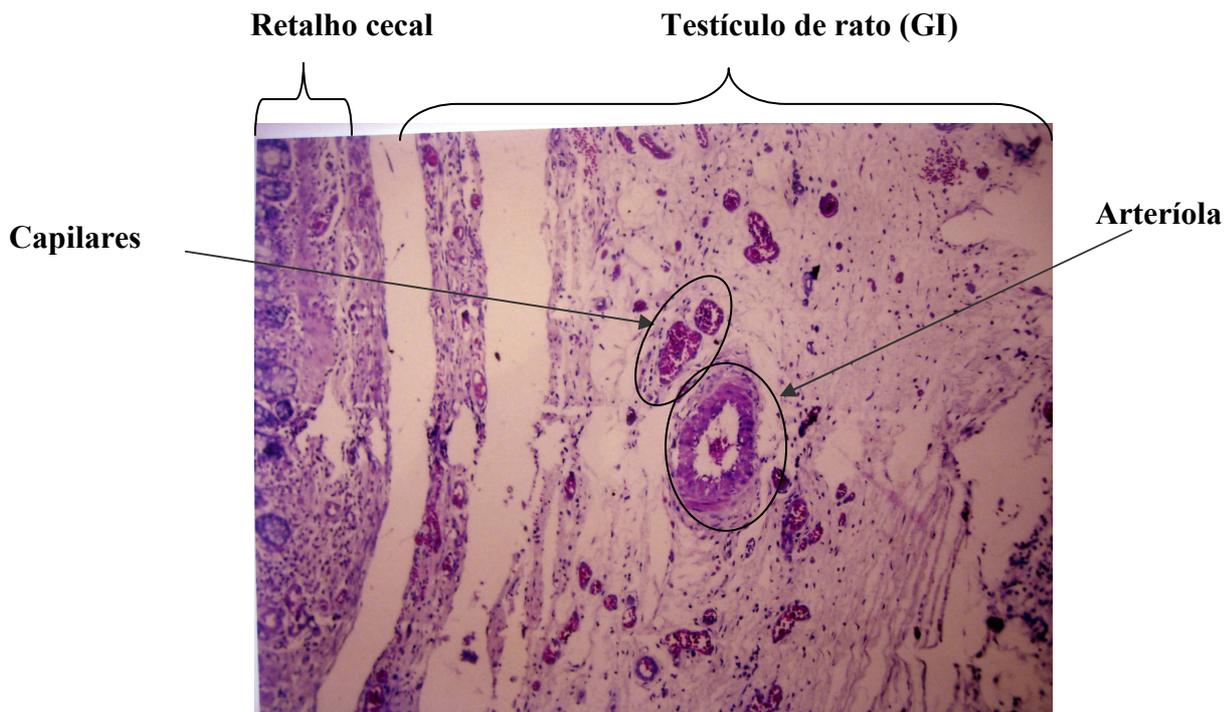


FIGURA 15. Fotomicrografia da área de transição entre o retalho cecal e o testículo com numerosos capilares e arteríola, em ratos do GI, (HE - 200X).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

PESO

Houve diferença significativa entre a média de peso do GIII, a qual foi a menor média, se comparada ao GII e o GIV. Não se encontrou diferença significativa entre GIII e GI. No entanto, quando se analisaram os diâmetros testiculares, observou-se que estes não variaram, apesar da variação de peso dos ratos.

DIÂMETROS TESTICULARES

A análise estatística dos dados revelou que não houve diferença significativa entre os diâmetros dos testículos direitos do GI, quando comparado ao GII. Nestes dois grupos, houve redução de volume. Contudo observou-se diferença entre eles e os testículos direitos do GIII e GIV, os quais mantiveram seus volumes de forma semelhante aos testículos de ratos não operados (GIV).

Encontrou-se, também, nessa variável, diferença significativa entre os testículos direitos do GI e do GII, se comparados a todos os esquerdos (GI, GII, GIII e GIV).

Não houve diferença estatística nas médias dos diâmetros de todos os testículos esquerdos, quando comparados entre si.

ESCORES DE LESÕES

Utilizou-se o teste não paramétrico, de Kruskal – Wallis, na comparação dos escores de lesões. Constatou-se que, tanto no GI quanto no GII, os escores foram mais altos, ou seja, os testículos ficaram mais danificados. O GI foi numericamente superior ao GII nessa variável, porém sem diferença estatisticamente significativa.

Não houve lesões nos testículos direitos do GIII e do GIV, bem como nos esquerdos de todos os grupos, exceto em um testículo esquerdo do GII com escore = 2.

VASCULARIZAÇÃO

Para a comparação estatística entre os grupos (GI e GIII), utilizou-se o teste não paramétrico de Mann – Whitney, devido aos dados não serem de distribuição normal.

Ao se analisarem os resultados da variável vascularização, observou-se que houve aumento do número de vasos estatisticamente significativo, quando comparados os testículos direitos do GI e os testículos direitos e esquerdos do GIII.

DISCUSSÃO

Um grande marco no tratamento cirúrgico da criptorquia foi a introdução da técnica de abaixamento testicular, idealizada por Fowler e Stephens, em 1959. Esses autores propuseram a ligadura dos vasos testiculares como meio de liberar os testículos crípticos, localizados no abdome, para poder abaixá-los até a bolsa, sem comprometer a viabilidade testicular.

No entanto os altos índices de atrofia testicular (70%) que ocorreram com o uso desta técnica incentivaram a pesquisa de meios para se manter uma adequada

irrigação sanguínea testicular em pacientes submetidos a tratamento cirúrgico **(7,9,11, 43)**.

Recentemente, têm-se observado, na literatura, iniciativas de promover uma auto-revascularização testicular. Já foram relatadas experiências bem sucedidas com a utilização de retalhos fáscio-vasculares, de omento ou de bexiga suturados ao testículo ou ao seu pedículo **(14,15,16,17,18)**. Estes procedimentos têm apontado um novo caminho no sentido de reduzir as taxas de atrofia testicular pós-operatórias.

MODELO EXPERIMENTAL

Na elaboração deste estudo, a proposta inicial foi conseguir um segmento de intestino delgado, sem a mucosa, para que este pudesse ser suturado ao testículo. Desta maneira reduzir-se-iam os riscos de infecção, além de se justapor uma área cruenta à superfície do testículo.

No entanto não se conseguiu a extração da mucosa a fim de se obter um retalho intestinal viável. Nos animais em que se tentou raspar a mucosa, houve lesões significativas à parede intestinal com desvitalização do retalho. A opção por um segmento intestinal de íleo, pediculado e com mucosa, não logrou êxito. A

maioria dos animais morreu por deiscência da anastomose intestinal e conseqüente peritonite (Piloto I).

Diante dos achados mencionados, idealizou-se um modelo com a utilização do ceco, sem a retirada da mucosa, o que mudou totalmente a sobrevida dos ratos e a conservação da vitalidade do retalho. Entretanto, para seu melhor funcionamento, optou-se por mobilizar o testículo para o abdome e deixar o retalho suturado a ele, nessa posição. Além do mais, numa extrapolação do modelo animal para seres humanos, a sutura de um retalho intestinal seria realizada dentro do abdome, justamente naqueles casos em que a gônada não teria conseguido descer além dos limites do ânulo inguinal interno (criptorquia verdadeira).

Os projetos pilotos estão descritos detalhadamente em anexos (Anexo III).

AMOSTRA

Segundo Hussmann, os melhores modelos animais para se estudar, de forma experimental, a distopia testicular são os cães e os primatas. No entanto o autor enfatiza os entraves com as sociedades protetoras desses animais e os altos custos das pesquisas. Observa-se então que os modelos mais usados para esse fim são os ratos, os murinos e os coelhos (44).

Utilizaram-se, no experimento, ratos da linhagem Wistar, porém a extrapolação dos conhecimentos provenientes desse modelo experimental para uso em seres humanos deve ser feita com critérios rigorosos.

ANESTESIA

Os protocolos para anestesia e analgesia em animais de laboratório variam conforme as rotinas dos laboratórios experimentais. Optou-se pela utilização dos anestésicos Cloridrato de cetamina e Cloridrato de xilazina, por serem as drogas disponíveis no Laboratório de Técnica Operatória da Universidade Federal de Uberlândia, o que é semelhante ao encontrado na literatura. **(41, 42)**. A anestesia aplicada aos ratos do estudo não gerou alterações testiculares que comprometessem os resultados.

PATOLOGIA

Optou-se pela mensuração do testículo por meio de microscopia óptica, depois da fixação e do processamento das lâminas. Foram analisados os maiores diâmetros longitudinais e transversais dos testículos (morfometria). Em outros estudos, utilizou-se a pesagem dos testículos para avaliação das gônadas **(14, 45)**. O método de pesagem, neste experimento, poderia gerar um viés, visto que os testículos do GI teriam um acréscimo de peso proveniente do retalho intestinal aderido. Já a mensuração por microscopia permitiu delimitar a área testicular, separando-a do retalho, o que pareceu mais exato.

FIXAÇÃO E COLORAÇÃO

Optou-se pela fixação em formol a 10% pela disponibilidade no laboratório da Instituição, embora as fixações pela solução de Bouin ou solução modificada de Davidson sejam mais recomendadas para a fixação de testículos **(46, 47)**.

A avaliação histológica foi realizada utilizando-se a coloração com Hematoxilina- Eosina e com o Tricrômico de Masson, os quais permitiram estudar as estruturas testiculares normais e as lesadas.

VARIÁVEIS DO EXPERIMENTO

PESO

Observou-se, no experimento, que os pesos dos ratos do GIII foram, em média, menores e estatisticamente diferentes dos grupos II e IV, porém iguais ao GI. Por outro lado, os diâmetros dos testículos esquerdos (não manipulados) apresentaram pequenas variações, sem diferença estatística na comparação entre os grupos. Isto indica que houve uma uniformidade na amostra de testículos estudada.

DIÂMETROS TESTICULARES

A utilização de um retalho intestinal suturado ao testículo levanta o seguinte questionamento: não seria lesiva a presença de um tecido intestinal, com sua mucosa limpa, porém não estéril, aderida à gônada?

Os resultados da aferição dos diâmetros testiculares nos pós-operatórios mostraram atrofia testicular no GI com considerável redução nos diâmetros longitudinal e transversal. Entretanto, observou-se que no GII, em que apenas se mobilizou o testículo para abdome, também houve redução dos mesmos diâmetros testiculares. No GII, esses diâmetros não diferiram estatisticamente dos diâmetros dos testículos do GI.

Embora haja possibilidade da atrofia testicular ter sido provocada por supuração local, a qual seria resultado da contaminação pela flora intestinal, os resultados indicaram que os fatores comuns aos dois grupos que sofreram lesões e reduções nos diâmetros (GI e GII) foram: a mudança do testículo da sua bolsa para o abdome (aumento da temperatura) e as suturas aplicadas diretamente à gônada, tanto no GI quanto no GII.

Em 2004, Rossi e colaboradores relataram, em seu trabalho experimental, em ratos com criptorquia induzida cirurgicamente, que ocorre considerável perda de volume testicular depois de 15 dias de pós-operatório, observando-se redução acentuada da espermatogênese **(45)**.

Há, na literatura, trabalhos que demonstraram que a sutura direta sobre a gônada é um importante fator de lesão testicular **(48 e 49)**.

Os testículos direitos dos ratos do GIII não sofreram redução no volume ou lesões testiculares. Isto sugere que os procedimentos anestésicos, o manuseio e a

exposição dos testículos, bem como as alterações sistêmicas provocadas pelos procedimentos cirúrgicos, não provocaram redução nos diâmetros testiculares.

Os testículos dos ratos do GIV não sofreram qualquer alteração. Este fato mostra que o confinamento (separação para estudo) não provocou quaisquer alterações testiculares. Todos os grupos foram confinados igualmente.

LESÃO TESTICULAR

Utilizou-se no experimento, a quantificação das lesões testiculares aproveitando-se os princípios do escore de Johnsen (1970), associados à avaliação de características morfológicas, analisadas pelo patologista que avaliou as gônadas **(50)**.

Uma observação importante, neste estudo, foi que, na variável lesão testicular não houve diferença significativa entre os testículos direitos do GIII e ambos os testículos do GIV. Estes dois grupos tiveram escore de lesões igual a zero. Esses achados indicam que o manuseio da gônada e a sua exposição ao ar ambiente no GIII não contribuíram para a produção de lesões testiculares.

A sutura dos retalhos intestinais diretamente sobre os testículos direitos no GI e a sutura transfixante do testículo direito ao peritônio no GII, juntamente com o aumento da temperatura dos testículos mobilizados para o abdome foram prováveis fatores que contribuíram para que o escore de lesões nesses dois grupos tenha se apresentado maior que nos outros grupos. Este dado é corroborado por trabalhos nos quais se encontrou uma diferença significativa de lesões testiculares, quando se utilizou sutura direta sobre os testículos em comparação com a técnica de fixação indireta, sem sutura sobre as gônadas (45, 48, 49).

VASCULARIZAÇÃO

Discute-se, a seguir, a escolha do GIII como grupo controle na variável vascularização.

Na comparação do GI com o GII, haveria, certamente, neovascularização no GII pela aderência dos testículos ao peritônio, o que seria um viés para o estudo. No GIV, apenas se teria uma comparação com testículos normais, não submetidos à mobilização cirúrgica. No GIII, os testículos esquerdos representaram todos os testículos não operados e deixados no escroto. Por outro lado, os direitos representaram os testículos mobilizados cirurgicamente, ambos em ratos submetidos a procedimentos cirúrgicos e anestésicos, tal qual no GI.

Foi possível observar, neste experimento, que houve boa aderência dos retalhos intestinais aos testículos no GI, sendo que a variável vascularização testicular se mostrou estatisticamente significativa ($p < 0,05$), quando se compararam o GI e o GIII.

Nessa variável, a diferença entre o número de vasos no GI, com média de 16,9 vasos por campo de grande aumento (vv/5CGA), foi bastante superior e estatisticamente significativa quando comparada ao GIII. Nesse grupo, aferiu-se uma média de 0,96 vv/5CGA para os testículos direitos e de 0,92 vv/5CGA para os testículos esquerdos.

Löbl e colaboradores, em 2000, demonstraram experimentalmente que a omentotesticulopexia aumentou a irrigação testicular com o surgimento de uma rede de vasos neoformados entre o omento e o testículo **(15)**.

Em 2005, Somuncu e colaboradores apresentaram, em trabalho experimental em coelhos, que um retalho de bexiga suturado ao testículo poderia evitar a atrofia gonadal, nos animais submetidos à ligadura da artéria testicular **(14)**.

O aumento da vascularização testicular induzida pela aposição de um retalho intestinal poderá criar uma alternativa no sentido de reduzir as taxas de atrofia pós-operatória, sobretudo em procedimentos em que seja necessária a ligadura da artéria gonadal. Evidentemente, essa hipótese deverá ser testada em futuros estudos.

VANTAGENS DA UTILIZAÇÃO DO RETALHO INTESTINAL

Alguns autores utilizaram, em seus experimentos, omento **(16,17)** e bexiga **(14)** para induzir um aumento da vascularização testicular. Quando extrapolamos o modelo experimental para utilização em seres humanos, devemos considerar algumas questões:

- a. Quanto ao omento: as operações para abaixamento testicular têm sido indicadas cada vez mais precocemente, no lactente, ao redor de um ano de idade **(2,20,51)**, e, nesta fase, o omento ainda é pouco desenvolvido. Poderia haver dificuldades técnicas para que o retalho chegasse até o testículo críptico (intra-abdominal) e, conseqüentemente, até a bolsa testicular.

b. Quanto à bexiga: esta tem a desvantagem de não ter um pedículo vascular isolado de sua parede, o que dificultaria a manipulação do retalho vesical através do canal inguinal. Além disso, nos casos de criptorquia bilateral, talvez não se tenha disponibilidade de tecido vesical para dois procedimentos.

Observou-se, no experimento, que foi possível manipular, sem grandes dificuldades, um retalho intestinal (ceco) com seu pedículo, sem prejuízo aparente para a anatomia intestinal.

A mobilidade de um retalho com seu pedículo, que permita seu posicionamento na bolsa, é um fator a ser almejado nas orquiopexias.

Ressalta-se, também, a abundância de tecido intestinal. Este fator poderá facilitar a sua utilização, tantas vezes quantas forem necessárias.

PROPOSTAS FUTURAS

A utilização de modelos experimentais é apenas o primeiro passo para encontrar soluções definitivas para os problemas encontrados na prática médica.

No modelo, ora proposto, observam-se pontos positivos e negativos quanto à utilização de retalhos suturados aos testículos para se manter a eutrofia gonadal.

É possível que a sutura do retalho intestinal à gônada possa ter influenciado nos resultados, provocando lesões, como se observa na literatura **(48,49)**. Em experimentos futuros, dever-se-á testar esta hipótese, envolvendo o testículo ou seu pedículo com o retalho intestinal, sem sutura direta sobre a gônada.

O aumento da vascularização por aposição de um retalho pode ser um passo para conseguir a eutrofia testicular. Os achados, neste experimento, indicam que se pode estimular o aumento do número de vasos sanguíneos testiculares por aposição de um retalho intestinal. A partir daí, poderíamos conseguir uma irrigação gonadal satisfatória, mesmo depois da ligadura da artéria testicular. Porém essa hipótese poderá ser motivo de pesquisas futuras.

Numa futura aplicação em seres humanos, a presença da mucosa intestinal deveria ser evitada, o que contribuiria para a redução das complicações infecciosas e neoplásicas, semelhantes às aquelas que acontecem nas ampliações vesicais **(52)** com uso do intestino e sua mucosa.

Em experimentos realizados com animais maiores, como cães e coelhos, se encontre uma maior facilidade para a utilização de segmentos intestinais (como o íleo).

Nesses animais, poderia ser mais fácil retirar a mucosa, sem desvitalização do retalho, devido à maior espessura do retalho intestinal. Certamente, essa será uma hipótese a ser testada.

CONCLUSÕES

1. Os retalhos intestinais se aderiram aos testículos com aumento expressivo da vascularização na superfície testicular, observada no estudo histológico.
2. Não houve comprovação estatística de que os retalhos cecais aderidos aos testículos dos ratos tenham, isoladamente, provocado lesões testiculares.
3. Fatores comuns aos testículos lesados, tais como o deslocamento do testículo para o abdome e a aplicação de suturas sobre as gônadas, provocaram atrofia, depleção celular, inflamação e necrose.
4. Os procedimentos anestésicos, o manuseio cirúrgico dos testículos, o isolamento dos animais, bem como as variações dos pesos entre os grupos não foram causas de redução de diâmetros ou de lesões testiculares, neste experimento.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

1. KOLON, T.F. Cryptorchidism. Disponível em <<http://www.emedicine.com/med/topic2707.htm>>. Acesso em 20 de janeiro de 2008.
2. HUTSON, J.M.; HASTHORPE, S. Testicular descent and cryptorchidism: the state of the art in 2004. *J Pediatr Surg*, v. 40, p. 297–302, Feb. 2005.
3. LEE, P.A. Fertility after cryptorchidism: epidemiology and other outcome studies. *Urology*, v. 66, p. 427–43, 2005.
4. HADZISELIMOVIC, F.; HERZOG, B. The importance of both an early orchidopexy and germ cell maturation for fertility. *The Lancet*, v. 358, p. 1156, Oct. 2001.
5. STECKLER, R.E.; ZAONTZ, M.R.; SKOOG, S.J.; RUSHTON JR, H.G. Cryptorchidism, pediatricians, and family practitioners: patterns of practice and referral. *The Journal of Pediatrics*, v.127, n. 6, p. 948 – 1995.
6. F. HADZISELIMOVIC, F.; HERZOG, B. Treatment with a luteinizing hormone-releasing hormone analogue after successful orchiopexy markedly improves the chance of fertility later in life. *The Journal of Urology*, v. 158, p.1193-1195. Sept. 1997.
7. FOWLER, R.; STEPHENS, F.D. The role of testicular vascular anatomy in the salvage of high-undescended testis. *Aust NZ J Surg*, v.29, p.92–106, 1959.
8. KAPLAN, G.W. The undescended testis: changes over the past several decades. *BJU international*, v.92, supplement 1, p.12-14, 2003.
9. RANSLEY, P.G.; VORDERMARK, A.S.; CALDAMONE, A. A. AND BELLINGER, M. F. Preliminary ligation of the gonadal vessels prior to orchidopexy for the intra-abdominal testicle: a staged Fowler-Stephens procedure. *World J. Urol.*, v. 2, p.266, 1984.
10. LINDGREN, B.W.; FRANCO, I.; BLICK, S.; LEVITT, S.B.; BROCK, W.A.; PALMER, L.S.; FRIEDMAN, S.C. ; REDA, E.F. Laparoscopic Fowler-Stephens orchiopexy for abdominal testis. *The Journal of Urology*, v.162, p. 990–994, Sept. 1999.

11. LAW, G.S.; PEREZ, L.M.; JOSEPH, D.B. Two-stage Fowler-Stephens orchiopexy with laparoscopic clipping of the spermatic vessels. *The Journal of Urology*, v. 158, p.1205-1207, Sept. 1997.
12. BOECKX, W. L.; VERECKEN. R.; DEPUYD, T. K. Microsurgery for intra-abdominal testicular retention. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, v.81, p. 191–196, 1998.
13. BUKOWSKI, T.P.; WACKSMAN, J.; BILLMIRE, D.A.; LEWIS A.G.; SHELDON, C.A. Testicular autotransplantation: a 17-year review of an effective approach to the management of the intrabdominal testis. *The Journal of Urology*, v. 154, p. 558 – 561, 1995.
14. SOMUNCU, S.; RIZALAR, R.; ARITÜRK, E.; BERNAY, F. Autorevascularization of the testicle and spermatic vessels by bladder pedicle flap: an experimental study. *J pediatr Surg*, v. 40, p.1295 – 300, 2005.
15. LÖBL, M.; FRIGO, E.; BEER, F.; DEPINE, C.; LOSERT, U.; ROKITANSKY, A. M. Neovascularisation of the testes by experimental omentotesticulopexy. *Pediat Surg Int*, v. p. 576 – 579, 2000.
16. SÖNMEZ, K.; BASAKLAR, A.C.; TTIRKYILMAZ, Z.; DEMIROQULLAR, B.; NUMANOQLU, V.; DURSUN, K.; ALI AH, M.; KALE, N. Neovascularization of the testicle through spermatic vessels by omental pedicle flap: a new experimental model. *Journal of Pediatric Surgery*, v.30, p. 1654-1657, Dez.1995.
17. SHOSHANY, G.; SHOFTY, R.; LIVNE, E.; HAYARI, L.; MORDECHOVITZ, D. Testicular neovascularization by omentotesticulopexy: a possible adjuvant in the surgical correction of high undescended testes. *Journal of Pediatric Surgery*, v. 31, p. 1229 – 1232, Sept. 1996.
18. ERÇÖÇEN, A.R.; SOEJIMA, K.; SAKURAI, H.; YENIDÜNYA, S.; KIKUCHI, Y.; NOZAKI, M. Revascularization of the testis using a vascular induction technique: a potential approach for staged orchiopexy in high-undescended testis. *Urol Res*, v. 32, p.1-8, 2004.
19. HUTSON, J.M.; HASTHORPE, S.; HEYNS, C.F. Anatomical and functional aspects of testicular descent and cryptorchidism. *Endocrine Reviews*, v. 15, p.259- 264, Oct. 1997.

-
20. LONGUI, C.A. Diagnóstico e tratamento do criptorquismo. *Arq Bras Endocrinol Metab*, vol 49, nº 1, p. 165 – 71, fev. 2005.
 21. KOGAN, S.J. Cryptorchidism. KELALYS, P.P.; KING, L.R.; BELMAN, A.B. *Clinical Pediatric Urology*, third edition. Philadelphia: WB Saunders, 1995, p. 1050 - 1083.
 22. KAPLAN, G.W. Nomenclature of cryptorchidism. *Eur J Pediatr*, v.152 [Suppl 2] p. s17-s19, 1993.
 23. SCHOORL, M. Classification and diagnosis of undescended testes. *Eur J Pediatr*, v.139, p.253-254 1982.
 24. BEDFOARD, J.M. Anatomical evidence for the epididymis as prime mover in the evolution of the scrotum. *American Journal of Anatomy*, v. 15, p. 483 – 508, 1978.
 25. HUTSON, J.M.; BAKER, M.; TERADA, M.; ZHOU, B.; PAXTON, G. Hormonal control of testicular descent and the cause of cryptorchidism. *Reprod Fertil Dev*, v.6 (2). p. 151-6 1994.
 26. HADIISELIMOVIC, F. Mechanism of testicular descent. *Urol. Res.* v.12, p. 155, 1984.
 27. LANNA, J.C.B.D.; LANNA SOBRINHO, J.M.D. Distopia testicular. Maksoud, J.G. *Cirurgia Pediátrica*, Vol. II. Revinter, 1998, p. 689.
 28. ELDER, J.S. The undescended testis: hormonal e surgical management. *Surg Clin N Amer*, v.68, p. 983-1005 1988.
 29. TOMIYAMAA, H.; SASAKIA, Y.; HUYNHA, J.; YONGA, E.; TINGA, A.; HUTSON, J.M. Testicular descent, cryptorchidism and inguinal hernia: the Melbourne perspective. *Journal of Pediatric Urology*, v.1, p. 11 e 25, 2005.
 30. FAVORITO, L.; JAVARONI, V.; TEIXEIRA FILHO, J.S.; SAMPAIO F.J.B. Anomalies of the testis, epididymis and vas deferns in normal human fetuses and in patients with cryptorchidism. *Brazilian Journal of Urology*. v. 26 (5), p. 530-534, Sep. / Oct. 2000.
 31. GORI, S.; PORROZZI, S.; ROILA, F.; GATTA, G.; GIORGI, U.; MARANGOLO, M. Germ cell tumours of the testis. *Critical Reviews in Oncology-Hematology*, v.53, p. 141–164, 2005.

-
32. NAOUAR, S.; MAAZOUN, K.; SAHNOUN, L.; JOUINI, R.; KSIA, A.; ELEZZI, O.; KRICHENE, I.; MEKKI, M.; BELGHITH, M.; NOURI, A. Transverse testicular ectopia: a three-case report and review of the literature. *Urology*, no prelo, disponível on line em 21 de fevereiro de 2008.
33. ELDER, J.S. Ultrasonography is unnecessary in evaluating boys with a nonpalpable testis. *Pediatrics*, v. 110, p. 748 – 751, n.4, Oct. 2002.
34. PEKKAFALIA, M.Z.; SAHINB, C.; ILBEYC, Y.O.; ALBAYRAKC, S.; YILDIRIMD, S.; CIHAT, C.; BASEKIM, C.C. Comparison of ultrasonographic and laparoscopic findings in adult nonpalpable testes cases. *European Urology*, v.44, p.124–127, 2003.
35. PAPPARELLAA, A.; PARMEGGIANIA, P.; COBELLISB, G.; MASTROIANNI, B. L.; STRANIERIC, G.; PAPPALEPORED, N.; MATTIOLIE, G.; ESPOSITOF. C.; LIMAG, M. Laparoscopic management of nonpalpable testes: a multicenter study of the Italian Society of vídeo surgery in infancy. *J pediatr Surg*, v.40, p. 696– 700, 2005.
36. MALONE, P.S.; RANSLEY, P.G.; KIELY, EM. Preliminary report: the antegrade continence enema. *The Lancet*, v.336, p. 1217–1218, 1990.
37. MITROFANOFF, P. Cystostomie continente trans-appendiculaire dans le traitement des vessies neurologiques. *Chir Pediatr*, p. 297–305, 1980.
38. LIARD, A.S.; SE´ GUIER-LIPSZYC, E.; MATHIOT, A.; MITROFANOFF, P. The Mitrofanoff Procedure: 20 Years Later. *The Journal Of Urology* v.165,p. 2394–2398, 2001.
39. MONTI, P.R.; CARVALHO, J.R.; ARAP, S. The Monti procedure: applications and complications. *UROLOGY*, v. 55, p.616–621, 2000.
40. STUDER, U.E.; GERBER, E.; SPRINGER, J.; Zingg, E.J. Bladder reconstruction with bowel after radical cystectomy. *World J Urol*, v.10, p.11-16, 1992.
41. MOOK, D. Anesthetic management of rodents and rabbits. Disponível em <<http://web.msm.edu/clar/AnestheticMgmtRodentsRabbits.pdf>>, acesso em 20 de março 2008.
42. IWOA UNIVERSITY GUIDELINE. Anesthesia and Analgesia of Laboratory Animals. Disponível em: <http://research.uiowa.edu/animal/index.php?get=aa_regimens_rats>, acesso em 12 de abril 2008.

-
43. DOCIMO, G.D. The results of surgical therapy for cryptorchidism: a literature review and analysis. *The Journal of Urology*, v. 164, p.1148-1152, Sept. 1995.
44. HUSMANN, D.A. Cryptorchidism problems extrapolating experimental animal data to the clinical undescended testicle. *The Journal of Urology*, v.159, p.1029-1030, Marc. 1998.
45. ROSSI, L.M.; PEREIRA, L.A.; SANTIS, L.; PASQUALOTTO, F.; IACONELLI JR, A.; ORTIZ, V.; BORGES, E. Sperm retrieval techniques in rats with suppressed spermatogenesis by experimental cryptorchidism. *Human Reproduction*, v.20, n.2, p. 443–447, 2005
46. HOWROYD, P; HOYLE-THACKER, R.; LYGHT, O.; WILLIAMS, D.; KLEYMENOVA, E. Morphology of the Fetal Rat Testis Preserved in Different Fixatives. *Toxicologic Pathology*, Volume 33, Number 2, Number 2/2005 , pp. 300-304(5) resumo
47. LATENDRESSE, J.R.; WARBRITTON, A.R.; JOHASSEN, H.; CREASY, D.M. Fixation of testes and eyes using a modified Davidson's fluid: Comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's fluid. *Toxicol Pathol*, v.30, p. 524 2002.
48. LOFAN, G.; GOLAN, R.; EFRATI, Y.; VIGODNER, M.; LEWIN, L.M.; SHOCHAT, L.; KLIN, B. An experimental study of the effect of two distinct surgical techniques of orchiopexy on spermatogenesis and testicular damage in cryptorchid testes. *Fertility and Sterility*, v. 84, p. 749-755, Sept. 2005.
49. COUGHLIN, M.T.; BELLINGER, M.F.; LAPORTE, R.E.; LEE, P.A. Testicular suture: a significant risk factor for infertility among formerly cryptorchid men. *Journal of Pediatric Surgery*, v. 33, p. 1790 – 1793, Dec. 1998.
50. MCLACHLAN, R.I.; RAJPERT-DE MEYTS, E.; HOEI-HANSEN, C.E.; KRETSER, D.M.; SKAKKEBAEK, N.E. Histological evaluation of the human testis - approaches to optimizing the clinical value of the assessment: mini review. *Human Reproduction*, v.22, p. 2–16, 2007.
51. HADZISELIMOVIC, F. Cryptorchidism, Its Impact on male fertility. *European Urology*, v. 41, p.121-123 2002.
52. MAHAN, J.D.; MENTSERT, M.I.; KOFF, S.A. Complications of intestinal augmentation and substitution cystoplasty. *Pediatr Nephrol*, v.8, p. 505 – 507, 1994.