

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΠΑΙΔΩΝ ΑΘΗΝΩΝ «Η ΑΓΙΑ ΣΟΦΙΑ»

Α' ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ: ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΧΡΙΣΤΙΝΑ ΚΑΝΑΚΑ-GANTENBEIN

**Διερεύνηση της σχέσης των διαμαρτιών του μεσορχέου με  
την κρυπορχία μετά από προγεννητική αναστολή των  
ανδρογόνων: πειραματική μελέτη σε επίμυες**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**Αναστασία Μεντεσίδου**

**Χειρουργός Παίδων**



ΑΘΗΝΑ 2020

## **ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**

### **ΘΕΜΑ**

**“Διερεύνηση της σχέσης των διαμαρτιών του μεσορχέου με την κρυπορχία μετά από προγεννητική αναστολή των ανδρογόνων: πειραματική μελέτη σε επίμυες”**

**ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ Ι. ΜΕΝΤΕΣΙΔΟΥ**

**Χειρουργός Παιδών**

**ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ Ε.Κ.Π.Α.**

Καθηγητής Πέτρος Π. Σφηκάκης

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

- Χρήστος Σαλάκος, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής Παιδών Ε.Κ.Π.Α. (επιβλέπον μέλος)
- Γεώργιος Χρούσος, Ομότιμος Καθηγητής Παιδιατρικής-Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας Ε.Κ.Π.Α.
- Χριστίνα Κανακά-Gantenbein, Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας Ε.Κ.Π.Α.

**ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

- Χρήστος Σαλάκος, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής Παιδών Ε.Κ.Π.Α.
- Γεώργιος Χρούσος, Ομότιμος Καθηγητής Παιδιατρικής & Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας Ε.Κ.Π.Α.
- Χριστίνα Κανακά-Gantenbein, Καθηγήτρια Παιδιατρικής & Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας Ε.Κ.Π.Α.
- Αλκιβιάδης Κωστάκης, Ομότιμος Καθηγητής Χειρουργικής & Μεταμοσχεύσεων Οργάνων Ε.Κ.Π.Α.
- Ευστάθιος Αντωνίου, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής & Μεταμοσχεύσεων Οργάνων Ε.Κ.Π.Α.
- Φλώρα Μπακοπούλου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής & Εφηβικής Ιατρικής Ε.Κ.Π.Α.
- Χρήστος Γιαπιτζάκης, Αναπληρωτής Καθηγητής Γενετικής Ε.Κ.Π.Α.

## **ΧΡΟΝΟΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΕΚΠΟΝΗΣΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**

- 17/07/2017: Υποβολή αρχικής αίτησης, Αρ. Πρωτ. 1617033673
- 01/11/2017: Ορισμός τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, Αρ. Πρωτ. 1718006814
- 28/12/2017: Έγκριση άδειας πρωτοκόλλου διαδικασιών σε ζώα εργαστηρίου (επίμυες) από Κτηνιατρική Υπηρεσία Νομαρχίας Αθηνών, Αρ. Πρωτ. 6929/28-12-2017
- 03/04/2018: Έγκριση άδειας πρωτοκόλλου διδακτορικής διατριβής από Επιστημονικό Συμβούλιο Γενικού Νοσοκομείου Παίδων Αθηνών “Η Αγία Σοφία”, Αρ. Πρωτ. 5602/06-03-18
- 06/06/2018: Κατάθεση πρωτοκόλλου, Αρ. Πρωτ. 1718030652
- 21/12/2018: Κατάθεση 1ης έκθεσης προόδου, Αρ. Πρωτ. 1819016342
- 27/11/2019: Κατάθεση 2ης έκθεσης προόδου, Αρ. Πρωτ. 1920011083
- 09/11/2020: Κατάθεση 3ης έκθεσης προόδου
- 26/11/2020: Ορισμός επταμελούς εξεταστικής επιτροπής

# ΣΥΝΟΠΤΙΚΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Δεκέμβριος 2020

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ & ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: 22 Απριλίου 1983, Θεσσαλονίκη

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ: #30-6947902375  
e-mail: [natmente@gmail.com](mailto:natmente@gmail.com)  
[natmente@med.uoa.gr](mailto:natmente@med.uoa.gr)

ΓΛΩΣΣΕΣ: Ελληνική, Αγγλική, Γερμανική

ΑΔΕΙΑ ΙΑΤΡΙΚΟΥ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΟΣ: Νο Γ1/20055/27/7/2007

ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΥΠΑΙΘΡΟΥ: ΚΥ Άνδρου, Κυκλάδες (2019-2020)

ΠΑΡΟΥΣΑ ΘΕΣΗ: Post-CCT Fellow in Pediatric Surgery,  
Cambridge University Addenbrooke's  
Hospital, Cambridge, UK (11/2020-)

## Τίτλοι Σπουδών

2001-2007: Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Κρήτης  
**Πτυχίο Ιατρικής (MD)**

2017-2019: Τμήμα Ιατρικής, Ε.Κ.Π.Α.  
**Μεταπτυχιακό Πανεπιστημιακό  
Δίπλωμα στη Χειρουργική Ανατομία  
(MSc)**  
*Διπλωματική διατριβή: «Συγκριτική μελέτη μεταξύ δεξιάς και αριστερής θωρακοτομής για την αποκατάσταση ατρησίας οισοφάγου με δεξιό αορτικό τόξο».*

2019-2020 Alma Mater Studiorum, Πανεπιστήμιο  
Μπολόνιας, Ιταλία  
**Επαγγελματικό Μεταπτυχιακό  
Πανεπιστημιακό Δίπλωμα στην  
Ελάχιστη Επεμβατική και Ρομποτική  
Χειρουργική Παίδων (MSc)**  
*Διπλωματική διατριβή: «Λαπαροσκοπική ορχεοπηξία για ψηλαφητούς μη κατεβασμένους όρχεις: συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση»*

## Ιατρική ειδικότητα

2/10/2017: Τίτλος Χειρουργικής Παίδων, Ελλάδα  
4/12/2019: Pediatric Surgery Specialist Registry, UK

## Κλινική εμπειρία

09/2007-08/2009:	<b>Επιστημονική συνεργάτις</b> Β' Πανεπιστημιακή Κλινική Χειρουργικής Παιδών, Α.Π.Θ., ΓΝ Παπαγεωργίου
08/2009-8/2012:	<b>Ειδικευόμενη Γενικής Χειρουργικής</b> Α' Πανεπιστημιακή Χειρουργική Κλινική, Α.Π.Θ., ΓΝ Παπαγεωργίου
10/2012-07/2014:	<b>Ειδικευόμενη Χειρουργικής Παιδών</b> Α' Πανεπιστημιακή Κλινική Χειρουργικής Παιδών, Α.Π.Θ., ΓΝ Γεννηματάς
10/2014-02/2016:	<b>Pediatric Surgery &amp; Urology Registrar</b> Τμήμα Χειρουργικής και Ουρολογίας Παιδών, Νοσοκομείο Chelsea & Westminster, Λονδίνο, Ηνωμένο Βασίλειο
03/2016-02/2017:	<b>Ειδικευόμενη Χειρουργικής Παιδών</b> Α' Κλινική Χειρουργικής Παιδών, ΓΝ Παιδών "Αγία Σοφία", Αθήνα
02/2017-10/2019: (το διάστημα περιλαμβάνει 2 πλήρη έτη μετά την λήψη του τίτλου ειδικότητας)	<b>Ειδικευόμενη Χειρουργικής Παιδών σε παράταση</b> Α' Κλινική Χειρουργικής Παιδών, ΓΝ Παιδών "Αγία Σοφία", Αθήνα

## Ερευνητική εμπειρία

03/2003-07/2007:	<b>Μέλος ερευνητικής ομάδας</b> Εργαστήριο Ανατομίας-Εμβρυολογίας, Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Κρήτης
04/2004 & 04/2005 & 04/2008:	<b>Βραχυπρόθεσμα ερευνητικά fellowships</b> Centers of Surgical Anatomy & Technique, Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Emory, Ατλάντα, ΗΠΑ
09/2007-08/2009:	<b>Μέλος ερευνητικής ομάδας</b> Μονάδα Πειραματικής Παιδοχειρουργικής - Μικροχειρουργικής, Β' Πανεπιστημιακή Κλινική Χειρουργικής Παιδών, Α.Π.Θ.
04/2016-01/2019:	<b>Μέλος ερευνητικής ομάδας</b> Ομάδα μελέτης και έρευνας Χειρουργικής Παιδών, Α' Κλινική Χειρουργικής Παιδών, ΓΝ Παιδών Αθηνών "Αγία Σοφία"

## Διεθνείς δημοσιεύσεις

### ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Mirilas P, Mentessidou A and Skandalakis JE. Splenic Cysts: are there so many types? J Am Coll Surgeons 2007; 3: 459-465 (collective review).

**\*JACS CME-1 Featured Article, Volume 204, March 2007, J Am Coll Surg 2007;204:521-522.**

2. Mirilas P, Mentessidou A and Skandalakis JE. Secondary internal inguinal ring and associated surgical planes: surgical anatomy, embryology and applications. J Am Coll Surg 2008; 206: 561-570.
3. Mirilas P, Panayiotides I, Mentessidou A, Mavrogenis G, Kontis E, Lainas P and De Almeida M. Effect of testis nondescent or orchidopexy on antisperm antibodies and testis histology in rats. Fertil Steril 2010; 94: 1504-1509.
4. Mirilas P, Kontis E, Mentessidou A, Myrillas K, Ginis H. Testis Rigidity Tester: A prototype device for intraoperative evaluation of testis-First experimental experience in undescended testis and testicular torsion. J Pediatr Urol 2010; 6: 277-281.
5. Mirilas P, Mentessidou A, Kontis E, Antypa E, Makedou A, Petropoulos A. Serum beta-endorphin response to stress before and after operation under fentanyl anesthesia in neonates, infants and preschool children. Eur J Pediatr Surg 2010; 20: 106-110.
6. Mirilas P, Mentessidou A, Argyris I, Petropoulos A. Hematoma of the spermatic cord in a child. Am Surg 2010; 76: E131-133.
7. Mirilas P, Kontis E, Mentessidou A, Argyris I, Tsitouridis I, Petropoulos A. Sonographic evidence for patency of the processus vaginalis in children with acquired undescended testes. Int J Androl 2011; 34: 49-54.
8. Mirilas P, Mentessidou A, Kontis E, Asimakidou M, Moxham BJ, Petropoulos AS, Emmanouil-Nikolousi EN. Parental exposures and risk of nonsyndromic orofacial clefts in offspring: a case-control study in Greece. Int J Pediatr ORL 2011; 75: 695-699.
9. Mirilas P, Mentessidou A. Microsurgical subinguinal varicocelectomy in children, adolescents, and adults: surgical anatomy and anatomically justified technique. J Androl 2012; 33: 338-349.
10. Mirilas P, Mentessidou A. The secondary external inguinal ring and associated fascial planes: Surgical anatomy, embryology, applications. Hernia 2013; 17: 379-389.
11. Mirilas P, Mentessidou A. Assessment of the histologic damage to the testis after torsion: to puncture or not to puncture? BJU Int 2013; 111: E18-19.
12. Mirilas P, Psalla D, Mentessidou A. A diagnostic model for histologic damage in undescended testes based on testis rigidity measurement: an experimental study with a novel device. J Surg Res 2014; 192: 521-530.
13. Mentessidou A, Mirilas P. Appendiceal phlegmon mimicking intussusception on ultrasound: correspondence between sonographic and operative findings. J Pediatr Surg 2015; 50: 1224-1226.
14. Mentessidou A, Theocharides C, Patoulis I, Panteli C. Enterobius Vermicularis-associated pelvic inflammatory disease in a child. J Pediatr Adolesc Gynecol 2016; 29: e25-27.
15. Mentessidou A, Saxena AK. Laparoscopic repair of duodenal atresia: systematic review and meta-analysis. World J Surg 2017; 41: 2178-2184.
16. Mentessidou A, Loukou I, Kampouroglou G, Livani A, Georgopoulos I, Mirilas P. Long-term intestinal obstruction sequelae and growth in

- children with cystic fibrosis operated for meconium ileus: expectancies and surprises. *J Pediatr Surg* 2018; 53: 1504-1508.
17. Mentessidou A, Avgerinos I, Avgerinos N, Skandalakis PN, Mirilas P. Right or left thoracotomy for esophageal atresia and right aortic arch? Systematic review and surgicoanatomic justification. *J Pediatr Surg* 2018; 53: 2128-2135.
  18. Scarlett AL, Mentessidou A, Farrugia MK, De Caluwe D, Rahman N. Urology robotic journey: demonstrating the learning curve in robot-assisted pyeloplasties (RALP). *J Ped Endosc Surg* 2019; 1: 79-82.
  19. Mentessidou A, Mirilas P. 'Testis-epididymis dissociation' in cryptorchidism and hydrocele: the tip of the iceberg of a persistent genital mesentery. *Surg Radiol Anat* 2020; 42: 1329-1337.
  20. Mentessidou A, Livani A, Chrousos G, Mirilas P. Ileocecal valve removal reverses the constipating effects of loperamide in rats. *J Surg Res*; 255: 371-377.
  21. Mentessidou A, Salakos C, Chrousos G, Kanaka-Gantenbein C, Kostakis A, Mirilas P. Morphologic alterations of the genital mesentery in testis non-descent in rats prenatally exposed to flutamide. *Andrology* 2020; online ahead of print.

#### ΔΙΕΘΝΗ ΒΙΒΛΙΑ

##### Συγγραφέας κεφαλαίου

1. Mentessidou A and Saxena AK. Disorders of intestinal rotation and fixation (chapter 17). In: Lima M (ed). *Pediatric Digestive Surgery*. Springer 2017; 245-254.

## ΟΡΚΟΣ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

(Μετάφραση Καθ. Δ. Λυπουρλή,

Ιπποκρατική Ιατρική, Θεσσαλονίκη: Παρατηρητής, 1983)

Ορκίζομαι στον Απόλλωνα το γιατρό και στον Ασκληπιό και στην Υγεία και στην Πανάκεια και σε όλους τους θεούς και σε όλες τις θεές, και μάρτυρες τους βάζω, πως θα εκτελέσω τον όρκο μου αυτό κι αυτό μου το συμβόλαιο όσο οι δυνάμεις μου και η κρίση μου το επιτρέπουν.

**Θα τιμώ εκείνον, που την τέχνη αυτή μου δίδαξε όσο και τους γονείς μου.** Στο βίος μου θα τον κάνω κοινωνό και, όταν βρεθεί σε ανάγκη, απ' τα δικά μου θα του δίνω. Τους γιους του θα τους λογαριάζω αδελφούς μου και την τέχνη αυτή θα τους διδάξω –αν θέλουν να τη μάθουν— χωρίς μισθό και δίχως έγγραφο συμβόλαιο. Στις οδηγίες τις γραπτές ή στις προφορικές διδασκαλίες και στις υπόλοιπες κάθε λογής καθοδηγήσεις δικαίωμα να έχουν θα αφήνω μόνο τους δικούς μου γιους, τους γιους του διδασκάλου μου **και μαθητές που με συμβόλαιο και όρκο –κατά το έθος των γιατρών— θα έχουν δεθεί μαζί μου.** Άλλον κανένα.

Συνταγές θα δίνω ιατρικές που θα είναι –όσο από τη δύναμη και τη δική μου κρίση εξαρτάται— **μόνο για το καλό του αρρώστου και θα φυλάγομαι μη δώσω συνταγή για το κακό ή για να βλάψω.**

Και να μου το ζητήσουν, φάρμακο θανατηφόρο σε κανέναν δεν θα δώσω και ούτε θα βγει από μένα μια τέτοια συμβουλή. Ούτε θα δώσω σε γυναίκα φάρμακο να καταστρέψει το βλαστό της. **Αγνή και καθαρή θα φυλάξω τη ζωή και την τέχνη μου.**

Δεν θα εγχειρίσω ούτε και άνθρωπο που υποφέρει από πέτρα. **Έργα τέτοια θα τα αφήνω σε ανθρώπους που είναι σε αυτά εξασκημένοι.**

**Σε όποια σπίτια θα μπαίνω, για το καλό θα μπαίνω των αρρώστων.** Θα μένω μακριά από κάθε πράξη αφροδισιακή και από κάθε βλάβη. Ιδίως θα μένω μακριά από κάθε πράξη αφροδισιακή πάνω σε σώματα γυναικεία ή ανδρικά ελεύθερων ή σκλάβων.

Όσα ασκώντας το επάγγελμά μου θα δω ή θα ακούσω –ας είναι και πέρα από το επάγγελμά μου, στην αναστροφή με τους ανθρώπους— που δεν θα πρέπει ποτέ στους έξω να κοινολογηθούν, θα τα σκεπάζω με τη σιωπή μου. **Μυστικά θα τα θεωρώ, που κανείς δεν πρέπει γι' αυτά να μιλά.**

Όσο τον όρκο μου αυτόν θα τον κρατώ και δεν θα τον πατάω, άμποτε να χαίρομαι τη ζωή και την τέχνη μου, έχοντας πάντα καλό όνομα ανάμεσα στους ανθρώπους. **Αν όμως παραβώ τον όρκο μου και τον πατήσω, να μου συμβούν ακριβώς τα αντίθετα.**



*'Preconceived notions and prejudices concerning the cause of testicular descent  
have influenced the observations recorded by many of the researchers in this field'*

Chris Heyns 1987

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

- AIS: Androgen insensitivity syndrome (σύνδρομο μη ευαισθησίας στα ανδρογόνα)
- CGRP: Calcitonin gene-related peptide (πεπτίδιο σχετιζόμενο με το γονίδιο της καλσιτονίνης)
- CO: corn oil (καλαμποκέλαιο, μέσο διάλυσης της φλουταμίδης)
- FLUT: flutamide (φλουταμίδα, μη στεροειδές αντιανδρογόνο)
- GFN: Genitofemoral nerve (μηρογεννητικό νεύρο)
- hCG: human chorionic gonadotropin (ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη)
- INSL3: Insulin-like hormone (peptide)-3 (πεπτίδιο τύπου ινσουλίνης 3)
- LHRH: Luteinizing hormone-releasing hormone (εκλυτική ορμόνη της ωχρινοτρόπου ορμόνης)
- RXFP2: Relaxin family peptide receptor-2 (υποδοχέας της οικογένειας της ρηλαξίνης 2)
- Tfm: Testicular feminization mutation (μετάλλαξη θηλεοποίησης όρχεων, μετάλλαξη στο γονίδιο του υποδοχέα των ανδρογόνων με αποτέλεσμα έλλειψη ευαισθησίας στα ανδρογόνα]

### ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ

- CO-DT: corn oil-exposed descended testes (οσχείκοι όρχεις που έχουν εκτεθεί σε καλαμποκέλαιο)
- FLUT-DT: flutamide-exposed descended testes (οσχείκοι όρχεις που έχουν εκτεθεί σε φλουταμίδα)
- FLUT-UDT: flutamide-induced undescended testes (μη κατελθόντες όρχεις μετά από έκθεση σε φλουταμίδα)
- FLUT-UDT cry: flutamide-induced cryptorchid undescended testes (μη κατελθόντες όρχεις σε κρυπορχική θέση μετά από έκθεση σε φλουταμίδα)
- FLUT-UDT ectopic: flutamide-induced ectopic undescended testes (μη κατελθόντες όρχεις σε έκτοπη θέση μετά από έκθεση σε φλουταμίδα)

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	<b>1</b>
I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	2
<hr/>	
I.1. ΤΟ ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ	2
I.2. ΑΝΤΙΚΡΟΥΟΜΕΝΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ	4
I.3. Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΙΔΕΑΣ	5
II. ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΑΣΙΚΩΝ ΕΝΝΟΙΩΝ	7
<hr/>	
II.1. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΘΟΔΟΣ ΤΟΥ ΟΡΧΗ	7
II.2. ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΗΣ ΚΑΘΟΔΟΥ ΤΟΥ ΟΡΧΗ	8
II.2.α. ΚΡΥΨΟΡΧΙΑ	10
II.2.β. ΕΚΤΟΠΙΑ ΟΡΧΗ	10
II.2.γ. ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗΣ ΑΝΟΔΟΣ ΤΟΥ ΟΡΧΗ	11
II.3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΚΡΥΨΟΡΧΙΑΣ	11
II.3.α. ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΣ ΠΡΟΚΑΛΟΥΜΕΝΗ ΚΡΥΨΟΡΧΙΑ	11
II.3.β. ΜΗΧΑΝΙΚΩΣ ΠΡΟΚΑΛΟΥΜΕΝΗ ‘ΚΡΥΨΟΡΧΙΑ’	12
II.3.γ. ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΚΡΥΨΟΡΧΙΑΣ	12
II.3.δ. ΑΝΑΓΩΓΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ: ΟΜΟΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ	13
II.4. ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΔΟΜΕΣ Ή ΟΡΓΑΝΑ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΚΑΘΟΔΟ ΤΟΥ ΟΡΧΗ	16
II.4.α. ΟΙΑΚΑΣ (GUBERNACULUM, GUBERNACULAR CORD, GUBERNACULAR LIGAMENT OR GENITOINGUINAL LIGAMENT)	16
II.4.β. ΒΟΥΒΩΝΙΚΟΣ ΘΥΛΑΚΟΣ Ή ΑΡΧΕΓΟΝΟΣ ΣΑΚΟΣ ΚΡΕΜΑΣΤΗΡΑ (INGUINAL BURSA OR CONE)	20
II.4.γ. ΕΛΥΤΡΟΕΙΔΗΣ ΑΠΟΦΥΣΗ (PROCESSUS VAGINALIS )	23
II.4.δ. ΚΡΑΝΙΑΚΟΣ ΑΝΕΛΚΤΗΡΑΣ ΣΥΝΔΕΣΜΟΣ (CRANIAL SUSPENSORY LIGAMENT)	25
II.4.ε. ΕΠΙΔΙΔΥΜΙΔΑ ΚΑΙ ΘΕΩΡΙΑ ΤΗΣ ΕΠΙΔΙΔΥΜΟ-ΟΡΧΙΚΗΣ ΚΑΘΟΔΟΥ	27
II.4.στ. ΟΡΧΗΣ	28
II.5. ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟ ΤΟΥ ΟΡΧΗ	29
II.5.α. ΣΤΟ ΕΜΒΡΥΟ	29
II.5.β. ΣΤΟ ΠΑΙΔΙ ΜΕ ΒΑΤΗ ΕΛΥΤΡΟΕΙΔΗ ΑΠΟΦΥΣΗ	33
II.5.γ. ΣΤΟΝ ΕΝΗΛΙΚΑ	35
II.5.δ. ΣΤΟ ΠΑΙΔΙ ΜΕ ΚΡΥΨΟΡΧΙΑ	37

<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	<b>39</b>
I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	40
<hr/>	
I.1. ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΑ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ	40
I.2. ΥΠΟΘΕΣΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	42
I.3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	42
II. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	43
<hr/>	
II.1. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΔΕΙΟΔΟΤΗΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	43
II.2. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	43
II.2.α. ΑΙΤΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ	43
II.2.β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΟΜΑΔΕΣ	44
II.2.γ. ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΥΠΟ ΜΕΛΕΤΗ	49
II.3. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟΥ ΣΤΟΝ ΕΠΙΜΥ	49
II.3.α. ΣΤΟΝ ΑΡΣΕΝΙΚΟ ΕΠΙΜΥ	49
II.3.β. ΣΤΟΝ ΘΗΛΥΚΟ ΕΠΙΜΥ	52
II.4. ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ	54
III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	56
<hr/>	
III.1. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΦΛΟΥΤΑΜΙΔΗΣ ΣΤΟ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟ ΤΩΝ ΟΣΧΕΪΚΩΝ ΟΡΧΕΩΝ (FLUT-DT)	59
III.2. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΦΛΟΥΤΑΜΙΔΗΣ ΣΤΟ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟ ΤΩΝ ΜΗ ΚΑΤΕΛΘΟΝΤΩΝ ΟΡΧΕΩΝ (FLUT-UDT)	61
III.2.α. ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΡΑΝΙΑΚΟΥ ΚΑΙ ΟΥΡΑΙΟΥ ΠΕΡΙΤΟΝΑΪΚΟΥ ΦΥΛΛΟΥ	61
III.2.β. ΔΙΑΣΤΑΣΕΙΣ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟΥ	62
III.2.γ. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟ ΘΗΛΕΟΣ	66
III.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΦΛΟΥΤΑΜΙΔΗΣ ΣΕ ΑΛΛΑ ΑΝΔΡΟΓΟΝΟ- ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΑ ΟΡΓΑΝΑ	66
III.3.α. ΥΠΟΣΠΑΔΙΑΣ	66
III.3.β. ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΕΠΙΔΙΔΥΜΙΔΑΣ ΚΑΙ ΣΠΕΡΜΑΤΙΚΟΥ ΠΟΡΟΥ	68
III.4. ΠΡΟΣΘΕΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	70
III.4.α. ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟ ΤΩΝ ΟΣΧΕΪΚΩΝ ΟΡΧΕΩΝ ΜΕ ΣΥΣΤΡΟΦΗ	70
III.4.β. ΜΙΚΤΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΚΡΑΝΙΑΚΟΥ ΚΑΙ ΟΥΡΑΙΟΥ ΠΕΡΙΤΟΝΑΪΚΟΥ ΦΥΛΛΟΥ	71
III.4.γ. ΠΕΡΙΤΟΝΑΪΚΟΣ ΣΥΝΔΕΣΜΟΣ ΤΗΣ ΟΥΡΑΣ ΤΗΣ ΕΠΙΔΙΔΥΜΙΔΑΣ	74

IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	77
IV.1. ΣΥΝΟΨΗ ΚΥΡΙΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	77
IV.2. ΚΡΑΝΙΑΚΟ ΦΥΛΛΟ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΤΟΝΑΙΟΥ & ΑΠΟΤΥΧΙΑ ΣΤΗΝ ΚΑΘΟΔΟ ΤΟΥ ΟΡΧΗ	78
IV.3. ΟΥΡΑΙΟ ΦΥΛΛΟ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΤΟΝΑΙΟΥ & ΑΠΟΤΥΧΙΑ ΣΤΗΝ ΚΑΘΟΔΟ ΤΟΥ ΟΡΧΗ	79
IV.4. ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΔΡΑΣΗΣ ΑΝΤΙΑΝΔΡΟΓΟΝΟΥ & ΑΞΙΑ ΛΟΓΙΣΤΙΚΗΣ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣΗΣ	81
IV.5. ΕΚΤΟΠΙΑ ΤΟΥ ΟΡΧΗ: ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΑΠΟ ΚΡΥΨΟΡΧΙΑ	83
IV.6. ΥΠΑΡΧΕΙ ΘΗΛΕΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟΥ ΣΤΗΝ ΚΡΥΨΟΡΧΙΑ;	84
IV.7. ΣΥΝΟΔΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΔΙΑΠΛΑΣΗΣ ΣΕ ΑΛΛΑ ΑΝΔΡΟΓΟΝΟ- ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΑ ΟΡΓΑΝΑ	85
V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	87
VI. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	88
VII. SUMMARY	90
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	92
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ</b>	107
▪ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ	
▪ ΕΓΚΡΙΣΗ ΑΔΕΙΑΣ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΑΠΟ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ ΓΝΠΑ «Η ΑΓΙΑ ΣΟΦΙΑ»	
▪ ΕΓΚΡΙΣΗ ΑΔΕΙΑΣ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΩΝ ΑΠΟ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΝΟΜΑΡΧΙΑΣ ΑΘΗΝΩΝ	

# **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

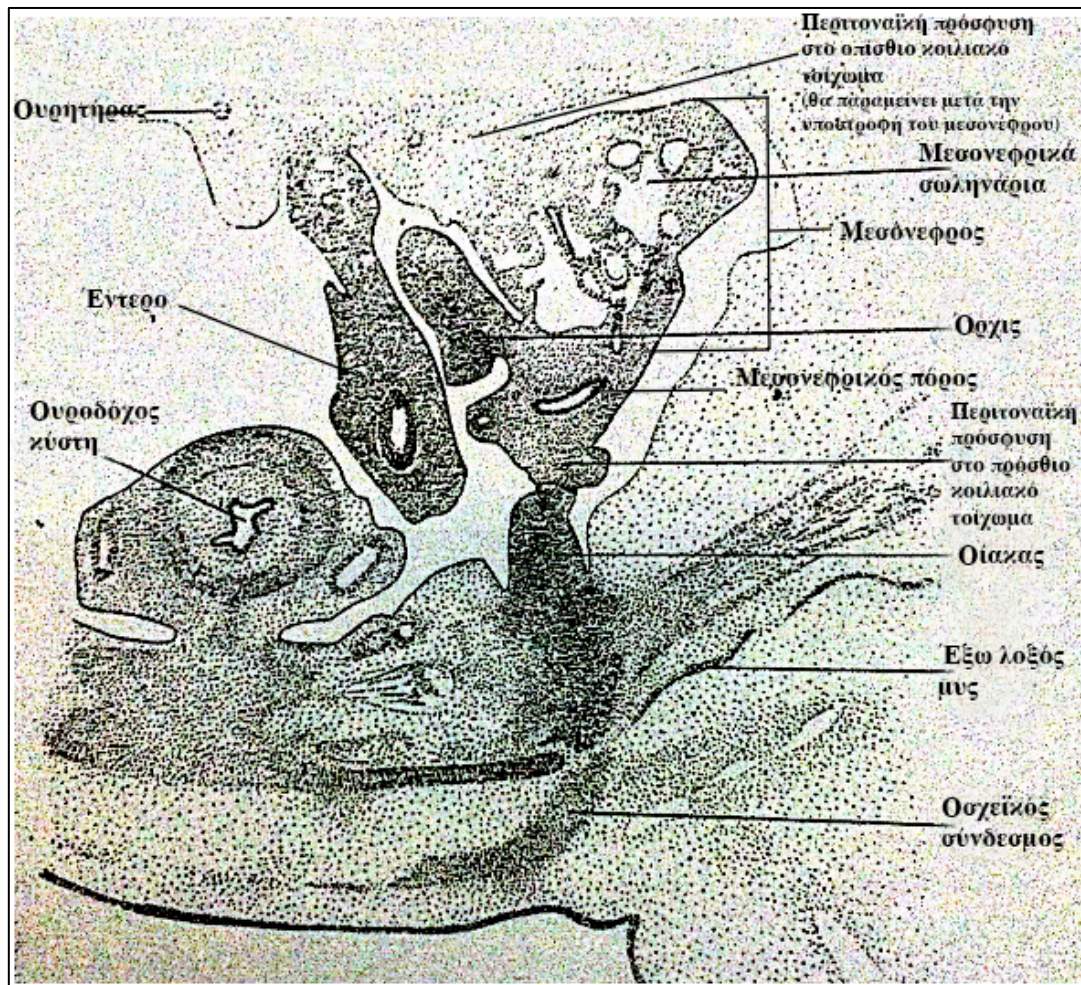
# I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## I.1. ΤΟ ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

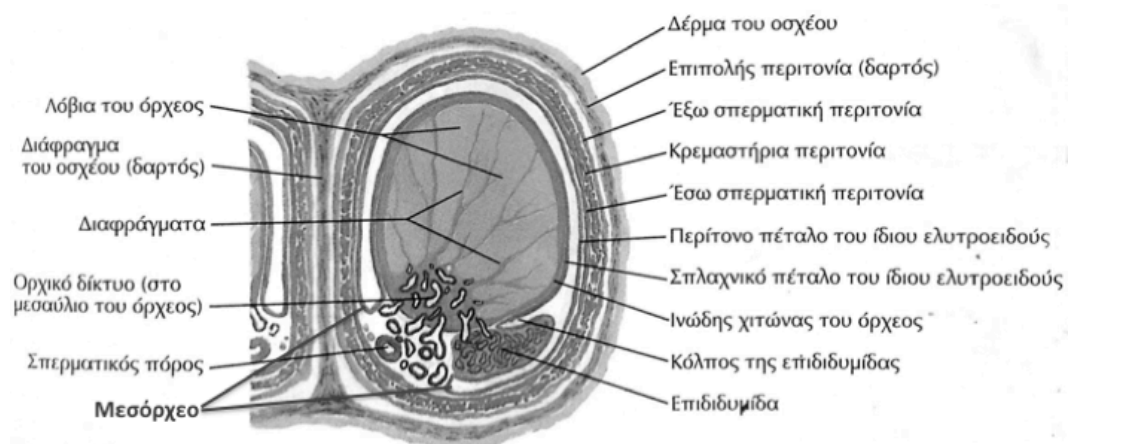
Μελέτες σε ανθρώπινα έμβρυα έχουν δείξει ότι ο όρχης και ο μεσонеφρικός πόρος (αρχέγονος γεννητικός πόρος που θα σχηματίσει το σπερματικό πόρο και την επιδιδυμίδα) περιβάλλονται από το περιτόναιο του μεσονέφρου (αρχέγονου νεφρού) μπροστά από τον οποίο αναπτύσσονται [Backhouse KM 1964, Felix W 1912, Heyns CF 1987, Lemeh CN 1960, Wyndham NR 1943]. Ως εκ τούτου, ο όρχης και ο μεσонеφρικός πόρος είναι ενδοπεριτοναϊκά όργανα και προβάλλουν εντός του κοιλώματος, όπως το έντερο (**Εικόνα 1Α**). Το εμβρυϊκό «μεσεντέριο» του όρχη και του μεσонеφρικού πόρου αποκτά πρόσφυση με το κατώτερο πρόσθιο κοιλιακό τοίχωμα, στην περιοχή που θα αναπτυχθεί ο βουβωνικός πόρος [Backhouse KM 1964, Backhouse KM 1982, Felix W 1912, Heyns CF 1987, Lemeh CN 1960, Wyndham NR 1943]. Μετά την υποστροφή του μεσονέφρου, αποκτά επίσης άμεση πρόσφυση με το οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα, δια μέσου της οποίας πορεύονται τα έσω σπερματικά αγγεία [Backhouse KM 1964, Felix W 1912, Heyns CF 1987, Lemeh CN 1960, Wyndham NR 1943].

Το εμβρυϊκό «μεσεντέριο» του όρχη, ή ορθότερα μεσόρχεο, δεν υπάρχει μετά την κάθοδο του όρχη στον άνθρωπο, αποτέλεσμα πιθανής υποστροφής κατά την ανάπτυξη [Pham SBT *et al.* 2005]. Στο σχηματισμένο ανθρώπινο οργανισμό, ο όρχης, η επιδιδυμίδα και ο σπερματικός πόρος θεωρούνται εξωπεριτοναϊκά όργανα και ο ανατομικός όρος «μεσόρχεο» χρησιμοποιείται μόνο για να περιγράψει τη διπλή ανάκαμψη του ελυτροειδούς χιτώνα στην πύλη του όρχη διαμέσου της οποίας διέρχονται τα έσω σπερματικά αγγεία [Skandalakis JE *et al.* 2004] (**Εικόνα 1Β**). Ο ελυτροειδής χιτώνας είναι η μοναδική δομή περιτοναϊκής προέλευσης σε επαφή με τον όρχη, και μάλιστα τον καλύπτει μόνο μερικώς στην προσθιοπλάγια επιφάνειά του.

Η σχέση όρχη, επιδιδυμίδας και σπερματικού πόρου με το περιτόναιο στα ενδιάμεσα στάδια της ανάπτυξης στον άνθρωπο είναι αδιευκρίνιστη. Συγκεκριμένα, παραμένει ασαφές το αν ο όρχης είναι ενδοπεριτοναϊκός ή οπισθοπεριτοναϊκός κατά την κάθοδό του στο όσχεο, αν δηλαδή συνοδεύεται στην κάθοδό του από το εμβρυϊκό μεσόρχεο, καθώς και το πότε και πώς υποστρέφει το εμβρυϊκό μεσόρχεο.



**Εικόνα 1Α.** Εγκάρσια τομή από έμβρυο ανθρώπου 26 mm. Εικόνα που δείχνει το «μεσεντέριο» του όρχη και του μεσонеφρικού πόρου και τις προσφύσεις του στο πρόσθιο και οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα προ της υποστρόφης του μεσονέφρου. Μετά την υποστρόφη των μεσонеφρικών σωληναρίων, η κρνιακή περιτοναϊκή πρόσφυση θα συνδέει απ' ευθείας τον όρχη και το γεννητικό πόρο με το οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα. Είναι εμφανές ότι ο όρχης και ο μεσонеφρικός πόρος προβάλλουν εντός του κοιλώματος, όπως το έντερο. [Τροποποιημένη από Felix W 1912]



**Εικόνα 1Β.** Εγκάρσια διατομή οσχέου ενήλικου ανθρώπου. Ο ελυτροειδής χιτώνας καλύπτει μερικώς τον όρχη και την κεφαλή της επιδιδυμίδας.



## I.2. ANTIKROYOMENA EYRHΜATA THΣ BIBΛIOΓPAΦIAΣ

Δεν υπάρχει ομοφωνία, για την ακρίβεια υπάρχει σοβαρή διχογνωμία και σύγχυση, στη βιβλιογραφία για τη θέση του όρχη σε σχέση με το περιτόναιο. Τα τελευταία μόλις χρόνια επισημάνθηκε η ύπαρξη αυτής της σύγχυσης και οι πιθανές συνέπειές της στην κατανόηση του μηχανισμού της καθόδου του όρχη [Mirilas P & Mentessidou A 2020, Pham SBT *et al.* 2005].

Πολλοί είναι οι συγγραφείς που υποστηρίζουν ότι ο όρχης αναπτύσσεται ως οπισθοπεριτοναϊκό όργανο και εν συνεχεία κατέρχεται γλιστρώντας πίσω από την ελυτροειδή απόφυση (προβολή του ενδοκοιλιακού περιτοναίου στο βουβωνικό πόρο) για να φτάσει στο όσχεο [Arey LB 1954, Hall-Craggs ECB 1990, Moore KL & Dalley AF 1999, Skandalakis JE & Gray SW 1994, Skandalakis JE *et al.* 2004, Snell RS 1995]. Αυτή είναι και η κύρια θεωρία που υπάρχει στα περισσότερα κλασικά βιβλία ανατομίας και εμβρυολογίας, με αποτέλεσμα να έχει επικρατήσει να διδάσκεται ανά τον κόσμο [Pham SBT *et al.* 2005]. Σε αυτή την τοποθέτηση υπέρ της εξωπεριτοναϊκής θέσης του όρχη, παραμένει αδιευκρίνιστος ο λόγος της προβολής του ενδοκοιλιακού περιτοναίου προς τα κάτω, ο λόγος δηλαδή του σχηματισμού της ελυτροειδούς απόφυσης. Επίσης, δεν είναι ακριβώς ξεκάθαρο το πώς και γιατί ο όρχης καταλήγει να ενθυλακώνεται πλήρως από την ελυτροειδή απόφυση (πράγμα πολύ εμφανές στη βρεφική ηλικία [Lopez-Marambio F & Hutson JM 2015]), εφόσον γλιστράει πίσω της.

Αν και όχι τόσο διαδεδομένη, η άποψη ότι ο όρχης αναπτύσσεται ως ενδοπεριτοναϊκό όργανο και διαθέτει «μεσεντέριο» υποστηρίζεται από πολλές μελέτες σε έμβρυα [Backhouse KM 1964, Felix W 1912, Heyns CF 1987, Lemeh CN 1960, Wyndham NR 1943]. Το «μεσεντέριο» αυτό προέρχεται από το περιτόναιο που καλύπτει το μεσόνεφρο και μετά την υποστροφή του μεσονέφρου καταλήγει να καλύπτει πλήρως τον όρχη αλλά και τον γεννητικό πόρο (επιδιδυμίδα και σπερματικός πόρος). Σύμφωνα με την τοποθέτηση υπέρ της ενδοπεριτοναϊκής θέσης του όρχη, ο όρχης και ο γεννητικός πόρος συνοδεύονται από το «μεσεντέριό» τους (σπλαχνικό περιτόναιο) κατά την κάθοδό τους προς το όσχεο και ενθυλακώνονται από την ελυτροειδή απόφυση, την σακοειδή προβολή του ενδοκοιλιακού περιτοναίου (τοιχωματικό περιτόναιο) προς τα κάτω.

### 1.3. Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΙΔΕΑΣ

Εφόσον ο όρχης διαθέτει «μεσεντέριο», κατέρχεται από την κοιλιά στο όσχεο συνοδευόμενο από αυτό. Εφόσον το εμβρυϊκό αυτό μεσόρχεο εμφανίζει κρανιακή πρόσφυση με το οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα και ουραία πρόσφυση με το κατώτερο πρόσθιο κοιλιακό τοίχωμα στην περιοχή του βουβωνικού πόρου [Backhouse KM 1964, Felix W 1912, Heyns CF 1987, Lemeh CN 1960, Wyndham NR 1943], αναμένεται ότι υφίσταται μορφολογικές μεταβολές προκειμένου να επιτρέψει την κάθοδο του όρχη από την αρχική ενδοκοιλιακή θέση προς την τελική θέση στο όσχεο. Το τελικό αποτέλεσμα της υποστροφής του εμβρυϊκού μεσορχέου που παρατηρούμε στον ενήλικο ανθρώπινο οργανισμό μπορεί να έχει άμεση σχέση με την επιτυχή ολοκλήρωση της καθόδου του όρχη και την ακόλουθη απόφραξη της κεντρικής μοίρας της ελυτροειδούς απόφυσης.

Η αρχική αυτή ιδέα απέκτησε υπόσταση, όταν, κατά την πρώτη διερεύνηση του θέματος, διαπιστώσαμε ότι υπάρχουν ενδείξεις παραμονής του εμβρυϊκού μεσορχέου σε διαταραχές της καθόδου του όρχη στη βιβλιογραφία. Συγκεκριμένα, έχει παρατηρηθεί η ύπαρξη πλήρως ανεπτυγμένου εμβρυϊκού μεσορχέου σε περιπτώσεις παιδιών με παθήσεις που συνυπάρχουν με ενδοκοιλιακούς όρχεις, όπως η γαστροσχισση και η σπληνογοναδική σύμφυση [Pham SBT *et al.* 2005]. Επίσης, έχει παρατηρηθεί η παραμονή ανώμαλης υψηλής πρόσφυσης του μεσορχέου στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα (ανάλογης του ανελκτήρα συνδέσμου της ωοθήκης) σε ενδοκοιλιακούς κρυπορχικούς όρχεις σκύλων και χοίρων [Kersten W *et al.* 1996, Van der Schoot P & Emmen JMA 1996], αλλά και σε επίμυες που γεννήθηκαν με κρυπορχία μετά από προγεννητική έκθεση σε αντιανδρογόνα [Van der Schoot P & Elger W 1992, Van der Schoot P & Emmen JMA 1996]. Στην συνέχεια διαπιστώσαμε οι ίδιοι σε μελέτη μας την παραμονή πλήρως ανεπτυγμένου εμβρυϊκού μεσορχέου σε παιδιά με βουβωνική ή ενδοκοιλιακή κρυπορχία, αλλά και την αποτυχία πλήρους υποστροφής του εμβρυϊκού μεσορχέου σε παιδιά με επικοινωνούσα υδροκήλη (στην οποία υπάρχει μεν επιτυχής κάθοδος του όρχη αλλά αποτυχία απόφραξης της ελυτροειδούς απόφυσης), ευρήματα που δείχνουν ότι η υποστροφή του εμβρυϊκού μεσορχέου πράγματι σχετίζεται με την επιτυχή ολοκλήρωση της καθόδου του όρχη αλλά και την ακόλουθη απόφραξη της ελυτροειδούς απόφυσης [Mentessidou A & Mirilas P 2020].

Λαμβάνοντας υπόψιν όλα τα παραπάνω, προχωρήσαμε στη διερεύνηση της σχέσης της μορφολογίας του μεσορχέου με την κάθοδο του όρχη, αλλά και των διαμαρτιών του μεσορχέου με τις διαταραχές καθόδου του όρχη.

## II. ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΑΣΙΚΩΝ ΕΝΝΟΙΩΝ

### II.1. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΘΟΔΟΣ ΤΟΥ ΟΡΧΗ

Ο όρχης αναπτύσσεται στην έσω κοιλιακή όψη του μεσονέφρου στην κοιλιά και τελικώς κατέρχεται στο όσχεο δια του σύστοιχου βουβωνικού πόρου. Στον άνθρωπο, η κάθοδος αναμένεται να έχει ολοκληρωθεί μέχρι την 35η εβδομάδα κύησης. Σε κάποιες περιπτώσεις, όπως για παράδειγμα επί προωρότητας, μπορεί να καθυστερήσει μέχρι και την ηλικία των 6-12 μηνών μετά τη γέννηση. Στον επίμου, η κάθοδος του όρχη ολοκληρώνεται μεταγεννητικά, μέχρι την 21η ημέρα ζωής. Ο ακριβής μηχανισμός της καθόδου του όρχη, παρά τη διαρκή έρευνα πολλών επιστημόνων στο θέμα από τον 18ο αιώνα, δεν έχει διευκρινιστεί ακόμη και θεωρείται αποτέλεσμα ενός συνδυασμού αυξητικών διεργασιών υπό την επίδραση διαφόρων ορμονικών, μηχανικών και ανατομικών παραγόντων [Hutson JM *et al.* 2015, O’Rahilly R & Müller F 1996].

Σύμφωνα με την ευρέως διαδεδομένη, έως και σήμερα, θεωρία των Hutson & Beasley [Hutson JM & Beasley SW 1992, Hutson JM *et al.* 2015], η κάθοδος του όρχη διακρίνεται σε δύο φάσεις: την διακοιλιακή φάση (κάθοδος από τη νεφρική χώρα στο έσω στόμιο του βουβωνικού πόρου) και την βουβωνοσχεϊκή φάση (κάθοδος από το έσω βουβωνικό στόμιο στο όσχεο). Η διακοιλιακή φάση πιστεύεται ότι ελέγχεται κατά κύριο λόγο από την ορμόνη INSL3, που παράγουν τα κύτταρα Leydig του όρχη, και ότι λαμβάνει χώρα μεταξύ 10ης και 15ης εβδομάδας κύησης στον άνθρωπο και στο τέλος της κύησης στον επίμου [Hutson JM *et al.* 2015]. Η βουβωνοσχεϊκή φάση θεωρείται ανδρογονοεξαρτώμενη και τοποθετείται χρονολογικά μεταξύ 25ης και 35ης εβδομάδας κύησης στον άνθρωπο και μεταγεννητικά στον επίμου [Husmann DA & McPhaul MJ 1991, Hutson JM *et al.* 2015]. Ωστόσο, άλλοι ερευνητές και πιστοί μελετητές του θέματος αμφισβητούν τελείως τη θεωρία της διφασικής καθόδου του όρχη ως ατεκμηρίωτη και αποδίδουν την αρχική ενδοκοιλιακή σχετική «μετακίνηση» του όρχη προς το έσω στόμιο στη διαφορική ανάπτυξη οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης, πυέλου και πρόσθιου κοιλιακού τοιχώματος [Hadziselimovic F 1996, Heyns CF 1987, O’Rahilly R & Müller F 1996]. Σύμφωνα με αυτή την απλοποιημένη άποψη, η κάθοδος του όρχη είναι κατά βάση βουβωνοσχεϊκή και ελέγχεται από τα ανδρογόνα του όψιμου

εμβρύου (η έκκριση των οποίων διεγείρεται από μητρικές γοναδοτροπίνες) και από πλακούντειους ή εμβρυϊκούς υποφυσιαίους παράγοντες [O’Rahilly R & Müller F 1996].

Από πριν την έναρξη της καθόδου του όρχη στο όσχεο, παρατηρείται η σύνδεση του ουραίου άκρου του όρχη και της ουράς της επιδιδυμίδας με την περιοχή του βουβωνικού πόρου μέσω του οίακα (gubernaculum), ενός πηκτωματώδους κυλίνδρου από αδιαφοροποίητο μεσέγγυμα [Heyns CF 1987, O’Rahilly R & Müller F 1996]. Οι περισσότεροι συγγραφείς συμφωνούν ότι ο οίακας παίζει καθοριστικό ρόλο στην κάθοδο. Ο ακριβής τρόπος, όμως, με τον οποίο επιδρά στην κάθοδο είναι αντικείμενο μεγάλης διχογνωμίας και πηγή πάμπολλων διαφορετικών υποθέσεων.

Η κάθοδος του όρχη δια του βουβωνικού πόρου στο όσχεο συνοδεύεται από το μεσονεφρικό πόρο (επιδιδυμίδα και σπερματικός πόρος), μία προσεκβολή του ενδοκοιλιακού τοιχωματικού περιτοναίου, γνωστή ως ελυτροειδής απόφυση (processus vaginalis) και μυϊκές ίνες του σωματικού τοιχώματος (κρεμαστήρας μυς) [O’Rahilly R & Müller F 1996]. Η ελυτροειδής απόφυση εγκολπώνει την κατερχόμενη γονάδα [O’Rahilly R & Müller F 1996] και η άνω μοίρα της, γνωστή και ως ελυτροπεριτοναϊκός πόρος, αποτελεί έναν πόρο επικοινωνίας μεταξύ της ενδοκοιλιακής περιτοναϊκής κοιλότητας και της ενδοελυτροειδικής κοιλότητας.

Μετά την ολοκλήρωση της καθόδου του όρχη στον άνθρωπο, η άνω μοίρα της ελυτροειδούς απόφυσης, ο ελυτροπεριτοναϊκός πόρος, αποφράσσεται και σταδιακά υποστρέφει. Η διαδικασία αυτή τοποθετείται χρονολογικά κατά ή λίγο μετά τη γέννηση και αναμένεται να έχει ολοκληρωθεί μέχρι το πρώτο έτος ζωής [MacDonald MF *et al.* 2007, O’Rahilly R & Müller F 1996]. Η κάτω (περιφερική) μοίρα της ελυτροειδούς απόφυσης παραμένει ως ελυτροειδής χιτώνας του όρχη με περίτονο και περισπλάχνιο πέταλο. Στον επίμυ, η ελυτροειδής απόφυση δεν υποστρέφει καθόλου και ο ελυτροπεριτοναϊκός πόρος παραμένει πλήρως βατός, με αποτέλεσμα οι όρχεις να μπορούν να ανασπώνται μέσω αυτού εντός της κοιλιάς, εφ’ όρου ζωής [Hutson JM *et al.* 2015, Mentessidou A & Mirilas P 2020].

## II.2. ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΗΣ ΚΑΘΟΔΟΥ ΤΟΥ ΟΡΧΗ

Οι διαταραχές της καθόδου του όρχη στο όσχεο αποτελούν ένα από τα συχνότερα προβλήματα στα αγόρια και η ορχεόλυση – ορχεοπηξία μία από τις πιο

συχνές χειρουργικές επεμβάσεις που λαμβάνουν χώρα στη βρεφική και παιδική ηλικία. Η αποτυχία του ενός ή και των δύο όρχεων να κατέλθουν στο όσχεο είναι γνωστή ως *κρυπορχία* και εμφανίζεται συχνότητα έως και 3-4% στη γέννηση στα τελειόμηνα νεογνά και έως 30-70% στη γέννηση στα πρόωρα νεογνά (ποσοστό που κυμαίνεται σημαντικά ανάλογα με το βαθμό προωρότητας), και συχνότητα ίση με 1% κατά το πρώτο έτος της ζωής (ποσοστό που εμφανίζεται μειωμένο χάρη στην αυτόματη κάθοδο κάποιων όρχεων κατά τους πρώτους μήνες ζωής) [Lee J & Shortliffe LM 2014]. Στο 1% των συγγενών αυτών περιπτώσεων, προστίθεται ένα επιπλέον 1-4% περιπτώσεων αγοριών που εμφανίζονται με μη κατεβασμένους όρχεις σε μεγαλύτερη ηλικία (συνήθως περί την ηλικία των πέντε ετών), ενώ στο παρελθόν είχαν τεκμηριωμένα φυσιολογικά κατεβασμένους όρχεις στο όσχεο, κατάσταση γνωστή ως *επίκτητη κρυπορχία* ή *δευτερογενής άνοδος του όρχη* [Lee J & Shortliffe LM 2014].

Η σχέση της κρυπορχίας με την υπογονιμότητα και την ανάπτυξη κακοήθειας στον όρχη είναι γνωστή. Η απώλεια γεννητικών κυττάρων και άλλες ιστολογικές αλλοιώσεις στον όρχη ξεκινούν από την ηλικία των έξι μηνών στις συγγενείς περιπτώσεις [Hadziselimovic F & Herzog B 2001] και αυξάνονται κάθε μήνα που ο όρχης παραμένει σε υψηλή θέση [Tasian GE 2009], οδηγώντας τελικά σε υπογονιμότητα. Τα ποσοστά γονιμότητας ανέρχονται στο 90% στις ετερόπλευρες περιπτώσεις που έχουν αντιμετωπιστεί εγκαίρως, αλλά μπορεί να είναι μόλις 50% στις αμφοτερόπλευρες περιπτώσεις ακόμη και αν αυτές έχουν αντιμετωπιστεί εγκαίρως. Ο κίνδυνος κακοήθειας σε άνδρες με ιστορικό κρυπορχίας αναφέρεται ότι είναι 5-10 φορές μεγαλύτερος από του γενικού πληθυσμού, με τον κίνδυνο να είναι μεγαλύτερος για τις περιπτώσεις με ενδοκοιλιακούς όρχεις και όρχεις που αντιμετωπίστηκαν με χρονική καθυστέρηση [Lee J & Shortliffe LM 2014]. Όσον αφορά τους δευτερογενώς ανελθόντες όρχεις, είναι πλέον γνωστό, ότι αυτοί εμφανίζουν ιστολογικές αλλοιώσεις ίδιας βαρύτητας με τους όρχεις που απέτυχαν να κατέλθουν στο όσχεο από τη γέννηση [Rusnack SL 2002].

Η αντιμετώπιση των όρχεων που βρίσκονται σε υψηλότερη του οσχέου θέση πέραν της ηλικίας των 6-12 μηνών και δεν μπορούν να κατέλθουν στο όσχεο με χειρισμούς είναι χειρουργική [EAU Guidelines on Pediatric Urology 2018]. Η συνήθης χειρουργική επέμβαση, γνωστή ως ορχεοπηξία με βουβωνική προσπέλαση, περιλαμβάνει ορχεόλυση, δηλαδή κινητοποίηση του όρχη, των έσω σπερματικών αγγείων και του σπερματικού πόρου, απολίνωση του (συνήθως) βατού

ελυτροπεριτοναϊκού πόρου στο ύψος του έσω βουβωνικού στομίου, και τοποθέτηση του όρχη σε έναν θύλακο δαρτού στο σύστοιχο ημιόσχεο. Για την αντιμετώπιση των ενδοκοιλιακών όρχεων (που αφορούν < 20% των περιπτώσεων), χρησιμοποιούνται επίσης διάφορες διακοιλιακές προσπελάσεις, έξω- ή ενδοπεριτοναϊκές, ανοικτές ή λαπαροσκοπικές [Hinman F Jr & Baskin LS 2009].

### II.2.α. ΚΡΥΨΟΡΧΙΑ

Η κρυψορχία περιλαμβάνει όρχεις που απέτυχαν να κατέλθουν στο όσχεο και ως εκ τούτου παρέμειναν σε θέση υψηλότερη του οσχέου κατά μήκος του μονοπατιού της καθόδου, δηλαδή μπορεί να είναι ενδοκοιλιακοί, ενδοκαναλικοί, κάτωθεν του έξω βουβωνικού στομίου στομίου ή στην είσοδο του σύστοιχου ημιοσχέου [Hutson JM 2012]. Ενοχοποιούνται αποτυχίες στο μηχανισμό της καθόδου (βλ. II.4. ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΔΟΜΕΣ Ή ΟΡΓΑΝΑ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΚΑΘΟΔΟ ΤΟΥ ΟΡΧΗ). Η ανεπαρκής παραγωγή ή δράση των ανδρογόνων θεωρείται ότι εμπλέκεται ως πρωταρχικό αίτιο [Hutson JM *et al.* 2015, O’Rahilly R & Müller F 1996].

### II.2.β. ΕΚΤΟΠΙΑ ΟΡΧΗ

Η εκτοπία περιλαμβάνει όρχεις που απέτυχαν να κατέλθουν στο όσχεο, αλλά βρίσκονται σε θέσεις εκτός της οδού της καθόδου [Hutson JM 2012]. Οι έκτοποι όρχεις έχουν εξέλθει από το έξω βουβωνικό στόμιο και έχουν καταλήξει σε κάποιο γειτνιαζόν κόλπωμα μεταξύ επιπολής (Scarpa’s) περιτονίας και εν τω βάθει (επενδυτικής) περιτονίας, και πιο συγκεκριμένα στο επιπολής βουβωνικό κόλπωμα—άνωθεν του έξω στομίου και επιπολής του πρόσθιου τοιχώματος του βουβωνικού πόρου—, στο περινεϊκό κόλπωμα, στο ηβικό κόλπωμα στη βάση του πέους ή στο μηριαίο κόλπωμα στο ριζομήριο [McGregor AL 1929, Mirilas P & Mentessidou A 2013]. Από πολλούς συγγραφείς, η εκτοπία του όρχη θεωρείται διακριτή οντότητα από την κρυψορχία. Στην εκτοπία ενοχοποιείται η κλειστή από συμφύσεις δίοδος προς το ημιόσχεο [Backhouse KM 1964, McGregor AL 1929] και η έκτοπη περιφερική πρόσφυση του οίακα [Lockwood CB 1888]. Η ανεπαρκής δράση των ανδρογόνων φαίνεται επίσης να εμπλέκεται, όπως και στην κρυψορχία, αφού η προγεννητική αναστολή των ανδρογόνων σε επίμυες προκαλεί κρυψορχία αλλά και εκτοπία όρχη [Kassim NM *et al.* 1997, Kassim NM *et al.* 2010, McIntyre BS 2001, Spencer JR 1991].

### II.2.γ. ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗΣ ΑΝΟΔΟΣ ΟΡΧΗ

Η δευτερογενής άνοδος περιλαμβάνει όρχεις που βρίσκονται σε θέσεις υψηλότερες του οσχέου και δεν μπορούν να κατέλθουν στο όσχεο με χειρισμούς, ενώ στο παρελθόν είχαν τεκμηριωμένα βρεθεί στο όσχεο [Lee J & Shortliffe LM 2014]. Επομένως πρόκειται για επίκτητη οντότητα, διαφορετική από την κρυφορχία και την εκτοπία που είναι παρούσες από τη γέννηση. Οι διαταραχές στη σύγκλιση του ελυτροπεριτοναϊκού πόρου μετά την αρχική κάθοδο του όρχη είναι η επικρατέστερη θεωρία για την αιτιολογία της δευτερογενούς ανόδου του όρχη [Clarnette TD *et al.* 1997, Hutson *et al.* 2015, Mirilas *et al.* 2011]. Η απόφραξη του ελυτροπεριτοναϊκού πόρου μετά την κάθοδο του όρχη βοηθά στη σταθεροποίηση της θέσης του στον πυθμένα του οσχέου, ενώ ένας παραμένων βατός ελυτροπεριτοναϊκός πόρος προδιαθέτει στην έξοδο του όρχη από το όσχεο και πιθανώς στην καθήλωσή του τελικώς σε κάποια θέση εκτός οσχέου [Mirilas *et al.* 2011].

### II.3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΚΡΥΨΟΡΧΙΑΣ

Ο επίμυς αποτελεί το κύριο ζώο εργαστηρίου που έχει χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της κρυφορχίας. Τα τρωκτικά εμφανίζουν σημαντικές ομοιότητες με τον άνθρωπο ως προς την ανατομία και τον ορμονικό έλεγχο της καθόδου του όρχη και, ως εκ τούτου, αποτελούν το καταλληλότερο μοντέλο ζώου εργαστηρίου για τη διεξαγωγή έρευνας στο θέμα [Hadziselimovic F 1996, Hutson JM *et al.* 2014, Hutson JM *et al.* 2015].

#### II.3.α. ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΣ ΠΡΟΚΑΛΟΥΜΕΝΗ ΚΡΥΨΟΡΧΙΑ

Η προγεννητική έκθεση σε αντιανδρογόνα (π.χ. φλουταμίδη, φιναστερίδη, κ.α.) ή σε οιστρογόνα (εστραδιόλη, διεθυλστιλβεστρόλη κ.α.) έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της καθόδου του όρχη και τη γέννηση με κρυφορχία [Bergh A 1969, Bergh A & Söder O 2007]. Το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο μοντέλο είναι αυτό της φαρμακευτικώς προκαλούμενης (συγγενούς) ‘κρυφορχίας’ με προγεννητική χορήγηση φλουταμίδης. Η φλουταμίδη, η οποία μπλοκάρει τους υποδοχείς των ανδρογόνων σε όργανα-στόχους του γεννητικού συστήματος, είναι ο πιο αποτελεσματικός φαρμακευτικός παράγοντας που έχει χρησιμοποιηθεί για την αναστολή της καθόδου του όρχη. Έχει μάλιστα βρεθεί ότι το κρίσιμο χρονικό



παράθυρο για την κάθοδο του όρχη κατά την προγεννητική ανάπτυξη είναι οι ημέρες κύησης 16-17 στους επίμυες και ότι η έκθεση έγκυων επίμυων σε φλουταμίδη κατά το διάστημα αυτό προκαλεί τα μέγιστα ποσοστά κρυσορχίας στους απογόνους [Husmann DA & McPhaul MJ 1991]. Επίσης, έχει βρεθεί ότι η μέγιστη καλά ανεκτή δόση για την επίτευξη του επιθυμητού αποτελέσματος είναι 100 mg/kg ημερησίως με υποδόρια χορήγηση [Husmann DA & McPhaul MJ 1991].

### II.3.β. ΜΗΧΑΝΙΚΩΣ ΠΡΟΚΑΛΟΥΜΕΝΗ ‘ΚΡΥΨΟΡΧΙΑ’

Συνήθως περιλαμβάνει χειρουργική σύγκλιση (με ράμματα) του έσω βουβωνικού στομίου ενόσω ο όρχης είναι ακόμη στην κοιλιά, προκειμένου να αποτραπεί η κάθοδος, ή την ανάσπαση του όρχη από το όσχεο στην κοιλιά δια του βατού ελυτροπεριτοναϊκού πόρου και την ακόλουθη σύγκλιση του έσω βουβωνικού στομίου ή/και καθήλωση του οίακα ή/και του ίδιου του όρχη ακόμη στην κοιλιά. Η μηχανικώς προκαλούμενη ‘κρυσορχία’ χρησιμοποιείται για τη μελέτη των συνεπειών της αυξημένης θερμοκρασίας από την ενδοκοιλιακή παραμονή του όρχη και όχι για τη μελέτη του μηχανισμού της καθόδου του όρχη και των παραγόντων που μπορεί να εμπλέκονται στην αναστολή του [Bergh A 1969, Bergh A & Söder O 2007]. Επίσης, μπορεί να λειτουργήσει ως μοντέλο προσομείωσης της δευτερογενούς (επίκτητης) ανόδου του όρχη από αμιγώς μηχανικά/ανατομικά αίτια.

### II.3.γ. ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΚΡΥΨΟΡΧΙΑΣ

Γενετικά μοντέλα κρυσορχίας έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί, όπως αυτά με μεταλλάξεις στο γονίδιο που είναι υπεύθυνο για τους υποδοχείς των ανδρογόνων [Kaftanovskaya EM *et al.* 2012], για παράδειγμα τα τρωκτικά Tfm [Barthold JS *et al.* 1994, Hutson JM 1986, Yarbrough WG *et al.* 1990], ή στο γονίδιο για το πεπτίδιο INSL3 ή τον υποδοχέα του RXFP2 [Feng S *et al.* 2007, Kaftanovskaya EM *et al.* 2011, Nef S & Parada LF 1999]. Εδώ πρέπει να σημειωθεί, ότι οι μεταλλάξεις στα γονίδια για τα INSL3/RXFP2 και η υψηλή ενδοκοιλιακή κρυσορχία (αναστολή της διακοιλιακής φάσης της καθόδου) την οποία αυτές οι μεταλλάξεις προκαλούν στα τρωκτικά δεν είναι καθόλου συχνά στον άνθρωπο [Hutson JM *et al.* 2014]. Ως εκ τούτου, τα γενετικά μοντέλα που στοχεύουν στο ρόλο των INSL3/RXFP2 μπορεί να μην αποτελούν το ιδεώδες μοντέλο προσομείωσης της συνήθους ανθρώπινης πάθησης. Τα δε τρωκτικά Tfm αποτελούν ιδανικό μοντέλο της κρυσορχίας επί συνδρόμου μη ευαισθησίας στα ανδρογόνα (AIS).

### II.3.δ. ΑΝΑΓΩΓΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ: ΟΜΟΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ

Οι ομοιότητες και οι διαφορές μεταξύ του ζωικού μοντέλου και της ανθρώπινης νόσου πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν τόσο στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από πειραματικές μελέτες όσο και στην αναγωγή των αποτελεσμάτων από πειραματικές μελέτες στον άνθρωπο. Η άγνοια ή η υποτίμηση των διαφορών μεταξύ των ειδών μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένη αναγωγή ευρημάτων στον άνθρωπο. Από την άλλη, η ερμηνεία των ευρημάτων συναξιολογώντας τις ιδιαιτερότητες του κάθε είδους αποτελεί το μέσο με το οποίο μπορούμε να ωφεληθούμε από την πειραματική έρευνα ρίχνοντας φως σε πεδία που δεν μπορούν να μελετηθούν στον άνθρωπο. Κάποια ευρήματα μπορεί να είναι δυνατόν να αναχθούν στον άνθρωπο εύκολα χάρη σε σημαντικές ομοιότητες του με το ζωικό μοντέλο, ενώ σε κάποια άλλα η αναγωγή μπορεί να είναι λάθος και πηγή πλάνης εξαιτίας σημαντικών διαφορών με το ζωικό μοντέλο.

#### *Ομοιότητες*

Η κάθοδος του όρχη στον επίμυ εμφανίζει σημαντικές ομοιότητες με αυτή στον άνθρωπο. Σύμφωνα με τον Hutson και τους συνεργάτες του, η κάθοδος του όρχη στον επίμυ είναι διφασική, όπως και στον άνθρωπο [Hutson JM *et al* 2014]. Ακόμη και αν η πρώτη φάση θεωρηθεί προϊόν διαφορικής ανάπτυξης [Hadziselimovic F 1996], η δεύτερη φάση αφορά την κάθοδο του όρχη από το κατώτερο τμήμα της κοιλιάς στο όσχεο και είναι ανδρογονεξαρτώμενη, όπως και στον άνθρωπο [Hutson JM *et al.* 2014].

Και στα δύο είδη, ο όρχης είναι ενδοπεριτοναϊκός προ της καθόδου και επομένως κατέρχεται με το μεσεντέριό του [Mentessidou A & Mirilas P 2020, Pham SBT *et al.* 2005]. Μάλιστα, το μεσεντέριο του όρχη προ της καθόδου εμφανίζει την ίδια κρανιακή και ουραία πρόσφυση στο οπίσθιο και στο πρόσθιο κοιλιακό τοίχωμα και στα δύο είδη [Heyns CF 1987, Mentessidou A & Mirilas P 2020]. Το κοιλιακό τοίχωμα δημιουργεί μια σακοειδή προσεκβολή (πρόδρομη μορφή του σάκου του κρεμαστήρα), στην οποία προβάλλει η ελυτροειδής απόφυση και προσφύεται ο οίακας, και στα δύο είδη (βλ. παρακάτω). Οι επίμυες, όπως και ο άνθρωπος, έχουν όσχεο στο περίνεο, σε αντίθεση με άλλα είδη όπως για παράδειγμα τα μαρσιποφόρα, των οποίων το όσχεο βρίσκεται άνωθεν του έξω βουβωνικού στομίου [Hutson JM *et al.* 2014].

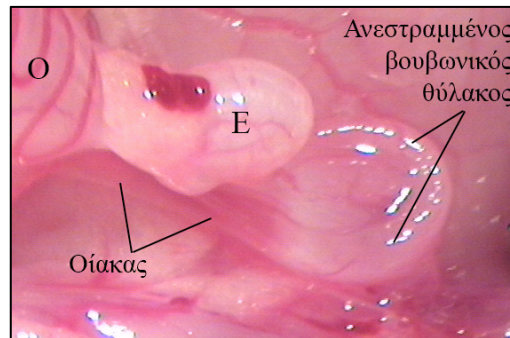
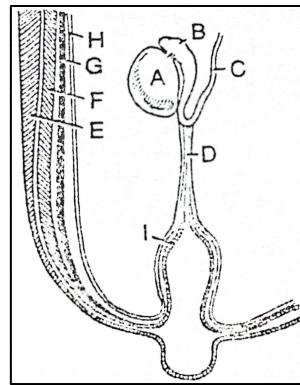
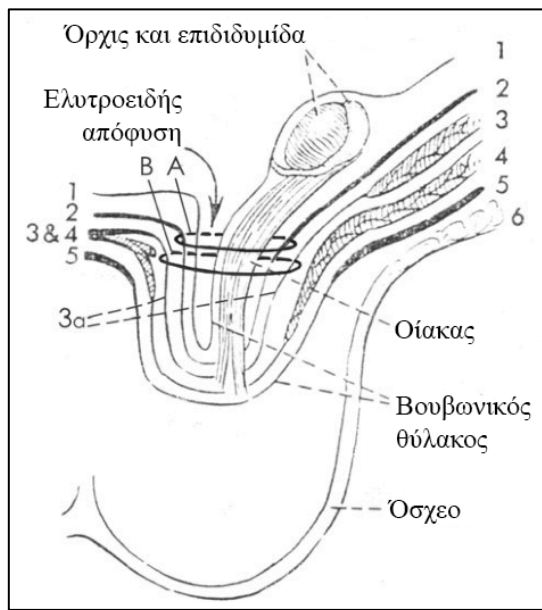
Τέλος, η φαρμακευτική αναστολή της καθόδου του όρχη στους επίμυες περιλαμβάνει περιπτώσεις κρυπορχίας και εκτοπίας [Kassim NM *et al.* 1997, Kassim NM *et al.* 2010, McIntyre BS 2001, Spencer JR 1991], όπως ακριβώς και η αποτυχία της καθόδου του όρχη στον άνθρωπο.

#### *Διαφορές*

Οι κυριότερες διαφορές μεταξύ ανθρώπου και επίμου σε σχέση με την κάθοδο του όρχη αφορούν το μυϊκό περίβλημα του όρχη (κρεμαστήρας μυς) και την ελυτροειδή απόφυση [Hutson JM *et al.* 2014]. Ενόσω ακόμη ο όρχης είναι ενδοκοιλιακός, στοιχεία από τους μύες και τις περιτονίες του τοιχώματος του βουβωνικού πόρου δημιουργούν μια σακοειδή προσεκβολή, τον λεγόμενο ‘βουβωνικό θύλακο’ (inguinal bursa) [Hollinshead WH 1956, Watson LF 1938] (**Εικόνα 2A**). Εσωτερικά ο βουβωνικός θύλακος επαλείφεται από το επίσης προσεκβάλλον ενδοκοιλιακό περιτόναιο, δηλαδή την ελυτροειδή απόφυση. Ο βουβωνικός θύλακος δέχεται αρχικώς την πρόσφυση του οίακα και στη συνέχεια υποδέχεται στο εσωτερικό της τον κατερχόμενο δια του βουβωνικού πόρου όρχη, για να κατέλθουν μαζί ως σύνολο στην τελική τους θέση στο όσχεο. Ο επίμυς διαφέρει από τον άνθρωπο ως προς το ότι ο βουβωνικός θύλακος εμφανίζεται αρχικώς ανεστραμμένος εντός της κοιλιάς και σε μετέπειτα στάδια λίγο πριν την κάθοδο του όρχη εκστρέφεται προς το όσχεο [Husmann DA & McPhaul MJ 1991, Hutson JM *et al.* 2014] (**Εικόνα 2B**). Ο βουβωνικός θύλακος αποτελεί την πρόδρομη μορφή του κρεμαστήρα μυός και στα δύο είδη [Hadziselimovic F 1996].

Η δεύτερη σημαντική διαφορά, που αφορά την ελυτροειδή απόφυση, έγκειται στο ότι η κεντρική μοίρα της ελυτροειδούς απόφυσης αποφράσσεται μετά την κάθοδο του όρχη στον άνθρωπο (**Εικόνα 3A**), ενώ παραμένει πλήρως βατή εφ’ όρου ζωής στον επίμου (**Εικόνα 3B**) [Hutson JM *et al.* 2014].

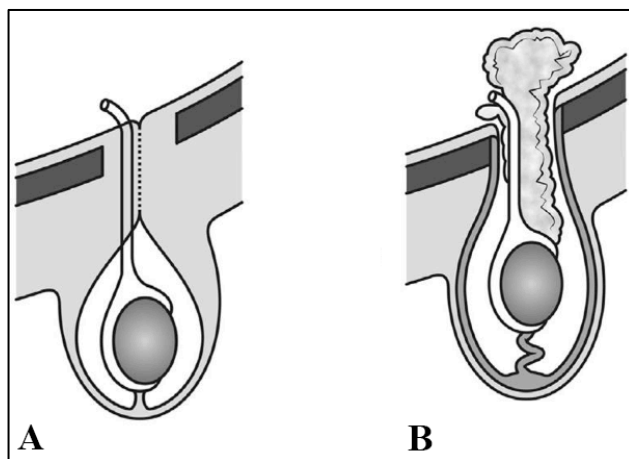
Τέλος, σημειώνεται ότι η φαρμακευτική αναστολή της καθόδου του όρχη στους επίμυες δεν περιλαμβάνει γενετικές διαταραχές που μπορεί να υπάρχουν στην ανθρώπινη νόσο, ενώ μπορεί να συνοδεύεται και από άλλες διαταραχές διάπλασης στο γεννητικό σύστημα (π.χ. στην επιδιδυμίδα ή στο πέος) που δεν υπάρχουν πάντοτε στην ανθρώπινη νόσο, και κατά συνέπεια αποτελεί προσομείωση της ανθρώπινης πάθησης.



**A**

**B**

**Εικόνα 2.** Βουβωνικός θύλακος (inguinal bursa). **A.** Διαγραμματική απεικόνιση του βουβωνικού θύλακου προ της καθόδου του όρχη στον άνθρωπο. 1: περιτόναιο, 2: μεμβρανώδες πέταλο της προπεριτοναϊκής περιτονίας, 3: εγκάρσιος μυς, 3α: εγκάρσια περιτονία, 4: έσω λοξός μυς και κοινός καταφυτικός τένοντας, 5: απονεύρωση έξω λοξού μυός, 6: επιπολής περιτονία και δέρμα, A: δευτερογενές έσω βουβωνικό στόμιο (άνοιγμα του μεμβρανώδους πετάλου της προπεριτοναϊκής περιτονίας), B: κλασικό έσω βουβωνικό στόμιο (άνοιγμα της εγκαρσίας περιτονίας) [Τροποποιημένη από Hollinshead WH 1956] **B.** Διαγραμματική απεικόνιση (πάνω) και φωτογραφία υπό μεγέθυνση χειρουργικού μικροσκοπίου (κάτω) του βουβωνικού θύλακου προ της καθόδου του όρχη στον επίμυ. Ο βουβωνικός θύλακος (γνωστός και ως βουβωνικός κώνος) στον επίμυ είναι ανεστραμμένος εντός της κοιλιάς προγεννητικά και εκστρέφεται προς το όσχεο την 4η μεταγεννητική ημέρα—η καθόδος του όρχη ολοκληρώνεται έως την 21η μεταγεννητική ημέρα—. Ο οίακας προσφύεται αρχικώς στην κορυφή του κώνου, θέση που μετά την εκτροπή του κώνου προς τα κάτω αντιστοιχεί στον πυθμένα του βουβωνικού θύλακου, και στη συνέχεια καθ' όλο το μήκος του οπίσθιου-έσω τοιχώματος του θύλακου ως τον πυθμένα του [Van der Schoot P 1996]. Επίσης, το περιτόναιο που επαλείφει εξωτερικά τον κώνο θα επαλείφει εσωτερικά το θύλακο (ελυτροειδής απόφυση) μετά την εκτροπή του προς τα κάτω. A: όρχης, B: επιδιδυμίδα, C: σπερματικός πόρος, D: οίακας (γεννητικοβουβωνικός σύνδεσμος), E: έξω λοξός μυς, F: έσω λοξός μυς, G: εγκάρσιος μυς, H: περιτόναιο, I: βουβωνικός θύλακος [Διάγραμμα: Τροποποιημένο από Husmann DA & McPhaul MJ 1991, Φωτογραφία: προσωπικό αρχείο]



**Εικόνα 3.** Ελυτροειδής απόφυση μετά την κάθοδο του όρχη στο όσχεο. **A.** Στον άνθρωπο, η κεντρική μοίρα της ελυτροειδούς απόφυσης (ελυτροπεριτοναϊκός πόρος) αποφράσσεται και σταδιακά υποστρέφει και η περιφερική μοίρα παραμένει ως ελυτροειδής χιτώνας του όρχη. **B.** Στον επίμου, η ελυτροειδής απόφυση παραμένει πλήρως βατή σε όλο το μήκος της, με αποτέλεσμα την παραμονή επικοινωνίας μεταξύ περιτοναϊκής και ενδοελυτροειδικής κοιλότητας. Σύμφωνα με τους Hutson *et al.* 2014, ο λιπώδης ιστός που φέρει η κεφαλή της επιδιδυμίδας στον επίμου αποφράσσει την επικοινωνία αυτή και έτσι αποτρέπεται η βουβωνοκήλη. [Τροποποιημένη από Hutson JM *et al.* 2014]

#### II.4. ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΔΟΜΕΣ Ή ΟΡΓΑΝΑ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΚΑΘΟΔΟ ΤΟΥ ΟΡΧΗ

##### II.4.α. ΟΙΑΚΑΣ (GUBERNACULUM, GUBERNACULAR CORD, GUBERNACULAR LIGAMENT OR GENITOINGUINAL LIGAMENT)

Ο οίακας πρωτοπεριγράφηκε από τον Hunter το 1762 ως μία χορδή μεσεγγύματος που συνδέει τον όρχη με το όσχεο και κατευθύνει τον όρχη κατά την κάθοδό του [Backhouse KM 1964]. Τους αιώνες που ακολούθησαν την αρχική αυτή περιγραφή, προτάθηκαν πολλές θεωρίες, συχνά αντικρουόμενες, για τον τρόπο με τον οποίο ο οίακας εμπλέκεται στο μηχανισμό της καθόδου του όρχη.

Σύμφωνα με μία από τις πιο δημοφιλείς θεωρίες που πρωτοαναπτύχθηκαν, ο οίακας διαθέτει ουραίες προσφύσεις—μέχρι έξι τέτοιες ουραίες επεκτάσεις έχουν περιγραφεί προς το όσχεο και προς το περίνεο, το ριζομήριο, το επιπολής βουβωνικό κόλπωμα, την ηβική χώρα και ακόμη και το ετερόπλευρο ημιόσχεο—, οι οποίες έλκουν τον όρχη στην τελική του θέση, φυσιολογική ή μη [Lockwood CB 1888, Rajfer J 1986, Wyndham NR 1943, Lemeh CN 1960]. Η θεωρία αυτή, ωστόσο, δεν επιβεβαιώθηκε από πολλούς ερευνητές στη συνέχεια [Hadziselimovic F 1983, Heyns

CF 1987, Scorer CG 1962, Wells LJ 1943]. Συναφής και δημοφιλής, και αρκετά λογικοφανής, είναι και η θεωρία της έλξης του όρχη μέσω της ατροφίας, της εκφύλισης ή της συρρίκνωσης του οίακα [Hart DB 1910, Rajfer J & Walsh P 1977].

Σε μια μελέτη-ορόσημο που περιελάμβανε ανατομές σε έμβρυα ανθρώπου από τον Heyns το 1987, διαπιστώθηκε ότι δεν υπάρχει ουραία πρόσφυση του οίακα πέραν του έξω βουβωνικού στομίου σε κανένα στάδιο ανάπτυξης και επιπλέον ότι η σχετική (ως προς τη μάζα του εμβρύου) μάζα του οίακα εμφανίζει σημαντική αύξηση προ της διέλευσης του όρχη από το βουβωνικό πόρο—που πιθανώς να προκαλεί διεύρυνση του βουβωνικού πόρου για τη διέλευση του όρχη [Backhouse KM 1964]— [Heyns CF 1987]. Ακολούθως, η σχετική μάζα του οίακα παραμένει σταθερή κατά την κάθοδο και αρχίζει να μειώνεται σταδιακά μετά την έξοδο του όρχη από το βουβωνικό πόρο, εως ότου τελικώς ο οίακας να υποστεί συρρίκνωση και πλήρη ινώδη υποστροφή [Heyns CF 1987]. Το μήκος του οίακα, εκτός από τη μάζα του, εμφανίζει επίσης σημαντική αύξηση προ της έναρξης της καθόδου του όρχη, χωρίς να επεκτείνεται όμως πέραν του έξω βουβωνικού στομίου, όπως προαναφέρθηκε. Τα ευρήματα του Heyns κατέρριψαν πλήρως τη θεωρία της έλξης του όρχη μέσω κάποιας ουραίας πρόσφυσης στο όσχεο και έθεσαν τη βάση για επαναξιολόγηση των μεταβολών του οίακα που πιθανόν να εμπλέκονται στην κάθοδο του όρχη.

Παρόμοια ευρήματα έχουν προκύψει από τη μελέτη του οίακα σε έμβρυα χοίρου [Heyns CF *et al.* 1990] και επίμου [Fujikake N *et al.* 1989]. Συγκεκριμένα, έχει διαπιστωθεί αύξηση της σχετικής μάζας του οίακα προ καθόδου και κατά τη διάρκεια της καθόδου του όρχη και μείωση αυτής μετά την κάθοδο του όρχη στο χοίρο [Heyns CF *et al.* 1990], και αύξηση του μήκους του οίακα προ της καθόδου στον επίμου και μάλιστα κατά το κρίσιμο, για την κάθοδο του όρχη του επίμου, παράθυρο των ημερών κύησης 16-17 (υπολογίζοντας ως 1<sup>η</sup> ημέρα κύησης την ημέρα ανίχνευσης σπέρματος στον κόλπο του έγκυου επίμου) [Fujikake N *et al.* 1989].

Στη διφασική θεωρία της καθόδου, υποστηρίζεται ότι ο οίακας—υπό την επίδραση της ορμόνης INSL3 εκ των κυττάρων Leydig—υφίσταται αρχικώς μια αύξηση του μεγέθους του, επονομαζόμενη ως «οιδηματώδης αντίδραση», η οποία είναι υπεύθυνη για την διακοιλιακή κάθοδο του όρχη, και ακολούθως—υπό την επίδραση των ανδρογόνων—μια επιμήκυνση έως το όσχεο, επονομαζόμενη ως «μετανάστευση», η οποία είναι υπεύθυνη για τη βουβωνοσχεϊκή κάθοδο του όρχη [Hutson JM *et al.* 2015]. Πιο συγκεκριμένα, για να επιτευχθεί η βουβωνοσχεϊκή κάθοδος, τα ανδρογόνα προκαλούν αρρενοποίηση του διμορφικού αισθητικού

πυρήνα του GFN, οι νευρικές ίνες του αρρενοποιημένου GFN εκκρίνουν CGRP, και το CGRP επάγει τελικώς τη μετανάστευση του οίακα στο όσχεο μέσω χημειοταξίας [Fallat ME *et al.* 1992, Hutson JM *et al.* 2014, Larkins SL *et al.* 1991, Yong EXZ *et al.* 2008]. Ο μηχανισμός της χημειοταξίας αυτής δεν έχει επεξηγηθεί σαφώς, αλλά πιθανολογείται από την ομάδα του Hutson ότι ίσως επάγεται (1) ‘από τη σύσπαση των μυϊκών ινών του κρεμαστήρα που αναπτύσσονται μέσα στον οίακα’ [Hutson JM *et al.* 2015, Yong EXZ *et al.* 2008], ή/και (2) από την ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt/ $\beta$ -κατενίνης που οδηγεί σε μετανάστευση κυττάρων, αναδιαμόρφωση εξωκυττάριας ουσίας και μυογένεση στον οίακα [Chen N *et al.* 2011, Szarek M *et al.* 2014] ή/και (3) με την αναδιαμόρφωση εξωκυττάριας ουσίας στον παρακείμενο λιπώδη ιστό της βουβωνικής χώρας [Churchill JA *et al.* 2011], ή, τέλος, (4) ακόμη και από την κλίση αυξημένης συγκέντρωσης CGRP προς το όσχεο που δημιουργεί η επικράτηση του γεννητικού κλάδου του GFN έναντι του (βουβωνικού) μαστικού κλάδου του GFN που υποστρέφει υπό την επίδραση των ανδρογόνων [Nation *et al.* 2011, Su S *et al.* 2012].

Σε προσεκτική εξέταση των προτεινόμενων μεταβολών στον οίακα που περιλαμβάνει η παραπάνω (διφασική) θεωρία, η οποία προέρχεται ως επί το πλείστον από αναγωγή ευρημάτων σε επίμυες, ανακύπτουν διάφορα ερωτήματα. Πρώτον, δεν είναι ξεκάθαρο πώς η εξοίδηση του οίακα καθ’ εαυτή στη διακοιλιακή φάση προκαλεί κάθοδο προς το έσω βουβωνικό στόμιο. Κάποιοι συγγραφείς ισχυρίζονται ότι η εξοίδηση συμβαίνει στο περιφερικό άκρο του οίακα και ότι το μήκος του οίακα παραμένει κοντό μεν αλλά σταθερό [Hutson JM *et al.* 2015], πράγμα που δεν δικαιολογεί μετακίνηση του όρχη προς τα κάτω, ενώ άλλοι συγγραφείς υποστηρίζουν ότι, παράλληλα με την εξοίδηση του περιφερικού άκρου, το μήκος του οίακα μικραίνει [Fujikake N *et al.* 1989, Husmann DA & McPhaul MJ 1991], πράγμα που θα μπορούσε να δικαιολογήσει την μετακίνηση του όρχη προς τα κάτω.

Δεύτερον, η αναφερόμενη επιμήκυνση του οίακα ως το όσχεο στη βουβονοσχεϊκή φάση δεν αναφέρεται από άλλους ερευνητές της δομής σε επίμυες που επίσης υποστηρίζουν τη θεωρία της διφασικής καθόδου [Fujikake N *et al.* 1989, Husmann DA & McPhaul MJ 1991], ενώ έχει απορριφθεί στον άνθρωπο, όπως αναλύθηκε παραπάνω, και μάλιστα από αρκετούς ερευνητές [Hadziselimovic F 1983, Heyns CF 1987, Scorer CG 1962, Wells LJ 1943].

Η πηγή αυτών των ασαφειών και αντικρουόμενων ευρημάτων βρίσκεται στο ότι η δομή την οποία ορίζουν και μελετούν οι περισσότεροι από τους παραπάνω

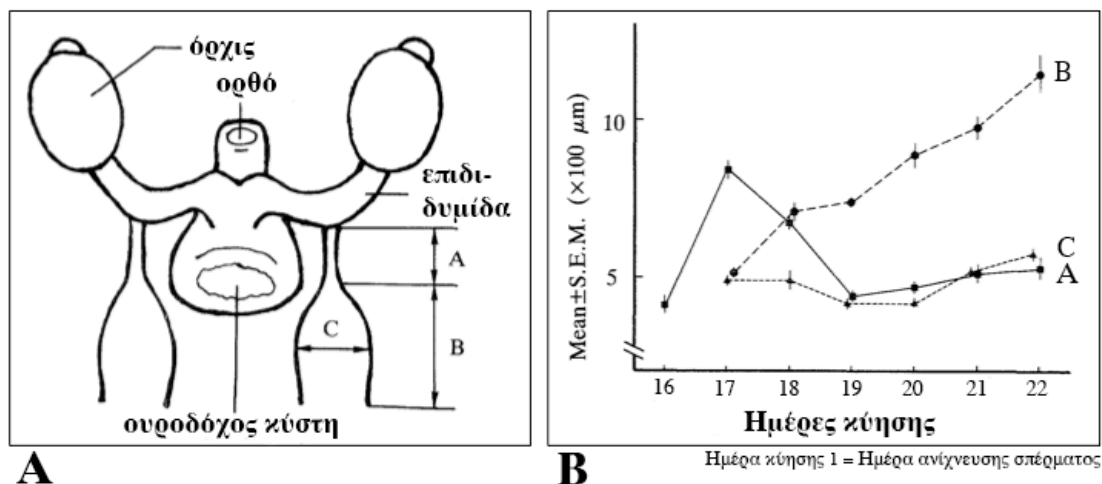
συγγραφείς-θιασώτες της διφασικής θεωρίας ως «οίακα» είναι στην ουσία ο βουβωνικός θύλακος ή κώνος (βλ. παρακάτω), ο οποίος στους επίμυες είναι ανεστραμμένος προς την κοιλιά κατά την προγεννητική ζωή με αποτέλεσμα να φαίνεται ότι είναι σε συνέχεια με τον οίακα (I, Εικ. 2B), και όχι ο οίακας καθ' εαυτός (D, Εικ. 2B). Δηλαδή η εξοίδηση που οδηγεί στην υποτιθέμενη διακοιλιακή κάθοδο και η επιμήκυνση ή μετανάστευση ως το όσχεο που οδηγεί στη βουβωνοσχεϊκή κάθοδο αφορούν τον αρχέγονο σάκο του κρεμαστήρα.

Την παρανόηση αυτή έχει επισημάνει στο παρελθόν ο Hadziselimovic, τονίζοντας ότι αυτό που συστηματικά εξετάζουν ο Hutson και οι συνεργάτες του είναι ο βουβωνικός κώνος, η πρόδρομη δηλαδή μορφή του κρεμαστήρα, που εννευρώνεται από το GFN και ουδεμία σχέση έχει με τον οίακα, με συνέπεια την δημιουργία μεγάλης παραπληροφόρησης στη βιβλιογραφία [Hadziselimovic F 1996]. Σύμφωνα με τον Hadziselimovic, το GFN και το GCRP δεν έχουν καμία επίδραση στον οίακα και στην κάθοδο του όρχη εν γένει, παρά έχουν εμπλακεί λανθασμένα στην αιτιολογία της καθόδου λόγω παρανόησης του βουβωνικού θυλάκου του επίμυ ως οίακα σε σωρεία μελετών σε επίμυες [Hadziselimovic F 1996]. Την άποψη ότι το GFN και το GCRP δεν εμπλέκονται στην κάθοδο φαίνεται να συμμερίζονται και άλλοι σοβαροί μελετητές της κρυπορχίας [Husmann DA 2009, Husmann DA & Levy JB 1995].

Όταν ο οίακας (ή ορθότερα γεννητικοβουβωνικός σύνδεσμος) και ο ανεστραμμένος βουβωνικός θύλακος (ή κώνος) του επίμυ εξεταστούν ανεξάρτητα, τότε είναι εμφανές ότι κατά το κρίσιμο χρονικό διάστημα για τη βουβωνοσχεϊκή κάθοδο του όρχη στον επίμυ, δηλαδή τις ημέρες κύησης 16-17 [Husmann DA & McPhaul MJ 1991], παρουσιάζει αύξηση το μήκος του οίακα, ενώ το μήκος και το πάχος του βουβωνικού θυλάκου δεν παρουσιάζουν αξιοσημείωτες μεταβολές [Fujikake N *et al.* 1989] (**Εικόνα 4**). Ακολουθεί, μετά την ημέρα κύησης 17, μείωση του μήκους του οίακα [Cain MP *et al.* 1995, Fujikake N *et al.* 1989], η οποία συνοδεύεται από σταθερή αύξηση του μήκους του βουβωνικού θυλάκου [Fujikake N *et al.* 1989].

Τέλος, δεν λείπουν και οι συγγραφείς που αμφισβητούν την ύπαρξη κάποιου ρόλου του οίακα στην κάθοδο του όρχη [Schrock P 1971, Wells LJ 1943].





**Εικόνα 4.** Αποτελέσματα μελέτης των μορφολογικών μεταβολών του συνδέσμου του οίακα και του βουβωνικού θυλάκου σε αρσενικά έμβρυα επίμου. **A.** Διαγραμματική απεικόνιση που δείχνει τις μετρήσεις που ελήφθησαν. **B.** Διάγραμμα που δείχνει τα ευρήματα επί των μεταβολών των μετρούμενων διαστάσεων ως προς την ηλικία κύησης σε ημέρες. A: μήκος οίακα (γεννητικοβουβωνικού συνδέσμου), B: μήκος (ανεστραμμένου) βουβωνικού θυλάκου, C: πλάτος (ανεστραμμένου) βουβωνικού θυλάκου [Τροποποιημένη από Fujikake N *et al.* 1989]

#### Π.4.β. ΒΟΥΒΩΝΙΚΟΣ ΘΥΛΑΚΟΣ Ή ΑΡΧΕΓΟΝΟΣ ΣΑΚΟΣ ΚΡΕΜΑΣΤΗΡΑ (INGUINAL BURSA OR CONE)

Ο βουβωνικός θύλακος είναι η αρχέγονη μορφή του σάκου του κρεμαστήρα που επαλείφεται εσωτερικά από την ελυτροειδή απόφυση, υποδέχεται την πρόσφυση του οίακα και στη συνέχεια τον όρχη, για να κατέλθει τελικώς το σύνολο των δομών αυτών ως ενιαία μονάδα στο όσχεο [Hollinshead WH 1956, Watson LF 1938] (Εικ. 2A).

Ο βουβωνικός θύλακος, με ή χωρίς καν τον προσφυόμενο σε αυτόν οίακα, πολύ συχνά εκλαμβάνεται ως 'ο' οίακας [Hadziselimovic F 1996, Van der Schoot P 1996], ιδίως σε μελέτες σε επίμυες στους οποίους ο θύλακος αρχικώς είναι ανεστραμμένος στην κοιλιά και οι δύο δομές (βουβωνικός θύλακος ή κώνος και οίακας ή γεννητικοβουβωνικός σύνδεσμος) εμφανίζονται ως μία συνεχόμενη δομή (D+I στην Εικόνα 2B, A+B στην Εικόνα 4A). Είναι σαφώς αδιαμφισβήτητο το γεγονός ότι οι δύο δομές σχετίζονται στενά καθώς ο βουβωνικός θύλακος αποτελεί την άγκυρα πρόσφυσης για το σύνδεσμο του οίακα [Van der Schoot P 1996] και, ως εκ τούτου, πιθανό ο ρόλος τους στην κάθοδο επίσης να σχετίζεται. Ωστόσο, ο βουβωνικός θύλακος είναι παράγωγο των στοιχείων του κοιλιακού τοιχώματος που θα σχηματίσει το σάκο του κρεμαστήρα [Bentvelsen FM & George FW 1991, Elder

JS *et al.* 1982, Husmann DA & McPhaul MJ 1991<sup>b</sup>, Van der Schoot P 1996], ενώ ο σύνδεσμος του οίακα είναι παράγωγο του περιτοναίου του μεσονέφρου και τμήμα του εμβρυϊκού μεσεντερίου του όρχη [Habenicht UF & Neumann F 1983, Hadziselimovic F 1995, Hadziselimovic F & Girard J 1981, Van der Schoot P 1996]. Κατά συνέπεια, οι δύο δομές θα πρέπει να εξετάζονται ξεχωριστά [Hadziselimovic F 1996].

Πολλά από τα ευρήματα που αφορούν το βουβωνικό θύλακο και αναφέρονται εδώ, λοιπόν, αποδίδονται στη βιβλιογραφία λανθασμένα στον οίακα, ως συνέπεια της αφαίρεσης και εξέτασης του μυϊκού σάκου με το περιεχόμενό του μεσέγγυμα αντί του συνδέσμου του οίακα σε πολλές μελέτες σε επίμυες.

Ο βουβωνικός θύλακος φαίνεται να παρουσιάζει αύξηση του μεγέθους του, η οποία περιγράφεται ως διόγκωση ή αύξηση του πάχους του, προ της καθόδου του όρχη [Husmann DA & McPhaul MJ 1991, Hutson *et al.* 2014]. Κάποιοι τοποθετούν τη μεταβολή αυτή στον επίμυ στο κρίσιμο διάστημα για την κάθοδο του όρχη δηλαδή τις ημέρες κύησης 16-17 [Husmann DA & McPhaul MJ 1991, Spencer JR *et al.* 1991], ενώ άλλοι δεν βρίσκουν τέτοια μεταβολή παρά μόνο μετά την ημέρα κύησης 18 [Cain MP 1995] ή 20 [Fujikake N *et al.* 1989] (Εικ. 4B) και την αποδίδουν, με βάση ευρήματα ιστολογικής μελέτης, σε αύξηση της μυϊκής μάζας και όχι του περιεχόμενου μεσεγγύματος [Cain MP 1995]. Ακολούθως, φαίνεται ότι συμβαίνει μια επιμήκυνση του βουβωνικού θύλακου [Fujikake N *et al.* 1989, Hutson JM *et al.* 2014], η οποία μάλλον ξεκινά μετά την ημέρα κύησης 17 στον επίμυ και συνεχίζεται σταθερά τουλάχιστον μέχρι τη γέννηση (Εικ. 4B) [Fujikake N *et al.* 1989]. Η ακριβής σχέση των μεταβολών αυτών στο βουβωνικό θύλακο με τις πιθανά παράλληλα εξελισσόμενες μεταβολές στον οίακα ή/και με την επερχόμενη κάθοδο του όρχη είναι άγνωστη.

Η διατομή του βουβωνικού θύλακου ή η διακοπή της εννεύρωσής του με διατομή του GFN σε επίμυες έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της καθόδου του όρχη με συνοδό υποπλασία του οσχέου [Beasley SW & Hutson JM 1987, Frey HL & Rajfer J 1984, Lewis LG 1948], ευρήματα που δείχνουν τη σημασία της σωστής εννεύρωσης και ανάπτυξης του αρχέγονου κρεμαστήριου σάκου και του οσχέου που θα υποδεχτούν τον όρχη για την επιτυχή κάθοδό του στην τελική του θέση. Την άποψη αυτή ενισχύουν και αρκετά ευρήματα δηλωτικά αποτυχίας της αρρενοποίησης του GFN και ανεπαρκούς έκκρισης CGRP—προφανώς απαραίτητα για τη φυσιολογική ανάπτυξη του βουβωνικού θύλακου—σε αρσενικούς επίμυες με

προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδη, η οποία ως γνωστόν προκαλεί και κρυπορχία. Τέτοια ευρήματα είναι τα μειωμένα επίπεδα υποδοχέων ανδρογόνων στον κινητικό πυρήνα του GFN [Cain MP *et al.* 1994], ο μειωμένος αριθμός CGRP-θετικών γαγγλίων στον αισθητικό πυρήνα του GFN [Hrabovsky Z *et al.* 2000], η μειωμένη διάμετρος, το μειωμένο βάρος και ο μειωμένος αριθμός μυελινωμένων ιών του GFN [Husmann DA *et al.* 1994], ο μειωμένος αριθμός νευρώνων του GFN θετικών σε CGRP [Goh DW *et al.* 1994] και η ιδιαίτερα έντονη απόκριση σύσπασης του βουβωνικού θυλάκου/κρεμαστήρα σε εξωγενή χορήγηση CGRP [Goh DW *et al.* 1993].

Στην ίδια γραμμή, πολλοί ερευνητές έχουν αναδείξει διάφορες διαταραχές στο βουβωνικό θύλακο ή στην τελική δομή του, τον κρεμαστήρα μυ, σε φαρμακευτικά ή γενετικά μοντέλα κρυπορχίας σε επίμυες σε σχέση με επίμυες-μάρτυρες, τις οποίες ενοχοποιούν για εμπλοκή στην αναστολή της καθόδου του όρχη. Τέτοιες διαταραχές είναι ο μειωμένος—αν και οριακά—όγκος κατά κάποιους [Cain MP *et al.* 1995] και το αυξημένο πάχος κατά άλλους [Matsuno Y *et al.* 2003, Nation T *et al.* 2009, Nation T *et al.* 2011], η αποτυχία εκτροφής του μυϊκού σάκου εκτός της κοιλιάς [Nation T *et al.* 2009], διαταραχές στη μυογένεση [Matsuno Y *et al.* 2003, Szarek M *et al.* 2014, Tobe T *et al.* 2002] και στην κατανομή των μυϊκών ιών [Harnaen EJ *et al.* 2007], η αυξημένη ποσότητα υποδοχέων για το νευροπεπτίδιο CGRP ενδεικτική ανεπαρκούς διέγερσης από CGRP [Terada M *et al.* 1994] και η αλλοιωμένη ικανότητα μυϊκής σύσπασης συμβατή με μειωμένο συμπαθητικό τόνο [Tanyel FC *et al.* 2005].

Ωστόσο, ελάχιστοι δυστυχώς από όλους τους παραπάνω συγγραφείς έχουν συσχετίσει τα ευρήματά τους με τη θέση του όρχη μετά την έκθεση στο αντιανδρογόνο [Cain MP *et al.* 1994, Husmann DA *et al.* 1994, Matsuno Y *et al.* 2003, Tanyel FC *et al.* 2005, Tobe T *et al.* 2002]. Στις περισσότερες μελέτες, δεν γίνεται διάκριση μεταξύ οσχεϊκών και κρυπορχικών όρχεων παρά μόνο σύγκριση όλων των όρχεων που έχουν εκτεθεί στο αντιανδρογόνο ανεξαρτήτως θέσης με οσχεϊκούς όρχεις μαρτύρων, με αποτέλεσμα να μην είναι ξεκάθαρο αν τα αναφερόμενα ευρήματα σχετίζονται πράγματι με την κρυπορχία ή είναι απλώς αποτέλεσμα της δράσης του αντιανδρογόνου ανεξαρτήτως της κρυπορχίας.

Επιπλέον, η απουσία ή δυσπλασία του χώρου υποδοχής που ουσιαστικά αποτελεί ο αρχέγονος μυϊκός σάκος και το όσχεο, αν και μπορεί να προκαλέσει κρυπορχία, δεν είναι το σύνηθες αίτιο αυτής [Hadziselimovic F 1996]. Είναι διαπιστωμένο ότι κρυπορχία παρατηρείται συχνά παρά τη φυσιολογική ανάπτυξη και

εκτροφή του βουβωνικού θυλάκου και την επακόλουθη φυσιολογική ανάπτυξη του κρεμαστήρα μύος σε επίμυες που έχουν εκτεθεί προγεννητικά σε αντιανδρογόνα [Van der Schoot P 1992, Van der Schoot P 1992<sup>b</sup>, Van der Schoot P & Elger W 1992].

#### II.4.γ. ΕΛΥΤΡΟΕΙΔΗΣ ΑΠΟΦΥΣΗ (PROCESSUS VAGINALIS)

Η ελυτροειδής απόφυση είναι η προσεκβολή του ενδοκοιλιακού τοιχωματικού περιτοναίου που ακολουθεί την προσεκβολή των μυϊκών στοιχείων του τοιχώματος προς σχηματισμό του βουβωνικού θυλάκου [Hollinshead WH 1956] (Εικ. 2Α). Μετά την κάθοδο του όρχη, η ελυτροειδής απόφυση αποφράσσεται κεντρικά στον άνθρωπο [O’Rahilly R & Müller F 1996] (Εικ. 3Α) και παραμένει πλήρως βατή στον επίμυ [Hutson JM *et al.* 2015] (Εικ. 3Β). Η κάθοδος και η (δευτερογενής) άνοδος του όρχη συμβαίνει μέσω της ανοικτής ελυτροειδούς απόφυσης. Το ότι η ελυτροπεριτοναϊκή επικοινωνία αποτελεί δίοδο διέλευσης του όρχη γίνεται ιδιαίτερα εμφανές με την ανάσπαση του οσχέϊκού όρχη του ενήλικου επίμυ εντός της κοιλιάς μέσω της βατής ελυτροειδούς απόφυσης [Hutson JM *et al.* 2015, Mentessidou A & Mirilas P 2020].

Η ελυτροειδής απόφυση εμφανίζει επιμήκυνση προς το όσχεο προ της καθόδου του όρχη [Backhouse KM 1964, Heyns CF 1987, Schrock P 1971, Shono T *et al.* 1994]. Η έκθεση επίμυων σε φλουταμίδη κατά το κρίσιμο προγεννητικό διάστημα για την κάθοδο του όρχη οδηγεί σε αποτυχία της επιμήκυνσης αυτής, εύρημα που δείχνει ότι η επιμήκυνση της ελυτροειδούς απόφυσης είναι ανδρογονο-εξαρτώμενη και σχετίζεται με την κάθοδο του όρχη [Shono T *et al.* 1994]. Η σχέση της επιμήκυνσης της ελυτροειδούς απόφυσης με την επιμήκυνση του οίακα—πολύ πιθανή δεδομένου ότι συμβαίνει ταυτόχρονα—και με την επιμήκυνση του βουβωνικού θυλάκου—πολύ πιθανή δεδομένου ότι η ελυτροειδής απόφυση επαλείφει εσωτερικά το βουβωνικό θύλακο—, καθώς και το αν η επιμήκυνση της ελυτροειδούς απόφυσης αποτελεί παθητικό φαινόμενο—που πιθανά ακολουθεί κάποια άλλη μεταβολή—ή αν επιδρά ενεργητικά στην κάθοδο του όρχη παραμένουν άγνωστα πεδία. Κάποιοι συγγραφείς έχουν εκφράσει την άποψη ότι η επιμήκυνση της ελυτροειδούς απόφυσης προς το όσχεο παίζει καθοριστικό ρόλο στην κάθοδο του όρχη, είτε επιδρώντας στην ανάπτυξη του βουβωνικού θυλάκου ή/και του οσχέου ακόμη [Schrock P 1971] είτε επιδρώντας στην «μετανάστευση» προς το όσχεο του προσφύμενου στην ελυτροειδή απόφυση οίακα [Backhouse KM 1964, Backhouse KM 1982, Shono T *et al.* 1994].

Σύμφωνα με μία εναλλακτική θεωρία που έχει προταθεί, το τοίχωμα της ελυτροειδούς απόφυσης περιέχει λεία μυϊκά κύτταρα για κάποιο διάστημα της προγεννητικής ανάπτυξης και η σύσπαση αυτών των μυϊκών κυττάρων, υπό τον έλεγχο του συμπαθητικού νευρικού συστήματος, είναι υπεύθυνη για την κάθοδο του όρχη στο όσχεο [Tanyel FC *et al.* 1999, Tanyel FC *et al.* 1999<sup>b</sup>, Tanyel FC 2000, Tanyel FC 2005]. Μετά την κάθοδο του όρχη, πιστεύεται ότι ακολουθεί μείωση του συμπαθητικού τόνου, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την απόπτωση αυτών των μυϊκών κυττάρων και συνεπώς την απόφραξη της ελυτροειδούς απόφυσης [Tanyel FC *et al.* 1999, Tanyel FC 2005]. Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία, η μειωμένη ικανότητα σύσπασης της ελυτροειδούς απόφυσης, εξαιτίας κάποιας υποκείμενης διαταραχής στη διάρκεια ή/και στην ένταση του συμπαθητικού τόνου, μπορεί να είναι το αίτιο της αποτυχίας στην κάθοδο του όρχη [Tanyel FC *et al.* 1999<sup>b</sup>, Tanyel FC 2000]. Επίσης, η ανώμαλη παραμονή αυξημένου συμπαθητικού τόνου μπορεί να οδηγήσει σε ανώμαλη παραμονή των μυϊκών κυττάρων στο τοίχωμα της ελυτροειδούς απόφυσης και, ως εκ τούτου, σε αποτυχία στην απόφραξη της ελυτροειδούς απόφυσης [Tanyel FC *et al.* 1999, Tanyel FC 2005].

Η ανάπτυξη της θεωρίας αυτής βασίστηκε σε ευρήματα ενδεικτικά ανώμαλης παραμονής λείων μυϊκών κυττάρων στο τοίχωμα της ελυτροειδούς απόφυσης αγοριών με κρυσορχία, βουβονοκήλη και υδροκήλη [Tanyel FC *et al.* 1999, Tanyel FC *et al.* 2002], καθώς και σε ευρήματα ενδεικτικά απουσίας υποδοχέων ακετυλινοχολίνης στην ελυτροειδή απόφυση αγοριών με κρυσορχία [Tanyel FC *et al.* 1999<sup>b</sup>, Tanyel FC 2000].

Ωστόσο, τα παραπάνω ευρήματα μπορεί να αποτελούν δευτερογενείς μεταβολές στη σειρά των γεγονότων. Το αν η ελυτροειδής απόφυση περιέχει μυϊκά κύτταρα κατά το κρίσιμο για την κάθοδο προγεννητικό διάστημα είναι άγνωστο, όπως επίσης άγνωστο είναι το αν μεταβολές στα μυϊκά αυτά κύτταρα, αν υποθέσουμε ότι πράγματι υπάρχουν, κατά το κρίσιμο προγεννητικό διάστημα σχετίζονται αιτιολογικά με την επιτυχία/αποτυχία στην κάθοδο του όρχη. Επιπλέον, σύμφωνα με άλλους συγγραφείς, τα σκελετικά και τα λεία μυϊκά κύτταρα που ενίοτε αναγνωρίζονται σε κηλικούς σάκους προέρχονται από ίνες του κρεμαστήρα και του δαρτός μυός αντίστοιχα [Taylor GP 2000].

#### II.4.δ. ΚΡΑΝΙΑΚΟΣ ΑΝΕΛΚΤΗΡΑΣ ΣΥΝΔΕΣΜΟΣ (CRANIAL SUSPENSORY LIGAMENT)

Ο κρανιακός ανελκτήρας σύνδεσμος του όρχη είναι η διπέταλη πτυχή του περιτοναίου που εκτείνεται από το οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα προς τον όρχη ενόσω ο όρχης βρίσκεται ακόμη μέσα στην κοιλιά. Ο περιτοναϊκός αυτός σύνδεσμος προκύπτει από τη συνένωση (1) του ‘προγοναδιαίου’ τμήματος (διαφραγματικός σύνδεσμος) του περιτοναίου του μεσονέφρου—που συνδέει το μεσόνεφρο με το οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα και το διάφραγμα—και (2) του ‘γοναδιαίου’ τμήματος (μεσογονάδιο) του περιτοναίου του μεσονέφρου—που συνδέει τον αναπτυσσόμενο όρχη με το μεσόνεφρο—(Εικ. 1Α) μετά την υποστροφή του μεσονέφρου [Felix W 1912, Lemeh CN 1960]. Πρόκειται για δομή ομόλογη του ανελκτήρα συνδέσμου της ωοθήκης.

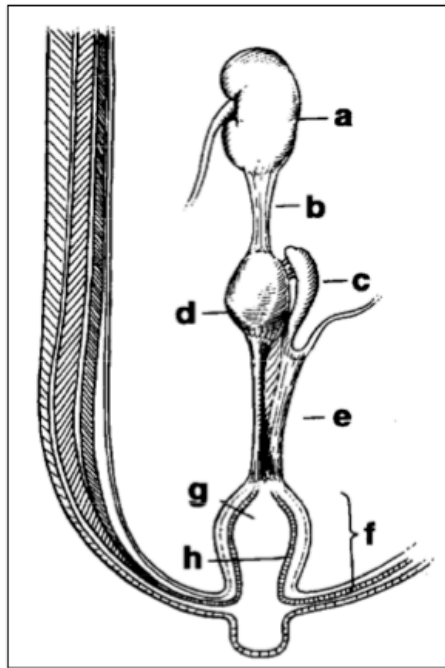
Η απουσία του ανελκτήρα συνδέσμου του οσχείκου όρχη μεταγεννητικά, προφανώς αποτέλεσμα υποστροφής του κατά την ενδομήτρια ανάπτυξη [Miller A *et al.* 2004, Pham SBT *et al.* 2005], έχει οδηγήσει στο να αγνοηθεί εν πολλοίς η πιθανή εμπλοκή της δομής αυτής στην κάθοδο του όρχη. Η σχέση των μορφολογικών μεταβολών του ανελκτήρα συνδέσμου του όρχη προ της υποστροφής του ή/και της ίδιας της υποστροφής του ακόμη με την κάθοδο του όρχη παραμένει ασαφής.

Ο Van der Schoot και ο Kassim και οι συνεργάτες τους υπήρξαν οι μόνοι ερευνητές που προσπάθησαν να στρέψουν την προσοχή της επιστημονικής κοινότητας στον κρανιακό σύνδεσμο του όρχη. Βασιζόμενοι στο σεξουαλικό διμορφισμό της δομής (υποστροφή στο άρρεν και παραμονή στο θήλυ), υποστήριξαν ότι η κρανιακή αυτή πρόσφυση της γονάδας στο οπίσθιο τοίχωμα οφείλει να έχει κάποια σχέση με τη θέση που καταλαμβάνει τελικώς η γονάδα (εκτός κοιλιάς στο άρρεν και ενδοκοιλιακά στο θήλυ) [Kassim NM *et al.* 2010, Van der Schoot P & Elger W 1992, Van der Schoot P & Emmen JMA 1996]. Οι παρατηρήσεις τους σε επίμυες ενισχύουν αυτή την άποψη, καθώς ο κρανιακός σύνδεσμος του όρχη φάνηκε να υποστρέφει αποκτώντας χαμηλότερη πρόσφυση στο οπίσθιο τοίχωμα, σε σχέση με τον κρανιακό σύνδεσμο της ωοθήκης, στο κρίσιμο για την κάθοδο του όρχη διάστημα των ημερών κύησης 16-19 [Kassim NM *et al.* 2010, Van der Schoot P & Elger W 1992]. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι είναι εφικτή η αναστολή της υποστροφής του ανελκτήρα συνδέσμου με προγεννητική χορήγηση φλουταμίδης σε αρσενικούς επίμυες [Kassim NM *et al.* 2010, Van der Schoot P & Elger W 1992] και η πρόκληση υποστροφής του ανελκτήρα συνδέσμου με προγεννητική χορήγηση τεστοστερόνης σε

θηλυκούς επίμυες, ευρήματα που αποδεικνύουν ότι πρόκειται για ανδρογονο-εξαρτώμενο φαινόμενο [Van der Schoot P & Elger W 1992].

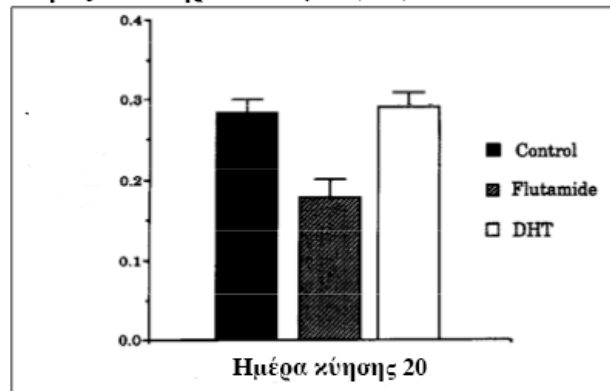
Ωστόσο, ούτε ο Van der Schoot ούτε ο Kassim κατόρθωσαν να συσχετίσουν τα ευρήματά τους με τη θέση του όρχη. Επιπλέον, σε άλλες μελέτες στη συνέχεια διαπιστώθηκε ότι η παραμονή ανεκκτήρα συνδέσμου με ανώμαλη υψηλή πρόσφυση στο οπίσθιο τοίχωμα είναι σύνηθες εύρημα σε αρσενικούς επίμυες που έχουν εκτεθεί προγεννητικά σε φλουταμίδη, ακόμη και αν οι όρχεις τους έχουν κατέβει φυσιολογικά στο όσχεο [Barthold JS *et al.* 1996], ενώ δεν λείπουν και οι ερευνητές που υποστηρίζουν ότι ο ανεκκτήρας σύνδεσμος του όρχη υποστρέφει κανονικά παρά την προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδη [Shono T *et al.* 1994]. Παρ' ότι οι παρατηρήσεις αυτές δεν στηρίχθηκαν σε σύγκριση ποσοτικών μορφολογικών χαρακτηριστικών μεταξύ κρυσορχικών και οσχεικών όρχεων με έκθεση στη φλουταμίδη παρά σε υποκειμενικές ποιοτικές αξιολογήσεις, οδήγησαν εν πολλοίς στο να αποκλειστεί η ιδέα περί κάποιου ουσιαστικού ρόλου του ανεκκτήρα συνδέσμου στην επιτυχία/αποτυχία της καθόδου του όρχη.

Άλλοι συγγραφείς κατέγραψαν μία επιμήκυνση του ανεκκτήρα συνδέσμου του όρχη σε επίμυες κατά το διάστημα των προγεννητικών ημερών 18-20, την οποία απέδωσαν σε παθητικό φαινόμενο χαλάρωσης του κρανιακού συνδέσμου που απλά συνοδεύει το κύριο, κατά τη γνώμη τους, φαινόμενο της μείωσης του μήκους του οίακα στο ίδιο χρονικό διάστημα [Cain MP *et al.* 1995]. Αναστολή των δύο φαινομένων, με αποτέλεσμα κοντό ανεκκτήρα σύνδεσμο και μακρύ οίακα κατά το ίδιο προγεννητικό διάστημα, διαπίστωσαν σε έμβρυα επίμυ με προηγηθείσα έκθεση σε φλουταμίδη (**Εικόνα 5**). Δυστυχώς, όμως, η μελέτη αυτή δεν περιελάμβανε παρατηρήσεις επί των φυσιολογικών μορφολογικών μεταβολών του ανεκκτήρα συνδέσμου κατά το κρίσιμο για την κάθοδο διάστημα των ημερών κύησης 16-17. Επίσης, δεν περιελάμβανε συσχέτιση—δεν θα μπορούσε άλλωστε, καθώς επρόκειτο για ανατομές εμβρύων—των μορφολογικών διαταραχών που παρατηρήθηκαν στο διάστημα των ημερών κύησης 18-20 μετά την έκθεση σε φλουταμίδη με την τελική θέση του όρχη. Οι ίδιοι οι συγγραφείς, στη συζήτηση των ευρημάτων τους, γράφουν ότι δεν πιστεύουν πως η διαταραχή στη μορφολογία του ανεκκτήρα συνδέσμου που παρατήρησαν στους επίμυες που είχαν εκτεθεί στη φλουταμίδη παίζει κάποιο ρόλο στη θέση που καταλαμβάνει τελικώς ο όρχης.



**A**

Μήκος ανελκτήρα συνδέσμου (mm)



**B**

**Εικόνα 5.** Αποτελέσματα μελέτης των μορφολογικών μεταβολών του ανελκτήρα συνδέσμου σε αρσενικά έμβρυα επίμου κατά τις ημέρες κύησης 18-20. **A.** Διαγραμματική απεικόνιση που δείχνει τη μέτρηση που ελήφθη για το μήκος του κρανιακού ανελκτήρα συνδέσμου του όρχη (b). a: νεφρός, c: επιδιδυμίδα, d: όρχης, e: οίακας (γεννητικοβουβωνικός σύνδεσμος), f: (ανεστραμμένος) βουβωνικός θύλακος, g: μεσέγχυμα εντός του βουβωνικού θυλάκου, h: (μυϊκό) τοίχωμα βουβωνικού θυλάκου. **B.** Ιστογράμματα που δείχνουν το μήκος του ανελκτήρα συνδέσμου του όρχη την ημέρα κύησης 20 σε φυσιολογικά έμβρυα-μάρτυρες (Control) και σε έμβρυα που είχαν προηγουμένως εκτεθεί σε αντιανδρογόνο (Flutamide) και σε διϋδροτεστοστερόνη (DHT). Το μήκος ήταν σημαντικά μικρότερο στα έμβρυα που είχαν εκτεθεί σε αντιανδρογόνο σε σχέση με τις άλλες δύο ομάδες. [Τροποποιημένη από Cain MP *et al.* 1995]

#### Π.4.ε. ΕΠΙΔΙΔΥΜΙΔΑ ΚΑΙ ΘΕΩΡΙΑ ΤΗΣ ΕΠΙΔΙΔΥΜΟ-ΟΡΧΙΚΗΣ ΚΑΘΟΔΟΥ

Η ουρά της επιδιδυμίδας εμφανίζει στενή σχέση με τον οίακα, καθώς ο οίακας προσφύεται κατ' αρχήν σε αυτήν και στη συνέχεια στον κάτω πόλο του όρχη, ενώ επίσης προηγείται του όρχη στην κάθοδο. Σύμφωνα με τη θεωρία της 'επιδιδυμο-ορχικής καθόδου' (έναντι της 'καθόδου του όρχη'), η επιδιδυμίδα είναι αυτή που ελέγχει την κάθοδο, κατέρχεται πρώτη και έλκει μαζί της τον όρχη, και σε απουσία της επιδιδυμίδας η κάθοδος του όρχη αποτυγχάνει [Bedford JM 1978, Hadziselimovic F 1983, Hadziselimovic F 1984]. Παράγοντες που μπορεί να εκκρίνονται από την επιδιδυμίδα, περισταλτικές κινήσεις της επιδιδυμίδας ή απλώς η έλξη της από την



πρόσφυση του οίακα μπορεί να είναι οι τρόποι με τους οποίους η επιδιδυμίδα ελέγχει την κάθοδο του όρχη.

Η παραπάνω θεωρία αναπτύχθηκε με βάση μία σειρά κλινικών και εργαστηριακών παρατηρήσεων, όπως ότι η κάθοδος του όρχη δεν λαμβάνει χώρα σε περιπτώσεις απουσίας των παραγώγων του μεσονεφρικού πόρου, ότι μπορεί να υπάρξει κάθοδος της επιδιδυμίδας με μη κατεβασμένο όρχη αλλά όχι κάθοδος του όρχη με μη κατεβασμένη επιδιδυμίδα, και ότι η κάθοδος του όρχη μπορεί να επιτευχθεί με χορήγηση LHRH ή hCG σε παιδιά με φυσιολογικά ανεπτυγμένη επιδιδυμίδα παρά την απουσία οίακα [Bedford JM 1978, Bica DT & Hadziselimovic F 1993, Hadziselimovic F 1983<sup>b</sup>, Hadziselimovic F 1984, Hadziselimovic F 1996].

Παρ' όλα αυτά, σε πειράματα με επίμυες που έχουν εκτεθεί προγεννητικά σε φλουταμίδη, οι διαταραχές στην ανάπτυξη της επιδιδυμίδας φαίνεται να εμφανίζονται εντελώς ανεξάρτητα της θέσης του όρχη [Husmann DA & McPhaul MJ 1991]. Συγκεκριμένα, στα πειράματα αυτά δεν αναδείχτηκε καμία συσχέτιση μεταξύ απλασίας/υποπλασίας της επιδιδυμίδας ή μειωμένου βάρους της επιδιδυμίδας και εμφάνισης κρυπορχίας. Προφανώς, οι διαταραχές της ανάπτυξης των παραγώγων του μεσονεφρικού πόρου και η κρυπορχία είναι απλώς δύο διαφορετικές εκδηλώσεις της έλλειψης της δράσης των ανδρογόνων.

#### Π.4.στ. ΟΡΧΗΣ

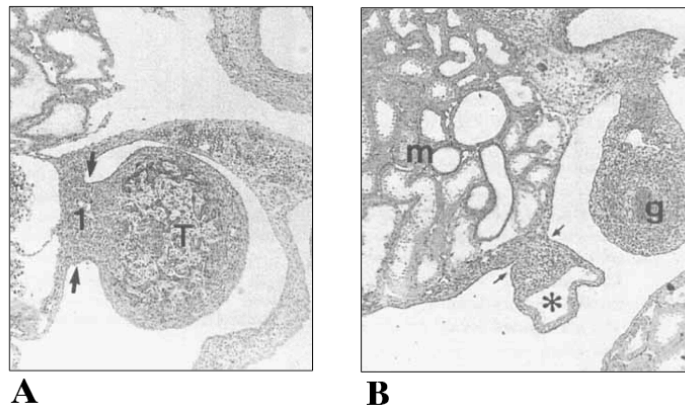
Ο ίδιος ο όρχης έχει επίσης ενοχοποιηθεί για την αποτυχία της καθόδου του. Έχει υποστηριχθεί ότι η ταχεία αύξηση του μεγέθους του όρχη μετά τη διέλευσή του από το έσω βουβωνικό στόμιο παίζει καθοριστικό ρόλο στην κάθοδό του προς το όσχεο [Engle ET 1932]. Η αποτυχία της αύξησης αυτής, εξαιτίας εγγενών βλαβών του όρχη, λοιπόν, έχει υποτεθεί ότι μπορεί να αποτελεί αίτιο αποτυχίας της καθόδου. Ωστόσο, η θεωρία αυτή έχει καταρριφθεί, καθώς έχει βρεθεί ότι ο όρχης παρουσιάζει σταθερή σχετική (ως προς τη μάζα του εμβρύου) μάζα πριν και καθ' όλη τη διάρκεια της καθόδου του [Heyns CF 1987]. Το μειωμένο μέγεθος του κρυπορχικού όρχη είναι επομένως μάλλον απότοκο παρά αίτιο της παραμονής του σε υψηλή θέση.

## II.5. ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟ ΤΟΥ ΟΡΧΗ

### II.5.α. ΣΤΟ ΕΜΒΡΥΟ

Οι παρακάτω περιγραφές βασίζονται σε παρατηρήσεις επί ανατομών εμβρύων ανθρώπου σε διάφορα στάδια ανάπτυξης [Backhouse KM 1964, Felix W 1912, Heyns CF 1987, Lemeh CN 1960, Wyndham NR 1943]. Ίδια είναι και τα ευρήματα για την ενδομήτρια ανάπτυξη του γεννητικού μεσεντερίου επί ανατομών εμβρύων άλλων θηλαστικών [Martin E 1995, Martin E & Rodriguez-Martinez H 1993, Martin E & Rodriguez-Martinez H 1996].

Η γονάδα και ο μεσонеφρικός και παραμεσонеφρικός πόρος αναπτύσσονται στην κοιλιακή επιφάνεια του μεσονέφρου (αρχέγονος νεφρός). Ως αποτέλεσμα, καλύπτονται από το περιτόναιο που καλύπτει το μεσόνεφρο. Σταδιακά και όσο αποσυνδέονται από το μεσόνεφρο, καλύπτονται από αυτό το ουρογεννητικό περιτόναιο (Plica urogenitalis [Habenecht UF & Neumann F 1983]) όλο και περισσότερο, με αποτέλεσμα τελικώς να προβάλλουν πλήρως εντός του κοιλώματος ως ενδοπεριτοναϊκά όργανα και να κρέμονται από το μεσόνεφρο από διπέταλες πτυχές περιτοναίου, το «μεσεντέριο» της γονάδας ή *μεσογονάδιο* (**Εικόνα 6A**) και το «μεσεντέριο» των γεννητικών πόρων ή *μεσοπόριο* (**Εικόνα 6B**). Στο άρρεν, ο παραμεσонеφρικός πόρος υποστρέφει και ο μεσонеφρικός πόρος παράγει την επιδιδυμίδα και το σπερματικό πόρο, και στο θήλυ ο μεσонеφρικός πόρος υποστρέφει και ο παραμεσонеφρικός πόρος μετακινείται προς τα έσω για να συνενωθεί με τον ετερόπλευρο προς σχηματισμό της μήτρας ενώ το κρανιακό τμήμα του στα πλάγια παράγει τον ωαγωγό.



**Εικόνα 6.** Εγκάρσιες τομές εμβρύου χοίρου την ημέρα κύησης 27. **A.** Ο όρχης (T), σε αρχικό στάδιο διαφοροποίησης, κρέμεται από το μεσόνεφρο με διπέταλη πτυχή περιτοναίου, το ‘μεσογονάδιο’ (1,

ανάμεσα στα βέλη). **B.** Ο μεσонеφρικός πόρος (\*) κρέμεται από το μεσόνεφρο (m) με διπέταλη πτυχή περιτοναίου, το 'μεσοπόριο' (ανάμεσα στα βέλη). Το έντερο (g) κρέμεται από το οπίσθιο τοίχωμα με διπέταλη πτυχή περιτοναίου (μεσεντέριο) με παρόμοιο τρόπο. [Τροποποιημένη από Martin E & Rodriguez-Martinez H 1993]

Το ουρογεννητικό περιτόναιο προσφύεται στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα στο ύψος του διαφράγματος με το διαφραγματικό σύνδεσμο, ενώ αποκτά επίσης πρόσφυση στο πρόσθιο κοιλιακό τοίχωμα στην περιοχή που θα αναπτυχθεί ο βουβωνικός πόρος, γνωστή ως σύνδεσμος του οίακα ή γεννητικοβουβωνικός σύνδεσμος. Παράλληλα, τα μεσонеφρικά σωληνάρια αρχίζουν να υποστρέφουν.

Μετά την υποστροφή του μεσόνεφρου, συνενώνεται (1) ο διαφραγματικός σύνδεσμος με το μεσεντέριο της γονάδας και το κρανιακό τμήμα του μεσεντερίου των πόρων, σχηματίζοντας ένα κρανιακό φύλλο περιτοναίου που εκτείνεται από το οπίσθιο τοίχωμα ως τον όρχη και τους γεννητικούς πόρους, και (2) ο σύνδεσμος του οίακα με το ουραίο τμήμα του μεσεντερίου των γεννητικών πόρων, σχηματίζοντας ένα ουραίο φύλλο που εκτείνεται από τον όρχη και τους γεννητικούς πόρους προς την πύελο και το πρόσθιο κοιλιακό τοίχωμα [Martin E & Rodriguez-Martinez H 1993, Martin E *et al.* 1996]. Τα δύο φύλλα περιτοναίου, κρανιακό και ουραίο, είναι σε συνέχεια στο επίπεδο των γεννητικών πόρων.

Το αποτέλεσμα των συνενώσεων αυτών είναι τελικώς ένα ενιαίο διπέταλο φύλλο σπλαχνικού περιτοναίου που μοιάζει με πλατύ ιστίο, το οποίο καλύπτει πλήρως τη γονάδα και το γεννητικό πόρο και εκτείνεται προς το οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα κρανιακά και προς την πύελο και το κατώτερο πρόσθιο κοιλιακό τοίχωμα ουραία (**Εικόνα 7**). Στο τοίχωμα (πρόσθιο και οπίσθιο) προσφύεται και ανακάμπτει προς το τοιχωματικό περιτόναιο της κοιλιάς. Το ενιαίο αυτό περιτοναϊκό φύλλο ή πτυχή (fold ή plica) πληρεί όλα τα χαρακτηριστικά του μεσεντερίου για τον όρχη: φέρει τα αγγεία, τα νεύρα του και τον εκφορητικό του πόρο (επιδιδυμίδα και σπερματικός πόρος) και παρέχει προσφύσεις προς το τοίχωμα από τις οποίες προσφύσεις ο όρχης κρέμεται εντός του κοιλώματος.

Η πιο κρανιακή πρόσφυση του γεννητικού αυτού μεσεντερίου στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα είναι αρχικώς στο ύψος του διαφράγματος και στα δύο φύλα, γνωστή και ως κρανιακός ανελκτήρας σύνδεσμος της γονάδας (Plica suspensoria gonadalis [Martin E & Rodriguez-Martinez H 1993]). Τα γοναδικά αγγεία εισέρχονται στο γεννητικό μεσεντέριο μέσω λίγο χαμηλότερων (περιφερικότερων)



Η πιο ουραία πρόσφυση του γεννητικού μεσεντερίου στο πρόσθιο κοιλιακό τοίχωμα είναι στο ύψος του βουβωνικού πόρου, αντιστοιχεί δηλαδή στο σύνδεσμο του οίακα ή γεννητικοβουβωνικό σύνδεσμο (*Plica gubernacularis* or *genitoinguinalis* [Martin E 1995, Martin E & Rodriguez-Martinez H 1993]. Η πρόσφυση αυτή εισέρχεται στο εσωτερικό της προσεκβολής του τοιχωματικού περιτοναίου (ελυτροειδής απόφυση) και των μυών του τοιχώματος του βουβωνικού πόρου (βουβωνικός θύλακος) και καταλήγει στον πυθμένα τους. Στο θήλυ, ο σύνδεσμος του οίακα διακόπτεται από τον παραμεσονεφρικό πόρο, καθώς αυτός μετακινείται προς τη μέση γραμμή για να συναντήσει τον ετερόπλευρο προς σχηματισμό του σώματος της μήτρας, και έτσι τελικώς ο σύνδεσμος του οίακα χωρίζεται σε δύο συνδέσμους: τον ιδίως σύνδεσμο της ωοθήκης που εκτείνεται από την ωοθήκη προς τον παραμεσονεφρικό πόρο και το στρογγύλο σύνδεσμο της μήτρας που εκτείνεται από τον παραμεσονεφρικό πόρο προς το έσω βουβωνικό στόμιο.

Το περιεχόμενο μεσέγχυμα μεταξύ των πετάλων του συνδέσμου του οίακα έχει αποτελέσει αντικείμενο μεγάλου ερευνητικού ενδιαφέροντος. Πρόκειται για αδιαφοροποίητο μεσέγχυμα με μεγάλη ποσότητα εξωκυττάριας ουσίας και κυρίως γλυκοζαμινογλυκανών [Backhouse KM 1964, Heyns CF 1987, Heyns CF *et al.* 1990]. Τα ατρακτοειδή κύτταρα του αδιαφοροποίητου αυτού μεσεγγύματος εμφανίζουν ομοιότητα με τα ατρακτοειδή λεία μυϊκά κύτταρα, οδηγώντας συχνά στη λανθασμένη άποψη ότι ο οίακας περιέχει μυϊκό ιστό [Heyns CF 1987]. Παρόμοια φαίνεται να είναι η σύσταση του περιεχόμενου μεσεγγύματος μεταξύ των πετάλων του κρανιακού ανελκτήρα συνδέσμου [Kassim NM *et al.* 2010].

Δεν υπάρχουν παρατηρήσεις για το γεννητικό μεσεντέριο κατά ή μετά την κάθοδο του όρχη προ της απόφραξης της ελυτροειδούς απόφυσης. Το λογικό συνεπακόλουθο από όλες τις παραπάνω παρατηρήσεις, όμως, είναι ο όρχης να κατέρχεται με το μεσεντέριό του, και τελικώς, μετά την κάθοδο, το σπλαχνικό πέταλο της ελυτροειδούς απόφυσης να είναι το φύλλο του περιτοναίου που τον κάλυπτε και προ της καθόδου (συνέχεια των πετάλων του εμβρυϊκού μεσορχέου πάνω στον όρχη) και το τοιχωματικό πέταλο της ελυτροειδούς απόφυσης να είναι το τοίχωμα της ελυτροειδούς απόφυσης (προσεκβάλλον τοιχωματικό περιτόναιο) [Lemeh CH 1960, Mentessidou A & Mirilas P 2020].

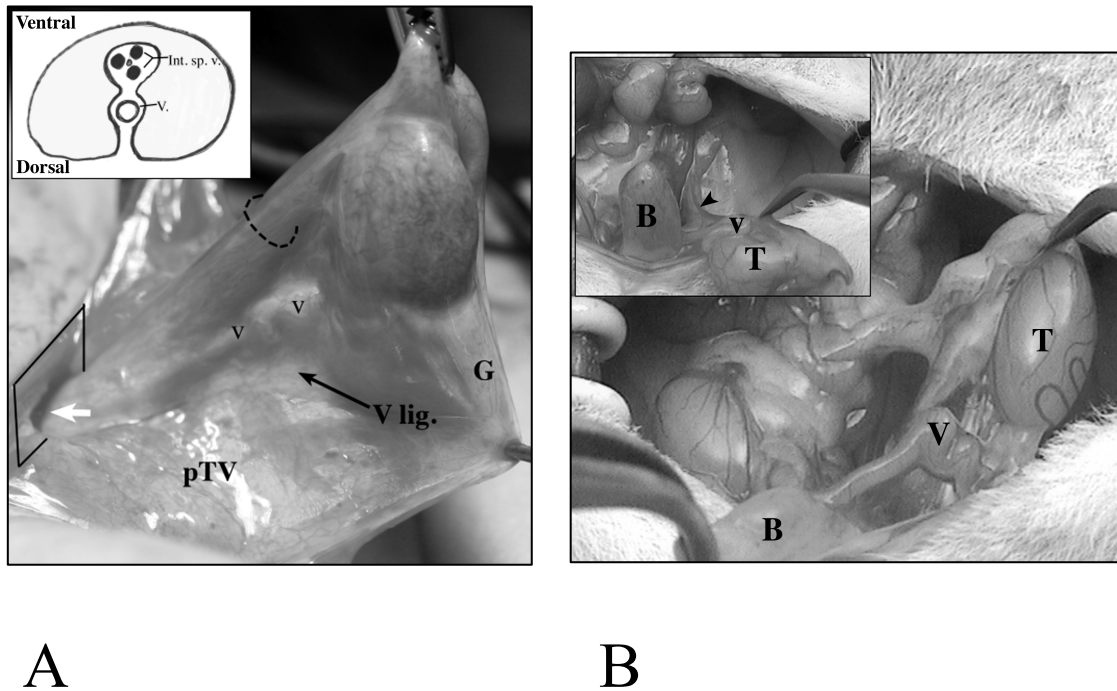
## II.5.β. ΣΤΟ ΠΑΙΔΙ ΜΕ ΒΑΘΗ ΕΛΥΤΡΟΕΙΔΗ ΑΠΟΦΥΣΗ

Στην επικοινωνούσα υδροκήλη, υπάρχει αποτυχία της απόφραξης της κεντρικής μοίρας της ελυτροειδούς απόφυσης μετά την κάθοδο του όρχη και διατήρηση πλήρως ανοικτής της ενδοελυτροειδικής κοιλότητας η οποία πληρούται με υγρό. Τα διεγχειρητικά ευρήματα αγοριών με επικοινωνούσα υδροκήλη είναι δηλωτικά παραμονής του εμβρυϊκού μεσεντερίου του όρχη [Mentessidou A & Mirilas P 2020] (**Εικόνα 8Α**). Το γεννητικό περιτόναιο καλύπτει πλήρως τον όρχη, την επιδιδυμίδα και το σπερματικό πόρο και σχηματίζει πλατείς διπέταλους συνδέσμους μεταξύ όρχη-επιδιδυμίδας, επιδιδυμίδας-σπερματικού πόρου και μεταξύ σπερματικού πόρου-τοιχώματος. Ο κρανιακός ανελκτήρας σύνδεσμος είναι παρών και περικλείει τα έσω σπερματικά αγγεία κατά την πορεία τους προς τον όρχη, και ο σύνδεσμος του οίακα είναι επίσης παρών ως το πιο ουραίο τμήμα του περιτοναϊκού φύλλου που εκτείνεται από το σπερματικό πόρο και την ουρά της επιδιδυμίδας προς το οπίσθιο τοίχωμα της οσχεοβουβωνικής χώρας (Εικ. 8Α).

Τα παραπάνω ευρήματα δείχνουν ότι η αποτυχία της απόφραξης της ελυτροειδούς απόφυσης συνυπάρχει με αποτυχία υποστροφής του εμβρυϊκού μεσεντερίου του όρχη. Αυτό εξηγεί την αυξημένη συχνότητα επιδιδυμο-ορχικού ‘διαχωρισμού’ (dissociation)—εξαιτίας της παρουσίας ευρέος επιδιδυμο-ορχικού συνδέσμου—σε διεγχειρητικές παρατηρήσεις αγοριών με υδροκήλη/βουβωνοκήλη [Barthold JS & Redman JF 1996, Caterino S *et al.* 2014, Elder JS 1992, Turek PJ *et al.* 1994], η οποία συχνότητα μάλιστα είναι ανάλογη του βαθμού βατότητας της ελυτροειδούς απόφυσης [Barthold JS & Redman JF 1996, Caterino S *et al.* 2014].

Είναι πολύ πιθανό, λοιπόν, η υποστροφή του εμβρυϊκού μεσεντερίου του όρχη να σχετίζεται με την απόφραξη της ελυτροειδούς απόφυσης. Δυστυχώς η επαλήθευση της δήλωσης αυτής με μελέτη του μεσεντερίου του όρχη πριν και μετά την απόφραξη της ελυτροειδούς απόφυσης, δηλαδή σε βρέφη χωρίς οσχεοβουβωνικές παθήσεις, είναι πρακτικά δύσκολη έως ανέφικτη. Οι Lopez-Marambio & Hutson κατόρθωσαν σε μελέτη τους επί της μορφολογίας του ελυτροειδούς χιτώνα να συμπεριλάβουν την ανατομή ενός βρέφους 4 μηνών και συμπέραναν ότι σε αυτή την ηλικία ο όρχης είναι τελείως κινητός εντός ευρείας ελυτροειδικής κοιλότητας σε αντίθεση με τον όρχη των ενηλίκων που είναι καθηλωμένος στην επιδιδυμίδα και σχετίζεται με μικρή ελυτροειδική κοιλότητα [Lopez-Marambio FA & Hutson JM 2015]. Επίσης, αρκετά άλλα ευρήματα στη βιβλιογραφία αποδεικνύουν έμμεσα τη συνύπαρξη παραμένου γεννητικού μεσεντερίου και βατής ελυτροειδούς απόφυσης, όπως η αυξημένη

συχνότητα επιδιδυμο-ορχικού ‘διαχωρισμού’ στη βρεφική ηλικία [Barthold JS & Redman JF 1996, Scorer CG 1962, Turek PJ *et al.* 1994], οπότε και είναι συχνή ακόμη η ύπαρξη βατής ελυτροειδούς απόφυσης, καθώς και η πλήρης παραμονή του εμβρυϊκού μεσεντερίου του όρχη εφ’ όρου ζωής στον επίμυ [Mentessidou A & Mirilas P 2020], στον οποίο η ελυτροειδής απόφυση παραμένει εφ’ όρου ζωής βατή (Εικόνα 8B).



**Εικόνα 8.** Παραμονή εμβρυϊκού μεσεντερίου του όρχη επί παραμονής βατής ελυτροειδούς απόφυσης. **A.** Διεγχειρητική φωτογραφία του γεννητικού μεσεντερίου σε αγόρι 4 ετών με επικοινωνούσα υδροκήλη. Το τοιχωματικό πέταλο της ελυτροειδούς απόφυσης έχει διανοιχθεί για να αποκτηθεί πρόσβαση στην ενδοελυτροειδική κοιλότητα. Ο όρχης, η επιδιδυμίδα, ο σπερματικός πόρος (v) και τα έσω σπερματικά αγγεία (διακεκομμένος κύκλος) περιέχονται μέσα σε ένα πλατύ διπέταλο φύλλο σπλαχνικού περιτοναίου. Από το σπερματικό πόρο, το διπέταλο φύλλο σπλαχνικού περιτοναίου συνεχίζει την πορεία του οπισθίως (V lig., vas ligament) έως το οπίσθιο τοίχωμα της οσχεοβουβωνικής περιοχής, όπου και ανακάμπτει ως τοιχωματικό περιτόναιο (pTV, parietal tunica vaginalis). Το λευκό βέλος δείχνει το βατό ελυτροπεριτοναϊκό πόρο (συνέχεια της ελυτροειδικής κοιλότητας κεντρικά). *Ένθετο:* Διαγραμματική απεικόνιση της ανάκαμψης του τοιχωματικού πετάλου του γεννητικού περιτοναίου στην οπίσθια (dorsal) επιφάνεια του σπερματικού τόνου προκειμένου να ενθυλακώσει ως σπλαχνικό περιτόναιο το σπερματικό πόρο (v) και τα έσω σπερματικά αγγεία (Int. sp. v.). G: οίακας (gubernacular ligament). **B.** Φωτογραφία μέσω χειρουργικού μικροσκοπίου του γεννητικού μεσεντερίου σε επίμυ (εικόνα που προέρχεται από επίμυ 18 ημερών, αλλά αφορά όλη τη μεταγεννητική ζωή του επίμυ). Η ελυτροειδής απόφυση παραμένει βατή και ο όρχης μπορεί και ανασπάται εντός της κοιλιάς μέσω αυτής εφ’ όρου ζωής. Η λαβίδα ανασηκώνει τον όρχη προκειμένου

να εκπτυχθεί το πλατύ διπέταλο φύλλο σπλαχνικού περιτοναίου που περιέχει τον όρχη, την επιδιδυμίδα, το σπερματικό πόρο και τα έσω σπερματικά αγγεία. Το περιτόναιο στη συνέχεια εκτείνεται προς το οπίσθιο τοίχωμα κρανιακά και προς την πύελο ουραία. *Ένθετο*: Η κεφαλή βέλους δείχνει την είσοδο των έσω σπερματικών αγγείων στο κρανιακό χείλος του γεννητικού μεσεντερίου και η λαβίδα την πορεία τους προς την πύλη του όρχη. Η μορφολογία του γεννητικού μεσεντερίου είναι πανομοιότυπη με τη μορφολογία του μεσεντερίου του όρχη στο ανθρώπινο έμβρυο της Εικόνας 7. B: ουροδόχος κύστη, T: όρχης, V: σπερματικός πόρος [Από Mentessidou A & Mirilas P 2020]

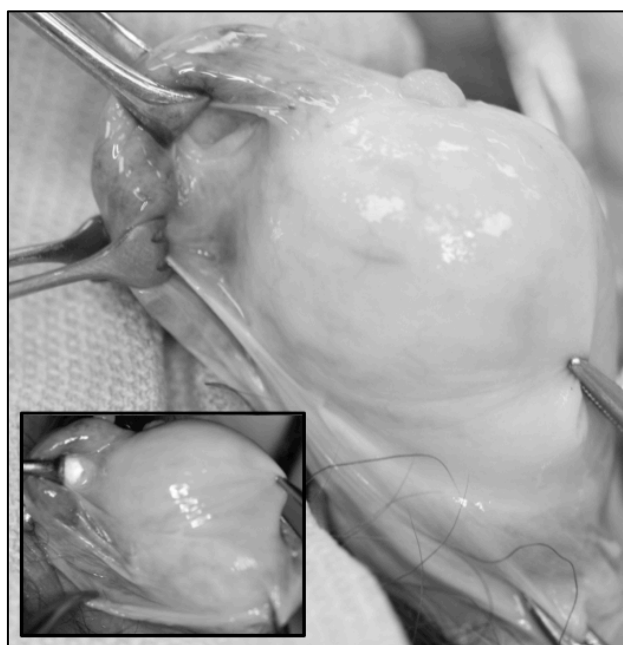
### II.5.γ. ΣΤΟΝ ΕΝΗΛΙΚΑ

Στον ενήλικα, η κεντρική μοίρα της ελυτροειδούς απόφυσης έχει αποφραχθεί και ο όρχης είναι καθηλωμένος στο όσχεο. Η μόνη περιτοναϊκή δομή που υπάρχει σε σχέση με τον όρχη είναι ο ελυτροειδής χιτώνας. Το σπλαχνικό πέταλο του ελυτροειδούς χιτώνα καλύπτει μόνο την προσθιοπλάγια επιφάνεια του όρχη, στη συνέχεια ανακάμπτει πίσω από τον άνω πόλο του όρχη, όπου σχηματίζει έναν κοντό περιτοναϊκό σύνδεσμο μεταξύ του άνω πόλου του όρχη και της επιδιδυμίδας στην πύλη του όρχη, γνωστό ως ‘μεσόρχεο’ ή ‘κόλπος της επιδιδυμίδας’, και στη συνέχεια ανακάμπτει από την πλάγια επιφάνεια του όρχη ή/και της κεφαλής της επιδιδυμίδας προς το τοιχωματικό πέταλο του ελυτροειδούς χιτώνα [Mentessidou A & Mirilas P 2020] (**Εικόνα 9**). Ως αποτέλεσμα, μόνο η προσθιοπλάγια επιφάνεια του όρχη και η κεφαλή της επιδιδυμίδας προβάλλουν εντός της ελυτροειδικής κοιλότητας, ενώ το μεγαλύτερο τμήμα της οπίσθιας επιφάνειας του όρχη, το μεγαλύτερο τμήμα της επιδιδυμίδας και ο σπερματικός πόρος είναι καθηλωμένα στον εξωπεριτοναϊκό χώρο του οσχέου.

Η σύμπτωση σπλαχνικού και τοιχωματικού πετάλου του περιτοναίου στο επίπεδο του ελυτροπεριτοναϊκού πόρου οδηγούν σε απόφραξη της επικοινωνίας μεταξύ ενδοπεριτοναϊκής και ενδοελυτροειδικής κοιλότητας. Η διαδικασία αυτή είναι άγνωστο πώς ακριβώς συμβαίνει, ενώ πιστεύεται από κάποιους ότι επάγεται από ανδρογονεξαρτώμενη έκκριση CGRP από το GFN [Hutson JM *et al.* 2000]. Σε κάθε περίπτωση, οδηγεί σε υποστροφή των συμπεπτοκότων πετάλων του περιτοναίου. Κατά παρόμοιο τρόπο, η σύμπτωση σπλαχνικού και τοιχωματικού περιτοναϊκού πετάλου χαμηλότερα στο όσχεο οδηγεί σε υποστροφή του μεγαλύτερου τμήματος του γεννητικού μεσεντερίου, και συγκεκριμένα των συνδέσμων μεταξύ επιδιδυμίδας-σπερματικού πόρου και μεταξύ σπερματικού πόρου-τοιχώματος καθώς και του μεγαλύτερου τμήματος του επιδιδυμο-ορχικού συνδέσμου [Mentessidou A & Mirilas P 2020], οι οποίοι βλέπουμε να υπάρχουν σε περιπτώσεις βαθής ελυτροειδούς



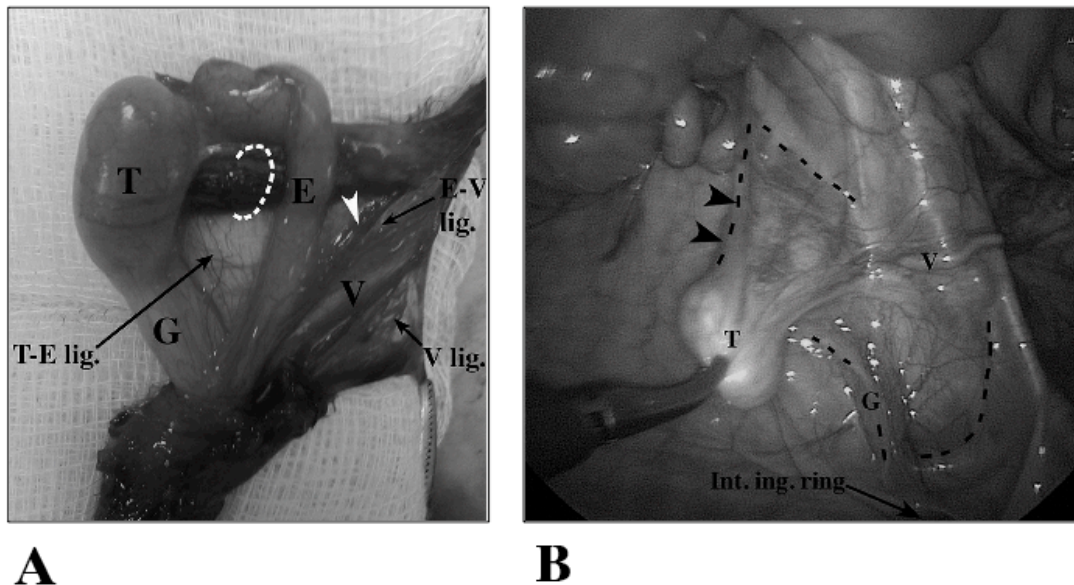
απόφυσης (βλ. II.5.β. ΣΤΟ ΠΑΙΔΙ ΜΕ ΒΑΘΗ ΕΛΥΤΡΟΕΙΔΗ ΑΠΟΦΥΣΗ). Οι Lopez-Marambio & Hutson εισηγούνται ότι η σχέση του όρχη με τον ελυτροειδή χιτώνα αλλάζει και μετά την ηλικία των 20 ετών και καθ' όλη τη διάρκεια της ενήλικης ζωής, με την ελυτροειδική κοιλότητα να μικραίνει σταδιακά συνεχώς έως ότου περιοριστεί μόνο στην πρόσθια επιφάνεια του όρχη [Lopez-Marambio FA & Hutson JM 2015]. Ωστόσο, το συμπέρασμά τους αυτό βασίζεται στη μείωση του λόγου του μήκους ή της περιφέρειας του όρχη προς το πλάτος του ελυτροειδή χιτώνα κατά τη διάρκεια της ενήλικης ζωής και επομένως μπορεί να αφορά όψιμες μεταβολές που οφείλονται στη μείωση του μεγέθους του όρχη που οι ίδιοι επίσης παρατηρούν κατά τη διάρκεια της ενήλικης ζωής.



**Εικόνα 9.** Φωτογραφίες από την ενδοελυτροειδική κοιλότητα του οσχέου σε ανατομή φρέσκου πτώματος ενήλικα. Ο άνω πόλος του όρχη και η κεφαλή της επιδιδυμίδας καλύπτονται από περιτόναιο (σπλαχνικό πέταλο ελυτροειδούς χιτώνα) και προβάλλουν εντός της ελυτροειδικής κοιλότητας, ενώ το κατώτερο τμήμα του όρχη και της επιδιδυμίδας και ο σπερματικός πόρος είναι καθηλωμένα εξω-(οπισθο-)ελυτροειδικά (εξωπεριτοναϊκά). Δεν υπάρχει πλατύς επιδιδυμο-ορχικός σύνδεσμος, όπως επί βατής ελυτροειδούς απόφυσης, παρά ένας κοντός σύνδεσμος μεταξύ άνω πόλου του όρχη και κεφαλής της επιδιδυμίδας στην περιοχή της πύλης του όρχη (βλ. έκπτυξη αυτού του συνδέσμου με την έλξη της κεφαλής της επιδιδυμίδας και ανάδειξη αυτού με τη διέλευση φωτός στο ένθετο). Επίσης, δεν υπάρχει σύνδεσμος μεταξύ επιδιδυμίδας-σπερματικού πόρου και μεταξύ σπερματικού πόρου-τοιχώματος. [Από Mentessidou A & Mirilas P 2020]

#### II.5.δ. ΣΤΟ ΠΑΙΔΙ ΜΕ ΚΡΥΨΟΡΧΙΑ

Τα διεγχειρητικά ευρήματα παιδιών με κρυψορχία, βουβωνική και ενδοκοιλιακή, είναι δηλωτικά παραμονής του εμβρυϊκού μεσεντερίου του όρχη [Mentessidou A & Mirilas P 2020]. Στη βουβωνική κρυψορχία, το γεννητικό περιτόναιο φαίνεται να καλύπτει πλήρως τον όρχη, την επιδιδυμίδα και το σπερματικό πόρο και να σχηματίζει πλατείς διπέταλους συνδέσμους μεταξύ όρχη-επιδιδυμίδας, επιδιδυμίδας-σπερματικού πόρου και σπερματικού πόρου-τοιχώματος (Εικόνα 10Α). Η εικόνα είναι σχεδόν πανομοιότυπη με αυτή του γεννητικού μεσεντερίου επί εποικοινωνούσας υδροκήλης (Εικ. 8Α), με τη διαφορά ότι οι επί μέρους περιτοναϊκοί σύνδεσμοι και το μεσεντέριο ως συνολική δομή εμφανίζονται πιο πλατείς στην κρυψορχία [Mentessidou A & Mirilas P 2020].



**Εικόνα 10.** Παραμονή εμβρυϊκού μεσεντερίου του όρχη επί κρυψορχίας. **A.** Διεγχειρητική φωτογραφία του γεννητικού μεσεντερίου σε αγόρι 2 ετών με βουβωνική κρυψορχία. Το τοιχωματικό πέταλο της ελυτροειδούς απόφυσης έχει διανοιχθεί για να αποκτηθεί πρόσβαση στην ενδοελυτροειδική κοιλότητα. Ο όρχης (T), η επιδιδυμίδα (E), ο σπερματικός πόρος (V) και τα έσω σπερματικά αγγεία (διακεκομμένος κύκλος) περιέχονται μέσα σε ένα πλατύ διπέταλο φύλλο σπλαχνικού περιτοναίου. Το διπέταλο αυτό περιτοναϊκό φύλλο σχηματίζει συνδέσμους μεταξύ όρχη-επιδιδυμίδας (T-E lig. testis-epididymis ligament), μεταξύ επιδιδυμίδας-σπερματικού πόρου (E-V lig., epididymis-vas ligament) και μεταξύ σπερματικού πόρου-οπίσθιου τοιχώματος της βουβωνικής χώρας (V lig., vas ligament). Κλάδοι των έσω σπερματικών αγγείων (λευκή κεφαλή βέλους) πορεύονται μέσα στο γεννητικό μεσεντέριο για να φτάσουν στην επιδιδυμίδα και το σπερματικό πόρο. Ο σύνδεσμος του οίακα (G) είναι εμφανής ως το πιο ουραίο τμήμα του γεννητικού μεσεντερίου και εμφανίζεται περισσότερο παχυσμένος σε σχέση με τους υπόλοιπους συνδέσμους του γεννητικού μεσεντερίου. **B.** Διεγχειρητική

φωτογραφία του γεννητικού μεσεντερίου σε αγόρι 14 μηνών με ενδοκοιλιακή κρυπορχία. Πρόκειται για πλατύ διπέταλο φύλλο σπλαχνικού περιτοναίου το οποίο εκτείνεται από το οπίσθιο τοίχωμα (διακεκομμένο Λ) και από το πυελικό και πρόσθιο κοιλιακό τοίχωμα (διακεκομμένο U) προς τον όρχη (T), και περιέχει τα έσω σπερματικά αγγεία στο πιο κρανιακό τμήμα του (κεφαλές βέλους), το σπερματικό πόρο (v) και την επιδιδυμίδα (δεν φαίνεται στην εικόνα καθώς είναι στην οπίσθια επιφάνεια του όρχη) και το μεσέγγυμα του οίακα στο πιο ουραίο τμήμα του (G). Int. ing. ring: έσω βουβωνικό στόμιο [Από Mentessidou A & Mirilas P 2020]

Στην ενδοκοιλιακή κρυπορχία, η παραμονή του εμβρυϊκού γεννητικού μεσεντερίου είναι ακόμη πιο προφανής [Mentessidou A & Mirilas P 2020]. Ο όρχης κρέμεται από το οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα με ένα πλατύ διπέταλο φύλλο σπλαχνικού περιτοναίου, που μοιάζει με ιστίο και περιέχει τα έσω σπερματικά αγγεία, την επιδιδυμίδα και το σπερματικό πόρο (**Εικόνα 10B**). Ο κρανιακός ανελκτήρας σύνδεσμος προσφύεται στο οπίσθιο τοίχωμα, στο ύψος της εισόδου των έσω σπερματικών αγγείων, και ο σύνδεσμος του οίακα προσφύεται στο έσω βουβωνικό στόμιο. Ο ανελκτήρας σύνδεσμος είναι σε συνέχεια με το σύνδεσμο μεταξύ επιδιδυμίδας-σπερματικού πόρου και ο σύνδεσμος του οίακα σε συνέχεια με το σύνδεσμο μεταξύ σπερματικού πόρου-πυελικού τοιχώματος. Ο επιδιδυμο-ορχικός σύνδεσμος είναι επίσης παρών και αρκετά πλατύς. Η εικόνα είναι πανομοιότυπη με αυτή του εμβρυϊκού μεσεντερίου του όρχη (Εικ. 7).

Έχουν δημοσιευτεί κατά καιρούς παρατηρήσεις που έμμεσα υποδηλώνουν την ύπαρξη παραμένοντος γεννητικού μεσεντερίου στην κρυπορχία. Τέτοια ευρήματα είναι η αυξημένη συχνότητα επιδιδυμο-ορχικού ‘διαχωρισμού’ (dissociation)—εξαιτίας της παρουσίας ευρέος επιδιδυμο-ορχικού συνδέσμου—σε διεγχειρητικές παρατηρήσεις αγοριών με κρυπορχία [Barthold JS & Redman JF 1996, Caterino S *et al.* 2014, Elder JS 1992, Koff WJ & Scaletscky R 1990], καθώς και η παρουσία ανώμαλης υψηλής πρόσφυσης του ανελκτήρα συνδέσμου του όρχη στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα σε φαρμακευτικά και γενετικά μοντέλα κρυπορχίας σε τρωκτικά [Van der Schoot P & Elger W 1992, Van der Schoot P & Emmen JMA 1996, Zimmermann S *et al.* 1999].

Ωστόσο, οι ακριβείς μορφολογικές διαφορές, αν υπάρχουν, του γεννητικού μεσεντερίου που παρατηρείται στην κρυπορχία από αυτό που βλέπουμε σε περίπτωση που ο όρχης έχει κατέλθει φυσιολογικά αλλά η ελυτροειδής απόφυση παραμένει βαθιά δεν είναι γνωστές. Ομοίως, η πιθανή σχέση των μορφολογικών αυτών διαφορών με την επιτυχία/αποτυχία της καθόδου του όρχη είναι άγνωστη.

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

# I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## I.1. ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΑ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

Η αιτιολογία της κρυπορχίας παραμένει άγνωστη, παρά την εκτενή και μακρόχρονη έρευνα στο θέμα. Η κύρια ανατομική δομή που θεωρείται ότι εμπλέκεται στην επιτυχία ή αποτυχία της καθόδου του όρχη είναι ο οίακας. Τα ανδρογόνα θεωρείται ότι επάγουν, είτε απευθείας είτε μέσω άλλων παραγόντων, μορφολογικές μεταβολές στον οίακα κατά την ενδομήτρια ανάπτυξη, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την κάθοδο του όρχη. Η άποψη αυτή ενισχύεται από το γεγονός ότι το προγεννητικό διάστημα κατά το οποίο η χορήγηση του αντιανδρογόνου φλουταμίδη προκαλεί τη μέγιστη αναστολή στην κάθοδο του όρχη στον επίμυ συμπίπτει με το διάστημα στο οποίο παρατηρείται η μέγιστη έκφραση υποδοχέων ανδρογόνων και η μέγιστη δραστηριότητα των ανδρογόνων στον οίακα [Bentvelsen FM & George FW 1993, George FW 1989, Husmann DA & McPhaul MJ 1991].

Παρ' όλα αυτά, το ποιες είναι οι ανδρογόνο-εξαρτώμενες αυτές μορφολογικές μεταβολές του οίακα που εμπλέκονται στην κάθοδο του όρχη παραμένει ασαφές. Οι συγγραφείς μεταξύ τους διαφωνούν, καθώς τα ευρήματα από επίμυες που έχουν εκτεθεί προγεννητικά σε φλουταμίδη είναι αντικρουόμενα. Συγκεκριμένα, έχει αναφερθεί μείωση του μήκους του οίακα [Harnaen EJ *et al.* 2007], αύξηση του μήκους του οίακα [Cain MP *et al.* 1995, Van der Schoot P & Elger W 1992], αλλά ακόμη και απουσία μορφολογικών μεταβολών στον οίακα [Shono T *et al.* 1994, Van der Schoot P 1992<sup>b</sup>] μετά από προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδη.

Κάποιοι συγγραφείς αμφισβητούν το ρόλο του οίακα στην κάθοδο του όρχη και υποστηρίζουν ότι τα ανδρογόνα ελέγχουν την κάθοδο μέσω μορφολογικών μεταβολών στον κρανιακό ανελκτήρα σύνδεσμο του όρχη και όχι στον οίακα [Van der Schoot P & Elger W 1992, Van der Schoot P & Emmen JM 1996]. Ο σύνδεσμος αυτός επίσης εμφανίζει έκφραση υποδοχέων ανδρογόνων κατά το κρίσιμο προγεννητικό διάστημα στο οποίο η χορήγηση φλουταμίδης αναστέλλει την κάθοδο του όρχη στον επίμυ [Kassim NM *et al.* 2010].

Παρ' όλα αυτά, και εδώ επικρατεί διχογνωμία σχετικά με το ποιες μορφολογικές μεταβολές επιδρούν στην κάθοδο του όρχη. Κάποιοι συγγραφείς παρατηρούν μειωμένο μήκος του ανελκτήρα συνδέσμου του όρχη σε επίμυες μετά

από προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδη [Cain MP *et al.* 1995], κάποιιοι άλλοι αυξημένο μήκος [Van der Schoot P 1992], ενώ όσες προσπάθειες έχουν γίνει για να συσχετιστούν διάφορες μορφολογικές διαταραχές στον ανελκτήρα σύνδεσμο του όρχη με την τελική θέση του όρχη έχουν αποτύχει [Barthold JS *et al.* 1996, Kassim NM *et al.* 2010].

Ο σύνδεσμος του οίακα και ο ανελκτήρας σύνδεσμος, όμως, δεν αποτελούν ανεξάρτητες δομές, όπως εκλαμβάνεται από τους θιασώτες της μίας ή της άλλης δομής σε όλη αυτή τη διαμάχη σχετικά με το μηχανισμό της καθόδου του όρχη. Αντιθέτως, πρόκειται για δύο περιτοναϊκούς συνδέσμους, οι οποίοι αποτελούν τμήματα του γεννητικού μεσεντερίου, ενός ενιαίου συστήματος περιτοναϊκών πτυχών που προέρχονται από το περιτόναιο του μεσονέφρου και περιβάλλουν την αναπτυσσόμενη γονάδα και τους αναπτυσσόμενους γεννητικούς πόρους [Lemeh CN 1960, Martin E *et al.* 1996, Mentessidou A & Mirilas P 2020, Van der Schoot P & Emmen JM 1996]. Ως εκ τούτου, μεταβολές στην αρχιτεκτονική του συνδέσμου του οίακα και του ανελκτήρα συνδέσμου, αλλά ακόμη και άλλων πτυχών του γεννητικού μεσεντερίου, μπορεί να παίζουν συνδυαστικό ρόλο στην κάθοδο του όρχη.

Η παραμονή ενός πλήρως ανεπτυγμένου εμβρυϊκού γεννητικού μεσεντερίου σε αγόρια με κρυπορχία σε αντιπαραβολή με το αναμενόμενο τελικό αποτέλεσμα υποστροφής της δομής στο σχηματισμένο οργανισμό του άρρενος ανθρώπου ενισχύει την άποψη ότι διαταραχές στην ανάπτυξη και μορφολογία του γεννητικού μεσεντερίου μπορεί να σχετίζονται με την αποτυχία της καθόδου του όρχη [Mentessidou A & Mirilas P 2020]. Αν και το εμβρυϊκό μεσεντέριο του όρχη εν πολλοίς παραμένει και επί επικοινωνούσας υδροκήλης, προφανώς εξαιτίας της αποτυχίας απόφραξης της ελυτροειδούς απόφυσης, οι πτυχές της δομής επί κρυπορχίας φαίνεται να είναι πιο πλατιές απ' ότi στην υδροκήλη [Mentessidou A & Mirilas P 2020]. Οι ακριβείς μορφολογικές διαφορές του γεννητικού μεσεντερίου επί κρυπορχίας από αυτό επί φυσιολογικής καθόδου χωρίς απόφραξη της ελυτροειδούς απόφυσης, και ιδίως των επί μέρους συνδέσμων με αυξημένη πιθανότητα να επιδρούν στην κάθοδο του όρχη όπως ο σύνδεσμος του οίακα και ο ανελκτήρας σύνδεσμος, δεν είναι γνωστές.

## 1.2. ΥΠΟΘΕΣΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Εφόσον το εμβρυϊκό μεσεντέριο του όρχη εμφανίζει κρανιακή πρόσφυση με το οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα, τον κρανιακό ανελκτήρα σύνδεσμο, και ουραία πρόσφυση με το πρόσθιο κοιλιακό τοίχωμα στην περιοχή του βουβωνικού πόρου, το σύνδεσμο του οίακα, αναμένεται ότι υφίσταται μορφολογικές μεταβολές προκειμένου να επιτρέψει την κάθοδο του όρχη από την αρχική ενδοκοιλιακή θέση προς την τελική θέση στο όσχεο. Ως εκ τούτου, αναμένεται ότι συγκεκριμένες μορφολογικές μεταβολές του εμβρυϊκού γεννητικού μεσεντερίου, και ιδίως της κρανιακής και της ουραίας πρόσφυσής του, συσχετίζονται με την επιτυχία της καθόδου του όρχη, και ότι η αποτυχία στην κάθοδο του όρχη οφείλεται σε αποτυχία να λάβουν χώρα αυτές οι φυσιολογικές μορφολογικές μεταβολές στο γεννητικό μεσεντέριο.

## 1.3. ΣΚΟΠΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της σχέσης πιθανών μορφολογικών διαταραχών στις περιτοναϊκές πτυχές του μεσεντερίου του όρχη, συμπεριλαμβανομένου του ανελκτήρα συνδέσμου και του συνδέσμου του οίακα, με την επιτυχία ή αποτυχία της καθόδου του όρχη σε επίμυες που έχουν εκτεθεί στο αντιανδρογόνο φλουταμίδη κατά το κρίσιμο προγεννητικό διάστημα για την κάθοδο του όρχη. Απώτερος σκοπός ήταν να αποδείξουμε ότι η αποτυχία της καθόδου του όρχη σχετίζεται αιτιολογικά με συγκεκριμένες μορφολογικές διαταραχές στο μεσεντέριο του όρχη, και ότι η επιτυχία της καθόδου αντίστροφα σχετίζεται με απουσία των μορφολογικών αυτών διαταραχών στο μεσεντέριο του όρχη.

Δευτερεύων σκοπός της μελέτης ήταν να διερευνηθεί αν το γεννητικό μεσεντέριο επί κρυσορχίας έχει μορφολογία γεννητικού μεσεντερίου θήλεος, αν δηλαδή έχει υποστεί θηλεοποίηση.

## II. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### II.1. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΔΕΙΟΔΟΤΗΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η παρούσα μελέτη εγκρίθηκε από το Επιστημονικό Συμβούλιο του Γενικού Νοσοκομείου Παίδων Αθηνών “Η Αγία Σοφία” (5602/06-03-18) και από την Κτηνιατρική Υπηρεσία της Νομαρχίας Αθηνών (6929/28-12-2017), σύμφωνα με τη νομοθεσία και τον εσωτερικό κανονισμό για την εκπόνηση διδακτορικών διατριβών του Τμήματος Ιατρικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Αντίγραφα των αδειών αυτών παρατίθενται στο Παράρτημα στο τέλος του κειμένου. Οι παρεμβάσεις στους επίμυες έλαβαν χώρα στη Μονάδα Ζωικών Προτύπων του Ιδρύματος Ιατροβιοτεχνολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών (ΙΙΒΕΑΑ) και υπήρξαν σύμφωνες με τις διεθνείς οδηγίες για το χειρισμό ζώων εργαστηρίου [ARRIVE guidelines, Guiding Principles in the Care and Use of Animals (DHEW Publication, NIH)].

### II.2. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

#### II.2.α. ΑΙΤΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ

Πρόκειται για μελέτη που δεν μπορεί να διενεργηθεί στον άνθρωπο. Η ενδεδειγμένη μελέτη της μορφολογίας του συνόλου της ανατομικής δομής που περιλαμβάνει είναι αδύνατον να διεξαχθεί διεγχειρητικά, γιατί (1) η έκπτυξη και καταμέτρηση των διαστάσεων όλων των περιτοναϊκών πτυχών είναι χρονοβόρος και (2) κάποιες εκ των περιτοναϊκών πτυχών της ανατομικής δομής δεν είναι προσπελάσιμες στο χειρουργικό πεδίο. Επίσης, η μελέτη αυτή σε πτόμα είναι πρακτικά δύσκολη έως ανέφικτη, καθώς απαιτεί σύγκριση περιπτώσεων κρυπορχίας με περιπτώσεις οσχέϊκών όρχεων προ της απόφραξης της ελυτροειδούς απόφυσης, δηλαδή βρέφη.

Ο επίμυς επιλέχθηκε για δύο λόγους. Πρώτον, επειδή εμφανίζει σημαντικές ομοιότητες με τον άνθρωπο ως προς την κάθοδο του όρχη και τις ανατομικές δομές που σχετίζονται με αυτήν (βλ. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ, II.3.δ. ΑΝΑΓΩΓΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ: ΟΜΟΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ) και, ως εκ



τούτου, έχει αποτελέσει το κύριο ζώο εργαστηρίου που έχει χρησιμοποιηθεί στην έρευνα επί της κρυσορχίας [Hadziselimovic F 1996, Hutson JM *et al.* 2014, Hutson JM *et al.* 2015]. Δεύτερον, επειδή χάρη στο ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της παραμένουσας βατής ελυτροειδούς απόφυσης εφ' όρου ζωής [Hutson JM *et al.* 2014], ο επίμυς μετά την κάθοδο του όρχη (>21 ημερών) αποτελεί ιδανικό μοντέλο της περιγεννητικής περιόδου στον άνθρωπο κατά την οποία ο όρχης έχει κατέλθει αλλά η ελυτροειδής απόφυση δεν έχει ακόμη αποφραχθεί. Η σύγκριση του παραμένουστος γεννητικού μεσεντερίου επί κρυσορχίας με το παραμένον γεννητικό μεσεντέριο επί φυσιολογικής καθόδου και βατής ελυτροειδούς απόφυσης αναμένεται να αναδείξει τα ιδιαίτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά του παραμένουστος γεννητικού μεσεντερίου που πραγματικά σχετίζονται με την κρυσορχία καθ' εαυτή.

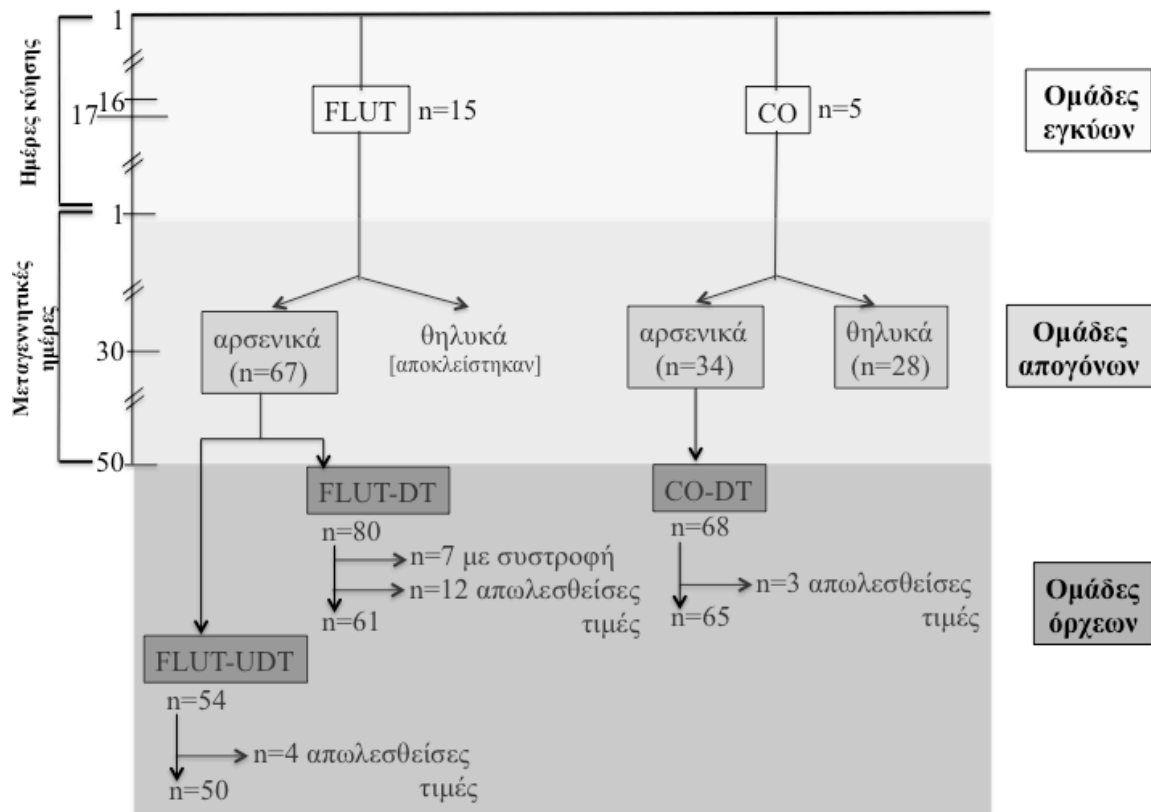
## II.2.β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΟΜΑΔΕΣ

### *Ομάδες έγκυων επίμυων*

Θηλυκοί επίμυες ηλικίας 10 εβδομάδων σε φάση οίστρου (n=20) φιλοξενήθηκαν μαζί με αρσενικούς επίμυες αναπαραγωγικής ηλικίας για 24 ώρες. Η ανίχνευση του οίστρου έγινε με κυτταρολογική εξέταση Παπανικολάου κολπικού επιχρίσματος [Hubscher CH *et al.* 2005]. Η σύλληψη επιβεβαιώθηκε με ανίχνευση σπερματοζωαρίων σε κολπικό επίχρισμα που ελήφθη από τους θηλυκούς επίμυες το πρωί μετά το εικοσιτετράωρο συγκατοίκησης με τους αρσενικούς επίμυες. Ως ημέρα κύησης 1 ορίστηκε η ημέρα ανίχνευσης σπέρματος στο κολπικό επίχρισμα [Husmann DA & McPhaul MJ 1991].

Ο σχεδιασμός της μελέτης, όσον αφορά τις πειραματικές ομάδες, παρουσιάζεται στην **Εικόνα 11**. Οι έγκυοι επίμυες χωρίστηκαν με τυχαίο τρόπο σε δύο ομάδες θεραπείας με αναλογία 3:1 αντίστοιχα: Α) έγκυοι επίμυες που υπεβλήθησαν σε θεραπεία με φλουταμίδη κατά τις ημέρες κύησης 16-17 και Β) έγκυοι επίμυες που υπεβλήθησαν σε θεραπεία με το μέσο διάλυσης της φλουταμίδης τις ημέρες κύησης 16-17 (έγκυοι μάρτυρες). Η φλουταμίδη είναι ένα μη στεροειδές αντιανδρογόνο που προκαλεί μέγιστη αναστολή της καθόδου του όρχη (δηλαδή αναστολή της καθόδου του όρχη στο μέγιστο αριθμό απογόνων) όταν χορηγείται τις ημέρες κύησης 16-17 [Husmann DA & McPhaul MJ 1991]. Η φλουταμίδη [FLUT, flutamide (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)] χορηγήθηκε υποδορίως στη μέγιστη καλά ανεκτή δόση των 100 mg/kg/ημέρα [Husmann DA & McPhaul MJ 1991], αφού είχε προηγουμένως διαλυθεί σε 100 μL εθανόλης και αναμιχθεί με 900 μL

καλαμποκέλαιο (CO, corn oil). Οι έγκυοι μάρτυρες έλαβαν υποδορίως την ίδια ποσότητα του μέσου διάλυσης της φλουταμίδης μόνον (1 ml μίγματος 9:1 καλαμποκέλαιου/αιθανόλης).



**Εικόνα 11.** Αλγόριθμος που δείχνει το σχεδιασμό της πειραματικής μελέτης και το πώς προέκυψαν οι πειραματικές ομάδες. CO: καλαμποκέλαιο (corn oil), CO-DT: οσχείκοι όρχεις που έχουν εκτεθεί σε καλαμποκέλαιο (corn oil-exposed descended testes), FLUT: φλουταμίδη (flutamide), FLUT-DT: οσχείκοι όρχεις που έχουν εκτεθεί σε φλουταμίδη (flutamide-exposed descended testes), FLUT-UDT: μη κατελθόντες όρχεις μετά από έκθεση σε φλουταμίδη (flutamide-induced undescended testes) [Τροποποιημένη από Mentessidou A *et al.* 2020]

#### Ομάδες απόγονων επίμυων

Οι απόγονοι απογαλακτίστηκαν την ημέρα ζωής 30. Εν συνεχεία χωρίστηκαν στις ακόλουθες ομάδες με βάση το φύλο τους και την προγεννητική θεραπεία: α) αρσενικοί απόγονοι που είχαν εκτεθεί προγεννητικά σε φλουταμίδη, β) αρσενικοί απόγονοι που είχαν εκτεθεί προγεννητικά στο μέσο διάλυσης και γ) θηλυκοί απόγονοι που είχαν εκτεθεί προγεννητικά στο μέσο διάλυσης (Εικ. 11). Οι θηλυκοί απόγονοι που είχαν εκτεθεί προγεννητικά σε φλουταμίδη αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Τη μεταγεννητική ημέρα 50, οι επίμυες όλων των ομάδων απογόνων

υπεβλήθησαν σε αναισθησία (κεταμίνη 100 mg/kg – χλωροπρομαζίνη 2 mg/kg, ενδομυϊκά) και χειρουργική διερεύνηση υπό χειρουργικό μικροσκόπιο (Leica Microsystems, GmbH, Germany). Μετά την ολοκλήρωση της μελέτης των δομών υπό εξέταση, οι επίμυες ευθανατώθηκαν με αφαιμάξη με παρακέντηση της καρδιάς ενόσω βρισκόντουσαν ακόμη υπό αναισθησία.

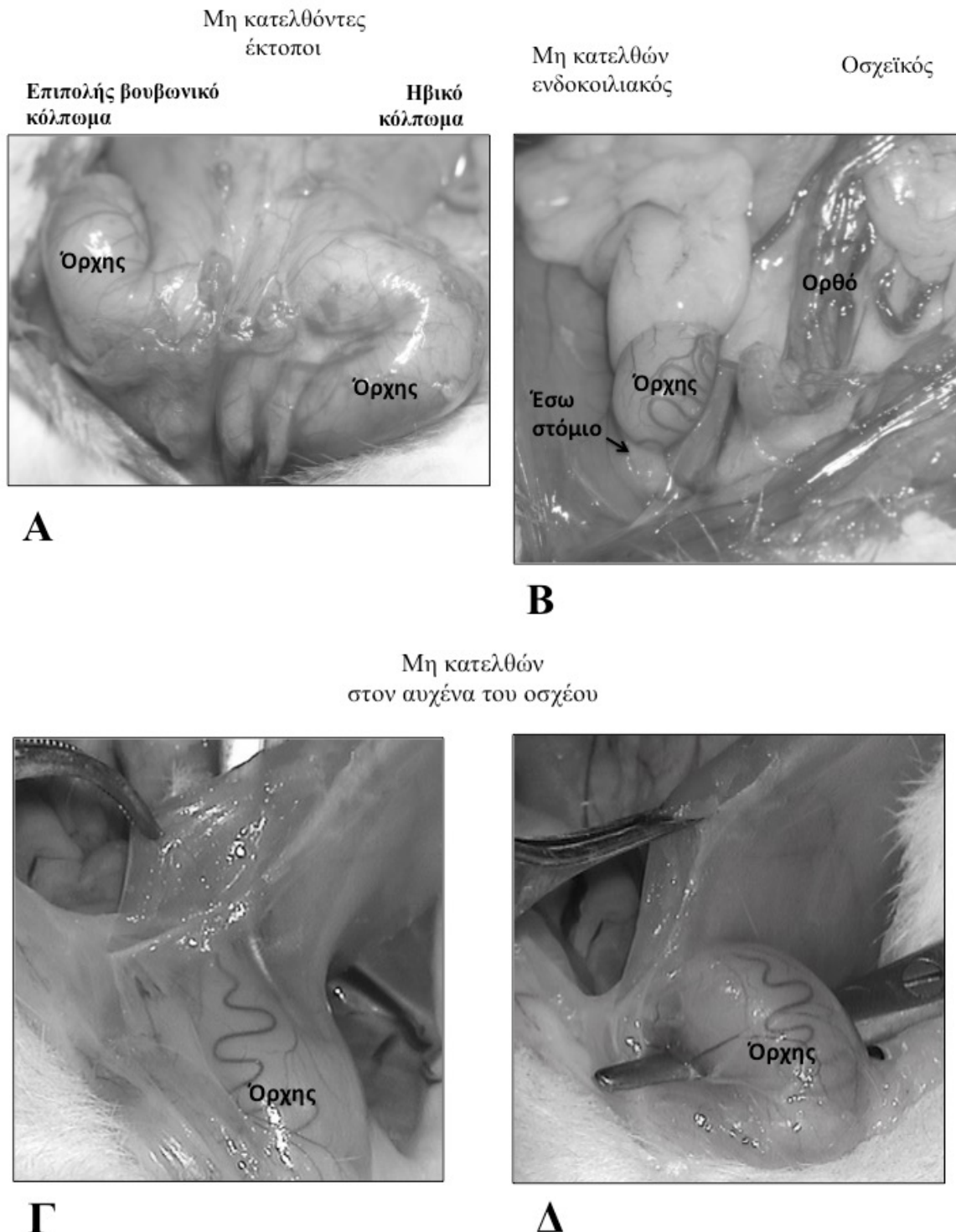
#### *Ομάδες όρχεων (κύριες πειραματικές ομάδες υπό μελέτη)*

Στους αρσενικούς απογόνους (ομάδες απογόνων α-β), έγινε αφαίρεση του δέρματος του κοιλιακού τοιχώματος και της οσχεοβουβωνικής περιοχής αμφοτερόπλευρα και κατεγράφη η θέση των όρχεων αμφοτερόπλευρα. Οι όρχεις, λοιπόν, καταγράφηκαν ως ‘οσχεϊκοί’ ή ως ‘μη κατελθόντες’, με αποτέλεσμα να δημιουργηθούν οι ακόλουθες τρεις κύριες πειραματικές ομάδες όρχεων: i) οι μη κατελθόντες όρχεις μετά από έκθεση σε φλουταμίδη (FLUT-UDT), ii) οι οσχεϊκοί (κατελθόντες) όρχεις μετά από έκθεση σε φλουταμίδη (FLUT-DT) και iii) οι οσχεϊκοί (κατελθόντες) όρχεις μετά από έκθεση σε καλαμποκέλαιο (CO-DT) (Εικ. 11). Όρχεις, κατελθόντες ή μη, με συνυπάρχουσα συστροφή αποκλείστηκαν από τη μελέτη, προκειμένου να αποφευχθεί το οποιοδήποτε πιθανό στατιστικό bias που θα μπορούσαν αλλαγές σχετιζόμενες με τη συστροφή να επιφέρουν στα αποτελέσματα επί του μεσεντερίου των κατελθόντων ή των μη κατελθόντων όρχεων.

Επίσης κατεγράφη η ακριβής θέση των μη κατελθόντων όρχεων (FLUT-UDT), δηλαδή κάθε μη κατελθών όρχης κατεγράφη ως ‘ενδοκοιλιακός’, ‘ενδοκαναλικός’, ‘στον αυχένα του οσχέου’ ή ‘έκτοπος’. Ως έκτοπη θέση ορίστηκε κάθε θέση εκτός οσχέου η οποία βρισκόταν εκτός μονοπατιού της καθόδου.

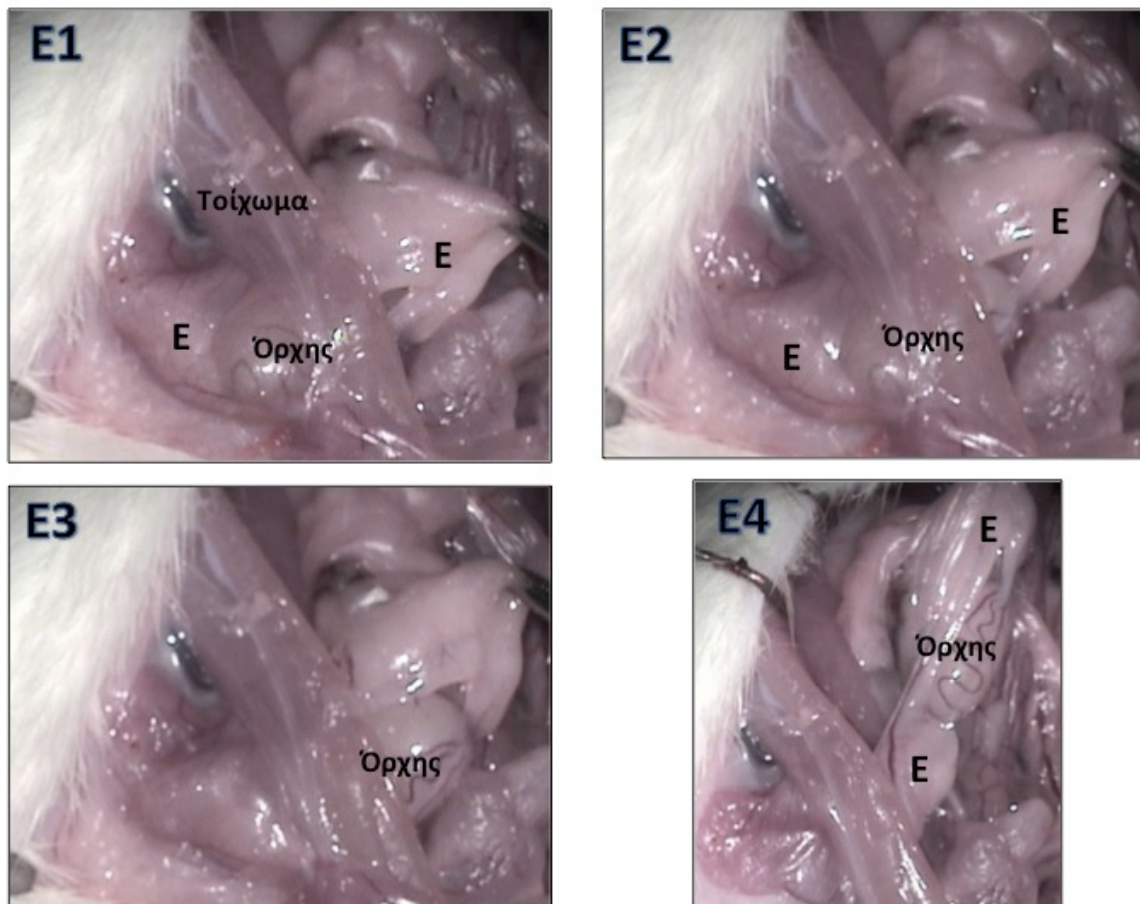
Στη συνέχεια, ακολούθησε λαπαροτομία με μέση υπερυπομφάλιο τομή. Στη λαπαροτομία, επιβεβαιώθηκε κατ’ αρχήν η ακριβής θέση των όρχεων, κυρίως των ενδοκοιλιακών και των ενδοκαναλικών. Ενδεικτικές φωτογραφίες διαφόρων θέσεων μη κατελθόντων όρχεων, κατά την αρχική διερεύνηση της οσχεοβουβωνικής χώρας και κατά τη λαπαροτομία, παρουσιάζονται στην **Εικόνα 12**. Ακολούθησε ενδοκοιλιακή έκθεση του μεσεντερίου όλων των όρχεων αμφοτερόπλευρα με προκαθορισμένο και συστηματοποιημένο τρόπο, προκειμένου να μελετηθεί (βλ. II.3. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟΥ ΣΤΟΝ ΕΠΙΜΥ). Οι όρχεις που είχαν εξέλθει από την κοιλιά ανασπάστηκαν δια της βατής ελυτροειδούς απόφυσης και το μεσεντέριό τους εκπύχθηκε εντός της κοιλιάς, προκειμένου να είναι συγκρίσιμο με αυτό των ενδοκοιλιακών όρχεων.

Τέλος, καταγράφηκαν όλες οι πιθανές ανωμαλίες στην επιδιδυμίδα και στο σπερματικό πόρο αμφοτερόπλευρα και στο πέος όλων των επίμυων.



**Εικόνα 12.** Φωτογραφίες μέσω χειρουργικού μικροσκοπίου από όρχεις επίμυων 50 ημερών μετά από προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδη (ημέρες κύησης 16-17) σε διάφορες θέσεις. **A.** Ο δεξιός όρχης έχει εξέλθει από το έξω στόμιο και έχει ανέλθει στο επιπολής βουβωνικό κόλπωμα, δηλαδή άνωθεν του έξω στομίου επιπολής της απονεύρωσης του έξω λοξού μυός. Ο αριστερός όρχης έχει εξέλθει από

το έξω στόμιο, έχει παρεκκλίνει από την οδό της καθόδου προς τη μέση γραμμή και έχει εισέλθει στο επιπολής ηβικό κόλπωμα παρακείμενα του πέους. **Β**. Ο αριστερός όρχης είναι οσχεϊκός (δεν φαίνεται στη φωτογραφία). Ο δεξιός όρχης, στην αρχική διερεύνηση μετά την αφαίρεση του δέρματος της οσχεοβουβωνικής χώρας, δεν βρέθηκε μέσα στο κανάλι, στον αυχένα του οσχέου, στο όσχεο ή σε έκτοπες θέσεις γύρω από το έξω στόμιο και εξ αποκλεισμού θεωρήθηκε ότι είναι ενδοκοιλιακός. Πράγματι, η λαπαροτομία ανέδειξε τη θέση του δεξιού όρχη εσωτερικά του έσω βουβωνικού στομίου. **Γ-Δ**. Μη κατελθών όρχης στον αυχένα του οσχέου. Ο όρχης έχει εξέλθει πλήρως από το έξω στόμιο και βρίσκεται κατά μήκος της οδού της καθόδου, μεταξύ έξω στομίου και εισόδου του ημισοχέου. Η λαβίδα στην **Γ** εισέρχεται από το έσω στόμιο και διασχίζει το βουβωνικό κανάλι για να επιβεβαιώσει τη θέση του όρχη. Η λαβίδα στην **Δ** περνάει κάτω από τον κρεμαστήρα σάκο για να επιβεβαιώσει ότι ο όρχης βρίσκεται εντός αυτού.



**Εικόνα 12Ε (συνέχεια Εικόνας 12)**. Φωτογραφίες μέσω χειρουργικού μικροσκοπίου από ενδοκαναλικό όρχη. **Ε1**. Ο όρχης δεν έχει εξέλθει από το έξω βουβωνικό στόμιο πλήρως, με το μεγαλύτερο μέρος του να βρίσκεται εντός του τοιχώματος. Συγκεκριμένα, η κεφαλή της επιδιδυμίδας (E στα δεξιά, ανασηκώνεται με λαβίδα) βρίσκεται μέσα στην κοιλιά, ο όρχης βρίσκεται μέσα στο βουβωνικό κανάλι, και η ουρά της επιδιδυμίδας (E στα αριστερά) χαμηλότερα. **Ε2**. Ξεκινάει η ανάσπαση του όρχη εντός της κοιλιάς ασκώντας έλξη στην κεφαλή της επιδιδυμίδας. **Ε3**. Ο όρχης πλέον διακρίνεται περισσότερο μέσα στην κοιλιά. **Ε4**. Ο όρχης και η επιδιδυμίδα (κεφαλή και ουρά)

έχουν ανασπαστεί πλήρως εντός της κοιλιάς, προκειμένου να ακολουθήσει η έκθεση των περιτοναϊκών πτυχών του γεννητικού μεσεντερίου.

#### *Θηλυκοί απόγονοι επίμυες*

Οι θηλυκοί επίμυες της ομάδας απογόνων γ υπεβλήθησαν σε λαπαροτομία με μέση υπερυπομφάλιο τομή και μελέτη των γεννητικών μεσεντερίων αμφοτερόπλευρα (n=56 ημιμόρια) (βλ. II.3. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟΥ ΣΤΟΝ ΕΠΙΜΥ).

#### II.2.γ. ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΥΠΟ ΜΕΛΕΤΗ

Οι κύριες παράμετροι υπό μελέτη αφορούν το γεννητικό μεσεντέριο. Συνίστανται σε μία σειρά διαστάσεων και συγκεκριμένα του μήκους ή πλάτους (mm) των περιτοναϊκών πτυχών του γεννητικού μεσεντερίου και το εμβαδόν (mm<sup>2</sup>) των βασικών περιτοναϊκών φύλλων που το απαρτίζουν. Δευτερεύουσες παράμετροι υπό μελέτη είναι η συχνότητα διάφορων συνοδών ανωμαλιών του γεννητικού συστήματος, όπως υποσπαδία (εγγύς και άπω), απλασίας/υποπλασίας επιδιδυμίδας, απλασίας/υποπλασίας σπερματικού πόρου.

### II.3. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟΥ ΣΤΟΝ ΕΠΙΜΥ

Βασιζόμενοι σε παρατηρήσεις μας από προηγούμενη μελέτη [Mentessidou A & Mirilas P 2020] αλλά και σε παρατηρήσεις μας από στοχευμένη πιλοτική μελέτη σε φυσιολογικούς αρσενικούς και θηλυκούς επίμυες, καθορίσαμε τις διαστάσεις οι οποίες περιγράφουν με τον πληρέστερο τρόπο όλες τις περιτοναϊκές πτυχές του γεννητικού μεσεντερίου στον επίμυ. Όλες οι μετρήσεις των διαστάσεων αυτών ελήφθησαν από έναν ερευνητή, με τη χρήση μικρομέτρου Shock-proof (ακρίβεια 0.02 mm), υπό τη μεγέθυνση χειρουργικού μικροσκοπίου, και με προκαθορισμένο και συστηματοποιημένο τρόπο, όπως αυτός περιγράφεται αναλυτικά παρακάτω.

#### II.3.α. ΣΤΟΝ ΑΡΣΕΝΙΚΟ ΕΠΙΜΥ

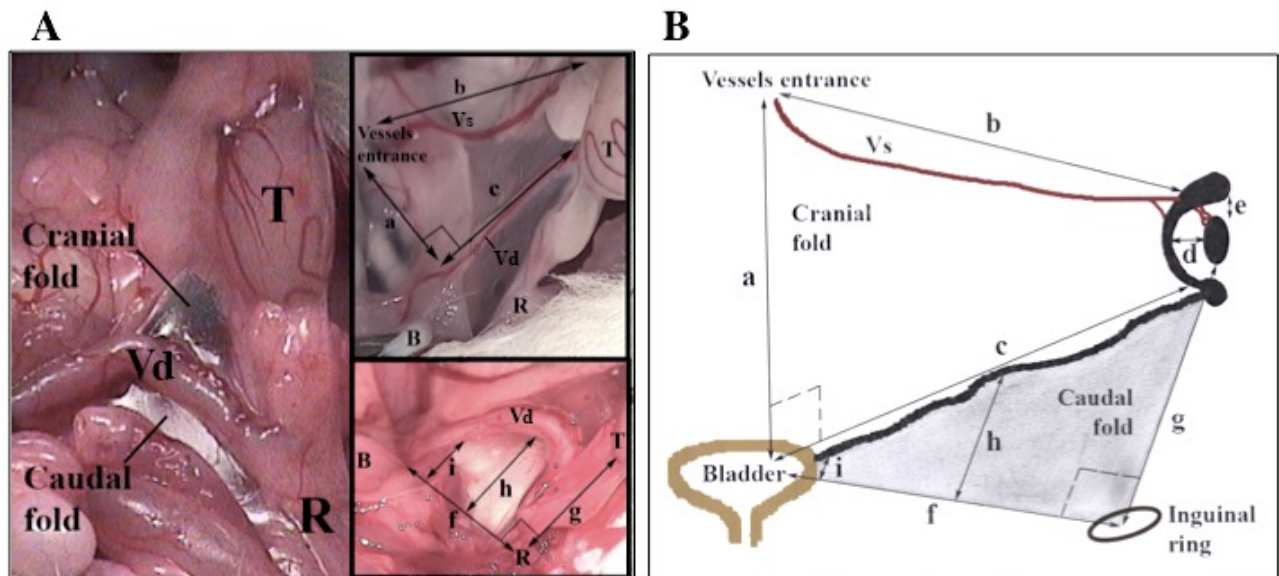
Το μεσεντέριο του όρχη στον επίμυ, εξαιτίας της παραμένουσας βατής ελυτροειδούς απόφυσης εφ' όρου ζωής, προσομοιάζει εφ' όρου ζωής σε γεννητικό μεσεντέριο εμβρυϊκού τύπου. Αποτελείται από δύο φύλλα περιτοναίου τριγωνικού

σχήματος, ένα κρανιακό πάνω από το σπερματικό πόρο και ένα ουραίο κάτω από το σπερματικό πόρο (**Εικόνα 13**). Ο διαχωρισμός αυτός βασίστηκε στις περιγραφές του Martin για το εμβρυϊκό γεννητικό μεσεντέριο των θηλαστικών [Martin E 1995, Martin E & Rodriguez-Martinez H 1993, Martin E *et al.* 1996]. Τα δύο φύλλα περιτοναίου, κρανιακό και ουραίο, παρότι συναντώνται στο επίπεδο του σπερματικού πόρου, εκτείνονται σε διαφορετικά επίπεδα στον τρισδιάστατο χώρο. Το κρανιακό φύλλο του γεννητικού περιτοναίου εκτείνεται από το οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα προς τη μονάδα όρχη/επιδιδυμίδας και το σπερματικό πόρο. Το ουραίο φύλλο εκτείνεται από το σπερματικό πόρο και τη μονάδα όρχη/επιδιδυμίδας προς το πυελικό έδαφος. Ως εκ τούτου, η πλήρης έκπτυξη του κάθε φύλλου, προκειμένου να επιτευχθεί ακριβής μέτρηση των διαστάσεων που το περιγράφουν, έγινε ξεχωριστά, όπως αναλύεται στη συνέχεια:

Αφού ανασηκωθεί ο όρχης από την κοιλιά σε θέση μέγιστης έκπτυξης του κρανιακού φύλλου, στην οποία θέση ο άξονας του (ευθειασμένου) σπερματικού πόρου είναι κάθετος με τη γραμμή των περιτοναϊκών προσφύσεων στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα, γίνεται καταμέτρηση των διαστάσεων 'a' έως και 'e' (**Εικόνα 13A**, άνω ένθετο, και **B**). Η διάσταση 'a' είναι η απόσταση του πιο κρανιακού σημείου των προσφύσεων στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα από το περιφερικό άκρο του σπερματικού πόρου πίσω από την ουροδόχο κύστη. Η πιο κρανιακή πρόσφυση του γεννητικού περιτοναίου στους φυσιολογικούς άρρενες επίμυες εντοπίζεται στο σημείο που εισέρχονται στο κρανιακό φύλλο τα έσω σπερματικά αγγεία. Η διάσταση 'b' είναι η απόσταση μεταξύ της πιο κρανιακής πρόσφυσης στο οπίσθιο τοίχωμα και της κεφαλής της επιδιδυμίδας. Η διάσταση 'c' είναι το μήκος του ευθειασμένου σπερματικού πόρου. Οι αποστάσεις μεταξύ όρχη και σώματος ('d') ή κεφαλής ('e') της επιδιδυμίδας περιγράφουν τον περιτοναϊκό σύνδεσμο μεταξύ όρχη και επιδιδυμίδας, που είναι τμήμα του κρανιακού φύλλου του γεννητικού περιτοναίου.

Ακολούθως, με την έλξη του όρχη σε κρανιακή κατεύθυνση, έτσι ώστε ο άξονας του συνδέσμου του οίακα να είναι κάθετος με τη γραμμή των περιτοναϊκών προσφύσεων στο πυελικό τοίχωμα, επιτυγχάνεται η μέγιστη έκπτυξη του ουραίου φύλλου και γίνεται καταμέτρηση των διαστάσεων 'f' έως και 'i' (**Εικόνα 13A**, κάτω ένθετο, και **B**). Το ουραίο φύλλο οριοθετείται από την απόσταση μεταξύ έσω βουβωνικού στομίου και περιφερικού άκρου του σπερματικού πόρου πίσω από την ουροδόχο κύστη ('f'), από το μήκος του συνδέσμου του οίακα ('g') και από το σπερματικό πόρο, που εδώ δεν είναι ευθειασμένος αλλά σε ελεύθερη θέση. Η

διάσταση 'i' είναι η κάθετη απόσταση των πυελικών περιτοναϊκών προσφύσεων από το σπερματικό πόρο στο σημείο που αυτός συναντά το πλάγιο όριο της κύστης. Η διάσταση 'h' είναι η κάθετη απόσταση των πυελικών προσφύσεων από το σπερματικό πόρο στη μεσότητά του, και η διάσταση 'g' η απόσταση της πρόσφυσης του ουραίου φύλλου στο έσω στόμιο από τον κάτω πόλο του όρχη. Οι διαστάσεις 'i', 'h' και 'g' αντιστοιχούν σε συνεχόμενες διαστάσεις ύψους του ουραίου φύλλου.



**Εικόνα 13.** Μορφολογία του γεννητικού μεσεντερίου σε φυσιολογικούς αρσενικούς επίμυες μετά την ανάσπαση του όρχη στην κοιλιά (αριστερός όρχης). **A.** Φωτογραφίες από χειρουργικό μικροσκόπιο (σε ηλικία 50 ημερών). Στην κυρίως φωτογραφία της εικόνας (αριστερά), το κρανιακό και το ουραίο φύλλο του γεννητικού περιτοναίου εμφανίζονται ως δύο γυαλιστερές, διαφανείς μεμβράνες. Το πάνω ένθετο (δεξιά) δείχνει το κρανιακό φύλλο σε πλήρη έκπτυξη για μέτρηση των διαστάσεων που το περιγράφουν: ο όρχης ανασηκώνεται έτσι ώστε ο σπερματικός πόρος να ευθειαστεί και να είναι κάθετος με το οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα. Το κάτω ένθετο (δεξιά) δείχνει το ουραίο φύλλο του γεννητικού περιτοναίου το οποίο εκτείνεται από τις πυελικές προσφύσεις του με έλξη του όρχη σε κρανική κατεύθυνση έτσι ώστε ο σύνδεσμος του οίακα να είναι κάθετος στη γραμμή των πυελικών προσφύσεων. Σε αυτή τη θέση, γίνεται καταμέτρηση των διαστάσεων που το περιγράφουν. Τα δύο φύλλα του γεννητικού περιτοναίου είναι σε συνέχεια κατά μήκος του σπερματικού πόρου. Και στα δύο ένθετα, η ουροδόχος κύστη (B) έλκεται προς τα μπροστά, προκειμένου να αναδειχθεί το περιφερικό άκρο του σπερματικού πόρου στον αυχένα της κύστης. **B.** Δισδιάστατη διαγραμματική απεικόνιση της πρόσθιας όψης του γεννητικού μεσεντερίου σε θέση υποθετικής ταυτόχρονης έκθεσης του κρανιακού και του ουραίου φύλλου (κάθε φύλλο εκτείνεται σε διαφορετικό επίπεδο, με τα δύο επίπεδα να διασταυρώνονται στον άξονα του σπερματικού πόρου). Το ουραίο φύλλο του γεννητικού περιτοναίου απεικονίζεται με γκρι χρώμα. Παρατηρήστε ότι στη θέση έκθεσης του κάθε φύλλου, στην οποία ελήφθησαν οι μετρήσεις των διαστάσεών τους, οι γωνίες μεταξύ 'a' και 'c' και μεταξύ 'f' και 'g' είναι



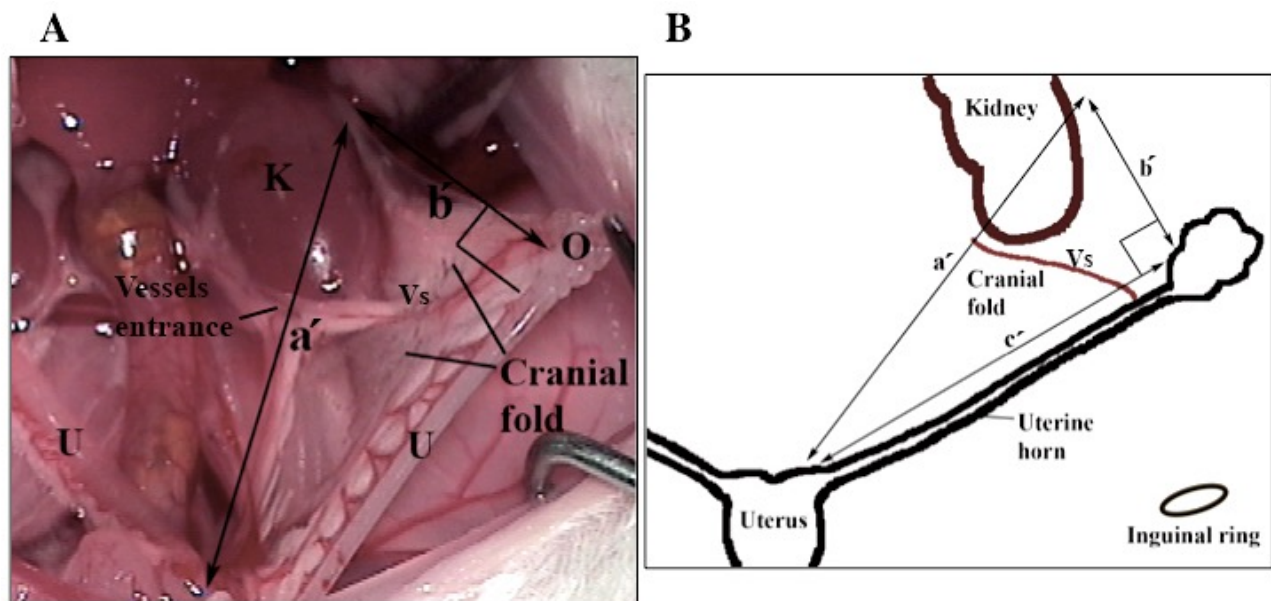
ορθές (όπως απεικονίζεται στο σχέδιο). Ο ορισμός των διαστάσεων 'a'-'i' δίδεται στο κείμενο. R: έσω βουβωνικό στόμιο, T: όρχης, Vd: σπερματικός πόρος, Vs: έσω σπερματικά αγγεία [Από Mentessidou A *et al.* 2020]

Με την παραδοχή ότι το κρανιακό και το ουραίο φύλλο είναι ορθογώνια τρίγωνα, υπολογίστηκαν τα εμβαδά των επιφανειών τους χρησιμοποιώντας τους τύπους  $0.5 \cdot a \cdot c$  και  $0.5 \cdot f \cdot g$  αντίστοιχα. Εδώ θα πρέπει να σημειωθεί, ότι, με αυτό τον τρόπο, υπερεκτιμήθηκε το εμβαδόν και των δύο φύλλων: του κρανιακού φύλλου προσθέτοντας τη μικρή τριγωνική επιφάνεια από τον όρχη μέχρι το σημείο συνάντησης των γραμμών 'b' και 'c', και του ουραίου φύλλου προσθέτοντας τη μικρή επιφάνεια μεταξύ της γραμμής 'c' και του μη ευθειασμένου σπερματικού πόρου (Εικ. 13B). Παρ' όλα αυτά, το λάθος ήταν συστηματικό και δεν επηρέασε τις συγκρίσεις μεταξύ των πειραματικών ομάδων.

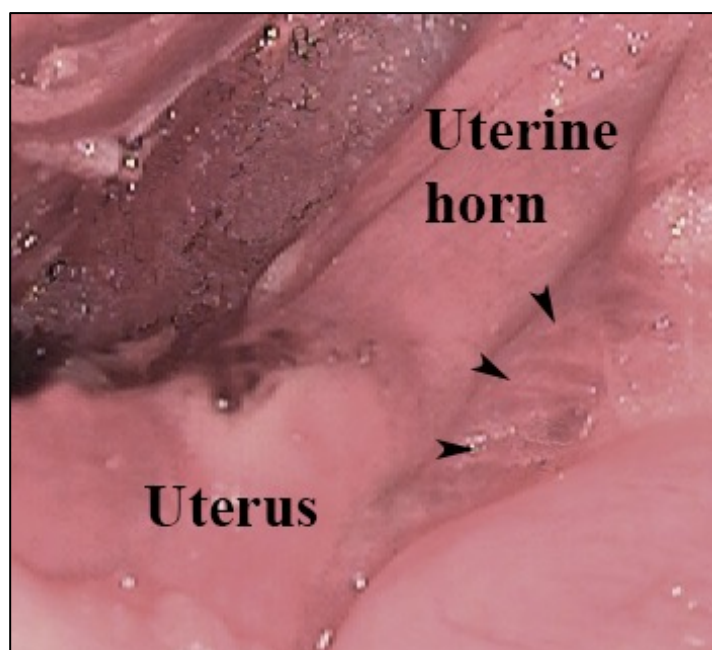
### II.3.β. ΣΤΟΝ ΘΗΛΥΚΟ ΕΠΙΜΥ

Το γεννητικό μεσεντέριο στον θηλυκό επίμυ διαθέτει μόνον κρανιακό φύλλο (**Εικόνα 14**). Δεν υπάρχει περιτοναϊκή πτυχή ομόλογη με το ουραίο φύλλο του γεννητικού μεσεντερίου του άρρενος. Μπορεί να βρεθεί μόνον ένα υπολειμματικό μεσομήτριο, το οποίο συνίσταται σε κάποιες κοντές ίνες με ακτινωτή διάταξη που προσφέρουν μια υποτυπώδη πρόσφυση του σώματος και του κατώτερου τμήματος του κέρατος της μήτρας στο πυελικό έδαφος (**Εικόνα 15**).

Το κρανιακό φύλλο οριοθετείται από τις διαστάσεις 'a'-'c' (**Εικόνα 14**). Η διάσταση 'a' είναι η απόσταση του πιο κρανιακού σημείου των προσφύσεων στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα από το σώμα της μήτρας στο σημείο συνένωσης των δύο κεράτων της μήτρας. Η διασταση 'b' είναι η απόσταση μεταξύ της πιο κρανιακής πρόσφυσης στο οπίσθιο τοίχωμα και της ωοθήκης. Η διάσταση 'c' αντιστοιχεί στο μήκος του κέρατος της μήτρας. Σε αντίθεση με το γεννητικό μεσεντέριο του άρρενος, η πιο κρανιακή πρόσφυση του γεννητικού μεσεντερίου στο θήλυ βρίσκεται πλάγια και άνω του νεφρού, δηλαδή υψηλότερα από το σημείο εισόδου των γοναδικών αγγείων στο γεννητικό μεσεντέριο. Οι διαστάσεις μετρήθηκαν σε θέση μέγιστης έκπτυξης του κρανιακού περιτοναϊκού φύλλου, στην οποία οι διαστάσεις 'b' και 'c' ήταν κάθετες μεταξύ τους.



**Εικόνα 14.** Μορφολογία του γεννητικού μεσεντερίου σε φυσιολογικούς θηλυκούς επίμυες (αριστερή ωοθήκη). **A.** Φωτογραφία από χειρουργικό μικροσκόπιο (σε ηλικία 50 ημερών) που απεικονίζει την παρουσία κρανιακού περιτοναϊκού φύλλου και την απουσία ουραίου περιτοναϊκού φύλλου. Η ωοθήκη ανασηκώνεται και έλκεται προς τα πλάγια, προκειμένου να εκπτυχθεί πλήρως το κρανιακό φύλλο. **B.** Δισδιάστατη διαγραμματική απεικόνιση της πρόσθιας όψης του γεννητικού μεσεντερίου σε θέση πλήρους έκπτυξης. Ο ορισμός των διαστάσεων 'a'-'c' δίδεται στο κείμενο. K: νεφρός, O: ωοθήκη, U: κέρασ της μήτρας, Vs: γοναδικά αγγεία [Από Mentessidou A *et al.* 2020]



**Εικόνα 15.** Φωτογραφία από χειρουργικό μικροσκόπιο που δείχνει τη διαμόρφωση των ινών του υπολειμματικού μεσομητρίου (κεφαλές βέλους) του σώματος (uterus) και του κατώτερου τμήματος του κέρατος της μήτρας (uterine horn) σε μεγάλη μεγέθυνση. [Από Mentessidou A *et al.* 2020]

Το εμβαδόν της επιφάνειας του κρανιακού φύλλου εκτιμήθηκε χρησιμοποιώντας τον τύπο  $0.5 \cdot b \cdot c'$ , με την παραδοχή ότι το κρανιακό φύλλο αντιστοιχεί σε τέλειο ορθογώνιο τρίγωνο.

## II.4. ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Έλεγχος κανονικότητας έγινε με το Shapiro-Wilk test. Οι συγκρίσεις των διαστάσεων και των εμβαδών του γεννητικού μεσεντερίου μεταξύ δύο ομάδων έγιναν με t test επί δεδομένων με κανονική κατανομή και με Mann-Whitney U test επί δεδομένων με μη κανονική κατανομή. Οι συγκρίσεις μεταξύ τριών ή περισσότερων ομάδων έγιναν με ANOVA και Games-Howell post hoc test επί κανονικής κατανομής των δεδομένων και με Kruskal-Wallis H test και Dunn post hoc test επί μη κανονικής κατανομής. Ο έλεγχος για διαφορές στις συχνότητες των συνοδών ανωμαλιών (πέους, επιδιδυμίδα, σπερματικού πόρου) μεταξύ ομάδων έγινε με Pearson Chi-square test.

Διχοτομική λογιστική παλινδρόμηση (binary logistic regression analysis) χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση της σχέσης μεταξύ αποτυχίας της καθόδου του όρχη (συμβάν ενδιαφέροντος) και των διαστάσεων του γεννητικού μεσεντερίου (ανεξάρτητες μεταβλητές), καθώς επίσης για τη διερεύνηση της επίδρασης της μεταβολής σε κάθε διάσταση του γεννητικού μεσεντερίου στην πιθανότητα αποτυχίας της καθόδου του όρχη, με ταυτόχρονο έλεγχο των συγκεχυμένων μεταβλητών (control for confounding effects). Στη συνέχεια, χρησιμοποιήθηκε η πολυωνυμική λογιστική παλινδρόμηση (multinomial logistic regression analysis) για τη διερεύνηση της επίδρασης κάθε μίας εκ των 'σημαντικών' διαστάσεων (όπως αυτές προέκυψαν από τη διχοτομική λογιστική παλινδρόμηση) στην πιθανότητα να καταλάβει ο όρχης κρυπορχική ή έκτοπη θέση έναντι οσχεϊκής θέσης. Οι απαραίτητες προϋποθέσεις της λογιστικής παλινδρόμησης (απουσία συγγραμμικότητας μεταξύ των ανεξάρτητων μεταβλητών, γραμμικότητα μεταξύ μεταβλητών και log odds, λόγος αριθμού περιπτώσεων ανά μεταβλητή > 10:1) [Barton B & Peat J 2014] πληρούνταν σε όλα τα μοντέλα λογιστικής παλινδρόμησης που χρησιμοποιήθηκαν. Οι περιπτώσεις ατόμων με απωλεσθείσες τιμές (missing values) σε έστω και μία εκ των διαστάσεων του γεννητικού μεσεντερίου αποκλείστηκαν εξ ολοκλήρου από την ανάλυση (listwise deletion), προκειμένου να αποφευχθεί το στατιστικό bias που πιθανώς να προέκυπτε από την παραγωγή αποτελεσμάτων με βάση τις εναπομείνουσες

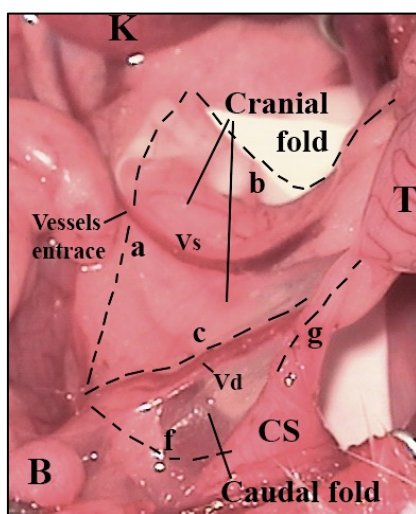
διαστάσεις [Barton B & Peat J 2014]. Οι απωλεσθείσες τιμές ήταν τυχαίες απώλειες κατά την καταγραφή των δεδομένων και ο αποκλεισμός των περιπτώσεων με απωλεσθείσες τιμές δεν επηρέασε σημαντικά το μέγεθος δείγματος (<10% μείωση) ή τις προϋποθέσεις για το μέγεθος δείγματος των στατιστικών μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν.

Η στατιστική ανάλυση έγινε σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας 5%. Τα προγράμματα που χρησιμοποιήθηκαν είναι: IBM SPSS Statistics for Macintosh, version 25.0 και StataCorp. 2013. Stata Statistical Software. Release 13. College Station, TX: StataCorp LP.

### III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

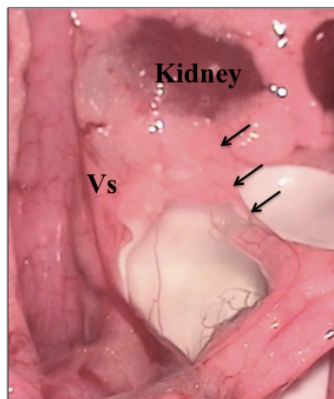
Οι τελικοί πληθυσμοί των ομάδων απογόνων φαίνονται στην Εικόνα 11. Από τους 67 αρσενικούς απογόνους που εκτέθηκαν προγεννητικά σε φλουταμίδη, 12 είχαν αμφοτερόπλευρα μη κατελθόντες όρχεις (σύνολο 24 μη κατελθόντων όρχεων), 30 είχαν μονόπλευρα μη κατελθόντες όρχεις (σύνολο 30 μη κατελθόντων όρχεων και 30 κατελθόντων όρχεων), και 25 είχαν αμφοτερόπλευρα οσχεϊκούς όρχεις (σύνολο 50 οσχεϊκών όρχεων). Επομένως, στις πειραματικές ομάδες όρχεων προέκυψε το συνολικό δείγμα των 54 μη κατελθόντων όρχεων (FLUT-UDT) και των 80 οσχεϊκών όρχεων (FLUT-DT). Από τους 54 μη κατελθόντες όρχεις, οι 37 ήταν κρυφορχικοί (FLUT-UDT cry), 24 σε υψηλή κρυφορχική θέση (ενδοκοιλιακή (n=7), ενδοκαναλική (n=17)) και 13 σε χαμηλή κρυφορχική θέση (στον αυχένα του οσχέου), και οι 17 ήταν έκτοποι (FLUT-UDT ectopic) (11 στο επιπολής βουβωνικό κόλπωμα, 5 στο επιπολής ηβικό κόλπωμα και 1 στο επιπολής μηριαίο κόλπωμα).

Το μεσεντέριο των όρχεων που είχαν εκτεθεί σε φλουταμίδη, οσχεϊκών και μη κατελθόντων, εμφάνιζε μακροσκοπικά πιο πλατύ κρανιακό φύλλο από αυτό των φυσιολογικών επίμυων, με την πιο κρανιακή πρόσφυση στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα να εντοπίζεται υψηλότερα από το σημείο εισόδου των έσω σπερματικών αγγείων, υψηλότερα δηλαδή του σημείου της πιο κρανιακής πρόσφυσης στους φυσιολογικούς επίμυες, και με ανώμαλα πλατύ σύνδεσμο μεταξύ όρχη και επιδιδυμίδας (Εικόνες 16, 17).

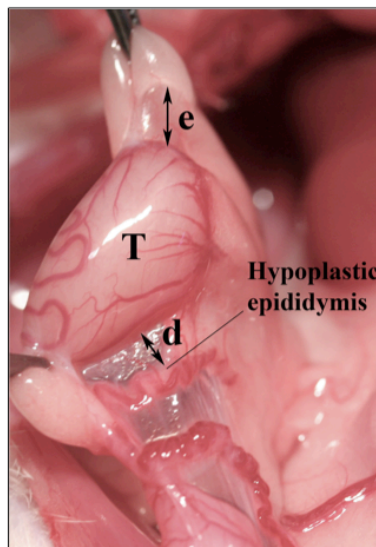


**Εικόνα 16.** Μορφολογία του γεννητικού μεσεντερίου σε αρσενικούς επίμυες μετά από προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδη. Φωτογραφία μέσω χειρουργικού μικροσκοπίου από αριστερό οσχεϊκό όρχη, ο

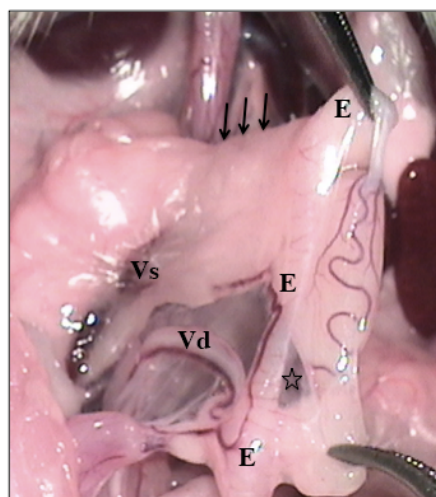
οποίος έχει ανασπαστεί στην κοιλιά μέσω της βαθιάς ελυτροειδούς απόφυσης (ηλικία 50 ημερών). Το περίγραμμα του κρανιακού και του ουραίου φύλλου του γεννητικού περιτοναίου έχει σημειωθεί στην εικόνα με διακεκομμένη διαγράμμιση (μη πλήρης έκπτυξη των φύλλων εδώ). Ο κρεμαστήρας σάκος (CS) έχει αναστραφεί μέσω της ελυτροειδούς απόφυσης εντός της κοιλιάς ασκώντας έλξη στον όρχη, προκειμένου να εκτεθεί σε όλο το μήκος του ο σύνδεσμος του οίακα ('g'), που προσφύεται στον πυθμένα του σάκου. Παρ' ότι οι διαστάσεις υπό μελέτη παρουσιάζονται στην εικόνα για λόγους κατανόησης, επισημαίνεται ότι η μέτρηση αυτών έγινε στις θέσεις πλήρους έκπτυξης του κρανιακού και του ουραίου φύλλου που παρουσιάζονται στην Εικόνα 13A. B: ουροδόχος κύστη, K: νεφρός, T: όρχης, Vd: σπερματικός πόρος, Vs: έσω σπερματικά αγγεία [Από Mentessidou A *et al.* 2020]



**A**



**B**



**Γ**

**Εικόνα 17.** Φωτογραφίες μέσω χειρουργικού μικροσκοπίου που δείχνουν τα ιδιαίτερα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά του κρανιακού φύλλου του γεννητικού περιτοναίου σε αρσενικούς επίμυες με προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδη. **A.** Πλατύ κρανιακό φύλλο με την πιο κρανιακή πρόσφυση (βέλη) στην περινεφρική χώρα, υψηλότερα του σημείου εισόδου των έσω σπερματικών αγγείων (Vs)

στο γεννητικό μεσεντέριο (αριστερός ενδοκοιλιακός όρχης, δεν φαίνεται στην εικόνα). **B.** Πλατύ κρανιακό φύλλο με έντονα πλατείς επιμέρους συνδέσμους, όπως ο σύνδεσμος μεταξύ όρχη-επιδιδυμίδας (δεξιός έκτοπος όρχης που έχει ανασπαστεί στην κοιλιά). Ο επιδιδυμο-ορχικός διαχωρισμός εξαιτίας του πλατέος επιδιδυμο-ορχικού συνδέσμου είναι έκδηλος. Η επιδιδυμίδα και ο σπερματικός πόρος εμφανίζουν υποπλασία. **T:** όρχης, 'd': πλάτος συνδέσμου μεταξύ όρχη-σώματος επιδιδυμίδας, 'e': πλάτος συνδέσμου μεταξύ όρχη-κεφαλής επιδιδυμίδας **Γ.** Κρανιακή πρόσφυση υψηλότερα της εισόδου των έσω σπερματικών αγγείων (Vs) και πλατύς επιδιδυμο-ορχικός σύνδεσμος (αστερίσκος) στο πλατύ κρανιακό φύλλο του γεννητικού περιτοναίου (αριστερός οσχεϊκός όρχης που έχει ανασπαστεί στην κοιλιά). **E:** επιδιδυμίδα (κεφαλή: άνω E, σώμα: μεσαίο E, ουρά: κάτω E), **Vd:** σπερματικός πόρος

Παρ' όλα αυτά, το μεσεντέριο των όρχεων που είχαν εκτεθεί σε φλουταμίδη διατηρούσε το ίδιο σχήμα και την ίδια σχετική θέση των περιτοναϊκών πτυχών που το απαρτίζουν με αυτό των φυσιολογικών επίμυων. Έτσι, η καταμέτρηση και μελέτη των διαστάσεων, όπως αυτές είχαν προκαθοριστεί στο μεσεντέριο των όρχεων φυσιολογικών επίμυων, ήταν εφικτή.

Το τελικό μέγεθος δείγματος των πειραματικών ομάδων των όρχεων που χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση των διαστάσεων και των εμβαδών του γεννητικού μεσεντερίου, μετά την αφαίρεση των περιπτώσεων με συνυπάρχουσα συστροφή και των περιπτώσεων με απωλεσθείσες τιμές (βλ. II. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ), φαίνεται στην Εικόνα 11. Το μεσεντέριο του όρχη δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ αριστερού και δεξιού ημιμορίου ως προς τα εμβαδά επιφανείας του κρανιακού και του ουραίου φύλλου και στις τρεις πειραματικές ομάδες όρχεων (**Πίνακας 1**). Επομένως, τα γεννητικά μεσεντέρια των δύο ημιμορίων εξετάστηκαν από κοινού.

**Πίνακας 1.** Εμβαδά επιφανείας (mm<sup>2</sup>) του κρανιακού (άνω) και του ουραίου (κάτω) φύλλου του γεννητικού μεσεντερίου στο αριστερό και δεξιό ημιμόριο στις ομάδες των όρχεων

	CO-DT			FLUT-DT			FLUT-UDT		
	Αριστερά (n=34)	Δεξιά (n=31)	<i>p</i>	Αριστερά (n=31)	Δεξιά (n=30)	<i>p</i>	Αριστερά (n=29)	Δεξιά (n=21)	<i>p</i>
	Mean	Mean		Mean	Mean		Mean	Mean	
	95% CIs	95% CIs		95% CIs	95% CIs		95% CIs	95% CIs	
<b>ΑΝΩ ΕΜΒΑΔΟΝ</b>	49.6	58.1	0.23	142.0	175.7	0.12	191.1	247.3	0.08
<b>ΚΑΤΩ ΕΜΒΑΔΟΝ</b>	42.0-57.3	48.5-67.7		112.6-171.6	141.5-210.1		146.7-235.6	200.4-294.4	
<b>ΑΝΩ ΕΜΒΑΔΟΝ</b>	66.1	70.6	0.06	53.7	60.7	0.15	38.7	46.4	0.07
<b>ΚΑΤΩ ΕΜΒΑΔΟΝ</b>	56.6-75.4	63.6-77.7		47.7-59.8	53.1-68.4		32.0-45.4	38.5-54.3	

95% CIs: 95% Confidence Intervals, *p*: t test ή Mann-Whitney U test, αναλόγως της κανονικότητας,

για τη σύγκριση των εμβαδών επιφανείας μεταξύ αριστερού και δεξιού ημιμορίου σε κάθε πειραματική ομάδα

[Με τροποποιήσεις από Mentessidou A *et al.* 2020]

### III.1. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΦΛΟΥΤΑΜΙΔΗΣ ΣΤΟ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟ ΤΩΝ ΟΣΧΕΪΚΩΝ ΟΡΧΕΩΝ (FLUT-DT)

Το εμβαδόν επιφανείας του κρανιακού φύλλου του γεννητικού μεσεντερίου ήταν σημαντικά μεγαλύτερο στην ομάδα FLUT-DT από την ομάδα CO-DT (Kruskal-Wallis,  $H = 93.10$ ,  $p < 0.0001$ , Dunn's post hoc test,  $p < 0.0001$ ) (Εικόνα 18). Συγκεκριμένα, οι διαστάσεις 'a'-'c' είχαν σημαντικά μεγαλύτερο μήκος στην ομάδα FLUT-DT από την ομάδα CO-DT (Πίνακας 2), εύρημα που δείχνει ότι το κρανιακό φύλλο του μεσεντερίου του όρχη που έχει εκτεθεί προγεννητικά σε φλουταμίδη είναι σημαντικά μεγαλύτερο προς όλες τις κατευθύνσεις. Επίσης, ο σύνδεσμος μεταξύ όρχη και επιδιδυμίδας ήταν πλατύτερος στην ομάδα FLUT-DT, καθώς οι διαστάσεις 'd' και 'e' είχαν σημαντικά μεγαλύτερο μήκος (Πίνακας 2).

**Πίνακας 2.** Διαστάσεις (mm) του μεσεντερίου οσχεϊκών όρχων με έκθεση σε καλαμποκέλαιο (CO-DT) και οσχεϊκών όρχων με έκθεση σε φλουταμίδη (FLUT-DT)

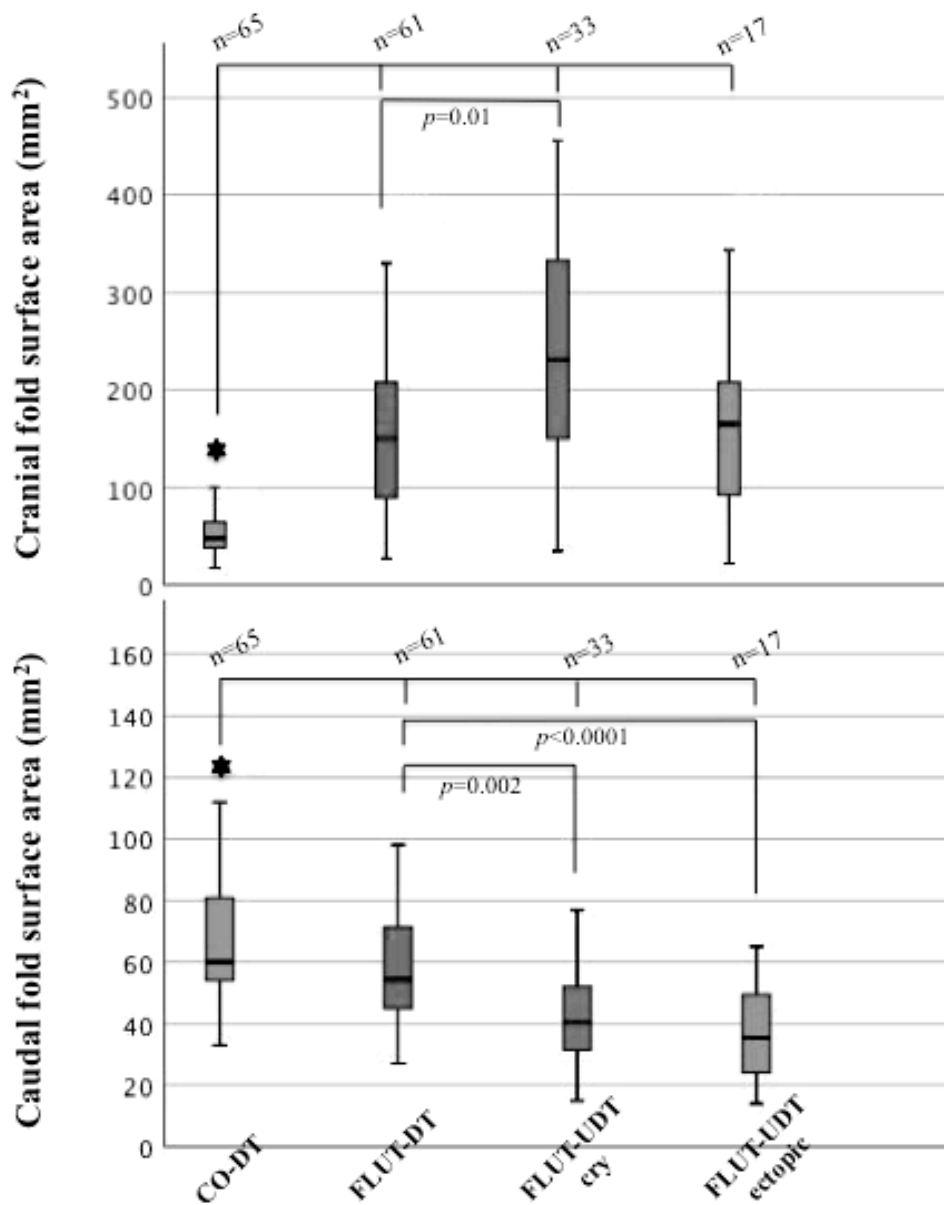
Διαστάσεις μεσεντερίου όρχη (mm)	CO-DT (n=65)		FLUT-DT (n=61)		p
	mean	95% CIs	mean	95% CIs	
<b>Κρανιακό φύλλο</b>					
'a'	9.7	9.0-10.4	25.5	22.6-28.4	<0.0001
'b'	40.6	39.2-42.1	55.5	53.7-57.3	<0.0001
'c'	10.8	10.0-11.6	12.6	11.5-13.7	0.01
'd'	1.3	1.0-1.5	3.6	3.0-4.2	<0.0001
'e'	1.4	1.2-1.5	2.5	2.1; 2.9	<0.0001
<b>Ουραίο φύλλο</b>					
'f'	9.1	8.5-9.7	8.3	7.8-8.8	0.08
'g'	14.8	14.2-15.4	13.7	13.1-14.3	0.01
'h'	6.0	5.0-7.1	7.9	7.0-8.9	0.04
'i'	1.2	1.0-1.4	1.9	1.5-2.4	0.01

95% CIs: 95% Confidence Intervals, p: t-test ή Mann-Whitney U test, αναλόγως της κανονικότητας

Ο ορισμός των διαστάσεων 'a'-'i' δίδεται στο κείμενο

[Με τροποποιήσεις από Mentessidou A *et al.* 2020]





**Εικόνα 18.** Διαγράμματα box-and-whisker για τα εμβαδά επιφανείας του κρανιακού (άνω) και του ουραίου (κάτω) φύλλου του γεννητικού μεσεντερίου σε όλες τις πειραματικές ομάδες όρχεων. Τα κουτιά των διαγραμμάτων δείχνουν το διατεταρτημοριακό διάστημα (interquartile range), δηλαδή το διάστημα μεταξύ 25<sup>ου</sup> και 75<sup>ου</sup> εκατοστημορίου της διανομής. Η σκουρόχρωμη οριζόντια γραμμή εντός των κουτιών δείχνει τη διάμεσο τιμή, δηλαδή το 50<sup>ο</sup> εκατοστημόριο. Οι κάθετες μπάρες εκτός των κουτιών εκτείνονται ως το 95<sup>ο</sup> εκατοστημόριο. Στην εικόνα σημαίνονται μόνον οι στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ ομάδων. Οι αστερίσκοι υποδηλώνουν ότι η ομάδα CO-DT διαφέρει σημαντικά από όλες τις υπόλοιπες ομάδες. Για τις υπόλοιπες σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων, αναγράφεται η ακριβής τιμή  $p$  (Kruskal-Wallis και Dunn's post hoc test). [Από Mentessidou A *et al.* 2020]

Ταυτόχρονα, η ομάδα FLUT-DT εμφάνισε σημαντικά μικρότερο εμβαδόν επιφανείας του ουραίου φύλλου του γεννητικού μεσεντερίου σε σύγκριση με την ομάδα CO-DT (Kruskal-Wallis,  $H = 42.90$ ,  $p < 0.0001$ , Dunn's post hoc test,  $p = 0.02$ ) (Εικ. 18). Η μείωση του ουραίου φύλλου οφείλεται σε μείωση κατά την κάθετη κατεύθυνση, δεδομένου ότι οι διαστάσεις 'g', 'h' και 'i' ήταν αυτές που ήταν σημαντικά μειωμένες στην ομάδα FLUT-DT σε σύγκριση με την ομάδα CO-DT (Πίνακας 2).

### III.2. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΦΛΟΥΤΑΜΙΔΗΣ ΣΤΟ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟ ΤΩΝ ΜΗ ΚΑΤΕΛΘΟΝΤΩΝ ΟΡΧΕΩΝ (FLUT-UDT)

#### III.2.α. ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΡΑΝΙΑΚΟΥ ΚΑΙ ΟΥΡΑΙΟΥ ΠΕΡΙΤΟΝΑΪΚΟΥ ΦΥΛΛΟΥ

Οι κρυπορχικοί μη κατελθόντες όρχεις μετά από έκθεση σε φλουταμίδη (FLUT-UDT cry) είχαν σημαντικά μεγαλύτερο κρανιακό φύλλο από τους οσχείκους όρχεις μετά από έκθεση σε φλουταμίδη (FLUT-DT) (Εικ. 18), εύρημα που υποδηλώνει ότι η αύξηση του μεγέθους του κρανιακού φύλλου που προκαλεί η προγεννητική έκθεση στο αντιανδρογόνο μπορεί από ένα σημείο και μετά να σχετίζεται με αποτυχία στην κάθοδο του όρχη. Ταυτοχρόνως, το εμβαδόν επιφανείας του ουραίου φύλλου ήταν σημαντικά μικρότερο στην ομάδα FLUT-UDT cry απ' ότι στην ομάδα FLUT-DT (Εικ. 18), εύρημα που υποδηλώνει ότι η μείωση του μεγέθους του ουραίου φύλλου μετά την προγεννητική έκθεση στο αντιανδρογόνο μπορεί και αυτή από ένα σημείο και μετά να σχετίζεται με αναστολή της καθόδου του όρχη. Όλοι οι κρυπορχικοί όρχεις, σε χαμηλή και σε υψηλή θέση, διέφεραν σημαντικά από την ομάδα FLUT-DT στα εμβαδά επιφανείας του κρανιακού και του ουραίου φύλλου του γεννητικού μεσεντερίου (κρανιακό φύλλο: Kruskal-Wallis,  $H = 12.10$ ,  $p = 0.002$ , Dunn's post hoc tests,  $p = 0.02$  και  $p = 0.003$  αντίστοιχα, ουραίο φύλλο: Kruskal-Wallis,  $H = 13.40$ ,  $p = 0.001$ , Dunn's post hoc tests,  $p = 0.001$  και  $p = 0.02$  αντίστοιχα). Ωστόσο, δεν αναδείχτηκε σημαντική διαφορά μεταξύ χαμηλής κρυπορχικής θέσης (στον αυχένα του οσχέου,  $n=13$ ) και υψηλής κρυπορχικής θέσης (ενδοκαναλική και ενδοκοιλιακή,  $n=20$ ) στο εμβαδόν κανενός από τα δύο φύλλα (Dunn's post hoc tests,  $p = 0.90$  και  $p = 0.23$  αντίστοιχα).

Τα ευρήματα επί του γεννητικού μεσεντερίου των έκτοπων μη κατελθόντων όρχεων μετά από έκθεση σε φλουταμίδη (FLUT-UDT ectopic) ήταν διαφορετικά. Το κρανιακό περιτοναϊκό φύλλο των έκτοπων όρχεων είχε συγκρίσιμο εμβαδόν με αυτό της ομάδας FLUT-DT ( $p = 0.79$ ) και το ουραίο περιτοναϊκό φύλλο αυτών ήταν σημαντικά μικρότερο από αυτό της ομάδας FLUT-DT ( $p < 0.0001$ ) (Εικ. 18). Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι η εκτοπία του όρχη ίσως σχετίζεται μόνον με τη σμίκρυνση του ουραίου φύλλου του γεννητικού περιτοναίου που προκαλεί η προγεννητική έκθεση στο αντιανδρογόνο.

### III.2.β. ΔΙΑΣΤΑΣΕΙΣ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟΥ

Από το σύνολο των διαστάσεων που ελέγχθησαν, μόνον οι διαστάσεις ‘a’ και ‘g’ βρέθηκε να έχουν σημαντική επίδραση στην αποτυχία της καθόδου του όρχη (Πίνακας 3). Η πιθανότητα ένας όρχης με προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδη να αποτύχει να κατέλθει στο όσχεο βρέθηκε να αυξάνεται σημαντικά με υψηλότερες τιμές του ‘a’ (πιο μακρύ ‘a’), ενώ όλες οι άλλες διαστάσεις παρέμεναν σταθερές, και με χαμηλότερες τιμές του ‘g’ (πιο κοντό ‘g’), ενώ οι υπόλοιπες διαστάσεις παρέμεναν σταθερές.

**Πίνακας 3.** Αποτελέσματα διχοτομικής λογιστικής παλινδρόμησης για την επίδραση των διαστάσεων του γεννητικού μεσεντερίου στην αποτυχία της καθόδου του όρχη μετά από προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδη

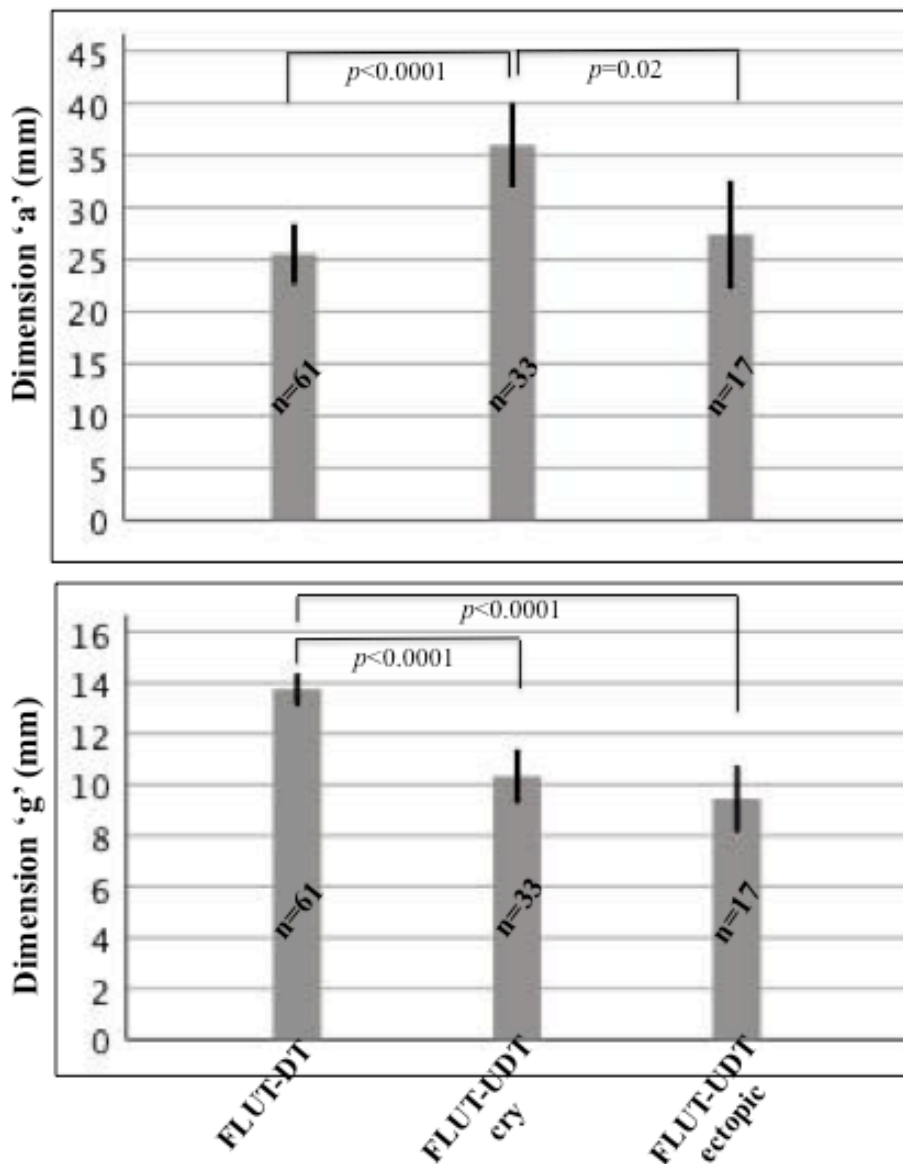
Διαστάσεις γεννητικού μεσεντερίου	Αποτυχία καθόδου (FLUT-UDT, n=50) vs. επιτυχίας καθόδου (FLUT-DT, n=61)					
	ολικό n=111, $\chi^2=67.08$ , pseudo $R^2=0.60$ , $p<0.0001$					
	B	SE B	e <sup>B</sup> (OR)	95% CIs e <sup>B</sup> (OR)	Wald $\chi^2$	P
‘a’	0.13	0.04	1.14	1.05-1.23	9.67	<b>0.002</b>
‘b’						0.21
‘c’						0.79
‘f’						0.90
‘g’	-0.48	0.12	0.62	0.48-0.78	15.27	<b>&lt;0.0001</b>
‘h’						0.06
‘i’						0.35
Constant	7.48	2.63	1772.67		8.04	0.005

B: (unstandardized) regression coefficient, SE B: standard error for B, e<sup>B</sup> (OR): exponentiated (adjusted) B (odds ratio), 95% CIs e<sup>B</sup> (OR): 95% confidence intervals for e<sup>B</sup> (OR)

Ο ορισμός των διαστάσεων ‘a’-‘c’, ‘f’-‘i’ δίδεται στο κείμενο

[Με τροποποιήσεις από Mentessidou A *et al.* 2020]

Οι μη κατελθόντες όρχεις σε κρυορρηκική θέση (FLUT-UDT cry) είχαν σημαντικά πιο μακρύ 'a' και σημαντικά πιο κοντό 'g' από τους όρχεις της ομάδας FLUT-DT (Εικόνα 19). Αντιθέτως, στους μη κατελθόντες όρχεις σε έκτοπη θέση (FLUT-UDT ectopic), μόνο το 'g' διέφερε σημαντικά σε σύγκριση με την ομάδα FLUT-DT (Εικ. 19).



**Εικόνα 19.** Ιστογράμματα των μετρήσεων για τις διαστάσεις 'a' και 'g' του γεννητικού μεσεντηρίου στις πειραματικές ομάδες όρχεων με προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδη. Το ύψος των ιστογραμμάτων δηλώνει τις μέσες τιμές και οι μπάρες αντιστοιχούν σε 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (confidence intervals). Οι σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων παρουσιάζονται με τις αντίστοιχες ακριβείς τιμές  $p$  (ANOVA και Games-Howell post hoc test). Οι μη σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων δεν παρουσιάζονται. [Από Mentessidou A *et al.* 2020]

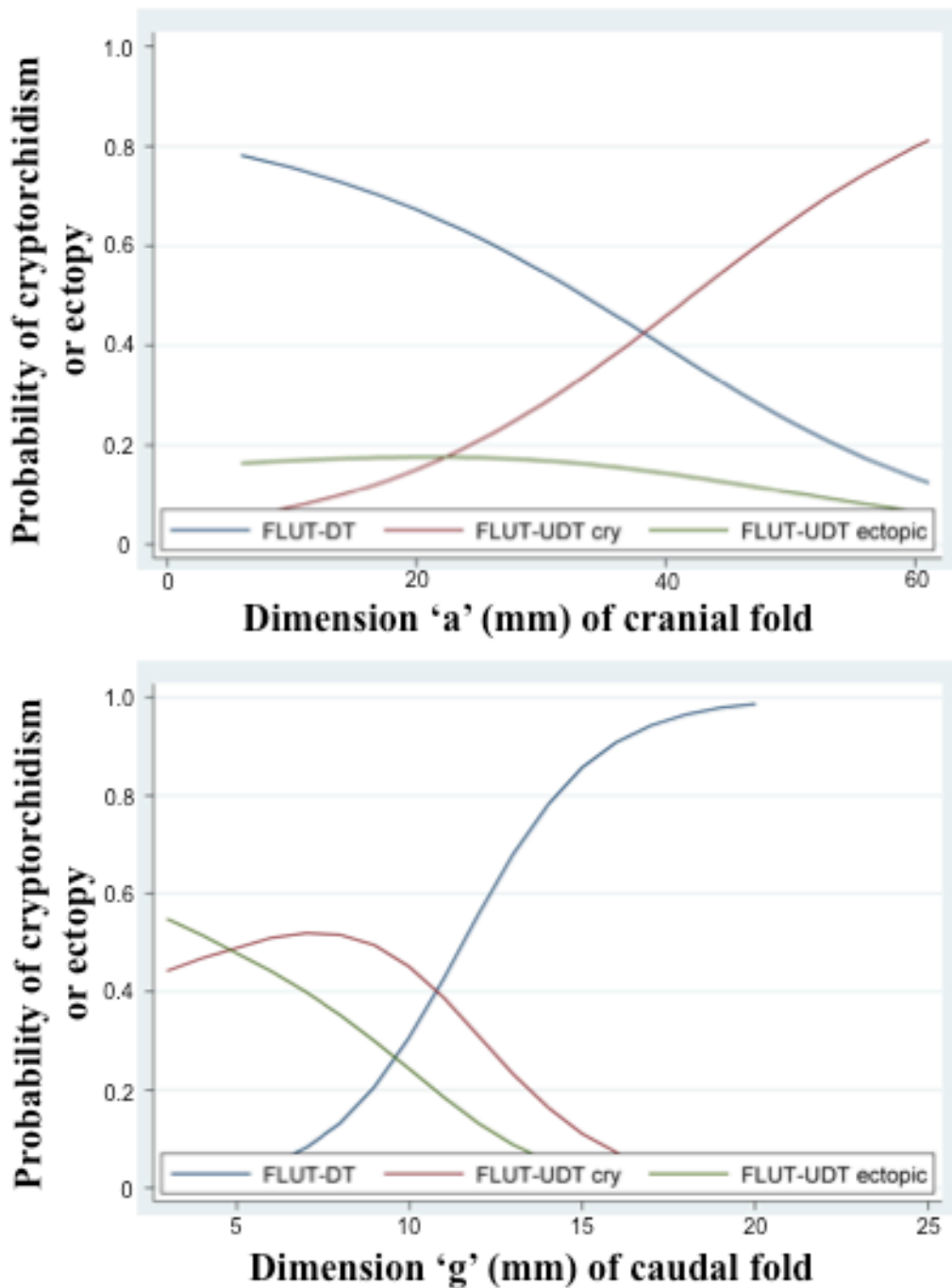
Η αύξηση των τιμών της διάστασης ‘a’ (θετικό B και  $e^B > 1$ , Πίνακας 4) και η μείωση των τιμών της διάστασης ‘g’ (αρνητικό B και  $e^B < 1$ , Πίνακας 4) βρέθηκαν να έχουν σημαντική ανεξάρτητη μεταξύ τους επίδραση στην εμφάνιση κρυπορχίας, ενώ η εμφάνιση εκτοπίας βρέθηκε ότι εξαρτάται μόνον από τη μείωση των τιμών της διάστασης ‘g’ (Πίνακας 4). Ο τρόπος με τον οποίο οι μεταβολές στις διαστάσεις ‘a’ και ‘g’ επηρεάζουν την πιθανότητα ένας όρχης που έχει εκτεθεί προγεννητικά στη φλουταμίδα να βρεθεί σε κρυπορχική ή σε έκτοπη θέση έναντι της πιθανότητας να κατέλθει φυσιολογικά στο όσχεο, με βάση το μοντέλο του Πίνακα 4 που δημιουργήθηκε από τα δεδομένα μας, απεικονίζεται στα γραφήματα της **Εικόνας 20**. Όπως φαίνεται στην εικόνα, η αύξηση των τιμών της διάστασης ‘a’ αυξάνει την πιθανότητα κρυπορχίας, όταν το ‘g’ διατηρείται σταθερό (άνω γράφημα). Επίσης, η μείωση των τιμών της διάστασης ‘g’ αυξάνει την πιθανότητα κρυπορχίας, όταν το ‘a’ διατηρείται σταθερό (κάτω γράφημα). Συνεπώς, καμία από τις δύο αυτές διαστάσεις δεν φαίνεται να μεταβάλλεται ως παθητικό αποτέλεσμα μεταβολής στην άλλη. Αντιθέτως, οι μεταβολές και στις δύο αυτές διαστάσεις, και συγκεκριμένα το μεγάλο μήκος του ‘a’ και το μικρό μήκος του ‘g’, συνεισφέρουν ανεξάρτητα στην εμφάνιση της κρυπορχίας. Από την άλλη μεριά, η πιθανότητα εκτοπίας του όρχη αυξάνεται με τη μείωση των τιμών του ‘g’ (κάτω γράφημα), αλλά παραμένει εντελώς αμετάβλητη με την αύξηση ή μείωση των τιμών του ‘a’ (άνω γράφημα).

**Πίνακας 4.** Αποτελέσματα πολυωνμικής λογιστικής παλινδρόμησης για την επίδραση των διαστάσεων του γεννητικού μεσεντερίου ‘a’ και ‘g’ στη θέση του όρχη μετά από προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδα

Διαστάσεις γεννητικού μεσεντερίου	Εμφάνιση κρυπορχίας (FLUT-UDT cry, n=33) ή εκτοπίας (FLUT-UDT ectopic, n=17) έναντι φυσιολογικής καθόδου στο όσχεο (FLUT-DT, n=61)					
	ολικό n=111, $x^2=64.92$ , pseudo $R^2=0.51$ , $p<0.0001$					
	B	SE B	$e^B$	95% CIs $e^B$	Wald $x^2$	P
<b>Κρυπορχία</b>						
‘a’	0.09	0.02	1.10	1.05-1.16	14.02	<0.0001
‘g’	-0.53	0.11	0.59	0.46-0.73	21.06	<0.0001
Constant	2.87	1.41			4.14	0.04
<b>Εκτοπία όρχη</b>						
‘a’						0.26
‘g’	-0.65	0.13	0.51	0.39-0.67	22.84	<0.0001
Constant	5.60	1.64	11.60			0.001

B: (unstandardized) regression coefficient, SE: standard error for B,  $e^B$ : exponentiated B (odds ratio), 95% CIs B: 95% confidence intervals for  $e^B$

[Με τροποποιήσεις από Mentessidou A *et al.* 2020]



**Εικόνα 20.** Σιγμοειδείς καμπύλες του μοντέλου λογιστικής παλινδρόμησης του Πίνακα 4, οι οποίες απεικονίζουν την πιθανότητα ένας όρχης που έχει εκτεθεί σε φλουταμίδη να αποκτήσει οσχεϊκή θέση (FLUT-DT, n=61), κρυφορχική θέση (FLUT-UDT cry, n=33) ή έκτοπη θέση (FLUT-UDT ectopic, n=17) με βάση τις τιμές από τις μετρήσεις μας για τις διαστάσεις 'a' και 'g' του γεννητικού μεσεντερίου. [Από Mentessidou A *et al.* 2020]

### III.2.γ. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΟ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟ ΘΗΛΕΟΣ

Το γεννητικό μεσεντέριο των (φυσιολογικών) θηλυκών επίμυων δεν είχε ουραίο φύλλο. Επιπλέον, το κρανιακό φύλλο του γεννητικού περιτοναίου του θήλεος είχε σημαντικές δομικές διαφορές από αυτό του άρρενος που είχε εκτεθεί προγεννητικά σε φλουταμίδη. Πρώτον, το μέγεθος του κρανιακού φύλλου στο θήλυ [290.5 (267.6 - 313.4) mm<sup>2</sup>] ήταν σημαντικά μεγαλύτερο από αυτό του κρανιακού φύλλου των κρυσορχικών όρχεων--οι πιο επηρεασμένοι μεταξύ των όρχεων που εκτέθηκαν σε φλουταμίδη--[236.5 (196.3 - 276.6) mm<sup>2</sup>] (t test,  $p = 0.01$ ). Δηλαδή, ακόμη και με τη μέγιστη επίδραση της φλουταμίδης, το κρανιακό φύλλο του κρυσορχη, αν και πλησίασε, δεν απέκτησε το μέγεθος του κρανιακού φύλλου του θήλεος. Δεύτερον, η διάσταση 'b' του γεννητικού μεσεντερίου του θήλεος [18.0 (16.6 - 19.5) mm] είχε σημαντικά μικρότερο μήκος από την ομόλογη διάσταση 'b' του γεννητικού μεσεντερίου του κρυσορχη [55.3 (53.0 - 57.7) mm] (Mann-Whitney U test,  $p < 0.0001$ ). Για την ακρίβεια, μάλιστα, η φλουταμίδη οδήγησε σε πιο μακρύ 'b' σε σύγκριση με το φυσιολογικό άρρεν, και όχι σε πιο κοντό 'b' που θα ήταν περισσότερο συγκρίσιμο με το 'b' του θήλεος.

### III.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΦΛΟΥΤΑΜΙΔΗΣ ΣΕ ΑΛΛΑ ΑΝΔΡΟΓΟΝΟ-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΑ ΟΡΓΑΝΑ

#### III.3.α. ΥΠΟΣΠΑΔΙΑΣ

Υποσπαδίας παρατηρήθηκε σε 55 από τους 67 (82%) επίμυες που είχαν εκτεθεί προγεννητικά σε φλουταμίδη. Σε 31 από αυτούς, ο υποσπαδίας ήταν εγγύς και σε 24 περιφερικός. Ενδεικτικές φωτογραφίες σε σύγκριση με το πέος φυσιολογικού επίμου (μάρτυρα) παρουσιάζονται στην **Εικόνα 21**.

Δεν κατορθώσαμε να αναδείξουμε σημαντικές διαφορές στη συχνότητα του υποσπαδία μεταξύ επίμυων με ή χωρίς αποτυχία στην κάθοδο του όρχη ( $p = 0.75$ ). Ωστόσο, ο υποσπαδίας ήταν συχνότερος σε επίμυες με κρυσορχία από ότι σε επίμυες με εκτοπία όρχη ( $p = 0.01$ ), εύρημα που συνηγορεί υπέρ του ότι οι επίμυες με κρυσορχία είχαν δεχτεί τη μεγαλύτερη επίδραση από το αντιανδρογόνο. Επίσης, οι συχνότερες εγγύς και περιφερικού υποσπαδία δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ επίμυων με χαμηλή και επίμυων με υψηλή κρυσορχία ( $p = 0.11$ ), εύρημα που δεν

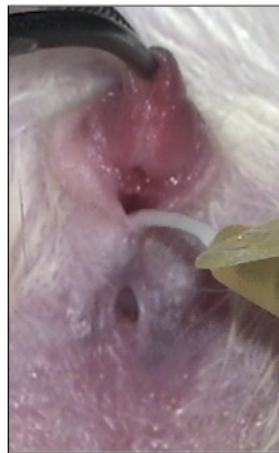
οδήγησε στο να καταφέρουμε να συσχετίσουμε τη βαρύτητα του υποσπαδία με τη βαρύτητα της κρυφορχίας στο πειραματικό μοντέλο μας.



**A**



**B**



**Γ**



**Δ**



**E**

**Εικόνα 21.** Φωτογραφίες από τη μελέτη του υποσπαδία σε αρσενικούς επίμνες ηλικίας 50 ημερών μετά από προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδα (ημέρες κύησης 16-17). **A-B.** Φυσιολογικό πέος (χωρίς υποσπαδία) επίμν με προγεννητική έκθεση σε καλαμπόκελαιο (μάρτυρας) προς σύγκριση. **Γ.**



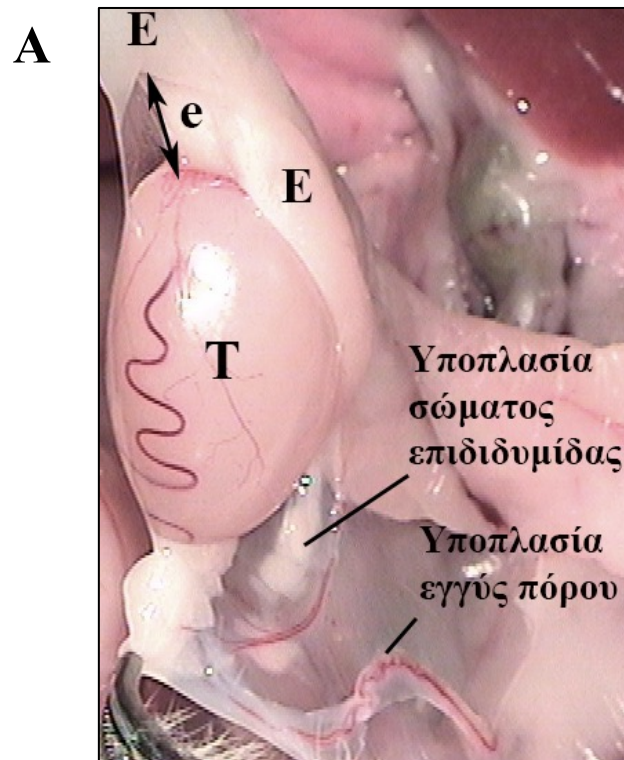
Περιφερικός υποσπαδίας. Το ουρηθρικό στόμιο (στην εικόνα έχει καθετηριαστεί) βρίσκεται στο ύψος της στεφανιαίας αύλακας. Δ-Ε. Εγγύς υποσπαδίας με συνυπάρχον τυφλό κολπικό στόμιο (συχνές συνυπάρχουσες ανωμαλίες σε αρσενικούς επίμυες μετά από προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδη). Στην Δ, ο καθετήρας εισέρχεται στο ουρηθρικό στόμιο, το οποίο βρίσκεται στη βάση του πέους, και προωθείται για ικανό μήκος. Στην Ε, ο καθετήρας εισέρχεται στο κολπικό στόμιο (αδύνατον να προωθηθεί καθώς το στόμιο είναι τυφλό), ενώ άνω (περιφερικά) αυτού φαίνεται το ουρηθρικό στόμιο και η ανοικτή ουρηθρική πλάκα.

### III.3.β. ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΕΠΙΔΙΔΥΜΙΔΑΣ ΚΑΙ ΣΠΕΡΜΑΤΙΚΟΥ ΠΟΡΟΥ

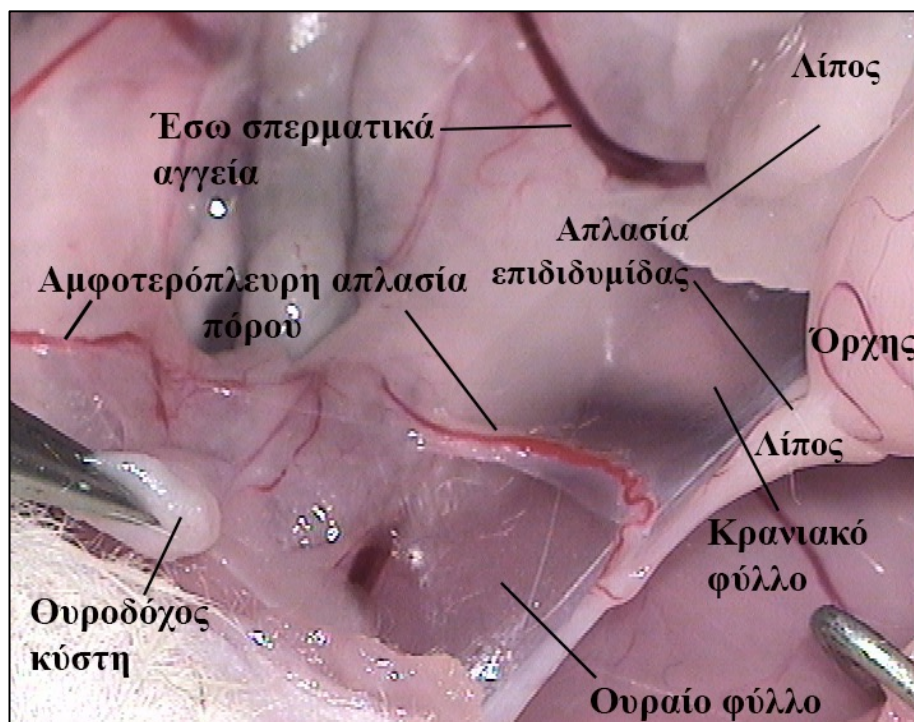
Οι διαταραχές στη ανάπτυξη της επιδιδυμίδας και του σπερματικού πόρου ήταν επίσης συχνές και περιελάμβαναν υποπλασία ή ατρησία τμήματος του οργάνου έως παντελή απουσία όλου του οργάνου. Ενδεικτικές φωτογραφίες παρουσιάζονται στην **Εικόνα 22**. Η συνολική συχνότητα των ανωμαλιών της επιδιδυμίδας και του σπερματικού πόρου ήταν 57.4% και 44.1% αντίστοιχα. Δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στη συχνότητα όλων των τύπων των ανωμαλιών αυτών, συμπεριλαμβανομένων των ανωμαλιών της ουράς της επιδιδυμίδας η οποία διατηρεί στενή σχέση με τον οίακα, μεταξύ οσχεϊκών και μη κατελθόντων όρχεων (**Πίνακας 5**), εύρημα που αποδεικνύει την απουσία συσχέτισης μεταξύ διαταραχών στην ανάπτυξη των παραγώγων του μεσονεφρικού πόρου και αποτυχίας στην κάθοδο του όρχη. Επίσης, δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ κρυπορχικών και έκτοπων όρχεων στη συχνότητα κάποιας από τις παραπάνω ανωμαλίες ( $p > 0.78$ ).

**Πίνακας 5.** Συχνότητες ανωμαλιών της επιδιδυμίδας και του σπερματικού πόρου σε συνδυασμό με επιτυχία ή αποτυχία της καθόδου του όρχη μετά από προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδη [Με τροποποιήσεις από Mentessidou A *et al.* 2020]

	FLUT-DT		FLUT-UDT		<i>p</i> (Chi-square)
	n/N	%	n/N	%	
<b>Επιδιδυμίδα</b>					
Ατρησία/υποπλασία κεφαλής	15/73	20.5	6/54	11.1	0.16
Ατρησία/υποπλασία ουράς	16/73	21.9	18/54	33.3	0.15
Πλήρης απλασία	11/73	15.1	7/54	13.0	0.74
Σύνολο	42/73	57.5	31/54	57.4	0.98
<b>Σπερματικός πόρος</b>					
Ατρησία/υποπλασία εγγύς τμήματος	8/73	11.0	8/54	14.8	0.52
Ατρησία/υποπλασία άπω τμήματος	3/73	4.1	0/54	0.0	-
Πλήρης απλασία	19/73	26.0	18/54	33.3	0.37
Σύνολο	30/73	41.1	26/54	48.1	0.43



**B**



**Εικόνα 22.** Φωτογραφίες από τη μελέτη των ανωμαλιών της επιδιδυμίδας και του σπερματικού πόρου σε αρσενικούς επίμυες ηλικίας 50 ημερών μετά από προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδη (ημέρες κύησης 16-17). **A.** Η κεφαλή της επιδιδυμίδας (άνω E) και το ανώτερο τμήμα του σώματος της επιδιδυμίδας (κάτω E) υπάρχουν, το μεσαίο τμήμα του σώματος της επιδιδυμίδας υπάρχει αλλά είναι

υποπλαστικό και εμφανίζει διακοπή της συνέχειάς του περιφερικότερα, καθώς το κατώτερο τμήμα του σώματος και η ουρά της επιδιδυμίδας απουσιάζουν. Μικρή ποσότητα λιπώδους ιστού διακρίνεται στη θέση της απύσας ουράς της επιδιδυμίδας (ανασηκώνεται με τη λαβίδα στο κάτω μέρος της εικόνας). Το εγγύς τμήμα του σπερματικού πόρου στην περιοχή της υποτιθέμενης συμβολής του με την ουρά της επιδιδυμίδας απουσιάζει εντελώς, ενώ το περιφερικό τμήμα του είναι εξαιρετικά υποπλαστικό. Τ: όρχης, 'e': πλάτος συνδέσμου μεταξύ όρχη-κεφαλής επιδιδυμίδας (φαίνεται ανώμαλα αυξημένο) **B**. Αμφοτερόπλευρη απλασία του σπερματικού πόρου και της επιδιδυμίδας. Στη θέση των σπερματικών πόρων διακρίνεται μόνο η αγγείωση αυτών να διαδράμει μέσα στο γεννητικό μεσεντέριο. Στη θέση της κεφαλής και της ουράς της απύσας αριστερής επιδιδυμίδας διακρίνονται εναποθέσεις λιπώδους ιστού.

### III.4. ΠΡΟΣΘΕΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### III.4.α. ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟ ΤΩΝ ΟΣΧΕΪΚΩΝ ΟΡΧΕΩΝ ΜΕ ΣΥΣΤΡΟΦΗ

Προκειμένου να διερευνηθεί αν η εμφάνιση συστροφής του όρχη σχετίζεται και αυτή, όπως η κρυσορχία, με μορφολογικές διαταραχές στο μεσεντέριο του όρχη εξετάστηκαν το μέγεθος και οι διαστάσεις του κρανιακού και του ουραίου φύλλου του γεννητικού περιτοναίου στους οσχεϊκούς όρχεις που βρέθηκαν με συστροφή σε σχέση με τους οσχεϊκούς όρχεις χωρίς συστροφή μετά από προγεννητική έκθεση στη φλουταμίδα. Τα αποτελέσματα των συγκρίσεων αυτών παρουσιάζονται στον **Πίνακα 6**.

Δυστυχώς, η συστροφή ήταν σπάνια παρατήρηση στη μελέτη μας και διαπιστώθηκε μόνο σε 7 οσχεϊκούς όρχεις. Ως αποτέλεσμα, πιθανώς λόγω του μικρού μεγέθους δείγματος (αυξημένη πιθανότητα στατιστικού λάθους τύπου II), καμία από τις διαστάσεις αλλά ούτε και τα εμβαδά επιφανείας του κρανιακού και του ουραίου φύλλου δεν βρέθηκαν να διαφέρουν σημαντικά στην ομάδα των όρχεων με συστροφή.

Το οριακά αυξημένο πλάτος του επιδιδυμο-ορχικού συνδέσμου ('d') θα μπορούσε να εξηγήσει την παρουσία μεγαλύτερης ελευθερίας κίνησης του όρχη γύρω από τον άξονα της πύλης του όρχη και επομένως προδιάθεση σε συστροφή. Ωστόσο, το αποτέλεσμα αυτό δεν ξεπέρασε το ελάχιστο επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας.

Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματά μας όταν για τις συγκρίσεις χρησιμοποιήθηκαν 10 τυχαίες περιπτώσεις (αντί του συνόλου των 61 περιπτώσεων) από την ομάδα των οσχεϊκών όρχεων χωρίς συστροφή.

**Πίνακας 6.** Διαστάσεις (mm) και εμβαδόν επιφανείας (mm<sup>2</sup>) του κρανιακού και του ουραίου φύλλου του γεννητικού περιτοναίου σε οσχείους όρχεις με και χωρίς συστροφή μετά από προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδη

	FLUT-DT με συστροφή n=7 Mean (95% CIs)	FLUT-DT χωρίς συστροφή n=61 Mean (95% CIs)	p
<b>Κρανιακό φύλλο</b>			
Διάσταση 'a'	21.7 (12.7-30.7)	25.6 (22.7-28.4)	0.36
'b'	56.3 (48.6-63.9)	55.6 (53.7-57.4)	0.83
'c'	13.4 (10.3-16.6)	12.7 (11.6-13.7)	0.47
'd'	5.5 (3.4-7.6)	3.6 (3.0-4.2)	0.06
'e'	2.7 (1.6-3.9)	2.6 (2.2-2.9)	0.67
Εμβαδόν επιφανείας	150.9 (77.0-224.8)	157.5 (135.4-179.7)	0.90
<b>Ουραίο φύλλο</b>			
Διάσταση 'f'	8.6 (6.9-10.2)	8.4 (7.9-8.8)	0.67
'g'	14.7 (12.6-16.8)	13.7 (13.1-14.4)	0.32
'h'	7.8 (5.4-10.3)	7.9 (7.1-8.9)	0.76
'i'	1.3 (0.6-2.0)	1.9 (1.5-2.4)	0.40
Εμβαδόν επιφανείας	62.9 (46.7-79.1)	57.9 (53.3-62.4)	0.49

95% CI: 95% Confidence Intervals, p: t test ή Mann-Whitney U test, αναλόγως της κανονικότητας

Ο ορισμός των διαστάσεων 'a'-'i' δίδεται στο κείμενο

#### III.4.β. ΜΙΚΤΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΚΡΑΝΙΑΚΟΥ ΚΑΙ ΟΥΡΑΙΟΥ ΠΕΡΙΤΟΝΑΪΚΟΥ ΦΥΛΛΟΥ

Προκειμένου να μελετήσουμε περαιτέρω το συνδυαστικό ρόλο του κρανιακού και του ουραίου φύλλου του γεννητικού περιτοναίου στην κάθοδο/μη κάθοδο του όρχη, εξετάσαμε επίσης μικτές παραμέτρους με τη χρήση λόγων και αναλογιών.

Συγκεκριμένα, για το συνδυαστικό ρόλο κρανιακού και ουραίου περιτοναϊκού φύλλου εξετάστηκαν οι παράμετροι 'εμβαδόν κρανιακού φύλλου/εμβαδόν ουραίου φύλλου', 'εμβαδόν κρανιακού φύλλου/(εμβαδόν κρανιακού φύλλου + εμβαδόν ουραίου φύλλου)' και 'εμβαδόν ουραίου φύλλου/(εμβαδόν κρανιακού φύλλου + εμβαδόν ουραίου φύλλου)'. Για το συνδυαστικό ρόλο των διαστάσεων 'a' και 'g', των σημαντικών δηλαδή διαστάσεων που προέκυψαν από τη διχοτομική λογιστική παλινδρόμηση, εξετάστηκαν οι παράμετροι 'a'/'g', 'a'/'(a'+g') και 'g'/'(a'+g')'.

Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 7**, οι παράμετροι 'a'/'g' και 'εμβαδόν κρανιακού φύλλου/εμβαδόν ουραίου φύλλου' είχαν σημαντικά μεγαλύτερες τιμές στους όρχεις

που είχαν εκτεθεί σε φλουταμίδη, με τους μη κατελθόντες όρχεις να είναι οι πιο επηρεασμένοι σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Δεν αναδείχθηκαν σημαντικές διαφορές στους λόγους αυτούς μεταξύ μη κατελθόντων κρυσορχικών και έκτοπων όρχεων (**Πίνακας 8**). Τα ευρήματα αυτά, παρ' ότι δείχνουν το συνδυαστικό ρόλο του κρανιακού και του ουραίου φύλλου του γεννητικού περιτοναίου στην αποτυχία της καθόδου του όρχη, δεν δίνουν πληροφορίες για την ανεξάρτητη επίδραση των δύο. Επιπλέον, δεν διακρίνονται τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του μεσεντερίου του έκτοπου όρχη, το οποίο έχει συγκρίσιμο εμβαδόν κρανιακού φύλλου και συγκρίσιμες τιμές για τη διάσταση 'a' με το μεσεντέριο των οσχεϊκών όρχεων που έχουν εκτεθεί σε φλουταμίδη, σε αντίθεση με την κρυσορχία όπου οι παράμετροι αυτές είναι μειωμένες.

**Πίνακας 7.** Λόγοι και αναλογίες διαστάσεων και εμβαδών επιφανείας του κρανιακού και του ουραίου φύλλου του γεννητικού περιτοναίου σε οσχεϊκούς όρχεις-μάρτυρες (CO-DT), σε οσχεϊκούς όρχεις με έκθεση σε φλουταμίδη (FLUT-DT) και σε μη κατελθόντες όρχεις με έκθεση σε φλουταμίδη (FLUT-UDT)

	<b>CO-DT</b> n=68 Mean (95% CI)	<b>FLUT-DT</b> n=61 Mean (95% CI)	<b>FLUT-UDT</b> n=50 Mean (95% CI)	<b>p</b>
'a'/'g'	0.66 (0.61-0.71)	1.86 (1.66-2.06)*	3.66 (3.11-4.20)**	K-W test <0.0001 post hoc* <0.0001 post hoc** <0.0001
<b>Κρανιακό E/Ουραίο E</b>	0.83 (0.73-0.93)	2.74 (2.42-3.07)*	5.6 (4.62-6.60)**	K-W test <0.0001 post hoc* <0.0001 post hoc** 0.001
'a'/'(a'+g')	0.39 (0.37-0.40)	0.62 (0.59-0.65)*	0.75 (0.72-0.77)**	K-W test <0.0001 post hoc* <0.0001 post hoc** <0.0001
'g'/'(a'+g')	0.60 (0.59-0.62)	0.37 (0.34-0.40)*	0.24 (0.22-0.27)**	K-W test <0.0001 post hoc* <0.0001 post hoc** <0.0001
<b>Κρανιακό E/(Κρανιακό E+Ουραίο E)</b>	0.43 (0.40-0.45)	0.69 (0.66-0.72)*	0.80 (0.77-0.83)**	K-W test <0.0001 post hoc* <0.0001 post hoc** 0.001
<b>Ουραίο E/(Κρανιακό E+Ουραίο E)</b>	0.56 (0.54-0.59)	0.30 (0.27-0.33)*	0.19 (0.16-0.22)**	K-W test <0.0001 post hoc* <0.0001 post hoc** 0.001

95% CI: 95% Confidence Intervals, E: εμβαδόν επιφανείας, K-W: Kruskal-Wallis H test (όλες οι μικτές παράμετροι είχαν μη κανονική κατανομή), post hoc: Dunn's test

Ο πίνακας δείχνει τις συγκρίσεις μεταξύ CO-DT και FLUT-DT και μεταξύ FLUT-DT and FLUT-UDT, με τις σημαντικές διαφορές στις πρώτες συγκρίσεις να σημαίνονται με μονό αστερίσκο (\*) και τις σημαντικές διαφορές στις δεύτερες συγκρίσεις με διπλό αστερίσκο (\*\*). Οι συγκρίσεις μεταξύ CO-DT και

FLUT-UDT (σημαντικές διαφορές σε όλες τις παραμέτρους σε επίπεδο σημαντικότητας  $p < 0.0001$ ) δεν παρουσιάζονται.

**Πίνακας 8.** Λόγοι και αναλογίες διαστάσεων και εμβαδών επιφανείας του κρανιακού και του ουραίου φύλλου του γεννητικού περιτοναίου σε οσχείκους όρχεις με έκθεση σε φλουταμίδη (FLUT-DT) και στις υπο-ομάδες των μη κατελθόντων όρχεων με έκθεση σε φλουταμίδη (FLUT-UDT), δηλαδή των κρυσορχικών και των έκτοπων όρχεων

	<b>FLUT-DT</b> N=61 Mean (95% CI)	<b>FLUT-UDT cry</b> N=33 Mean (95% CI)	<b>FLUT-UDT ectopic</b> N=17 Mean (95% CI)	<b>p</b>
<b>‘a’/‘g’</b>	1.86 (1.66-2.06)	3.90 (3.21-4.58)*	3.21 (2.28-4.15)**	K-W test <0.0001 post hoc* <0.0001 post hoc** 0.002
<b>Κρανιακό E/Ουραίο E</b>	2.74 (2.42-3.07)	5.94 (4.64-7.25)*	4.95 (3.35-6.54)**	K-W test <0.0001 post hoc* <0.0001 post hoc** 0.01
<b>‘a’/(‘a’+‘g’)</b>	0.62 (0.59-0.65)	0.76 (0.73-0.79)*	0.72 (0.67-0.77)**	K-W test <0.0001 post hoc* <0.0001 post hoc** 0.002
<b>‘g’/(‘a’+ ‘g’)</b>	0.37 (0.34-0.40)	0.23 (0.20-0.26)*	0.27 (0.22-0.32)**	K-W test <0.0001 post hoc* <0.0001 post hoc** 0.002
<b>Κρανιακό E/(Κρανιακό E+Ουραίο E)</b>	0.69 (0.66-0.72)	0.81 (0.78-0.84)*	0.78 (0.72-0.83)**	K-W test <0.0001 post hoc* <0.0001 post hoc** 0.01
<b>Ουραίο E/(Κρανιακό E+Ουραίο E)</b>	0.30 (0.27-0.33)	0.18 (0.15-0.21)*	0.21 (0.16-0.27)**	K-W test <0.0001 post hoc* <0.0001 post hoc** 0.01

95% CI: 95% Confidence Intervals, E: εμβαδόν επιφανείας, K-W: Kruskal-Wallis H test (όλες οι μικτές παράμετροι είχαν μη κανονική κατανομή), post hoc: Dunn’s test

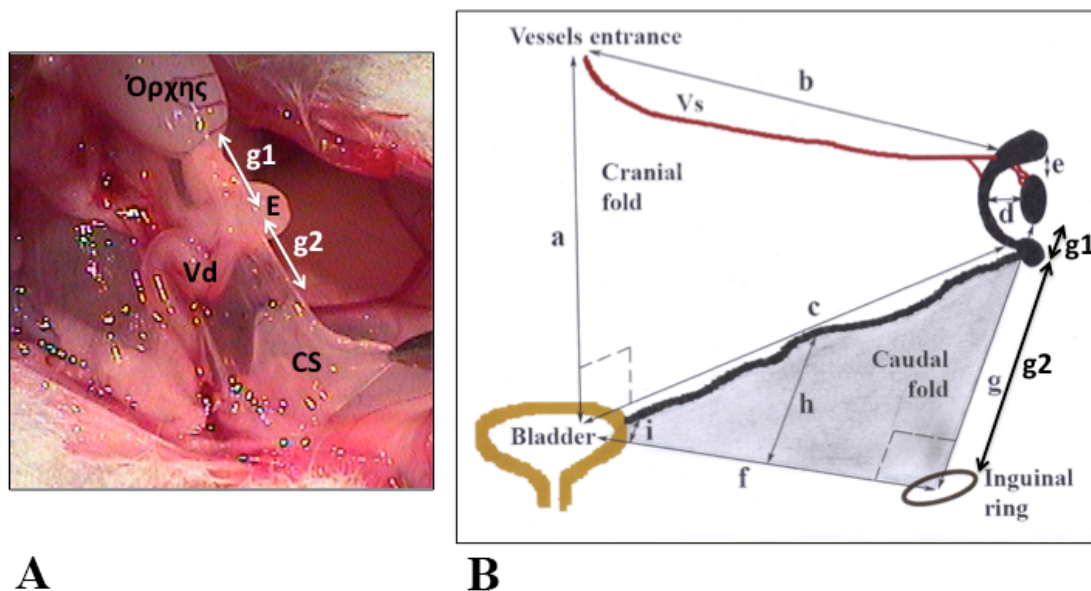
Ο πίνακας δείχνει τις συγκρίσεις μεταξύ FLUT-DT και FLUT-UDT cry και μεταξύ FLUT-DT and FLUT-UDT ectopic, με τις σημαντικές διαφορές στις πρώτες συγκρίσεις να σημαίνονται με μονό αστερίσκο (\*) και τις σημαντικές διαφορές στις δεύτερες συγκρίσεις με διπλό αστερίσκο (\*\*). Οι συγκρίσεις μεταξύ FLUT-UDT cry και FLUT-UDT ectopic δεν ανέδειξαν σημαντικές διαφορές και δεν παρουσιάζονται.

Οι αναλογίες ‘εμβαδόν κρανιακού φύλλου/(εμβαδόν κρανιακού φύλλου + εμβαδόν ουραίου φύλλου)’ και ‘εμβαδόν ουραίου φύλλου/(εμβαδόν κρανιακού φύλλου + εμβαδόν ουραίου φύλλου)’ [ομοίως, οι αναλογίες ‘a’/(‘a’+‘g’) και ‘g’/(‘a’+‘g’)] παρουσίασαν (σημαντική) αύξηση και μείωση αντίστοιχα στους οσχείκους όρχεις που είχαν εκτεθεί σε φλουταμίδη και ακόμη μεγαλύτερη αύξηση και μείωση αντίστοιχα στους μη κατελθόντες όρχεις με έκθεση σε φλουταμίδη

(Πίνακας 7). Και εδώ δεν αναδείχθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ κρυπορχικών και έκτοπων όρχεων (Πίνακας 8). Τα ευρήματα αυτά αναδεικνύουν το συνδυαστικό ρόλο του κρανιακού και του ουραίου φύλλου [ομοίως, των διαστάσεων 'α' και 'γ'] στην αποτυχία της καθόδου του όρχη, και ταυτόχρονα παρέχουν πληροφορίες για την ανεξάρτητη δράση των δύο καθώς δείχνουν ότι το κρανιακό φύλλο [ομοίως, το 'α'] αυξάνεται και το ουραίο φύλλο [ομοίως, το 'γ'] μειώνεται επί μη καθόδου του όρχη. Ωστόσο, και εδώ δεν αναδεικνύονται τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του μεσεντερίου των έκτοπων όρχεων.

#### III.4.γ. ΠΕΡΙΤΟΝΑΪΚΟΣ ΣΥΝΔΕΣΜΟΣ ΤΗΣ ΟΥΡΑΣ ΤΗΣ ΕΠΙΔΙΔΥΜΙΔΑΣ

Όπως ο σπερματικός πόρος χωρίζει το γεννητικό περιτόναιο σε κρανιακό και ουραίο φύλλο, η ουρά της επιδιδυμίδας χωρίζει το σύνδεσμο του οίακα σε ένα κρανιακό τμήμα που συνίσταται στο σύνδεσμο μεταξύ κάτω πόλου του όρχη και ουράς της επιδιδυμίδας και σε ένα ουραίο τμήμα που συνίσταται στο σύνδεσμο που εκτείνεται από την ουρά της επιδιδυμίδας προς τη βουβωνική περιοχή [Martin E 1995, Martin E & Rodriguez-Martinez H 1993, Martin E *et al.* 1996] (Εικόνα 23).



**Εικόνα 23.** Μορφολογία του συνδέσμου του οίακα σε αρσενικούς επίμυες μετά την ανάσπαση του όρχη στην κοιλιά (αριστερός φυσιολογικός όρχης-μάρτυρας). **A.** Φωτογραφία από χειρουργικό μικροσκόπιο που δείχνει την έκπτυξη των δύο τμημάτων του συνδέσμου του οίακα, του συνδέσμου μεταξύ κάτω πόλου του όρχη και ουράς της επιδιδυμίδας ('g1') και του συνδέσμου μεταξύ ουράς της επιδιδυμίδας και κρεμαστήρα σάκου ('g2'). Ο κρεμαστήρας σάκος έχει αναστραφεί στην κοιλιά μέσω

της βατής ελυτροειδούς απόφυσης και φαίνονται οι προσφύσεις του συνδέσμου του οίακα κατά μήκος του (ανεστραμμένου) οπίσθιου τοιχώματος του σάκου έως τον πυθμένα του. Τα δύο τμήματα του συνδέσμου του οίακα είναι σε απόλυτη συνέχεια μεταξύ τους, καθώς η ουρά της επιδιδυμίδας ουσιαστικά εμβυθίζεται μέσα στο σύνδεσμο του οίακα. CS: κρεμαστήρας σάκος E: ουρά επιδιδυμίδας, Vd: σπερματικός πόρος [προσωπικό αρχείο]. **B.** Δισδιάστατη διαγραμματική απεικόνιση της πρόσθιας όψης του γεννητικού μεσεντερίου, όπου φαίνονται τα δύο τμήματα του συνδέσμου του οίακα, ‘g1’ και ‘g2’. Vs: έσω σπερματικά αγγεία [Τροποποιημένη από Mentessidou A *et al.* 2020]

Προκειμένου να διερευνήσουμε ποιες μεταβολές στα δύο τμήματα του οίακα σχετίζονται με την αποτυχία στην κάθοδο του όρχη μετά την προγεννητική έκθεση στη φλουταμίδη, συγκρίναμε τα μήκη των δύο τμημάτων ξεχωριστά μεταξύ των ομάδων των κατελθόντων και μη κατελθόντων όρχων με έκθεση στη φλουταμίδη. Βρέθηκε ότι οι μη κατελθόντες όρχεις είχαν σημαντικά μειωμένο μήκος και στον επιδιδυμο-ορχικό σύνδεσμο (‘g1’) και στο σύνδεσμο της επιδιδυμίδας (‘g2’) σε σχέση με τους όρχεις που είχαν κατέλθει φυσιολογικά στο όσχεο (**Πίνακας 9**). Δηλαδή, η αποτυχία στην κάθοδο του όρχη σχετίζεται με μείωση του μήκους και στα δύο τμήματα του οίακα και όχι με μείωση μόνο στο ένα εξ αυτών ή με αντίστροφη μεταβολή των δύο.

**Πίνακας 9.** Το μήκος (mm) του κρανιακού (‘g1’) και του ουραίου (‘g2’) τμήματος του συνδέσμου του οίακα σε οσχεϊκούς όρχεις μετά από έκθεση σε φλουταμίδη (FLUT-DT) σε σύγκριση με μη κατελθόντες όρχεις μετά από έκθεση σε φλουταμίδη (FLUT-UDT)

	<b>FLUT-DT</b> <b>n=41</b>	<b>FLUT-UDT</b> <b>n=27</b>	<b>p</b>
	Mean (95% CI)	Mean (95% CI)	
<b>‘g1’</b>	6.7 (6.1-7.3)	5.7 (5.1-6.4)	0.009
<b>‘g2’</b>	3.4 (2.9-3.9)	1.9 (1.4-2.3)	<0.0001

p: Mann-Whitney U test

Το μέγεθος δείγματος των ομάδων εμφανίζεται μειωμένο, καθώς σε αυτή την ανάλυση εξαιρέθηκαν όλες οι περιπτώσεις με απλασία ή υποπλασία της ουράς της επιδιδυμίδας, στις οποίες δεν υπήρχε διαχωρισμός του συνδέσμου του οίακα σε κρανιακό και ουραίο τμήμα

Παρόμοια ήταν τα ευρήματα για τα δύο τμήματα του συνδέσμου του οίακα, όταν εξετάστηκαν ξεχωριστά στις δύο υπο-ομάδες των μη κατελθόντων όρχων σε σχέση με τους οσχεϊκούς όρχεις (**Πίνακας 10**). Και οι δύο σύνδεσμοι είχαν μειωμένο μήκος στις δύο υπο-ομάδες. Αν και το μήκος του ‘g1’ εμφάνισε οριακή μόνο (μη



στατιστικά σημαντική) μείωση στους έκτοπους όρχεις σε σχέση με τους οσχεικούς όρχεις ( $p = 0.08$ ), το αποτέλεσμα αυτό αποδόθηκε σε πιθανό στατιστικό λάθος τύπου II εξαιτίας του μικρού μεγέθους δείγματος της ομάδας της εκτοπίας. Άλλωστε, οι τιμές του ‘g1’ στους έκτοπους όρχεις ήταν αρκετά συγκρίσιμες με αυτές του ‘g1’ επί κρυσορχίας ( $p = 0.07$ ) (Πίνακας 10).

**Πίνακας 10.** Το μήκος (mm) του κρανιακού (‘g1’) και του ουραίου (‘g2’) τμήματος του συνδέσμου του οίακα σε οσχεικούς όρχεις μετά από έκθεση σε φλουταμίδη (FLUT-DT) σε σύγκριση με τις υπο-ομάδες των μη κατελθόντων όρχεων μετά από έκθεση σε φλουταμίδη (FLUT-UDT), δηλαδή τους κρυσορχικούς και τους έκτοπους όρχεις

	<b>FLUT-DT</b> <b>n=41</b> Mean (95% CI)	<b>FLUT-UDT cry</b> <b>n=19</b> Mean (95% CI)	<b>FLUT-UDT ectopic</b> <b>n=8</b> Mean (95% CI)	<b>p</b>
<b>‘g1’</b>	6.7 (6.1-7.3)	5.6 (4.8-6.5)*	5.8 (4.7-7.0)	K-W test 0.03 post hoc* 0.02
<b>‘g2’</b>	3.4 (2.9-3.9)	2.0 (1.4-2.5)*	1.7 (0.9-2.6)**	K-W test 0.001 post hoc* 0.001 post hoc** 0.005

K-W: Kruskal-Wallis H test, post hoc: Dunn’s test

Το μέγεθος δείγματος των ομάδων εμφανίζεται μειωμένο, καθώς σε αυτή την ανάλυση εξαιρέθηκαν όλες οι περιπτώσεις με απλασία ή υποπλασία της ουράς της επιδιδυμίδας, στις οποίες δεν υπήρχε διαχωρισμός του συνδέσμου του οίακα σε κρανιακό και ουραίο τμήμα

*Ο πίνακας δείχνει τις συγκρίσεις μεταξύ FLUT-DT και FLUT-UDT cry και μεταξύ FLUT-DT and FLUT-UDT ectopic, με τις σημαντικές διαφορές στις πρώτες συγκρίσεις να σημαίνονται με μονό αστερίσκο (\*) και τις σημαντικές διαφορές στις δεύτερες συγκρίσεις με διπλό αστερίσκο (\*\*). Οι συγκρίσεις μεταξύ FLUT-UDT cry και FLUT-UDT ectopic δεν ανέδειξαν σημαντικές διαφορές και δεν παρουσιάζονται.*

Συνεπώς, η προκαλούμενη από την προγεννητική αναστολή των ανδρογόνων μορφολογική διαταραχή της βράχυνσης του συνδέσμου του οίακα, η οποία αποδείχτηκε ότι εμπλέκεται στην αποτυχία της καθόδου του όρχη στη διχοτομική λογιστική παλινδρόμηση, αφορά και τα δύο τμήματα του συνδέσμου του οίακα, δηλαδή το τμήμα που εκτείνεται μεταξύ όρχη-επιδιδυμίδας και τον περιτοναϊκό σύνδεσμο της ουράς της επιδιδυμίδας.

## IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### IV.1. ΣΥΝΟΨΗ ΚΥΡΙΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Η προγεννητική αναστολή των ανδρογόνων με φλουταμίδη στον επίμυ, κατά το κρίσιμο προγεννητικό διάστημα για την κάθοδο του όρχη, είχε ως αποτέλεσμα την αποτυχία στην κάθοδο του όρχη στο 63% των επίμυων και στο 41% των όρχεων συνολικά. Το 69% των μη κατελθόντων όρχεων ήταν κρυσορχικοί και το 31% έκτοποι. Επίσης, οδήγησε σε αύξηση του μεγέθους του κρανιακού φύλλου και μείωση του μεγέθους του ουραίου φύλλου του μεσεντερίου του όρχη σε σχέση με το μεσεντέριο του όρχη χωρίς προγεννητική έκθεση στη φλουταμίδη. Επιπλέον, υπήρξαν αρκετές άλλες συνοδές διαταραχές διάπλασης στο γεννητικό σύστημα, όπως υποσπαδίας και υποπλασία ή απλασία της επιδιδυμίδας και του σπερματικού πόρου, οι οποίες επιβεβαίωσαν την αποτελεσματικότητα του συγκεκριμένου φαρμακευτικού μοντέλου αναστολής των ανδρογόνων που χρησιμοποιήθηκε.

Το μεσεντέριο των μη κατελθόντων στο όσχεο όρχεων ήταν το πιο επηρεασμένο μεταξύ των όρχεων που είχαν εκτεθεί προγεννητικά στη φλουταμίδη. Παρ' όλα αυτά, η μορφολογία του διέφερε σημαντικά από αυτή του γεννητικού μεσεντερίου στο θήλυ.

Από όλες τις μορφολογικές διαταραχές που παρατηρήθηκαν στο μεσεντέριο των μη κατελθόντων όρχεων, μόνο το μεγάλο μήκος της ρίζας του μεσεντερίου (διάσταση 'α', Εικόνες 13, 16) και το μικρό μήκος του συνδέσμου του οίακα (διάσταση 'g', Εικόνες 13, 16) βρέθηκε να έχουν ισχυρή και ανεξάρτητη επίδραση στην αποτυχία της καθόδου του όρχη. Απ' όσο γνωρίζουμε, η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη στη διεθνή βιβλιογραφία που αποδεικνύει:

(1) την ύπαρξη ισχυρής συσχέτισης μεταξύ μορφολογικών μεταβολών στο μεσεντέριο του όρχη και τελικής θέσης του όρχη

&

(2) το συνδυαστικό ρόλο των αλλαγών στη ρίζα του μεσεντερίου του όρχη (κρανιακό φύλλο του γεννητικού περιτοναίου) και στο σύνδεσμο του οίακα (ουραίο φύλλο του γεννητικού περιτοναίου) στην επιτυχία/αποτυχία της καθόδου του όρχη.

## IV.2. ΚΡΑΝΙΑΚΟ ΦΥΛΛΟ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΤΟΝΑΙΟΥ & ΑΠΟΤΥΧΙΑ ΣΤΗΝ ΚΑΘΟΔΟ ΤΟΥ ΟΡΧΗ

Προηγούμενοι ερευνητές παρατήρησαν ότι ο κρανιακός ανελκτήρας σύνδεσμος του όρχη ήταν αφύσικα μακρύς σε επίμυες που είχαν εκτεθεί προγεννητικά σε φλουταμίδη και σε επίμυες με μετάλλαξη στο γονίδιο που είναι υπεύθυνο για τους υποδοχείς των ανδρογόνων (γενετικό μοντέλο επίμυων Tfm) [Barthold JS *et al.* 1994, Van der Schoot P & Elger W 1992, Van der Schoot P & Emmen JM 1996]. Επίσης, σύμφωνα με τις περιγραφές τους, ο ανελκτήρας σύνδεσμος σε αυτές τις περιπτώσεις εμφάνιζε αφύσικα υψηλή πρόσφυση στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα στο ύψος της νεφρικής χώρας και ήταν, ως εκ τούτου, μορφολογικά παρόμοιος με τον ανελκτήρα σύνδεσμο της ωοθήκης στο θήλυ. Με βάση αυτές τις παρατηρήσεις, υποστηρίχθηκε ότι ο ανελκτήρας σύνδεσμος ίσως να συγκρατεί τον όρχη μέσα στην κοιλιά σε αυτές τις περιπτώσεις, με παρόμοιο τρόπο που ο ανελκτήρας σύνδεσμος συγκρατεί την ωοθήκη ενδοκοιλιακά στο θήλυ, δηλαδή ότι η αναστολή του σεξουαλικού διμορφισμού του ανελκτήρα συνδέσμου του όρχη μπορεί να είναι αίτιο αναστολής της καθόδου του όρχη [Van der Schoot P & Elger W 1992, Van der Schoot P & Emmen JM 1996].

Μεταγενέστερες μελέτες, όμως, απέρριψαν την παραπάνω θεωρία, καθώς διαπίστωσαν ότι οι περισσότεροι επίμυες με προγεννητική έκθεση σε φλουταμίδη εμφανίζουν έναν παρόμοιο κρανιακό ανελκτήρα σύνδεσμο θηλυκού τύπου, ανεξαρτήτως της θέσης που έχει ο όρχης [Barthold JS *et al.* 1996, Kassim NM *et al.* 2010, Shono T *et al.* 1994]. Σε αρκετές από αυτές τις περιπτώσεις, ο όρχης έχει κατέλθει φυσιολογικά στο όσχεο. Σε καμία από αυτές τις μελέτες, παρ' όλα αυτά, δεν έγινε σύγκριση ποσοτικοποιημένων χαρακτηριστικών της μορφολογίας του συνδέσμου μεταξύ κατελθόντων και μη κατελθόντων όρχεων. Τελικώς, επικράτησε η άποψη ότι το κρανιακό φύλλο του γεννητικού περιτοναίου δεν εμπλέκεται στο μηχανισμό της καθόδου του όρχη.

Στην παρούσα μελέτη, ο επονομαζόμενος κρανιακός ανελκτήρας σύνδεσμος του όρχη (διάσταση 'b', Εικόνες 13, 16), αν και πιο μακρύς μετά από την έκθεση σε φλουταμίδη σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες, δεν είχε σημαντική επίδραση στην πιθανότητα αποτυχίας της καθόδου του όρχη. Ωστόσο, το μεγάλο μήκος της γραμμής καθήλωσης του κρανιακού φύλλου του γεννητικού περιτοναίου στο οπίσθιο τοίχωμα

(διάσταση 'a', Εικόνες 13, 16) βρέθηκε να αυξάνει σημαντικά την πιθανότητα αποτυχίας στην κάθοδο του όρχη. Η πιο κρανιακή πρόσφυση του μεσεντερίου του όρχη έφτανε στην περινεφρική χώρα σε όλους τους επίμυες που είχαν εκτεθεί στη φλουταμίδη, όπως είχε παρατηρηθεί και από προηγούμενους ερευνητές [Van der Schoot P & Elger W 1992, Van der Schoot P & Emmen JM 1996]. Κατά συνέπεια, η γραμμή της οπίσθιας καθήλωσης του κρανιακού φύλλου του γεννητικού περιτοναίου ανερχόταν αρκετά ψηλά σε όλους τους επίμυες που είχαν εκτεθεί στη φλουταμίδη. Οι μετρούμενες τιμές του μήκους της γραμμής αυτής ('a'), όμως, ήταν σημαντικά μεγαλύτερες στους μη κατελθόντες όρχεις από τους όρχεις που είχαν κατέλθει στο όσχεο φυσιολογικά.

Φυσιολογικά, η πρόσφυση του γεννητικού μεσεντερίου στο οπίσθιο τοίχωμα υποστρέφει στο άρρεν κατά την κρανιοουραία κατεύθυνση μέχρι να συναντήσει τα έσω σπερματικά αγγεία [Felix W 1912]. Πράγματι, σε όλους τους αρσενικούς επίμυες που δεν είχαν εκτεθεί στη φλουταμίδη, η πιο κρανιακή πρόσφυση του γεννητικού μεσεντερίου βρισκόταν στο ύψος των έσω σπερματικών αγγείων, με αποτέλεσμα ο κρανιακός ανελκτήρας σύνδεσμος να μεταφέρει τα έσω σπερματικά αγγεία. Τα ευρήματά μας στους επίμυες που είχαν εκτεθεί στη φλουταμίδη δείχνουν ότι η φλουταμίδη αναστέλλει αυτή την κρανιοουραία «μετανάστευση» της κρανιακής πρόσφυσης του κρανιακού φύλλου του γεννητικού περιτοναίου σε άλλοτε άλλο βαθμό. Η πιο κρανιακή πρόσφυση του γεννητικού μεσεντερίου στους αρσενικούς επίμυες που είχαν εκτεθεί στη φλουταμίδη βρισκόταν υψηλότερα από τα έσω σπερματικά αγγεία. Επιπλέον, το γεγονός ότι οι μέγιστες τιμές μήκους για τη γραμμή της οπίσθιας καθήλωσης του κρανιακού φύλλου βρέθηκαν στους μη κατελθόντες όρχεις υποδηλώνει ότι η μέγιστη αναστολή της κρανιοουραίας υποστροφής της οπίσθιας καθήλωσης του κρανιακού φύλλου μπορεί να εμπλέκεται στην αναστολή της καθόδου του όρχη.

#### IV.3. ΟΥΡΑΙΟ ΦΥΛΛΟ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΤΟΝΑΙΟΥ & ΑΠΟΤΥΧΙΑ ΣΤΗΝ ΚΑΘΟΔΟ ΤΟΥ ΟΡΧΗ

Η διχογνωμία που επικρατεί σχετικά με το αν διαταραχές στην ανάπτυξη του οίακα εμπλέκονται στο μηχανισμό της καθόδου είναι ακόμη μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή που αφορά τον κρανιακό ανελκτήρα σύνδεσμο. Μεταξύ αυτών που συμφωνούν

ότι η ανάπτυξη του οίακα εμπλέκεται στην κάθοδο του όρχη, κάποιιοι υποστηρίζουν ότι τα ανδρογόνα επάγουν την κάθοδο του όρχη μέσω αύξησης του οίακα [Harnaen EJ *et al.* 2007, Husmann DA & McPhaul MJ 1991] και άλλοι μέσω συρρίκνωσης του οίακα [Cain MP *et al.* 1995].

Πολλά από αυτά τα αντικρουόμενα ευρήματα και η επακόλουθη σύγχυση οφείλονται στην παντελή έλλειψη ορισμού για τον οίακα, με αποτέλεσμα οι ερευνητές να εξετάζουν διαφορετικές δομές ως οίακα και να καταλήγουν σε αντικρουόμενα μεταξύ τους αποτελέσματα και συμπεράσματα. Για κάποιους ερευνητές, οίακας είναι ο σύνδεσμος του οίακα ή γεννητικοβουβωνικός σύνδεσμος, δηλαδή ο περιτοναϊκός σύνδεσμος που εκτείνεται μεταξύ κάτω πόλου του όρχη και βουβωνικής περιοχής (διάσταση 'g', Εικόνες 13, 16) και περιέχει αδιαφοροποίητο μεσεγγυματικό ιστό [Hadziselimovic F 1996, Heyns CF 1987] (βλ. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ, Π.4.α. ΟΙΑΚΑΣ). Για άλλους ερευνητές, ο βουβωνικός θύλακος, με ή ακόμη και χωρίς τον προσφύμενο σε αυτόν σύνδεσμο του οίακα, είναι 'ο' οίακας [Van der Schoot P 1996] (βλ. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ, Π.4.β. ΒΟΥΒΩΝΙΚΟΣ ΘΥΛΑΚΟΣ). Ο βουβωνικός θύλακος ή κώνος, όμως, είναι ο αρχέγονος κρεμαστήρας σάκος, ο οποίος στον επίμυ είναι αρχικώς ανεστραμμένος μέσα στην κοιλιά και μοιάζει με κωνοειδή δομή συνεχόμενη με το σύνδεσμο του οίακα (Εικόνα 2B) και λίγο πριν την κάθοδο εκστρέφεται προς το όσχεο για να δεχτεί τον όρχη και να σχηματίσει το μυϊκό περίβλημά του [Husmann DA & McPhaul MJ 1991]. Ως εκ τούτου, πρόκειται για δομή διάφορη του οίακα [Hadziselimovic F 1996]. Για την ακρίβεια, ο σύνδεσμος του οίακα είναι σύνδεσμος του μεσεντερίου του όρχη και άρα προέλευσης από το ουρογεννητικό περιτόναιο του μεσονέφρου [Habenicht UF & Neumann F 1983, Hadziselimovic F 1995, Van der Schoot P 1996], ενώ ο βουβωνικός θύλακος είναι παράγωγο των μυϊκών στοιχείων του τοιχώματος που προσεκβάλλουν για να σχηματίσουν το σάκο του κρεμαστήρα [Bentvelsen FM & George FW 1991, Elder JS *et al.* 1982, Husmann DA & McPhaul MJ 1991<sup>b</sup>, Van der Schoot P 1996].

Εκτός από τα προβλήματα που δημιουργεί η ασάφεια σχετικά με τον ορισμό του οίακα, επιπλέον σύγχυση δημιουργείται από το γεγονός ότι όλοι οι όρχεις, μη κατελθόντες και οσχεϊκοί, εξετάζονται συνήθως μαζί μετά από την έκθεση στη φλουταμίδα [Harnaen EJ *et al.* 2007, Van der Schoot P 1996]. Αυτή η μίξη έχει ως αποτέλεσμα, τα αναφερόμενα ευρήματα να μην έχουν συσχετιστεί με την τελική θέση του όρχη, κρυφορχική ή μη.

Στην παρούσα μελέτη, βρέθηκε ότι όλες οι κατακόρυφες διαστάσεις του ουραίου φύλλου του μεσεντερίου του όρχη ('g', 'h', 'i', Εικόνα 13) είχαν μικρότερο μήκος μετά από την έκθεση σε φλουταμίδη σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Δηλαδή, το ουραίο φύλλο ήταν συνολικά πιο κοντό μετά την έκθεση σε φλουταμίδη. Ωστόσο, μόνον η μείωση του μήκους του συνδέσμου του οίακα (διάσταση 'g') βρέθηκε να αυξάνει σημαντικά την πιθανότητα αποτυχίας στην κάθοδο του όρχη.

Φυσιολογικά, ο σύνδεσμος του οίακα υφίσταται έντονη επιμήκυνση πριν ξεκινήσει να συρρικνώνεται και να υποστρέφει [Fujikake N *et al.* 1989, Heyns CF 1987, Lockwood CB 1988]. Η επιμήκυνση αυτή φαίνεται να λαμβάνει χώρα στον επίμυ κατά το κρίσιμο για την κάθοδο του όρχη διάστημα των ημερών κύησης 16-17 (υπολογίζοντας ως ημέρα κύησης 1 την ημέρα ανίχνευσης σπέρματος στο κοιλικό επίχρισμα) [Fujikake N *et al.* 1989]. Το εύρημα του ανώμαλα κοντού οίακα στους επίμυες που είχαν εκτεθεί στη φλουταμίδη στη μελέτη μας δείχνει ότι η φλουταμίδη αναστέλλει αυτή τη διαδικασία της επιμήκυνσης. Επιπλέον, το γεγονός ότι οι μικρότερες τιμές μήκους για το σύνδεσμο του οίακα βρέθηκαν στους μη κατελθόντες όρχεις υποδηλώνει ότι η μέγιστη αναστολή της επιμήκυνσης του οίακα—πιθανώς σημαντική για να φτάσει ο οίακας τον πυθμένα του κρεμαστήρα σάκου—μπορεί να εμπλέκεται στην αναστολή της καθόδου του όρχη. Από την άλλη πλευρά, η αναστολή της συρρίκνωσης του οίακα, μία διαδικασία που έχει προταθεί ότι επάγει την κάθοδο με έλξη του όρχη καθώς ο οίακας υποστρέφει [Cain MP *et al.* 1995, Wensing CJ 1986], δεν φαίνεται να σχετίζεται με αποτυχία στην κάθοδο του όρχη. Σε προηγούμενες μελέτες, στις οποίες χορηγήθηκε φλουταμίδη μετά την ημέρα κύησης 17, οπότε και λαμβάνει χώρα η συρρίκνωση του οίακα, η κάθοδος του όρχη στο όσχεο επετεύχθη κανονικά [Husmann DA & McPhaul MJ 1991, Spencer JR *et al.* 1991].

#### IV.4. ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΔΡΑΣΗΣ ΑΝΤΙΑΝΔΡΟΓΟΝΟΥ & ΑΞΙΑ ΛΟΓΙΣΤΙΚΗΣ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣΗΣ

Οι μορφολογικές μεταβολές του κρανιακού και του ουραίου φύλλου του γεννητικού περιτοναίου μετά την έκθεση στη φλουταμίδη, όπως αυτές εκφράζονται από τις τιμές των μετρούμενων διαστάσεων και εμβαδών τους, παρουσίαζαν

αξιοσημείωτη διακύμανση. Διακύμανση στα αποτελέσματα της δράσης της φλουταμίδης σε διάφορες ανδρογόνο-εξαρτώμενες δομές και όργανα, όπως για παράδειγμα διακύμανση στη συχνότητα και τη βαρύτητα της κρυπορχίας, του υποσπαδία και της απλασίας/υποπλασίας της επιδιδυμίδας και του σπερματικού πόρου, έχει παρατηρηθεί και στο παρελθόν από αρκετούς ερευνητές και έχει αποδοθεί στο ότι ο βαθμός έκθεσης στο αντιανδρογόνο και ο βαθμός απορρόφησης του αντιανδρογόνου διαφέρει μεταξύ των εμβρύων [McIntyre *et al.* 2001, Van der Schoot P 1992, Spencer JR *et al.* 1991]. Έτσι, η διακύμανση που παρατηρήθηκε εντός των ομάδων στη μελέτη μας (within-group variance) στις τιμές των διαστάσεων και εμβαδών του γεννητικού μεσεντερίου αποτελεί μέρος του φαινομένου της δράσης της φλουταμίδης και είναι αναπόφευκτη.

Η ανάλυση της λογιστικής παλινδρόμησης είναι γνωστό ότι δεν επηρεάζεται από προβλήματα διακύμανσης εντός των ομάδων, μη κανονικής κατανομής των δεδομένων και ανόμοιας κατανομής μεταξύ των ομάδων (ετεροσκεδαστικότητα) [Barton B & Peat J 2014, Schreiber-Gregory D & Jackson HM 2018]. Αντιθέτως, πρόκειται για ανάλυση που έχει σχεδιαστεί προκειμένου να διερευνά εάν οι παρατηρούμενες μεταβολές στις παραμέτρους υπό μελέτη πέραν ενός συγκεκριμένου επιπέδου τιμών (εντός του παρατηρούμενου εύρους τιμών) (εν προκειμένω διαστάσεις μεσεντερίου όρχη) μπορούν να επηρεάσουν την πιθανότητα να προκύψει ή όχι το συμβάν ενδιαφέροντος (εν προκειμένω μη κάθοδος/κάθοδος) [Barton B & Peat J 2014, Ranganathan P *et al.* 2017]. Παρά την παρουσία διακύμανσης στα δεδομένα μας, λοιπόν, η λογιστική παλινδρόμηση αποκάλυψε ότι οι μετρούμενες τιμές του συνδέσμου του οίακα και της γραμμής οπίσθιας καθήλωσης του μεσεντερίου του όρχη που ξεπερνούν ένα συγκεκριμένο επίπεδο τιμών μπορούν να εξηγήσουν με στατιστικά ισχυρό τρόπο την πιθανότητα αποτυχίας στην κάθοδο του όρχη. Δηλαδή, παρατηρήθηκε ένα μοντέλο συσχέτισης (association) μεταξύ των κυμαίνοντων μεταβολών στη μορφολογία του γεννητικού μεσεντερίου και της πιθανότητας αποτυχίας της καθόδου του όρχη.

Πιο συγκεκριμένα, η λογιστική παλινδρόμηση έδειξε ότι διατηρώντας σταθερό το μήκος της γραμμής της οπίσθιας καθήλωσης του κρανιακού φύλλου, η μείωση του μήκους του συνδέσμου του οίακα αυξάνει την πιθανότητα μη καθόδου του όρχη μεταξύ των όρχεων που έχουν εκτεθεί σε φλουταμίδα σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας  $p < 0.0001$  (βλ. III.2.β. ΔΙΑΣΤΑΣΕΙΣ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟΥ, Πίνακας 2). Για την κρυπορχία, μάλιστα, η πιθανότητα αυξανόταν

άνω του 50% με λογαριθμικό τρόπο σε τιμές μήκους του συνδέσμου του οίακα μικρότερες των 12 mm (βλ. III.2.β. ΔΙΑΣΤΑΣΕΙΣ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟΥ, Εικόνα 20). Διατηρώντας το μήκος του συνδέσμου του οίακα σταθερό, η αύξηση του μήκους της οπίσθιας καθήλωσης του κρανιακού φύλλου βρέθηκε να αυξάνει επίσης την πιθανότητα μη καθόδου του όρχη σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας  $p = 0.002$  (βλ. III.2.β. ΔΙΑΣΤΑΣΕΙΣ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟΥ, Πίνακας 2). Για την κρυσορχία, η πιθανότητα παρουσίαζε αύξηση άνω του 50% με λογαριθμικό τρόπο σε τιμές μήκους της οπίσθιας καθήλωσης του κρανιακού φύλλου μεγαλύτερες των 33 mm (βλ. III.2.β. ΔΙΑΣΤΑΣΕΙΣ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟΥ, Εικόνα 20). Ταυτοχρόνως, η συνολική στατιστική σημαντικότητα του μοντέλου της λογιστικής παλινδρόμησης στο να εξηγήσει την πιθανότητα καθόδου/μη καθόδου του όρχη χρησιμοποιώντας μαζί το μήκος του συνδέσμου του οίακα και το μήκος της γραμμής οπίσθιας καθήλωσης του κρανιακού φύλλου ( $p < 0.0001$ , pseudo  $R^2 = 0.60$ , Πίνακας 2) αποδεικνύει τη σημασία του συνδυαστικού ρόλου των μεταβολών και στις δύο αυτές πτυχές του γεννητικού μεσεντερίου στην κάθοδο/μη κάθοδο του όρχη.

#### IV.5. ΕΚΤΟΠΙΑ ΤΟΥ ΟΡΧΗ: ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΑΠΟ ΚΡΥΣΟΡΧΙΑ

Σε αντίθεση με την κρυσορχία, η εκτοπία του όρχη βρέθηκε να συσχετίζεται με μορφολογικές μεταβολές μόνον στο ουραίο φύλλο του γεννητικού περιτοναίου.

Το κρανιακό φύλλο ήταν μορφολογικά συγκρίσιμο μεταξύ έκτοπων και οσχεϊκών όρχεων που είχαν εκτεθεί προγεννητικά στη φλουταμίδα, με την καθήλωση στο οπίσθιο τοίχωμα να εμφανίζει συγκρίσιμο μήκος με αυτή του μεσεντερίου των οσχεϊκών όρχεων. Η παρουσία, όμως, ενός ανώμαλα κοντού συνδέσμου του οίακα στο ουραίο φύλλο βρέθηκε να αυξάνει σημαντικά την πιθανότητα εκτοπίας του όρχη, όπως επί κρυσορχίας. Τα ευρήματα αυτά προσδίδουν κάποια βάση αλήθειας σε παλιές θεωρίες, σύμφωνα με τις οποίες η εκτοπία αποτελεί διακριτή οντότητα από την κρυσορχία και οφείλεται στην κλειστή από συμφύσεις δίοδο προς το ημιόσχεο [Backhouse KM 1964, McGregor AL 1929] ή στην έκτοπη περιφερική πρόσφυση του οίακα [Lockwood CB 1888]. Στην παρούσα μελέτη, δεν βρέθηκε μεν κλειστή δίοδος προς το όσχεο ή έκτοπη πρόσφυση του οίακα, αλλά διαπιστώθηκε ότι μόνο ο οίακας διέφερε μορφολογικά σε σύγκριση με τους όρχεις που είχαν εκτεθεί σε φλουταμίδα και είχαν κατέλθει φυσιολογικά στο όσχεο, σε αντίθεση με την κρυσορχία όπου



υπήρχαν μορφολογικές διαταραχές στον οίακα και στην οπίσθια πρόσφυση του κρανιακού φύλλου.

#### IV.6. ΥΠΑΡΧΕΙ ΘΗΛΕΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΜΕΣΕΝΤΕΡΙΟΥ ΣΤΗΝ ΚΡΥΨΟΡΧΙΑ;

Το αποτέλεσμα της δράσης της φλουταμίδης κατά το προγεννητικό παράθυρο των ημερών κύησης 16-17 στο γεννητικό μεσεντέριο ήταν η αύξηση του μεγέθους του κρανιακού φύλλου και η μείωση του μεγέθους του ουραίου φύλλου σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Οι διαταραχές αυτές στη μορφολογία του γεννητικού περιτοναίου ήταν περισσότερο έντονες στους όρχεις που βρέθηκαν σε κρυψορχική θέση. Παρ' όλα αυτά η δράση της φλουταμίδης δεν οδήγησε σε μορφολογία γεννητικού μεσεντερίου θήλεος, το οποίο χαρακτηρίζεται από κρανιακό ανελκτήρα σύνδεσμο εξαιρετικά μικρού μήκους και απουσία του ουραίου φύλλου. Στους κρυψόρχεις επίμυες, ο κρανιακός ανελκτήρας σύνδεσμος ήταν σημαντικά πιο μακρύτερος σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες, παρουσίαζε δηλαδή αντίστροφη μεταβολή από αυτή που θα αναμενόταν επί θηλεοποίησης, και το ουραίο φύλλο, αν και μικρότερο σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες, ήταν σαφώς παρόν, σε αντίθεση με το θήλυ.

Τα ευρήματα αυτά καταρρίπτουν τη θεωρία ότι η θηλεοποίηση του γεννητικού μεσεντερίου, εξαιτίας της απουσίας δράσης των ανδρογόνων, είναι απλώς το αίτιο της αναστολής της καθόδου του όρχη [Van der Schoot P & Emmen JM 1996]. Άλλωστε, απόπειρες αρρενοποίησης του γεννητικού μεσεντερίου σε θηλυκούς επίμυες με προγεννητική χορήγηση ανδρογόνων σε προηγούμενες μελέτες δεν είχε ως αποτέλεσμα την κάθοδο των ωθηκών [Van der Schoot P & Elger W 1992, Van der Schoot P & Emmen JM 1996]. Φαίνεται ότι η θηλεοποίηση δεν είναι απλώς και μόνον το παθητικό αποτέλεσμα της απουσίας της δράσης των ανδρογόνων, όπως πιστευόταν παλιότερα [Jost A *et al.* 1973], και ότι αυτό ισχύει και για τη διαφοροποίηση του γεννητικού μεσεντερίου στο θήλυ. Ορμόνες του φύλου μπορεί να επιδρούν σε περαιτέρω ανάπτυξη και επακόλουθες μορφολογικές μεταβολές του γεννητικού μεσεντερίου του θήλεος, συμπεριλαμβανομένης της μείωσης του μήκους του κρανιακού ανελκτήρα συνδέσμου και την υποστροφή του ουραίου φύλλου στον επίμυ, και κατά συνέπεια στον καθορισμό της τελικής θέσης της γονάδας του θήλεος.

Η υποστροφή του ουραίου φύλλου του γεννητικού περιτοναίου στον θηλυκό επίμυ, το οποίο εκτείνεται από τον παραμεσονεφρικό πόρο προς το πυελικό έδαφος [Martin E *et al.* 1996], είναι πιθανότατα αποτέλεσμα της μετακίνησης του παραμεσονεφρικού πόρου από τα πλάγια προς τη μέση γραμμή προκειμένου να συνενωθεί με τον ετερόπλευρο παραμεσονεφρικό πόρο και να σχηματίσουν το σώμα της μήτρας και της επακόλουθης απώλειας των πλάγιων προσφύσεων του ουραίου φύλλου στο τοίχωμα. Η ανάπτυξη του μεγάλου μήκους κέρατος της δικέρου μήτρας στον επίμυ φαίνεται ότι συμβάλλει, κατά τη μετακίνηση αυτή, στην απώλεια όλων των πλάγιων προσφύσεων και κατά συνέπεια στην πλήρη υποστροφή του ουραίου φύλλου του γεννητικού περιτοναίου [Martin E *et al.* 1996]. Η μόνη δομή που φαίνεται να παραμένει από το εμβρυϊκό ουραίο φύλλο είναι ένα μικροσκοπικό μεσομήτριο στα πλάγια του μικρού σώματος της μήτρας και του κατώτερου τμήματος του κέρατος της μήτρας, το οποίο συνίσταται σε υπολειμματικές κοντές ίνες σε ακτινωτή διάταξη που προσφύονται στο πυελικό έδαφος. Μέσα σε αυτό το υπολειμματικό μεσομήτριο, ανευρίσκεται και ο στρογγύλος σύνδεσμος (παράγωγο του συνδέσμου του οίακα στο θήλυ) [Griffiths AL *et al.* 1993].

#### IV.7. ΣΥΝΟΔΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΔΙΑΠΛΑΣΗΣ ΣΕ ΑΛΛΑ ΑΝΔΡΟΓΟΝΟ-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΑ ΟΡΓΑΝΑ

Συνοδές διαταραχές διάπλασης που παρατηρήθηκαν στο γεννητικό σύστημα, όπως υποσπαδίας και υποπλασία ή απλασία της επιδιδυμίδας και του σπερματικού πόρου, επιβεβαίωσαν την αποτελεσματικότητα του συγκεκριμένου φαρμακευτικού μοντέλου αναστολής των ανδρογόνων που χρησιμοποιήθηκε. Επίσης, η διακύμανση στη συχνότητα και τη βαρύτητα των ανωμαλιών αυτών επιβεβαίωσε ότι η διακύμανση που παρατηρήθηκε στη συχνότητα και βαρύτητα της κρυφορχίας αλλά και στις μορφολογικές διαταραχές του γεννητικού μεσεντερίου αποτελούν μέρος του φαινομένου της αναστολής των ανδρογόνων με χορήγηση φλουταμίδης σε έμβρυα επίμυων.

Στη μελέτη μας διαπιστώσαμε ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των διαταραχών στην ανάπτυξη της επιδιδυμίδας και του σπερματικού πόρου και της αποτυχίας στην κάθοδο του όρχη, εύρημα που εναντιώνεται στη θεωρία κάποιων ότι η επιδιδυμίδα είναι βασική για την κάθοδο του όρχη και ότι οι διαταραχές της

ανάπτυξης της επιδιδυμίδας είναι ο λόγος της αποτυχίας στην κάθοδο [Bedford JM 1978, Hadziselimovic F 1983, Hadziselimovic F 1984]. Η συχνότητα όλων των τύπων των ανωμαλιών αυτών ήταν συγκρίσιμη μεταξύ μη κατελθόντων και οσχεϊκών όρχεων με έκθεση στη φλουταμίδα, συμπεριλαμβανομένης της απλασίας/υποπλασίας της ουράς της επιδιδυμίδας στην οποία προσφύεται ο οίακας αλλά και της παντελούς απλασίας του οργάνου. Σε απόλυτη συμφωνία με τα ευρήματά μας αυτά, προηγούμενοι ερευνητές δεν κατόρθωσαν να συσχετίσουν τη συνολική συχνότητα ανωμαλιών στην επιδιδυμίδα ή τη μείωση του βάρους της επιδιδυμίδας με την αποτυχία στην κάθοδο του όρχη σε επίμυες που είχαν εκτεθεί προγεννητικά σε φλουταμίδα [Husmann DA & McPhaul MJ 1991]. Φαίνεται ότι η κρυψορχία και οι διαταραχές στη διάπλαση των παραγώγων του μεσονεφρικού πόρου είναι απλώς αποτελέσματα της προγεννητικής δράσης του αντιανδρογόνου, που κάποιες φορές συνυπάρχουν χωρίς μεταξύ τους συσχέτιση.

## V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι οι μορφολογικές διαταραχές που προκαλούνται στο κρανιακό και στο ουραίο φύλλο του γεννητικού μεσεντερίου με την αναστολή των ανδρογόνων κατά το κρίσιμο για την κάθοδο του όρχη διάστημα της κύησης συσχετίζονται ισχυρά και ανεξάρτητα με αυξημένη πιθανότητα αποτυχίας στην κάθοδο του όρχη στον επίμυ. Κατά συνέπεια, μορφολογικές μεταβολές στο κρανιακό και στο ουραίο φύλλο του μεσεντερίου του όρχη κατά την προγεννητική ανάπτυξη παίζουν συνδυαστικό ρόλο στην επιτυχία/αποτυχία της καθόδου του όρχη.

Οι μορφολογικές διαταραχές του γεννητικού μεσεντερίου που βρέθηκε να παίζουν καθοριστικό ρόλο στην αποτυχία της καθόδου του όρχη είναι το μεγάλο μήκος της ρίζας (πρόσφυσης στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα) του γεννητικού μεσεντερίου και το μικρό μήκος του συνδέσμου του οίακα (γεννητικοβουβωνικός σύνδεσμος). Οι μορφολογικές αυτές διαταραχές πιθανώς οφείλονται σε αναστολή της ανδρογόνου-εξαρτώμενης διαδικασίας κρανιοουραίας μετακίνησης της κρανιακής και της ουραίας πρόσφυσης του γεννητικού μεσεντερίου που φυσιολογικά συμβαίνει στο άρρεν.

Τα παραπάνω ευρήματα μπορεί να συμβάλουν στην ανακατεύθυνση της έρευνας για την αιτιολογία της κρυπορχίας και την περαιτέρω διαλεύκανση του μηχανισμού της καθόδου του όρχη, πεδία που, παρά τη μακρόχρονη έρευνα σε αυτά, εξακολουθούν να παραμένουν σκιώδη χάρη στην έντονη διχογνωμία, τις πολλές προκαταλήψεις και τα ουκ ολίγα αναπάντητα ερωτήματα.

## VI. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

### Εισαγωγή & Σκοπός

Στη βιβλιογραφία επικρατεί μεγάλη διχογνωμία σχετικά με το αν τα ανδρογόνα επάγουν την κάθοδο του όρχη μέσω αναπτυξιακών μεταβολών στο σύνδεσμο του οίακα ή μέσω μορφολογικών μεταβολών στον κρανιακό ανελκτήρα σύνδεσμο του όρχη. Η παρούσα μελέτη είχε ως σκοπό να διερευνήσει τη σχέση μεταξύ πιθανών μορφολογικών διαταραχών στο μεσεντέριο του όρχη, ένα ενιαίο σύνολο περιτοναϊκών πτυχών συμπεριλαμβανομένου του συνδέσμου του οίακα και του κρανιακού ανελκτήρα συνδέσμου, και της αποτυχίας στην κάθοδο του όρχη σε επίμυες με έκθεση στο αντιανδρογόνο φλουταμίδη κατά το κρίσιμο προγεννητικό διάστημα για την κάθοδο του όρχη.

### Υλικά & Μέθοδοι

Έγκυοι θηλυκοί επίμυες Sprague-Dawley έλαβαν υποδορίως 100 mg/kg/ημέρα φλουταμίδης ή το μέσο διάλυσης μόνο (μίγμα καλαμποκέλαιου/αιθανόλης) κατά τις ημέρες κύησης 16-17. Οι αρσενικοί απόγονοι που είχαν εκτεθεί σε φλουταμίδη (n=67), οι αρσενικοί απόγονοι που είχαν εκτεθεί στο μέσο διάλυσης (n=34) και οι θηλυκοί απόγονοι που είχαν εκτεθεί στο μέσο διάλυσης (n=28) υπεβλήθησαν σε χειρουργική διερεύνηση υπό χειρουργικό μικροσκόπιο την ημέρα ζωής 50. Η διερεύνηση περιελάμβανε καθορισμό της ακριβούς θέσης της γονάδας και έκπτυξη και καταμέτρηση των διαστάσεων όλων των περιτοναϊκών πτυχών του γεννητικού μεσεντερίου αμφοτερόπλευρα. Η διερεύνηση της σχέσης των μορφολογικών διαταραχών στο μεσεντέριο του όρχη εξαιτίας του αντιανδρογόνου με την επιτυχή κάθοδο του όρχη (n=61 οσχεϊκοί όρχεις με έκθεση στη φλουταμίδη) ή την αποτυχία της καθόδου του όρχη (n=50 μη κατελθόντες όρχεις με έκθεση στη φλουταμίδη, 33 κρυσορχικοί και 17 έκτοποι) έγινε με ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης.

### Αποτελέσματα

Το μεσεντέριο του όρχη συνίστατο σε ένα κρανιακό και ένα ουραίο φύλλο, με τα δύο φύλλα να βρίσκονται σε συνέχεια κατά μήκος του σπερματικού πόρου. Η φλουταμίδη είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του μεγέθους του κρανιακού φύλλου και τη μείωση του μεγέθους του ουραίου φύλλου σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Από όλες τις

μορφολογικές διαταραχές που προκάλεσε η φλουταμίδη στο μεσεντέριο του όρχη, το μεγάλο μήκος της γραμμής καθήλωσης του κρανιακού φύλλου στο οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα και το μικρό μήκος του συνδέσμου του οίακα του ουραίου φύλλου βρέθηκε να έχουν ισχυρή και ανεξάρτητη επίδραση στην πιθανότητα αποτυχίας της καθόδου του όρχη. Η εκτοπία του όρχη, σε αντίθεση με την κρυσορχία, φάνηκε να συσχετίζεται μόνο με την παρουσία οίακα μικρού μήκους. Το γεννητικό μεσεντέριο στο θήλυ διαθέτετε μόνο κρανιακό φύλλο.

### **Συμπεράσματα**

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης αποδεικνύουν το συνδυαστικό ρόλο του κρανιακού και του ουραίου φύλλου του γεννητικού περιτοναίου στην αποτυχία της καθόδου του όρχη, μέσω μιας μη φυσιολογικής μεγάλου μήκους ρίζας (οπίσθιας καθήλωσης) του μεσεντερίου του όρχη και ενός μη φυσιολογικού μικρού μήκους συνδέσμου του οίακα αντίστοιχα. Η αναστολή της φυσιολογικής ανάπτυξης και διαφοροποίησης του μεσεντερίου του όρχη με προγεννητική χορήγηση φλουταμίδης δεν οδηγεί σε θηλεοποίηση της δομής.

### **Λέξεις-κλειδιά:**

κρυσορχία, εκτοπία όρχη, κάθοδος όρχη, γεννητικό μεσεντέριο, μεσόρχεο, ελυτροειδής απόφυση και ελυτροειδής χιτώνας, ανελκτήρας σύνδεσμος όρχη, οίακας, πειραματικό μοντέλο κρυσορχίας σε επίμυες, προγεννητική αναστολή ανδρογόνων, σεξουαλικός διμορφισμός

## VII. SUMMARY

### **Background & Objective**

There is an endless debate on whether androgens mediate testis descent through developmental changes in the gubernacular or the cranial suspensory ligament. The aim of the present study was to investigate the relation of any possible morphologic changes in the genital mesentery, that is, the system of genital peritoneal folds including the gubernacular and cranial suspensory ligaments, with the event of testis non-descent in rats prenatally exposed to the antiandrogen flutamide.

### **Materials & Methods**

Time-pregnant Sprague-Dawley rats received flutamide (100 mg/kg/d) or vehicle subcutaneously on gestational days 16-17. Flutamide-treated male offspring (n=67), and vehicle-treated male (n=34) and female (n=28) offspring were surgically explored under microscope on postnatal day 50. Testicular position was examined bilaterally. Dimensions of genital mesentery parts were also assessed bilaterally. Association of flutamide-induced morphologic changes with descended (n=61) and undescended (n=50, 33 cryptorchid and 17 ectopic) testes was investigated with logistic regression analysis.

### **Results**

The male genital mesentery comprised a cranial and a caudal fold converging on the vas deferens. Flutamide resulted in enlarged cranial and reduced caudal folds. Of all flutamide-induced alterations, the increased length of the posterior fixation of the cranial fold and the decreased length of the gubernacular ligament of the caudal fold were found to independently increase the odds of testis non-descent. Testicular ectopy, unlike cryptorchidism, was associated with a short gubernacular ligament only. The female genital mesentery consisted of a cranial fold only.

### **Conclusions**

The findings of the present study showed a combined contribution of both cranial and caudal folds of the genital mesentery to testis non-descent, through an abnormally long mesentery root and an abnormally short gubernacular ligament, respectively.

Inhibition of male-specific development of the genital mesentery with flutamide did not result in a feminized architecture.

**Key words:**

cryptorchidism, testis ectopy, testis descent and non-descent, genital mesentery, mesorchium, processus vaginalis and tunica vaginalis, cranial suspensory ligament, gubernaculum, experimental model of cryptorchidism in rats, prenatal androgen blockade, sexual dimorphism



## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

Arey LB. *Developmental Anatomy*, 6th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 1954; pp 329-31.

Backhouse KM. The gubernaculum testis Hunteri: testicular descent and maldescent. *Ann R Coll Surg Engl* 1964; 35: 15-33.

Backhouse KM. Embryology of testicular descent and maldescent. *Urol Clin North Am* 1982; 9: 315-25.

Barthold JS & Redman JF. Association of epididymal anomalies with patent processus vaginalis in hernia, hydrocele, and cryptorchidism. *J Urol* 1996; 156: 2054-6.

Barthold JS, Mahler HR, Newton BW. Lack of feminization of the cremaster nucleus in cryptorchid androgen insensitive rats. *J Urol* 1994; 152: 2280-6.

Barthold JS, Mahler HR, Sziszak TJ, Newton BW. Lack of feminization of the cremaster nucleus by prenatal flutamide administration in the rat and pig. *J Urol* 1996; 156: 767-71.

Barton B & Peat J. *Medical Statistics. A Guide to SPSS, Data Analysis and Critical Appraisal*, 2nd ed. Oxford: Wiley Blackwell; 2014; pp 14-16, 298-300.

Beasley SW & Hutson JM. Effect of division of genitofemoral nerve on testicular descent in the rat. *Aust N Z J Surg* 1987; 57; 49-51.

Bedford JM. Anatomical evidence for the epididymis as the prime mover in the evolution of the scrotum. *Am J Anat* 1978; 152: 483-507.

Bentvelsen FM & George FW. The fetal rat gubernaculum contains higher levels of androgen receptor than does the postnatal gubernaculum. *J Urol* 1993; 150: 1564-6.

Bergh A. Experimental models of cryptorchidism. In: Keel B & Abney T (eds). *The Cryptorchid Testis*. Boca Raton: CRC Press; 1989; pp 15-34.

Bergh A & Söder O. Studies of cryptorchidism in experimental animal models. *Acta Paediatr* 2007; 96: 617-21.

Bica DT & Hadziselimovic F. The behavior of epididymis, processus vaginalis and testicular descent in cryptorchid boys treated with busserelin. *Eur J Pediatr* 1993; 152: S38-42.

Cain MP, Kramer SA, Tindall DJ, Husmann DA. Expression of androgen receptor protein within the lumbar spinal cord during ontologic development and following antiandrogen induced cryptorchidism. *J Urol* 1994; 152: 766-9.

Cain MP, Kramer SA, Tindall DJ, Husmann DA. Flutamide-induced cryptorchidism in the rat is associated with altered gubernacular morphology. *Urology* 1995; 46: 533-8.

Caterino S, Lorenzon L, Cavallini M, Cavaniglia D, Ferro F. Epididymal-testicular fusion anomalies in cryptorchidism are associated with proximal location of the undescended testis and with a widely patent processus vaginalis. *J Anat* 2014; 225: 473-8.

Chen N, Harisis GN, Farmer P, Buraundi S, Sourial M, Southwell BR, Balic A, Hutson JM. Gone with the Wnt: the canonical Wnt signaling axis is present and androgen dependent in the rodent gubernaculum. *J Pediatr Surg* 2011; 46: 2363-9.

Churchill JA, Buraundi S, Farmer PJ, Li R, Southwell BR, Hutson JM, Balic A. Gubernaculum as icebreaker: do matrix metalloproteinases in rodent gubernaculum and inguinal fat pad permit testicular descent? *J Pediatr Surg* 2011; 46: 2353-7.

Clarnette TD, Rowe D, Hasthorpe S, Hutson JM. Incomplete disappearance of the processus vaginalis as a cause of ascending testis. *J Urol* 1997; 157: 1889-91.

Elder JS. Epididymal anomalies associated with hydrocele/hernia and cryptorchidism: implications regarding testicular descent. *J Urol* 1992; 148: 624-6.

Elder JS, Isaacs JT, Walsh PC. Androgenic sensitivity of the gubernaculum testis: evidence for hormonal/mechanical interactions in testicular descent. *J Urol* 1982; 127: 170-6.

Engle ET. Experimentally induced descent of the testis in the macacus monkey by hormones from the anterior pituitary and pregnancy urine. *Endocrinology* 1932; 16: 513-20.

European Society for Pediatric Urology (ESPU). EAU Guidelines on Pediatric Urology. European Association of Urology 2018; pp 13-8. Accessed at <https://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Guidelines-on-Paediatric-Urology-2018-large-text.pdf> Sep 15, 2020

Fallat ME, Williams MPL, Farmer PJ, Hutson JM. Histologic evaluation of inguinoscrotal migration of the gubernaculum in rodents during testicular descent and its relationship to the genitofemoral nerve. *Pediatr Surg Int* 1992; 7: 265-70.

Felix W. The development of the urinogenital organs. In: Keibel F & Mall FP (eds). *Manual of Human Embryology*. Philadelphia: JB Lippincott Co; 1912; pp 785-96, 940-7.

Feng S, Bogatcheva NV, Truong A, Korchin B, Bishop CE, Klonisch T, Agoulnic IU, Agoulnik AI. Developmental expression and gene regulation of insulin-like 3 receptor RXFP2 in mouse male reproductive organs. *Biol Reprod* 2007; 77: 641-80.

Frey HL & Rajfer J. Role of the gubernaculum and intra-abdominal pressure in the process of testicular descent. *J Urol* 1984; 131: 574-9.

Fujikake N, Togashi H, Yamamoto M, Arishima K, Ueda Y, Eguchi Y. Relationship between the development of the gubernaculum and the testicular descent in the rat

fetus: macroscopic and light and electron microscopic observation. *Nihon Juigaku Zasshi* 1989; 51: 416-24.

George FW. Developmental pattern of 5 alpha-reductase activity in the rat gubernaculum. *Endocrinology* 1989; 7124: 727-32.

Goh DW, Momose Y, Middlesworth W, Hutson JM. The relationship among calcitonin gene-related peptide, androgens and gubernacular development in 3 animal models of cryptorchidism. *J Urol* 1993; 150: 574-6.

Goh DW, Middlesworth W, Farmer PJ, Hutson JM. Prenatal androgen blockade with flutamide inhibit masculinization of the genitofemoral nerve and testicular descent. *J Pediatr Surg* 1994; 29: 836-8.

Griffiths AL, Momose Y, Hutson JM. The gubernaculum in adult female, adult male and TFM male mice. *Int J Androl* 1993; 16: 380-4.

Habenicht UF & Neumann F. Hormonal regulation of testicular descent. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 1983; 81: 1-54.

Hadziselimovic F. Embryology of testicular descent and maldescent. In: Hadziselimovic F (ed). *Cryptorchidism*. Berlin: Heidelberg; 1983.

<sup>b</sup>Hadziselimovic F. *Cryptorchidism: Management and Implications*. New York: Springer-Verlag; 1983.

Hadziselimovic F. Mechanism of testicular descent. *Urol Res* 1984; 12: 155-7.

Hadziselimovic F. Old and new insights in testicular descent. *Pediatr Surg Int* 1995; 10: 585-9.

Hadziselimovic F. Re: Historical review of theories on testicular descent. *J Urol* 1996; 155: 2036-8.

Hadziselimovic F & Girard J. Hormonal influences on testicular development and descent. In: Fonkalsrud EW & Mengel W (eds). *The Undescended Testis*. Chicago: Year Book Publishers; 1981; pp 75-91.

Hadziselimovic F & Herzog B. Etiology of testicular descent. *Clin Androl* 1980; 3: 138-47.

Hadziselimovic F & Herzog B. The importance of both an early orchidopexy and germ cell maturation for fertility. *Lancet* 2001; 358: 1156-7.

Hall-Griggs ECB. *Anatomy as a Basis for Clinical Medicine*, 2nd ed. Baltimore: Urban and Schwarzenberg; 1990.

Harnaen EJ, Na AF, Shenker NS, Sourial M, Farmer PJ, Southwell BR, Hutson JM. The anatomy of the cremaster muscle during inguinoscrotal descent in the rat. *J Pediatr Surg* 2007; 42: 1982-7.

Hart DB. The nature and cause of the physiological descent of the testes. *J Anat Physiol* 1910; 44: 4-26.

Heyns CF. The gubernaculum during testicular descent in the human fetus. *J Anat* 1987; 153: 93-112.

Heyns CF, Human HJ, Werely CJ, De Klerk DP. The glycosaminoglycans of the gubernaculum during testicular descent in the fetus. *J Urol* 1990; 143: 612-7.

Hinman F Jr & Baskin LS. *Hinman's Atlas of Pediatric Urologic Surgery*, 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: Saunders-Elsevier; 2009; pp 562-89.

Hollinshead WH. *Anatomy for Surgeons. The Thorax, Abdomen and Pelvis*, vol 2. New York: Harper & Brothers; 1956.

Hrabovszky Z, Farmer PJ, Hutson JM. Does the sensory nucleus of the genitofemoral nerve have a role in testicular descent? *J Pediatr Surg* 2000; 35: 96-100.

Hubscher CH, Brooks DL, Johnson JR. A quantitative method for assessing stages of the rat estrous cycle. *Biotech Histochem* 2005; 80: 79-87.

Husmann DA. Testicular descent: a hypothesis and review of current controversies. *Pediatr Endocrinol Rev* 2009; 6: 491-5.

Husmann DA & Levy JB. Current concepts in the pathophysiology of testicular undescend. *Urology* 1995; 46: 267-76.

Husmann DA & McPhaul MJ. Time-specific androgen blockade with flutamide inhibits testicular descent in the rat. *Endocrinology* 1991; 129: 1409-16.

<sup>b</sup>Husmann DA & McPhaul MJ. Localization of the androgen receptor in the developing rat gubernaculum. *Endocrinology* 1991; 128: 383-7.

Husmann DA, Boone TB, McPhaul MJ. Flutamide-induced testicular undescend in the rat is associated with alterations in genitofemoral nerve morphology. *J Urol* 1994; 151: 509-13.

Hutson JM. Testicular feminization: a model for testicular descent in mice and men. *J Pediatr Surg* 1986; 21: 195-8.

Hutson JM. Undescended testis, torsion, and varicocele. In: Coran AG, Adzick NS, Krummel TM, *et al.* (eds). *Pediatric Surgery*, 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012; pp 1003-14.

Hutson JM & Beasley SW. *Descent of the Testis*. London: Edward Arnold; 1992; p 30.

Hutson JM, Albano R, Paxton G, Sugita Y, Connor R, Clarnette TD, Gray AZ, Watts LM, Farmer PJ, Hasthorpe S. In vitro fusion of human inguinal hernia with associated epithelial transformation. *Cells Tissues Organs* 2000; 166: 249-58.

Hutson JM, Baskin LS, Risbridger G, Cuhna GR. The power and perils of animal models with urogenital anomalies: handle with care. *J Pediatr Urol* 2014; 10: 699-705.

Hutson JM, Li R, Southwell BR, Newgreen D, Cousinery M. Regulation of testicular descent. *Pediatr Surg Int* 2015; 31: 317-25.

Jost A, Vigier B, Prepin J, Perchellet JP. Studies on sex differentiation in mammals. *Recent Prog Horm Res* 1973; 29: 1-41.

Kaftanovskaya EM, Feng S, Huang Z, Tan Y, Barbara AM, Kaur S, Truong A, Gorlov IP, Agoulnik AI. Suppression of insulin-like 3 receptor reveals the role of  $\beta$ -catenin and Notch signaling in gubernaculum development. *Mol Endocrinol* 2011; 25: 170-83.

Kaftanovskaya EM, Huang Z, Barbara AM, De Gendt K, Verhoeven G, Gorlov I, Agoulnik A. Cryptorchidism in mice with an androgen receptor ablation in gubernaculum testis. *Mol Endocrinol* 2012; 26: 598-607.

Kassim NM, McDonald SW, Reid O, Bennett NK, Gilmore DP, Payne AP. The effects of pre- and postnatal exposure to the nonsteroidal antiandrogen flutamide on testis descent and morphology in the Albino Swiss rat. *J Anat* 1997; 190: 577-88.

Kassim NM, Russel DA, Payne AP. Does the cranial suspensory ligament have a role in cryptorchidism? *Cells Tissues Organs* 2010; 191: 307-15.

Kersten W, Molenaar GJ, Emmen JM, Van der Schoot P. Bilateral cryptorchidism in a dog with persistent cranial testis suspensory ligaments and inverted gubernacula: report of a case with implications for understanding normal and aberrant testis descent. *J Anat* 1996; 189: 171-6.

Koff WJ & Scaletsky R. Malformations of the epididymis in undescended testis. *J Urol* 1990; 143: 340-3.



Larkins SL, Hutson JM, Williams MPL. Localization of calcitonin gene-related peptide immunoreactivity within the spinal nucleus of the genitofemoral nerve. *Pediatr Surg Int* 1991; 6: 176-9.

Lee J & Shortliffe LM. Undescended testes and testicular tumours. In: Holcomb GW III, Murphy JP, Ostile DJ *et al.* (eds). *Aschcraft's Pediatric Surgery*, 6<sup>th</sup> ed. London: Elsevier Saunders; 2014; pp 689-95.

Lemeh CN. A study of the development and structural relationships of the testis and gubernaculum. *Surg Gynecol Obstet* 1960; 110: 164-72.

Lewis LG. Cryptorchidism. *J Urol* 1948; 60: 345-56.

Lockwood CB. Development and transition of the testis, normal and abnormal. *J Anat Physiol* 1988; 22: 505-41.

Lopez-Marambio FA & Hutson JM. The relationship between the testis and tunica vaginalis changes with age. *J Pediatr Surg* 2015; 50: 2075-7.

MacDonald MF, Barthold JS, Kass EJ. Abnormalities of the penis and scrotum. In: Docimo SG *et al.* (eds). *The Kelalis-King-Belman Textbook of Clinical Pediatric Urology*, 3<sup>rd</sup> ed. London: Informa Healthcare UK Ltd; 2007.

Martin E. The development of the genital peritoneum in domestic mammals. An analysis of the literature and nomenclature. *Anat Histol Embryol* 1995; 24: 285-7.

Martin E & Rodriguez-Martinez H. Changes in the peritoneum during the development of the testis, epididymis and ductus deferens in the pig. *Anat Histol Embryol* 1993; 22: 201-11.

Martin E, Rodriguez-Martinez H, Dalin G, Castrillejo A. Development of the genital peritoneal folds in sheep. *Anat Histol Embryol* 1996; 25: 187-95.

Matsuno Y, Komiyama M, Tobe T, Toyota N, Adachi T, Mori C. Association of testicular undescend induced by prenatal flutamide treatment with thickening of the cremaster muscle in rats. *Reprod Med Biol* 2003; 2: 109-13.

McGregor AL. The third inguinal ring. *Surg Gynecol Obstet* 1929; 49: 273-307.

McIntyre BS, Barlow NJ, Foster PM. Androgen-mediated development in male rat offspring exposed to flutamide in utero: permanence and correlation of early postnatal changes in anogenital distance and nipple retention with malformations in androgen-dependent tissues. *Toxicol Sci* 2001; 62: 236-49.

Mentessidou A & Mirilas P. 'Testis-epididymis dissociation' in cryptorchidism and hydrocele: the tip of the iceberg of a persistent genital mesentery. *Surg Radiol Anat* 2020; 42: 1329-37.

Miller A, Hong MKH, Hutson JM. The broad ligament: a review of its anatomy and development in different species and hormonal environments. *Clin Anat* 2004; 17: 244-51.

Mirilas P, Mentessidou A, Kontis E, Argyris I, Tsitouridis I, Petropoulos A. Sonographic evidence for patency of the processus vaginalis in children with acquired undescended testis. *Int J Androl* 2011; 34: 49-54.

Mirilas P & Mentessidou A. The secondary external inguinal ring and associated fascial planes: surgical anatomy, embryology, applications. *Hernia* 2013; 17: 379-89.

Moore KL & Dalley AF. *Clinically Oriented Anatomy*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 1999.

Nation T, Balic A, Buraundi S, Farmer P, Newgreen D, Southwell B, Hutson J. The antiandrogen flutamide perturbs inguinoscrotal testicular descent in the rat and suggests a link with mammary development. *J Pediatr Surg* 2009; 44: 2330-4.

Nation TR, Buraundi S, Balic A, Farmer PJ, Newgreen D, Southwell BR, Hutson JM. The effect of flutamide on expression of androgen and estrogen receptors in the gubernaculum and surrounding structures during testicular descent. *J Pediatr Surg* 2011; 46: 2358-62.

Nef S & Parada LF. Cryptorchidism in mice mutant for *Insl3*. *Nat Genet* 1999; 22: 295-9.

O'Rahilly R & Müller F. *Human Embryology & Teratology*, 2<sup>nd</sup> ed. New York: Wiley-Liss; 1996; p 1255.

Pham SBT, Hong MK-H, Teague JA, Hutson JM. Is the testis intraperitoneal? *Pediatr Surg Int* 2005; 21: 231-9.

Ragnanathan P, Pramesh CS, Aggarwal R. Common pitfalls in statistical analysis: logistic regression. *Perspect Clin Res* 2017; 8: 148-51.

Rajfer J. Congenital anomalies of the testis. In: Walsh PC (ed). *Campbell's Urology*. Philadelphia: WB Saunders; 1986.

Rajfer J & Walsh P. Testicular descent. *Birth Defects: Original Article Series* 1977; 13: 107-22.

Rusnack SL, Wu HY, Huff DS, Snyder HM 3<sup>rd</sup>, Zderic SA, Carr MC, Canning DA. The ascending testis and the testis undescended since birth share the same histopathology. *J Urol* 2002; 148: 2590-1.

Schreiber-Gregory D & Jackson HM. Logistic and linear regression assumptions: violation recognition and control. Paper 130-2018. Accessed at [https://www.lexjansen.com/wuss/2018/130\\_Final\\_Paper\\_PDF.pdf](https://www.lexjansen.com/wuss/2018/130_Final_Paper_PDF.pdf), July 26, 2020

Schrock P. The processus vaginalis and gubernaculum. The raison d'être redefined. *Surg Clin North Am* 1971; 51: 1263-8.

Scorer CG. The anatomy of testicular descent –normal and incomplete. *Br J Surg* 1962; 49: 357-67.

Shono T, Ramm-Anderson S, Goh DW, Hutson JM. The effect of flutamide on testicular descent in rats examined by scanning electron microscopy. *J Pediatr Surg* 1994; 29: 839-44.

Skandalakis JE & Gray SW. *Embryology for Surgeons*, 2nd ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 1994; pp 743-4.

Skandalakis JE, Colborn GL, Weidman TA, Badalament RA, Scaljion WM, Parrott TS *et al.* Male genital system. In: Skandalakis JE, Colborn GL, Weidman TA, Foster RS, Kingsnorth AN, Skandalakis LJ *et al.* (eds). *Skandalakis' Surgical Anatomy*. Athens: Paschalidis Medical Publication; 2004; p 1387.

Snell RS. *Clinical Anatomy for Medical Students*, 5th ed. Boston: Little, Brown; 1995

Spencer JR, Torrado T, Sanchez RS, Vaughan ED Jr, Imperato-McGinley J. Effects of flutamide and finasteride on rat testicular descent. *Endocrinology* 1991; 129; 741-8.

Su S, Farmer PJ, Li R, Sourial M, Buraundi S, Bodemer D, Southwell BR, Hutson JM. Regression of the mammary branch of the genitofemoral nerve may be necessary for testicular descent in rats. *J Urol* 2012; 188: 1443-8.

Szarek M, Li R, Vikraman J, Southwell B, Hutson JM. Molecular signals governing cremaster muscle development: clues for cryptorchidism. *J Pediatr Surg* 2014; 49: 312-6.

Tanyel FC. Comment on testicular descent and cryptorchidism: the state of the art in 2004. *J Pediatr Surg* 2005; 40: 1508.

Tanyel FC. A reevaluation of the mechanism of testicular descent: reasons for failed descent or ascent. *J Pediatr Surg* 2000; 35: 1147-9.

Tanyel FC, Dagdeviren A, Muftuoglu S, Gursoy MH, Yuruker S, Buyukpamukcu N. Inguinal hernia revisited through comparative evaluation of peritoneum, processus vaginalis and sacs obtained from children with hernia, hydrocele and undescended testis. *J Pediatr Surg* 1999; 34; 552-5.

<sup>b</sup>Tanyel FC, Sara Y, Ertunc M, Onur R, Buyukpamukcu N. Lack of carbachol response indicates the absence of cholinergic receptors in sacs associated with undescended testis. *J Pediatr Surg* 1999; 34; 1339-44.

Tanyel FC, Erdem S, Buyukpamukcu N, Tan E. Smooth muscle within incomplete obliterations of processus vaginalis lacks apoptotic nuclei. *Urol Int* 2002; 69: 42-5.

Tanyel FC, Ertunc M, Ekinci S, Yildirim M, Onur R. Anti-androgen induced inhibition of testicular descent is associated with a decrease in sympathetic tonus. *Eur J Pediatr Surg* 2005; 15: 273-8.

Tasian GE, Hittelman AB, Kim GE, DiSandro MJ, Baskin LS. Age at orchiopexy and testis palpability predict germ and Leydig cell loss: clinical predictors of adverse histological features of cryptorchidism. *J Urol* 2009; 182: 704-9.

Taylor GP. Pathology of the pediatric region inguinalis: mysteries of the hernia sac exposed. *Pediatr Dev Pathol* 2000; 3: 513-24.

Terada M, Goh DW, Farmer PJ, Hutson JM. Calcitonin gene-related peptide receptors in the gubernaculum of normal rat and 2 models of cryptorchidism. *J Urol* 1994; 152: 759-62.

Tobe T, Toyota N, Matsuno Y, Komiyama M, Adachi T, Ito H, Mori C. Embryonic myosin heavy chain and troponin T isoforms remain in the cremaster muscle of adult rat cryptorchidism induced with flutamide. *Arch Histol Cytol* 2002; 65: 279-90.

Turek PJ, Ewalt DH, Snyder HM 3<sup>rd</sup>, Duckett JW. Normal epididymal anatomy in boys. *J Urol* 1994; 151: 726-7.

Van der Schoot P. Disturbed testicular descent in the rat after prenatal exposure to the antiandrogen flutamide. *J Reprod Fertil* 1992; 96: 483-96.

<sup>b</sup>Van der Schoot P. Androgens in relation to prenatal development and postnatal inversion of the gubernacula in rats. *J Reprod Fertil* 1992; 95: 145-58.

Van der Schoot P. Towards a rational terminology in the study of the gubernaculum testis: arguments in support of the notion of the cremasteric sac should be considered the gubernaculum in postnatal rats and other mammals. *J Anat* 1996; 189: 97-108.

Van der Schoot P & Elger W. Androgen-induced prevention of the outgrowth of cranial gonadal suspensory ligaments in fetal rats. *J Androl* 1992; 13: 534-42.

Van der Schoot P & Emmen JMA. Development, structure and function of the cranial suspensory ligaments of the mammalian gonads in a cross-species perspective: their possible role in effecting disturbed testicular descent. *Hum Reprod Update* 1996; 2: 399-418.

Watson LF. Embryologic and anatomic considerations in etiology of inguinal and femoral hernias. *Am J Surg* 1938; 42: 695-703.

Wells LJ. Descent of the testis: anatomical and hormonal considerations. *Surgery* 1943; 14: 436-72.

Wyndham NR. A morphological study of testicular descent. *J Anat* 1943; 77: 179-91.

Yarbrough WG, Quarmby VE, Simental JA, Joseph DR, Sar M, Lubahn DB, Olsen KL, French FS, Wilson EM. A single base mutation in the androgen receptor gene causes androgen insensitivity in the testicular feminized rat. *J Biol Chem* 1990; 26: 8893-900

Yong EXZ, Huynh J, Farmer P, Ong SY, Sourial M, Donath S, Ting AYS, Chow Y, Hutson JM. Calcitonin gene-related peptide stimulates mitosis in the tip of the rat

gubernaculum in vitro and provides the chemotactic signals to control gubernacular migration during testicular descent. *J Pediatr Surg* 2008; 43: 1533-9.

Zimmermann S, Steding G, Emmen JM, Brinkmann AO, Nayernia K, Holstein AF, Engel W, Adham IM. Targeted disruption of the *Insl3* gene causes bilateral cryptorchidism. *Mol Endocrinol* 1999; 13: 681-91.

# **ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ**



# Morphologic alterations of the genital mesentery implicated in testis non-descent in rats prenatally exposed to flutamide

Anastasia Mentessidou<sup>1</sup>  | Christos Salakos<sup>2</sup> | George Chrousos<sup>3</sup> |  
Christina Kanaka-Gantenbein<sup>4</sup> | Alkiviadis Kostakis<sup>5</sup> | Petros Mirilas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatric Surgery, Aghia Sophia Children's Hospital, Athens, Greece

<sup>2</sup>Department of Pediatric Surgery, Medical School of National and Kapodistrian University of Athens, Attikon Hospital, Athens, Greece

<sup>3</sup>University Research Institute of Maternal & Child Health and Precision Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

<sup>4</sup>1st Department of Pediatrics, Medical School of National and Kapodistrian University of Athens, Aghia Sophia Children's Hospital, Athens, Greece

<sup>5</sup>Center of Experimental Surgery, Biomedical Research Foundation Academy of Athens, Athens, Greece

## Correspondence

Anastasia Mentessidou, MD and Petros Mirilas, MD, MSurg, PhD, Department of Pediatric Surgery, Aghia Sophia Children's Hospital, Thivon St. & Papadiamantopoulou St., 11527, Athens, Greece.  
Email: natmente@gmail.com, pmirilas@gmail.com

## Abstract

**Background:** There is an endless debate on whether androgens mediate testis descent through developmental changes in the gubernacular or the cranial suspensory ligament.

**Objective:** To investigate the relation of any possible morphologic changes in the genital mesentery, that is, the system of genital peritoneal folds including the gubernacular and cranial suspensory ligaments, with the event of testis non-descent in rats prenatally exposed to the antiandrogen flutamide.

**Materials and methods:** Time-pregnant Sprague Dawley rats received flutamide (100 mg/kg/d) or vehicle subcutaneously on gestational days 16-17. Flutamide-treated male offspring (n = 67), and vehicle-treated male (n = 34) and female (n = 28) offspring were surgically explored under microscope on postnatal day 50. Testicular position was examined bilaterally. Dimensions of genital mesentery parts were also assessed bilaterally. Association of flutamide-induced morphologic changes with descended (n = 61) and undescended (n = 50; 33 cryptorchid and 17 ectopic) testes was investigated with logistic regression analysis.

**Results:** The male genital mesentery comprised a cranial and a caudal fold converging on the vas deferens. Flutamide resulted in enlarged cranial and reduced caudal folds. Of all flutamide-induced alterations, the increased length of the posterior fixation of the cranial fold and the decreased length of the gubernacular ligament of the caudal fold were found to independently increase the odds of testis non-descent. Testicular ectopy, unlike cryptorchidism, was associated with a short gubernacular ligament only. The female genital mesentery consisted of a cranial fold only.

**Conclusion:** Our findings showed a combined contribution of both cranial and caudal folds of the genital mesentery to testis non-descent, through an abnormally long mesentery root and an abnormally short gubernacular ligament, respectively. Inhibition of male-specific development of the genital mesentery with flutamide did not result in a feminized architecture.

## KEYWORDS

cranial suspensory ligament, flutamide-induced cryptorchidism, genital mesentery, genital peritoneal folds, gubernaculum, testis descent

## 1 | INTRODUCTION

The etiology of testis non-descent remains unclear, despite the long history of research on the subject. It has been repeatedly postulated that androgens, either directly or through other mediating factors, control testis descent by regulating gubernacular development. This belief is supported by the fact that the time that the antiandrogen flutamide causes maximal inhibition of testis descent in rats coincides with maximal androgen receptor expression and androgenic activity in the gubernaculum, before gestational day 19.<sup>1-3</sup> However, the androgen-induced morphologic alterations of the gubernaculum involved in testis descent remain obscure, as there have been several contradictory reports on shortening,<sup>4</sup> elongation<sup>5,6</sup> and lack of abnormal morphologic changes in the rodent gubernaculum after exposure to flutamide in utero.<sup>7,8</sup>

Some authors dispute the leading role of the gubernaculum in testicular descent and focus on the cranial suspensory ligament (CSL) of the testis. This ligament also stains positive for androgen receptors during the critical prenatal period in which androgen blockade inhibits testis descent in rats,<sup>9</sup> and has, thus, been proposed as an important determinant of testis descent.<sup>6,10</sup> However, it is unclear which androgen-induced CSL changes are involved, as both an abnormally short<sup>5</sup> and an abnormally long CSL<sup>11</sup> have been reported in rats prenatally treated with flutamide. Additionally, attempts to associate flutamide-induced CSL alterations with the position of the testes failed.<sup>9</sup>

Nevertheless, the gubernacular ligament and the CSL are not independent structures, as usually considered by advocates of the former or the latter, in the controversy over the mechanism of testis descent. They are, in fact, parts of the genital mesentery, a system of serosal folds of the developing mammalian gonads and associated genital ducts.<sup>10,12-14</sup> In this context, other adjacent parts of the genital mesentery should not be excluded from consideration for their role in testis descent; furthermore, it is possible that combined alterations in the architecture of various parts of the genital mesentery contribute to testis descent.

Taking the above into consideration, we designed the present experimental study in rats in order to investigate the relation of the morphologic alterations of the male genital mesentery induced by prenatal androgen blockade (flutamide) with the occurrence of testis non-descent, as well as with the various positions of undescended testes. To examine whether these alterations correspond to a feminized morphology, comparisons with the normal female structure were made.

## 2 | MATERIALS AND METHODS

All procedures with animals were performed in the Center of Experimental Surgery, Biomedical Research Foundation Academy of Athens, Greece. Procedures were in accordance with the ethical standards of the national animal investigations committee (ID: 6929/28-12-2017), ARRIVE guidelines, and Guiding Principles in the Care and Use of Animals (DHEW Publication, NIH).

## 2.1 | Experimental design

Rats were used as they have important similarities with humans in terms of testis descent and have been the leading animal model for relevant research.<sup>15,16</sup>

Ten-week-old female Sprague Dawley rats ( $n = 20$ ) in estrus were co-housed with adult male rats for 24 hours; identification of estrus was based on the cellular profiles of Papanicolaou-stained vaginal smears.<sup>17</sup> Conception was verified with detection of sperm cells in the vaginal swabs obtained in the following morning; first day of gestation was considered the sperm-positive day.<sup>3</sup> The design of the study thereafter is shown in Figure 1.

### 2.1.1 | Dam groups

Pregnant rats were randomly allocated to two treatment groups in a 3:1 ratio: A) dams treated with flutamide on gestational days 16-17 and B) control dams treated with drug vehicle on gestational days 16-17. Flutamide is a non-steroidal antiandrogen that maximally interferes with testis descent in Sprague Dawley rats during gestational days 16-17.<sup>3</sup> Flutamide (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) was administered subcutaneously at a dose of 100 mg/kg/d,<sup>3</sup> dissolved in 100  $\mu$ L ethanol, and then mixed with 900  $\mu$ L corn oil. Control dams received subcutaneously an equal volume of the drug vehicle only (1 mL of 9:1 corn oil/ethanol mixture).

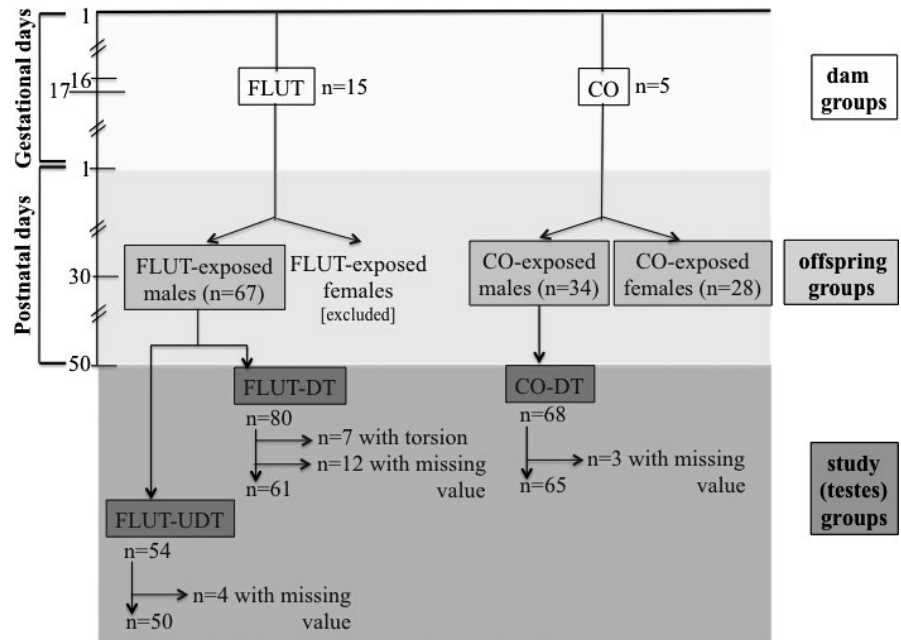
### 2.1.2 | Offspring groups

Pups were weaned by 30 days of life. They were grouped according to sex and prenatal treatment as: (a) male offspring rats exposed to flutamide, (b) male offspring rats exposed to drug vehicle, and (c) female offspring rats exposed to drug vehicle. Flutamide-treated female pups were excluded. On postnatal day 50, rats of the offspring groups were anesthetized (ketamine 100 mg/kg—chlorpromazine 2 mg/kg, intramuscularly) and surgically explored under surgical microscope (Leica Microsystems GmbH, Germany). Rats were euthanized with cardiac exsanguination while under anesthesia.

### 2.1.3 | Study groups (testes)

In males (offspring groups a-b), the abdominal and inguinoscrotal skin was excised bilaterally and the position of the testes on either side was documented. Testicular position was classified as "descended" or "undescended," thereby resulting in three study groups of testes of either side: (i) flutamide-induced undescended testes (FLUT-UDT), (ii) flutamide-exposed descended testes (FLUT-DT), and (iii) corn oil-exposed descended testes (CO-DT). Testes, descended or undescended, with coexisting torsion were to be excluded, in order to avoid any bias in the mesentery of descended or undescended testes, which might be created by torsion-related changes in the

**FIGURE 1** Flowchart showing the experimental study design and the derived groups. CO: corn oil; CO-DT: corn oil-exposed descended testes; FLUT: flutamide; FLUT-DT: flutamide-exposed descended testes; FLUT-UDT: flutamide-induced undescended testes



genital mesentery. The exact positions of FLUT-UDT, namely "intra-abdominal," "canalicular," "pre-scrotal," or "ectopic," were also noted. "Ectopic" position was defined as the position of an undescended testis outside of the normal pathway of descent. Subsequently, a midline abdominal incision was made and all testes were exposed in the abdomen to study the genital mesentery morphology on both sides (see below); testes that had exited the abdomen were pulled back through the processi vaginales, which remain patent throughout life in rats. In addition, any epididymal, vasal, or penile abnormalities were noted.

**2.1.4 | Females**

In females (offspring group c), the abdomen was entered and the genital mesentery was studied bilaterally (n = 56 sides) (see below).

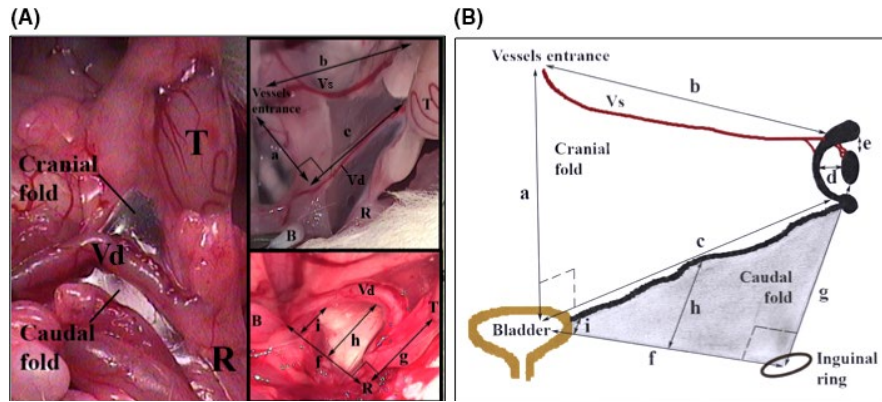
**2.2 | Genital mesentery morphology**

Based on observations from a pilot study in normal male and female rats, we defined the dimensions that best described the genital mesentery structure. The male entity consists of two triangle-shaped folds, a cranial fold above and a caudal fold below the vas deferens (Figure 2A); this division was based on embryological descriptions by Martin et al for the genital mesentery in mammals,<sup>13</sup> as male rats normally retain a fetal-type genital mesentery.<sup>14</sup> Each fold expands in a different plane in 3-D space. The cranial fold extends from the posterior abdominal wall towards the testis-epididymis complex and vas deferens; the caudal fold extends from the vas deferens and testis-epididymis complex towards the pelvic floor. Therefore, full expansion of each fold for accurate measurement of their dimensions was achieved separately as follows:

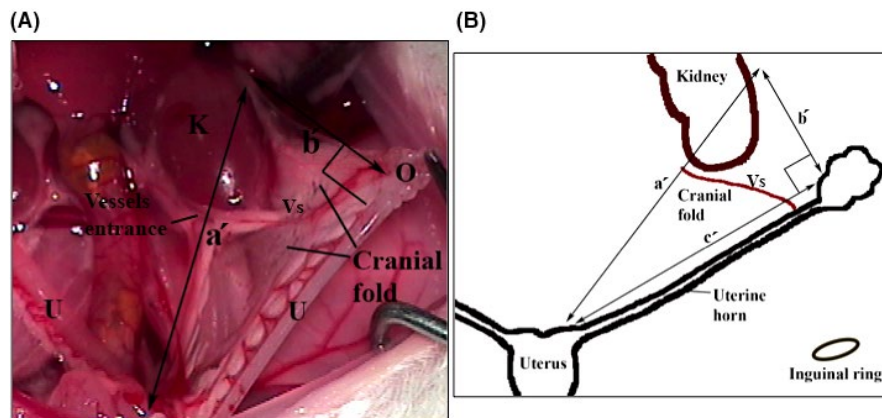
After lifting the testis out of the abdomen at a position of maximal cranial fold expansion, at which the axis of the vas deferens—being straightened—and the line of posterior wall peritoneal attachments were at a right angle, "a"- "e" dimensions were measured (Figure 2A, upper inlet and B). Dimension "a" is the distance of the upper end of the peritoneal attachments to the posterior abdominal wall from the distal end of the vas deferens posterior to the bladder. The most cranial attachment of the genital peritoneum in normal male rats is located at the site where the internal spermatic vessels enter the cranial fold. Dimension "b" is the distance between the most cranial attachment and the epididymal head. Dimension "c" is the length of the straightened vas deferens. The distances between testis and epididymal body ("d") or head ("e") describe the peritoneal ligament between testis and epididymis, which is part of the cranial fold.

Subsequently, maximal expansion of the caudal fold was achieved by lifting the testis cranially at a position, at which the gubernacular ligament axis was perpendicular to the line along the pelvic peritoneal attachment, and "f"- "i" dimensions were measured (Figure 2A, lower inlet and B). The caudal fold is outlined by the distance of the internal inguinal ring from the distal end of the vas deferens posterior to the bladder ("f"), the gubernacular ligament length ("g"), and the vas deferens that now lies freely, without being straightened. Dimension "i" is the distance of the pelvic peritoneal attachment from the vas at the point where the latter meets the lateral edge of the bladder; "h" is the distance of the pelvic attachment from the middle of the vas; and "g" is the distance of the attachment of the caudal fold at the inguinal ring from the lower pole of the testis. Dimensions "i," "h," and "g" correspond to consecutive heights of the caudal fold.

With the assumption that cranial and caudal folds were right-angled triangles, their surface areas were estimated using the formulas  $0.5 \cdot a \cdot c$  and  $0.5 \cdot f \cdot g$ , respectively. Admittedly, the true size of both folds was overestimated (the small triangle beyond the testis to the



**FIGURE 2** Configuration of the genital mesentery in normal male rats after delivery of the testis through the abdominal incision (left side). **A.** Intraoperative photographs (age 50 days). In the main photograph (on the left), the cranial and caudal folds of the genital peritoneum are depicted as translucent, glistening membranes. The upper inlet (on the right) shows the cranial fold fully expanded for measurement of its dimensions: the testis is lifted out of the abdomen so that the vas deferens is straightened and perpendicular to the posterior abdominal wall. The lower inlet (on the right) shows the caudal fold extended cranially from its pelvic wall attachment so that the gubernacular ligament is perpendicular to the pelvic attachment line; at this position, the respective dimensions were measured. The two folds are in continuity along the vas deferens. In both inlets, the bladder is pulled anteriorly, to expose the distal end of the vas deferens at the bladder neck. **B.** Front view two-dimensional drawing of the genital mesentery at a position of hypothetical simultaneous exposure of the cranial and caudal folds (each fold extended in a different plane, with the two planes intersecting along the axis of the vas deferens). The caudal fold is depicted in grey. Note that at the position of expansion of each fold, at which measurements were taken, the angles between "a" and "c" and between "f" and "g" were right (as indicated in the drawing). The definitions of the dimensions "a"-"i" are given in the text. B: bladder; R: (internal inguinal) ring; T: testis; Vd: vas deferens; Vs: internal spermatic vessels



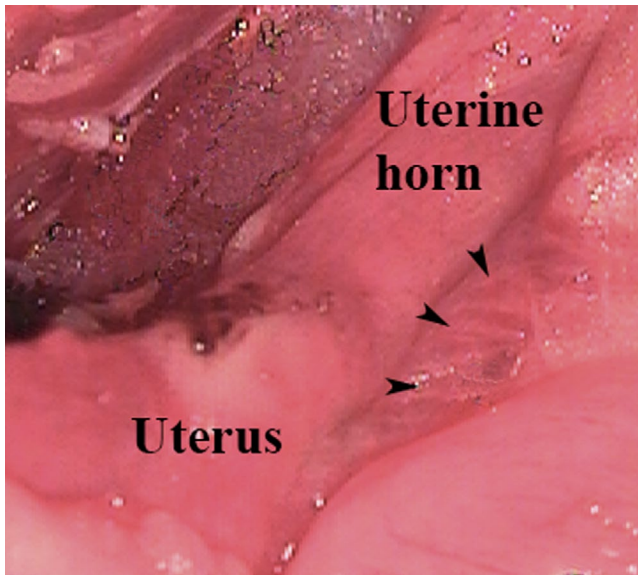
**FIGURE 3** Configuration of the genital mesentery in normal female rats. **A.** Intraoperative photograph (age 50 days) depicting the presence of a cranial fold and the absence of a caudal fold. The ovary is lifted cranially and pulled laterally to fully expand the cranial fold. **B.** Front view two-dimensional drawing of the genital peritoneum at the position of full expansion. The definitions of the dimensions "a"-"c'" are given in the text. K: kidney; O: ovary; U: uterine horn; Vs: gonadal vessels

intersection point of "b" and "c" was included in the cranial fold, as well as the small area between "c" and the non-extended vas in the caudal fold, Figure 2B); the error was, however, systematic and, thus, did not affect comparisons between study groups.

The female genital mesentery essentially consists of a cranial fold only (Figure 3). There is no structure homologous to the male caudal fold; only a residual mesometrium was found, which was comprised of some short, fan-shaped fibers attaching the uterine body and the lowest part of the uterine horn to the pelvic floor (Figure 4). The female cranial fold is outlined by the dimensions "a"-"c'" (Figure 3): "a" is the distance of the upper end of the peritoneal attachments to the posterior abdominal wall from the confluence of the uterine

horn and uterine body; "b" is the distance between the most cranial attachment and the ovary; and "c'" is the length of the uterine horn. Unlike males, the most cranial peritoneal attachment lies superolateral to the kidney, that is, higher than the site of gonadal vessel insertion. Dimensions were measured at a position of maximal cranial fold expansion, at which "c'" was perpendicular to "b". The surface area was estimated using the right-angled triangle area formula, that is,  $0.5 \cdot b' \cdot c'$ .

Measurements were obtained by a single researcher (AM) using a shock-proof caliper micrometer (accuracy 0.02 mm) under microscope magnification and under the above-mentioned standardized conditions in all subjects.



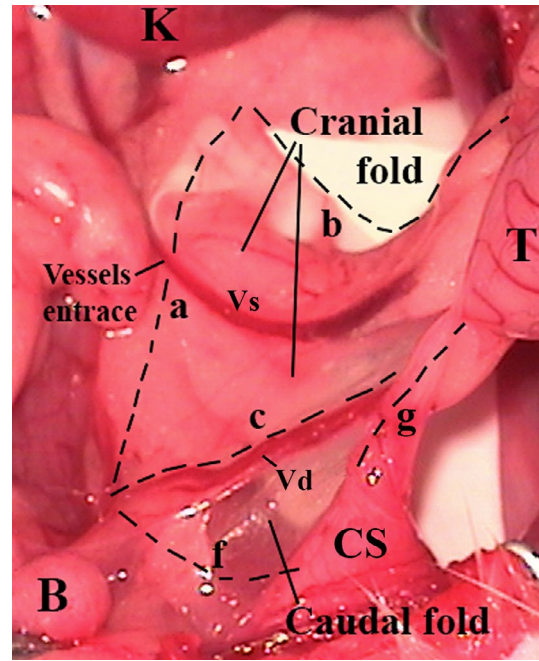
**FIGURE 4** Intraoperative photograph through the surgical microscope showing the configuration of the residual mesometrium of the uterine body and lowest uterine horn (arrowheads) at high magnification

**2.3 | Statistics**

According to normality (Shapiro-Wilk test), genital mesentery variables were compared between two groups using t test or Mann-Whitney U test; differences between more than two groups were assessed using ANOVA followed by Games-Howell post hoc test or Kruskal-Wallis H test followed by the Dunn post hoc test. Differences between groups in rates of penile, epididymal, and vasal malformations were assessed with Pearson's chi-square test.

Binary logistic regression was used to explain the relation between testis non-descent (event of interest) and genital mesentery dimensions (explanatory variables) and to investigate the impact of each dimension change on the odds of non-descent, after controlling for confounding effects. Subsequently, multinomial logistic regression was used to investigate the impact of each of the "important" dimensions (derived from binary logistic regression) on the odds of the observed position of the undescended testis, that is, cryptorchid or ectopic, with respect to the scrotal position. Necessary assumptions (non-multicollinearity, linearity of variables and log odds, cases-to-variables ratio > 10:1) for logistic regression analysis<sup>18</sup> were satisfied. Cases with missing values in at least one of the dimensions were excluded from analysis employing listwise deletion, in order to avoid producing biased estimates with the remaining dimensions<sup>18</sup>; missing values were randomly missing data entries, and listwise deletion of cases with missing values did not adversely affect the final sample size (<10% missingness) or the sample size assumptions of the tests used.

Analysis was performed at the 5% level of significance using IBM SPSS Statistics for Macintosh, version 25.0, and StataCorp. 2013. Stata Statistical Software: Release 13. College Station, TX: StataCorp LP.



**FIGURE 5** Configuration of the genital mesentery in flutamide-exposed male rats after delivery of the testis through the abdominal incision (left side). Intraoperative photograph in a flutamide-treated rat with descended testes (age of 50 days), showing the cranial and caudal folds (delineated by dashed lines) of the mesentery of the left testis. The bladder is pulled anteriorly to expose the distal end of the vas deferens. The cremasteric sac is inverted through the patent processus vaginalis by pulling the testis, in order to expose the entire length of the gubernacular ligament ("g"). Note that here both the cranial and caudal fold are not fully extended; although dimensions delineating the peritoneal folds are shown for understanding purposes, these were measured at the positions of full expansion shown in Figure 2A. B: bladder; CS: cremasteric sac (inverted) (configuration resembling the ancestral inguinal cone before its eversion toward the scrotum to accept the testis in the rat); K: kidney; T: testis; Vd: vas deferens; Vs: internal spermatic vessels

**3 | RESULTS**

The obtained populations of offspring groups are shown in Figure 1. Of the 67 flutamide-exposed males, 12 had bilaterally undescended testes (ie, total of 24 undescended testes), 30 unilaterally undescended testes (ie, total of 30 undescended testes and 30 descended testes), and 25 bilaterally descended testes (ie, total of 50 descended testes); thus, a total of 54 undescended testes (FLUT-UDT) and a total of 80 descended testes (FLUT-DT) were derived in the study (testes) groups. Of the 54 undescended testes, 37 were cryptorchid (FLUT-UDT cry), with 24 found in high cryptorchid positions (intra-abdominal (n = 7), canalicular (n = 17)) and 13 in low cryptorchid positions (pre-scrotal), and 17 were ectopic (FLUT-UDT ectopic; superficial inguinal pouch (n = 11), penile pouch (n = 5); femoral pouch (n = 1)). Gross examination of the mesenteries of flutamide-exposed testes, both descended and undescended, revealed evidently larger cranial folds than normal, with their most cranial attachments higher than the site of spermatic vessels insertion seen in normal (Figure 5).

The mesenteries of flutamide-exposed testes retained their shape and relative positions of their parts as compared to normal, allowing measurement of the defined dimensions.

The final sample size of the study (testes) groups included in the analysis of genital mesentery size and dimensions, after exclusion of torsion cases and listwise deletion of cases with missing data (see Methods), can be seen in Figure 1. Left and right sides did not differ significantly with regard to the cranial and caudal fold surface areas in all three study groups (Table S1), thereby allowing data of both sides to be pooled together in each group.

### 3.1 | Effects of flutamide on the mesentery of descended testes

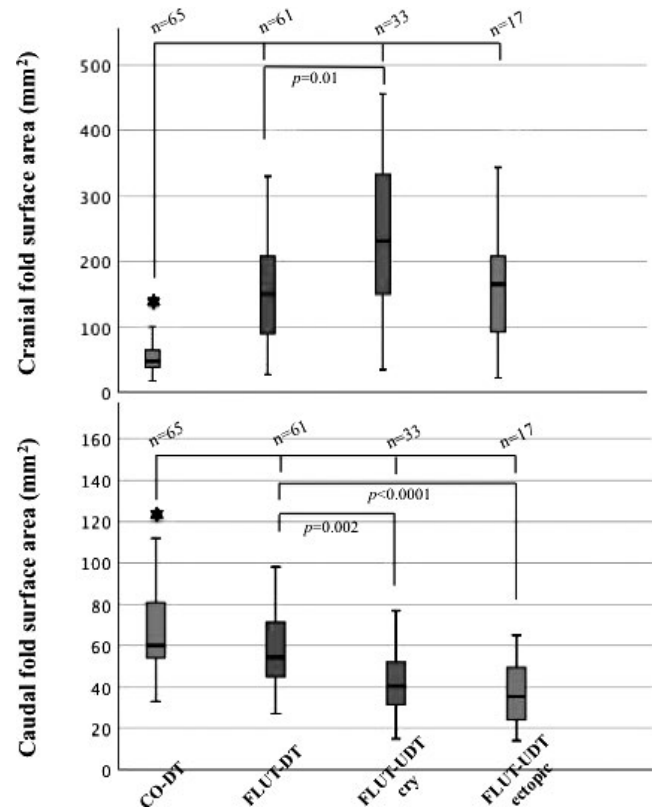
The cranial fold area was significantly greater in FLUT-DT than in CO-DT (Kruskal-Wallis,  $H = 93.10$ ,  $P < .0001$ ; Dunn's post hoc test,  $P < .0001$ ; Figure 6). In fact, "a"- "c" dimensions were significantly longer in FLUT-DT than in CO-DT (Table 1), indicating that the cranial fold of the mesentery of descended testes antenatally exposed to flutamide was larger than normal in all directions. Also, the ligament between testis and epididymis was longer in FLUT-DT, as indicated by the significantly longer "d" and "e" dimensions, compared with CO-DT.

At the same time, FLUT-DT had significantly smaller caudal fold areas than CO-DT (Kruskal-Wallis,  $H = 42.90$ ,  $P < .0001$ ; Dunn's post hoc test,  $P = .02$ ; Figure 6). This reduction in the caudal fold was mainly in the vertical direction, as indicated by the significantly shorter "g," "h," and "i" of FLUT-DT than CO-DT (Table 1).

### 3.2 | Effects of flutamide on the mesentery of undescended testes

#### 3.2.1 | Size of cranial and caudal folds

Cryptorchid testes antenatally exposed to flutamide (FLUT-UDT cry) had significantly larger cranial folds than testes exposed to flutamide but normally descended (FLUT-DT) (Figure 6), suggesting that the flutamide-induced enlargement of the cranial fold might ultimately interfere with testis descent. At the same time, the caudal fold surface area was significantly smaller in FLUT-UDT cry than in FLUT-DT (Figure 6), indicating that the flutamide-induced reduction in the caudal fold might ultimately be related to testis non-descent as well. Both low- and high-positioned cryptorchid testes differed significantly from FLUT-DT in surface areas of both folds (data not shown; cranial: Kruskal-Wallis,  $H = 12.10$ ,  $P = .002$ , Dunn's post hoc tests,  $P = .02$  and  $P = .003$ , respectively; caudal: Kruskal-Wallis,  $H = 13.40$ ,  $P = .001$ , Dunn's post hoc tests,  $P = .001$  and  $P = .02$ , respectively). No significant differences were elicited between low cryptorchid (pre-scrotal) ( $n = 13$ ) and high cryptorchid (canalicular and intra-abdominal) positions ( $n = 20$ ) in either the cranial or the caudal fold area (Dunn's post hoc tests,  $P = .90$  and  $P = .23$ , respectively).



**FIGURE 6** Box-and-whisker plots of the surface areas of the cranial and caudal folds of the genital mesentery in drug vehicle- and in flutamide-exposed descended testes and in subgroups of undescended testes. The upper and lower horizontal frame lines of each box delineate the interquartile range (ie, the difference between the 25th and 75th percentiles); the heavy horizontal line shows the median value (ie, the 50th percentile); the upper and lower bars outside each box contain the 95% central range. Only significant differences in between-groups comparisons are noted. Asterisks indicate significant differences of corn oil-exposed descended testes (CO-DT) from all other groups. The significance of the rest pairwise comparisons is denoted by the respective  $p$  values (Kruskal-Wallis followed by Dunn post hoc test). FLUT-DT: flutamide-exposed descended testes; FLUT-UDT cry: flutamide-induced cryptorchid testes; FLUT-UDT ectopic: flutamide-induced ectopic testes

On the other hand, ectopic testes (FLUT-UDT ectopic) showed a different pattern. They had a cranial fold area comparable to FLUT-DT ( $P = .79$ ) and a caudal fold area significantly smaller than FLUT-DT ( $P < .0001$ ) (Figure 6), findings suggesting that testicular ectopy might be related to a smaller caudal fold only.

#### 3.2.2 | Genital mesentery dimensions

Of all dimensions tested, only "a" and "g" had a significant independent impact on testis non-descent (Table 2). The odds of a flutamide-exposed testis to be undescended with respect to being descended increased significantly with higher "a" measures, when all other

**TABLE 1** Dimensions of the genital mesentery in corn oil-exposed descended testes (CO-DT) and flutamide-exposed descended testes (FLUT-DT)

Genital mesentery dimensions (mm)	CO-DT (n = 65)		FLUT-DT (n = 61)		P
	Mean	95% CIs	Mean	95% CIs	
<i>Cranial fold</i>					
"a"	9.7	9.0; 10.4	25.5	22.6; 28.4	<0.0001
"b"	40.6	39.2; 42.1	55.5	53.7; 57.3	<0.0001
"c"	10.8	10.0; 11.6	12.6	11.5; 13.7	0.01
"d"	1.3	1.0; 1.5	3.6	3.0; 4.2	<0.0001
"e"	1.4	1.2; 1.5	2.5	2.1; 2.9	<0.0001
<i>Caudal fold</i>					
"f"	9.1	8.5; 9.7	8.3	7.8; 8.8	0.08
"g"	14.8	14.2; 15.4	13.7	13.1; 14.3	0.01
"h"	6.0	5.0; 7.1	7.9	7.0; 8.9	0.04
"i"	1.2	1.0; 1.4	1.9	1.5; 2.4	0.01

Note: For definitions of "a" to "i," see Figure 2.

95% CI: 95% confidence intervals

P: t test or Mann-Whitney U test, as appropriate

**TABLE 2** Results from binary multiple logistic regression analysis for the impact of genital mesentery dimensions on testis non-descent occurrence

Genital mesentery dimensions	Testis non-descent occurrence (FLUT-UDT, n = 50) vs. non-occurrence (FLUT-DT, n = 61)					
	total n = 111, $\chi^2 = 67.08$ , pseudo- $R^2 = 0.60$ , $P < .0001$					
	B	SE B	e <sup>B</sup> (OR)	95% CIs e <sup>B</sup> (OR)	Wald $\chi^2$	P
"a"	0.13	0.04	1.14	1.05 to 1.23	9.67	0.002
"b"						0.21
"c"						0.79
"f"						0.90
"g"	-0.48	0.12	0.62	0.48 to 0.78	15.27	<0.0001
"h"						0.06
"i"						0.35
Constant	7.48	2.63	1772.67		8.04	0.005

Abbreviations: FLUT-DT: flutamide-exposed descended testes; FLUT-UDT: flutamide-induced undescended testes

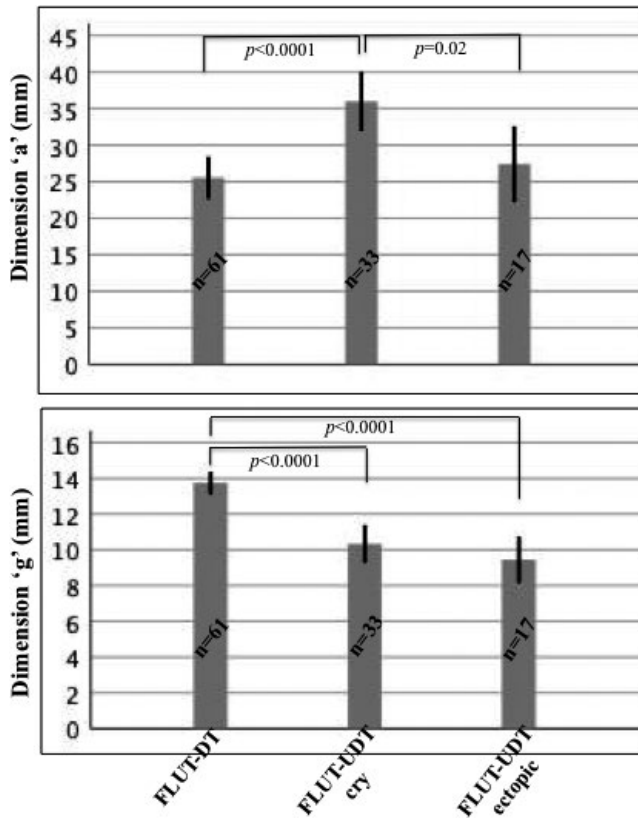
For definitions of "a"- "c," "f"- "i," see Figure 2.

B: (unstandardized) regression coefficient; SE B: standard error for B; e<sup>B</sup> (OR): exponentiated (adjusted) B (odds ratio); 95% CIs e<sup>B</sup> (OR): 95% confidence intervals for e<sup>B</sup> (OR)

dimensions were held constant, as well as with lower "g" measures, when all other dimensions were held constant.

Cryptorchid testes (FLUT-UDT cry) had significantly longer "a" and shorter "g" than FLUT-DT (Figure 7). In ectopic testes (FLUT-UDT ectopic), only "g" values differed significantly from the respective values of FLUT-DT (Figure 7). Increasing "a" values (B positive and e<sup>B</sup> > 1 in Table 3) and decreasing "g" values (B negative and e<sup>B</sup> < 1 in Table 3) both had a significant independent impact on cryptorchidism occurrence, while testis ectopy occurrence was affected only by decreasing "g" values (Table 3). The way the changes in dimensions "a" and "g" affected the probability of a flutamide-exposed testis in a cryptorchid or ectopic position against

the likelihood of scrotal position in our dataset, as mapped using the logistic model of Table 3, is shown in Figure 8. As can be seen, increasing "a" values increase the probability of cryptorchidism, when "g" is held constant (upper graph); also, decreasing "g" values increase the probability of cryptorchidism, when "a" is held constant (lower graph). Consequently, none of the two dimensions appears to change as a passive result of the effect of changes in the other, and both longer "a" and shorter "g" dimensions contribute independently to the event of cryptorchidism. On the other hand, the probability of testis ectopy increases with decreasing "g" values (lower graph), but remains completely unchanged with increasing or decreasing "a" values (upper graph).



**FIGURE 7** Histograms of the measures of genital mesentery dimensions "a" and "g" in flutamide-exposed descended testes (FLUT-DT) and in subgroups of flutamide-induced undescended testes (FLUT-UDT), that is, cryptorchid and ectopic testes. Bars illustrate the mean and error bars the 95% confidence intervals. Significant differences in pairwise comparisons between groups (ANOVA followed by Games-Howell post hoc test) are indicated by respective *p* values (non-significant differences are not shown)

### 3.2.3 | Comparison with female

Genital mesenteries of females did not have an actual caudal fold. Also, the female cranial fold was structurally different. Its size [290.5 (267.6 to 313.4) mm<sup>2</sup>] was significantly larger than in cryptorchid testes—that is, the most affected among flutamide-exposed testes—[236.5 (196.3 to 276.6) mm<sup>2</sup>] (t test, *P* = .01). In addition, "b" dimension in females [18.0 (16.6 to 19.5) mm] was significantly shorter than "b" dimension in cryptorchid testes [55.3 (53.0 to 57.7) mm] (Mann-Whitney *U* test, *P* < .0001). In fact, flutamide resulted in longer "b" rather than shorter "b," which would be more comparable to the female "b;" in cryptorchid testes.

### 3.3 | Effects of flutamide on other androgen-dependent structures

Hypospadias was observed in 55 out of the 67 (82%) flutamide-treated male rats, with proximal hypospadias in 31 cases. Hypospadias was more frequent in rats with cryptorchidism than with testicular ectopy (*P* = .01). Epididymal and vasal malformations showed an overall incidence of 57.4% and 44.1%, respectively, with flutamide treatment, including atresia or hypoplasia of any portion or even complete aplasia of the organ. No significant difference was elicited in the frequency of these malformations between descended and undescended testes (Table S2) or between cryptorchid and ectopic testes (*P* > .78; data not shown).

## 4 | DISCUSSION

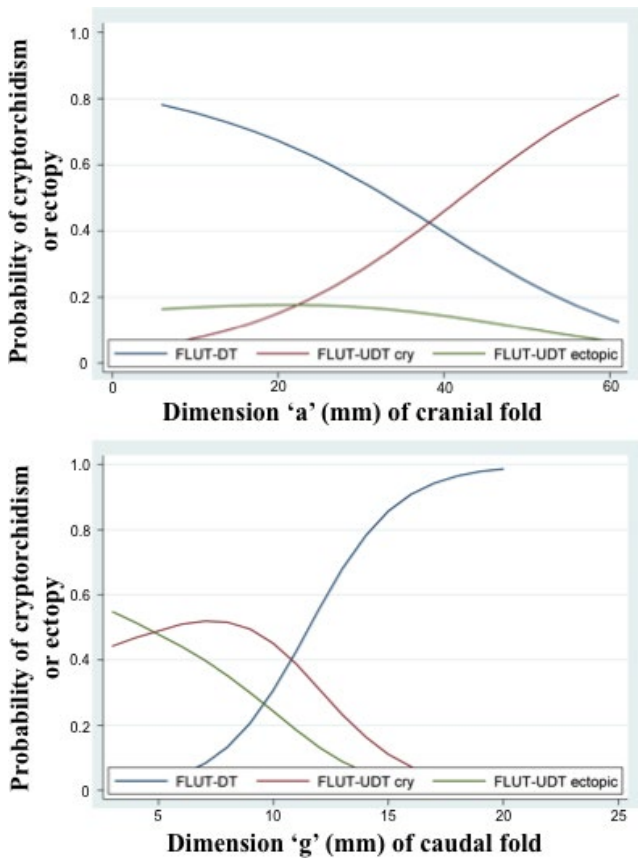
Time-specific androgen blockade with flutamide inhibited the male-specific development of the genital mesentery, resulting in larger

**TABLE 3** Results from multinomial multiple regression analysis for the impact of genital mesentery dimensions "a" and "g" on testicular position after exposure to flutamide

Cryptorchidism (FLUT-UDT cry, n = 33) or testicular ectopy (FLUT-UDT ectopic, n = 17) occurrence vis-à-vis testis descent occurrence (FLUT-DT, n = 61)						
total n = 111, $\chi^2 = 64.92$ , pseudo $R^2 = 0.51$ , <i>P</i> < .0001						
Genital mesentery dimensions	B	SE B	e <sup>B</sup>	95% CIs e <sup>B</sup>	Wald $\chi^2$	<i>P</i>
<i>Cryptorchidism</i>						
"a"	0.09	0.02	1.10	1.05 to 1.16	14.02	<0.0001
"g"	-0.53	0.11	0.59	0.46 to 0.73	21.06	<0.0001
Constant	2.87	1.41			4.14	0.04
<i>Testis ectopy</i>						
"a"						0.26
"g"	-0.65	0.13	0.51	0.39 to 0.67	22.84	<0.0001
Constant	5.60	1.64	11.60			0.001

Abbreviations: B: (unstandardized) regression coefficient; e<sup>B</sup>: exponentiated B (odds ratio); FLUT-DT: flutamide-exposed descended teste; FLUT-UDT: flutamide-induced undescended testes; SE B: standard error for B; 95% CIs e<sup>B</sup>: 95% confidence intervals for e<sup>B</sup>





**FIGURE 8** Fitted line plots of the probabilities (sigmoid curves obtained from the regression model of Table 3) of a flutamide-exposed testis to be in scrotal position (FLUT-DT, n = 61), cryptorchid position (FLUT-UDT cry, n = 33) or ectopic position (FLUT-UDT ectopic, n = 17) for the set of observed measurements of "a" and "g" dimensions of the genital mesentery

cranial and smaller caudal folds than normal. Other surrogate outcomes, including hypospadias, and epididymal and vasal malformations, confirmed the efficacy of androgen blockade with the flutamide model used. The mesentery of undescended testes was the most affected, although still different from the female structure. Of all morphologic changes in the genital mesentery, only the increased length of the mesentery root (dimension "a," Figures 2, 5) and the decreased length of the gubernacular ligament (dimension "g," Figures 2, 5) were found to have a strong independent impact on testis non-descent occurrence. To our knowledge, this is the first study providing evidence of an association between morphologic changes in testicular mesentery and testicular positioning and, furthermore, of a combined contribution of changes in both the mesentery root and the gubernacular ligament to the event of testis non-descent.

Previous investigators observed that the CSL of flutamide-treated or androgen-resistant male rats appeared abnormally long, with a high cranial fixation at the renal region, similar to the female homologue.<sup>6,10,19</sup> Based on this observation, it was claimed that CSL might be the reason that the testes may remain tethered in the abdomen, similar to the ovaries. However, later

authors rejected this theory, judging from the appearances of a similar female-type CSL in all flutamide-treated male rats, regardless of testicular position<sup>7,9,20</sup>; their argumentation did not nevertheless include comparison of quantified morphologic features between descended and undescended testes. Eventually, the view that the cranial fold of the genital mesentery is not implicated in testis descent prevailed.

In our study, the so-called CSL (dimension "b," Figures 2, 5), yet longer with flutamide, did not change the odds of testis descent. However, the increased length of the posterior fixation of the cranial fold (dimension "a," Figures 2, 5) increased the likelihood of failed testis descent. Although the posterior fixation line appeared to reach as high as the perirenal area in all flutamide-exposed testes, as previously also observed by others,<sup>6,10</sup> its length measurements were greater in undescended than in descended testes. Normally, the posterior fixation of the male genital mesentery gradually degenerates in the craniocaudal direction until it meets the internal spermatic vessels.<sup>21</sup> Our findings may suggest that this process of downward "migration" of the cranial attachment of the cranial fold is inhibited to a varying degree among flutamide-exposed testes. Moreover, the longest posterior fixation lines in association with the undescended testes suggested that maximal inhibition in this craniocaudal degeneration of the posterior fixation might interfere with testis descent.

The controversy as to whether an aberrant development of the gubernaculum is implicated in the mechanism of testis descent is deeper. Among those who agree on its involvement, some support that androgens effect descent through gubernacular outgrowth,<sup>3,4</sup> and others, through gubernacular regression.<sup>5</sup> Much of this ambiguity has been generated by the lack of consensus on the definition of the rodent gubernaculum, with investigators ending up examining different structures. For some, the gubernaculum is the gubernacular (or genito-inguinal) ligament, which is the peritoneal ligament between testis and the inguinal area containing undifferentiated mesenchymal tissue<sup>15,22</sup> (dimension "g," Figures 2, 5). For others, the gubernaculum is the adjacent inguinal cone,<sup>23</sup> which, in fact, is the ancestor of the rodent cremasteric sac initially inverted intra-abdominally and in later stages everted toward the scrotum<sup>3</sup> (CS, Figure 5), that is, an entirely different entity from the genital peritoneal folds.<sup>15</sup> Furthermore, all flutamide-treated rats with both descended and undescended testes were often pooled together,<sup>4,23</sup> further adding to inaccuracies.

In this study, it was revealed that all caudal fold dimensions in the vertical direction ("g," "h," "i," Figure 2) were shorter with flutamide, indicating an overall shorter caudal fold. However, only the decreased length of the gubernacular ligament ("g") increased the likelihood of testis non-descent. Normally, the gubernacular ligament undergoes marked elongation before it starts to regress.<sup>22,24,25</sup> The abnormally short gubernacular ligaments found in all flutamide-exposed testes in our study suggested that flutamide administered in rats during the period the gubernacular elongation takes place (gestational days 16-17 when day 1 = sperm-positive day<sup>24</sup>) inhibits the elongation process.

Moreover, the shortest gubernacular ligaments in association with the undescended testes might indicate that maximal inhibition in the gubernacular elongation, probably important so that the gubernaculum can reach the tip of the cremasteric sac, interferes with testis descent. On the other hand, inhibition in gubernacular regression, a process suggested to cause traction of the testis,<sup>5,26</sup> appears less likely to interfere with testis descent, as flutamide administered later in gestation, when gubernacular regression occurs, was associated with successful testis descent.<sup>3,27</sup>

Admittedly, there was considerable variance in the degree of flutamide-induced changes in the cranial and caudal folds of the genital mesentery. Variation in the effects of flutamide on androgen-dependent structures was previously attributed to the different degrees of exposure to the drug among fetuses.<sup>11</sup> Despite the variance in our dataset, logistic regression analysis revealed that the measurements of the gubernacular ligament and posterior fixation line of the genital mesentery that exceed a critical level can explain the probability of testis non-descent. A pattern of association between varying changes in the genital mesentery and testis non-descent or descent occurrence was thus documented.

Interestingly, unlike cryptorchidism, adoption of ectopic positions was influenced by changes in the caudal fold only. The cranial fold was morphologically similar between flutamide-exposed descended and ectopic testes. An abnormally short gubernacular ligament, similar to that seen in cryptorchidism, was associated with occurrence of testicular ectopy. These findings may render some kind of truth to the old hypotheses that testicular ectopy is a distinct anomaly and results from ectopic gubernacular attachments or from fibrous encroachment of the gubernaculum.<sup>25,28</sup>

Flutamide resulted in enlarged cranial folds and reduced caudal folds but did not lead to a feminine architecture, which is characterized by a markedly short CSL and absence of the caudal fold. These findings oppose the view that a feminized genital mesentery resulting from androgen inactivity might simply be the cause of disturbed testicular descent.<sup>10</sup> The caudal fold involution in female rats probably occurs as the paramesonephric duct moves medially to unite with its contralateral counterpart, losing, thus, its lateral attachments. The growth of the long uterine horn (derived from the paramesonephric duct) of the duplex uterus further contributes to loss of all lateral attachments and, thus, leads to caudal fold vanishment.<sup>13</sup> Only at the lowest uterine horn and small uterine body, a minuscule mesometrium is retained as residual lateral pelvic attachments; the round ligament is found in this remnant mesometrium.<sup>29</sup>

## 5 | CONCLUSIONS

In conclusion, our findings indicate a combined contribution of both cranial and caudal folds of the genital mesentery to successful testis descent, as morphologic changes in both folds were independently associated with increased odds of failed testis descent. Genital mesentery alterations that proved significant determinants

of testis non-descent are the abnormally long mesentery root and the abnormally short gubernacular ligament, which may be related to an inhibited process of downward movement of the cranial and caudal attachments of the male genital mesentery. These findings might contribute to redirection of future research and so as to assist to answer further questions regarding testicular positioning.

## CONFLICTS OF INTEREST

The authors do not have any conflicts of interest to declare.

## AUTHORS' CONTRIBUTIONS

AM contributed to research design, data acquisition, analysis and data interpretation, and paper drafting. CS, GC, CK, and AK contributed to data interpretation and critical revision of the manuscript. PM was responsible for research design, data acquisition, analysis and data interpretation, drafting and critical revision. All authors approved the final version of the paper.

## ORCID

Anastasia Mentessidou  <https://orcid.org/0000-0003-1428-2312>

## REFERENCES

1. Bentvelsen FM, George FW. The fetal rat gubernaculum contains higher levels of androgen receptor than does the postnatal gubernaculum. *J Urol*. 1993;150:1564-1566.
2. George FW. Developmental pattern of 5 alpha-reductase activity in the rat gubernaculum. *Endocrinology*. 1989;7124:727-732.
3. Husmann DA, McPhaul MJ. Time-specific androgen blockade with flutamide inhibits testicular descent in the rat. *Endocrinology*. 1991;129:1409-1416.
4. 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;42:1982-1987.
5. Cain MP, Kramer SA, Tindall DJ, Husmann DA. Flutamide-induced cryptorchidism in the rat is associated with altered gubernacular morphology. *Urology*. 1995;46:533-538.
6. Van der Schoot P, Elger W. Androgen-induced prevention of the outgrowth of cranial gonadal suspensory ligaments in fetal rats. *J Androl*. 1992;13:534-542.
7. Shono T, Ramm-Anderson S, Goh DW, Hutson JM. The effect of flutamide on testicular descent in rats examined by scanning electron microscopy. *J Pediatr Surg*. 1994;29:839-844.
8. Van der Schoot P. Androgens in relation to prenatal development and postnatal inversion of the gubernacula in rats. *J Reprod Fertil*. 1992;95:145-158.
9. Kassim NM, Russell DA, Payne AP. Does the cranial suspensory ligament have a role in cryptorchidism? *Cells Tissues Organs*. 2010;191:307-315.
10. Van der Schoot P, Emmen JM. Development, structure and function of the cranial suspensory ligaments of the mammalian gonads in a cross-species perspective; their possible role in effecting disturbed testicular descent. *Hum Reprod Update*. 1996;2:399-418.
11. Van der Schoot P. Disturbed testicular descent in the rat after prenatal exposure to the antiandrogen flutamide. *J Reprod Fertil*. 1992;96:483-496.
12. Lemeh CN. A study of the development and structural relationships of the testis and gubernaculum. *Surg Gynecol Obstet*. 1960;110:164-172.
13. Martin E, Rodriguez-Martinez H, Dalin G, Castrillejo A. Development of the genital peritoneal folds in sheep. *Anat Histol Embryol*. 1996;25:187-195.

14. Mentessidou A, Mirilas P. 'Testis-epididymis dissociation' in cryptorchidism and hydrocele: the tip of the iceberg of a persistent genital mesentery. *Surg Radiol Anat* 2020;in press.
15. Hadziselimovic F. Re: Historical review of theories on testicular descent. *J Urol*. 1996;155:2036-2038.
16. Hutson JM, Li R, Southwell BR, Newgreen D, Cousinery M. Regulation of testicular descent. *Pediatr Surg Int*. 2015;31:317-325.
17. Hubscher CH, Brooks DL, Johnson JR. A quantitative method for assessing stages of the rat estrous cycle. *Biotech Histochem*. 2005;80:79-87.
18. Barton B, Peat J. *Medical Statistics. A Guide to SPSS, Data Analysis and Critical Appraisal*, 2nd edn, Oxford: Wiley Blackwell; 2014:14-16, 299-300.
19. Barthold JS, Mahler HR, Newton BW. Lack of feminization of the cremaster nucleus in cryptorchid androgen insensitive rats. *J Urol*. 1994;152:2280-2286.
20. Barthold JS, Mahler HR, Sziszak TJ, Newton BW. Lack of feminization of the cremaster nucleus by prenatal flutamide administration in the rat and pig. *J Urol*. 1996;156:767-771.
21. Keibel F, Mall FP. *Manual of Human Embryology*, vol. II. Philadelphia: JB Lippincott Co; 1912:940.
22. Heyns CF. The gubernaculum during testicular descent in the human fetus. *J Anat*. 1987;153:93-112.
23. Van der Schoot P. Towards a rational terminology in the study of the gubernaculum testis: arguments in support of the notion that the cremasteric sac should be considered the gubernaculum in postnatal rats and other mammals. *J Anat*. 1996;189:97-108.
24. Fujikake N, Togashi H, Yamamoto M, Arishima K, Ueda Y, Eguchi Y. Relationship between the development of the gubernaculum and the testicular descent in the rat fetus: macroscopic and light and electron microscopic observation. *Nihon Juigaku Zasshi*. 1989;51:416-424.
25. Lockwood CB. Development and transition of the testis, normal and abnormal. *J Anat Physiol*. 1988;22:505-541.
26. Wensing CJ. Testicular descent in the rat and a comparison of this process in the rat with that in the pig. *Anat Rec*. 1986;214:154-160.
27. Spencer JR, Torrado T, Sanchez RS, Vaughan ED Jr, Imperato-McGinley J. Effects of flutamide and finasteride on rat testicular descent. *Endocrinology*. 1991;129:741-748.
28. Backhouse KM. The gubernaculum testis Hunteri: testicular descent and maldescent. *Ann R Coll Surg Engl*. 1964;35:15-33.
29. Griffiths AL, Momose Y, Hutson JM. The gubernaculum in adult female, adult male and TFM male mice. *Int J Androl*. 1993;16:380-384.

## SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section.

**How to cite this article:** Mentessidou A, Salakos C, Chrousos G, Kanaka-Gantenbein C, Kostakis A, Mirilas P. Morphologic alterations of the genital mesentery implicated in testis non-descent in rats prenatally exposed to flutamide. *Andrology*. 2020;00:1-11. <https://doi.org/10.1111/andr.12903>

**ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ**  
**ΠΡΟΣ: κ. ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΜΕΝΤΕΣΙΔΟΥ**

**ΑΠΟΣΠΑΣΜΑ ΠΡΑΚΤΙΚΟΥ ΣΥΝΕΔΡΙΑΣΕΩΣ 03-04-18**

**ΠΑΡΟΝΤΕΣ :**

**ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΧΡΟΥΣΟΣ, ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ, Καθηγητής-  
Διευθυντής Α΄ Παιδιατρικής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών**  
**ΦΑΝΗ ΑΝΑΤΟΛΙΤΟΥ, ΜΕΛΟΣ, Παιδίατρος-Νεογνολόγος, Διευθύντρια ΕΣΥ**  
**ΕΥΘΥΜΙΑ ΤΣΙΝΑ, ΜΕΛΟΣ, Επιμελήτρια Α΄ Οφθαλμολογίας**  
**ΑΣΗΜΙΝΑ ΠΑΛΑΙΟΛΟΓΟΥ, ΜΕΛΟΣ, Ειδικευόμενη Παιδοψυχιατρικής**  
**ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ ΣΥΡΓΙΑΜΙΩΤΗΣ, ΜΕΛΟΣ, ΤΕ Ραδιολογίας-Ακτινολογίας**  
**ΕΥΦΡΟΣΥΝΗ ΒΛΑΧΙΩΤΗ, ΜΕΛΟΣ, ΠΕ Νοσηλευτικής**

**ΘΕΜΑ : Έγκριση διεξαγωγής μελέτης με τίτλο «Διερεύνηση της σχέσης των  
διαμαρτιών του μεσορχέου με την κρυπορχία μετά από προγεννητική αναστολή  
των ανδρογόνων: πειραματική μελέτη σε επίμυες»**

**Επιστημονικά Υπεύθυνος: κ. ΧΡΗΣΤΟΣ Κ. ΣΑΛΑΚΟΣ, Επίκουρος Καθηγητής  
Παιδοχειρουργικής ΕΚΠΑ**

**ΣΧΕΤ. : Αρ.πρωτ. 5602/06-03-18**

Το Επιστημονικό Συμβούλιο κατά την συνεδρίασή του στις 03 Απριλίου 2018 έλαβε υπόψη του την ανωτέρω αίτηση του κ. Χρήστου Σαλάκου, Επίκουρου Καθηγητή Παιδοχειρουργικής του ΕΚΠΑ, που αφορά στην έγκριση διεξαγωγής μελέτης με τίτλο «Διερεύνηση της σχέσης των διαμαρτιών του μεσορχέου με την κρυπορχία μετά από προγεννητική αναστολή των ανδρογόνων: πειραματική μελέτη σε επίμυες»

Ύστερα από μελέτη και αναλυτική συζήτηση, διαπιστώθηκε ότι η ανωτέρω μελέτη, η οποία εκπονείται στα πλαίσια της διδακτορικής διατριβής της υποψήφιας διδάκτορος κ. Αναστασίας Μεντεσιδου με συμμετέχων και υπεύθυνο για την συνολική υλοποίηση του πρωτοκόλλου τον κ. Πέτρο Μυρίλλα ιατρό-παιδοχειρουργό, πληροί όλες τις προϋποθέσεις για τη διεξαγωγή της και δεν προκύπτει οικονομική επιβάρυνση για το νοσοκομείο.

Κατόπιν τούτων, ομόφωνα το Επιστημονικό Συμβούλιο εισηγείται την έγκριση διεξαγωγής της ανωτέρω μελέτης, καθώς και την έγκριση των συνοδευτικών εγγράφων. Συγκεκριμένα:

1. Πρωτόκολλο μελέτης

**Ο ΠΡΟΕΔΡΟΣ  
ΤΟΥ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ**

**ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΧΡΟΥΣΟΣ  
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ-ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ  
Α΄ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ**



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΑΤΤΙΚΗΣ  
ΓΕΝΙΚΗ ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ  
ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΟΙΚΟΝΟΜΙΑΣ  
ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ & ΑΛΙΕΙΑΣ  
Δ/ΝΣΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ &  
ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΠΟΛΙΤΙΚΗΣ  
ΤΜΗΜΑ: ΚΑΦΕ  
ΣΥΓΓΡΟΥ 80-88, 117 41 Αθήνα  
ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ: Π. Ανδριόπουλος  
Τηλέφωνο: 213 2065 751  
Fax: 213 2065 020  
e-mail: pandriopoulos@patt.gov.gr

Αθήνα, 28-12-2017

Αριθμ. Πρωτ.: 6929

**ΘΕΜΑ: «Χορήγηση άδειας πρωτοκόλλου διαδικασιών σε ζώα»**

### Α Π Ο Φ Α Σ Η

Έχοντας υπ' όψη:

**Α)** Τις διατάξεις:

1. Του Ν.3852/2010 «Νέα Αρχιτεκτονική της Αυτοδιοίκησης και της Αποκεντρωμένης Διοίκησης- Πρόγραμμα Καλλικράτης» (ΦΕΚ 87/τ.Α'/7-6-2010)
2. Την υπ' αριθμ. 66313/24553/25-08-2017 (ΦΕΚ3051/Β'/5-09-2017) Απόφασης του Συντονιστή της Αποκεντρωμένης Διοίκησης Αττικής με την οποία εγκρίθηκε η υπ' αριθ. 273/2017 απόφαση του Περιφερειακού Συμβουλίου Περιφέρειας Αττικής περί τροποποίησης-επικαιροποίησης του Οργανισμού Εσωτερικής Υπηρεσίας της Περιφέρειας Αττικής
3. Του Ν. 1197/81 «Περί προστασίας ζώων» και συγκεκριμένα το άρθρο 4.
4. Του Ν. 2015/92 «Περί Κυρώσεως της Ευρωπαϊκής Σύμβασης για την Προστασία των σπονδυλωτών ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς ή άλλους επιστημονικούς σκοπούς».
5. Του Π.Δ. 56/2013 Προσαρμογή της Ελληνικής νομοθεσίας στην Οδηγία 2010/63/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 2010(276/33/20.10.2010) «σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς»

**Β)** Την με αριθ. πρωτ. 6929/21-12-2017 αίτηση του **κου Χρήστου Σαλάκου (ιατρού-παιδοχειρουργού)** για πραγματοποίηση Πρωτοκόλλου διαδικασιών σε ζώα (επίμυες) με τον τίτλο: «**Διερεύνηση της σχέσης των διαμαρτιών του μεσορχέου με την κρυψορχία: πειραματική μελέτη σε επίμυες**», που θα διεξαχθεί στη **ΜΟΝΑΔΑ ΖΩΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΡΕΥΝΩΝ ΑΚΑΔΗΜΙΑΣ ΑΘΗΝΩΝ**, επί της οδού Σωρανού του Εφεσίου 4, Τ.Κ.11527, Αθήνα, με κωδικό καταχώρησης **EL 25 BIO 03**.

**Γ)** Την θετική γνώματευση της Επιτροπής Αξιολόγησης Πρωτοκόλλων.

### Α Π Ο Φ Α Σ Ι Ζ Ο Υ Μ Ε

Χορηγούμε άδεια για την πραγματοποίηση του συγκεκριμένου Πρωτοκόλλου διαδικασιών σε ζώα από τον **κο Χρήστο Σαλάκο** (ιατρό-παιδοχειρουργό) ως **Υπεύθυνο του Πρωτοκόλλου** και την **κα Αναστασία Μεντεσίδου** (ιατρό-ειδικευόμενη παιδοχειρουργικής) ως **Υπεύθυνη Εκτέλεσης/Υλοποίησης του Πρωτοκόλλου** και ως **Υπεύθυνη Συμμόρφωσης προς την αδειοδότηση του Πρωτοκόλλου**, καθόσον πληρούνται οι προϋποθέσεις της σχετικής, για την Προστασία των ζώων, νομοθεσίας. **Συμμετέχων και Υπεύθυνος για την συνολική υλοποίηση του Πρωτοκόλλου** θα είναι ο **κος Πέτρος Μυρίλλας** (ιατρός-παιδοχειρουργός).

Η άδεια αυτή ισχύει **για τρία χρόνια** από την ημερομηνία εκδόσεώς της.

Οποιαδήποτε μεταβολή, που αφορά τους υπευθύνους του πρωτοκόλλου, όπως αυτοί αναφέρονται παραπάνω, θα πρέπει να δηλώνονται στην υπηρεσία μας.

Δεν απαιτείται αναδρομική αξιολόγηση του Πρωτοκόλλου.

Οι χρησιμοποιούμενες φαρμακευτικές ή και λοιπές ουσίες για την διεξαγωγή του πρωτοκόλλου υπόκεινται, όσον αφορά την εισαγωγή και εν γένει κυκλοφορία τους, στις σχετικές κείμενες διατάξεις.

**Ο Αναπληρωτής Προϊστάμενος της Δ/σης  
α.α.**

**Παναγιώτης Ανδριόπουλος**

**ΚΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ:**

**1.** Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων

Γεν. Δ/ση Βιώσιμης Ζωικής Παραγωγής & Κτηνιατρικής

Δ/ση Προστασίας των Ζώων, Φαρμάκων και Κτηνιατρικών Εφαρμογών

Βερανζέρου 46, Τ.Κ.10438 Αθήνα

**2.** Δ/ση Αγρ. Οικονομίας & Κτηνιατρικής Περιφερειακής Ενότητας Κεντρικού Τομέα Αθηνών

Συγγρού 80-88, 117 41 Αθήνα

**3.** Επιτροπή Αξιολόγησης Πρωτοκόλλων της ΜΟΝΑΔΑΣ ΖΩΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΡΕΥΝΩΝ ΑΚΑΔΗΜΙΑΣ ΑΘΗΝΩΝ

Σωρανού του Εφεσίου 4, Τ.Κ.11527, Αθήνα

**4.** Επιτροπή Παρακολούθησης και Γνωμοδότησης για την Ευζωία των Ζώων της ΜΟΝΑΔΑΣ ΖΩΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΡΕΥΝΩΝ ΑΚΑΔΗΜΙΑΣ ΑΘΗΝΩΝ

Σωρανού του Εφεσίου 4, Τ.Κ.11527, Αθήνα

**5.** α) κο Χρήστο Σαλάκο

β) κα Αναστασία Μεντεσίδου

γ) κο Πέτρο Μυρίλλα

δια της ΜΟΝΑΔΑΣ ΖΩΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΡΕΥΝΩΝ ΑΚΑΔΗΜΙΑΣ ΑΘΗΝΩΝ

Σωρανού του Εφεσίου 4, Τ.Κ.11527, Αθήνα