






Calcitonin gene-related peptide (CGRP) ve kremaster kasının inmemiş testis etiolojisindeki rolü

The role of calcitonin gene-related peptide (CGRP) and cremaster muscle in the etiology of undescended testis

Mehmet Ali Özen¹ , Hüseyin Murat Mutuş² , Ebru İtir Zemheri³ , Hamit Okur⁴ 
Çiğdem Ulukaya Durakbaşı² 

¹Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Medeniyet Üniversitesi, Çocuk Cerrahisi Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁴Medical Park Hastanesi, Çocuk Cerrahisi Bölümü, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Amaç: Testisin iniş mekanizması ve inmemiş testisin nedenleri konusunda farklı teoriler ileri sürülmekle birlikte etyopatogenezi net olarak açıklanamamıştır. En popüler teorilerden biri çoğunlukla hayvan deneylerine dayanan genitofemoral sinir, calcitonin gene-related peptide (CGRP) ve kremaster kası içeren hipotezdir. Bu hipotezin insana uyarlanabilirliği tartışmalıdır. Çalışmamızda inmemiş testisi olan ve olmayan çocukların kremaster kasında CGRP reseptör varlığını analiz ederek CGRP'nin inmemiş testiste ki olası rolünü değerlendirmeyi amaçladık.

Yöntem: Bu klinik prospektif çalışmaya inmemiş testisi olan 15 erkek, inguinal hernisi olan 15 kız ve 15 erkek çocuk dahil edildi. Operasyonlar esnasında kremaster kas örnekleri alındı. CGRP reseptör varlığı, CGRP antikoru kullanılarak gösterildi.

Bulgular: Gruplara göre yaş dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Her bir erkek çocuk grubunda CGRP reseptörü saptanırken, kız çocuk grubunda ise saptanmadı. İnmemiş testis grubunda, testisi inişmiş gruba göre daha yüksek oranda reseptör saptandı (sırasıyla; %64,7 ve %35,3), iki grup arasında istatistiksel fark ise anlamlılık sınırındaydı ($p=0,05$).

Sonuç: Kremaster kasında CGRP reseptörlerinin kız çocuklarında bulunmayıp sadece erkek çocuklarında bulunması CGRP'nin testis inişinde rolü olabileceğini düşündürmüştür. Ancak hem inmemiş testis, hem de inişmiş testisi olan gruplarda, reseptör bulunan ve bulunmayan olguların birlikte olması bu konuda net bir çıkarım yapmayı kısıtlamıştır. Kremaster kası ve CGRP ile birlikte androjenlerin etkilerini ve gubernaculumu da içerecek şekilde yapılacak kombine çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: İnmemiş testis, calcitonin gene-related peptide (CGRP), kremaster kası, çocuk

ABSTRACT

Objective: Although different theories have been proposed about the descending mechanism of the testis and the causes of undescended testis (UDT), its etiopathogenesis hasn't been clearly explained. One of the most popular theories is the hypothesis that includes the genitofemoral nerve, CGRP and cremaster muscle (CM), which are mostly based on animal experiments. The adaptability of this hypothesis to human is controversial. In this study, we aimed to evaluate the possible role of CGRP in UDT by analyzing the CGRP receptor in the CM of children with and without UDT.

Method: This clinical prospective study included 15 boys with UDT, 15 girls with inguinal hernia (IH) and 15 boys with IH. CM samples were taken during the operations. The CGRP receptors were demonstrated using the CGRP antibody.

Results: No statistically significant difference was found between the groups in terms of age distribution. While CGRP receptor was detected in each boy group, it wasn't detected in the girl group. In the UDT group, there was a higher rate of receptors than the children with normal testis (64.7% and 35.3%, respectively), statistical difference between the groups was within the limit of significance ($p=0.05$).

Conclusion: CGRP receptors in the CM weren't found in girls but only in boys, suggesting that CGRP may play a role in testicular descent. However, the fact that both the UDT and the descended testis group consisted of patients with and without receptors, restricted making a clear conclusion about this matter. We think that combined studies, including the effects of androgens and gubernaculum together with CM and CGRP are needed.

Keywords: Undescended testis, cremaster muscle (CM), Calcitonin gene-related peptide (CGRP), children

Alındığı tarih: 07.11.2019

Kabul tarihi: 03.02.2020

Yayın tarihi: 30.04.2020

Atf vermek için: Özen MA, Mutuş HM, İtir Zemheri E, Okur H, Ulukaya Durakbaşı Ç. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) ve kremaster kasının inmemiş testis etiolojisindeki rolü. Çoc. Cer. Derg. 2020;34(1):24-9.

Mehmet Ali Özen
Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk Cerrahisi Ana Bilim Dalı,
İstanbul, Türkiye
✉ maozen@kuh.ku.edu.tr
ORCID: 0000-0002-7012-5410

ORCID Kayıtları

H.M. Mutuş 0000-0002-0059-1336
E. Zemheri 0000-0003-0247-0332
H. Okur 0000-0003-3899-8534
Ç.U. Durakbaşı 0000-0002-6474-3407

Giriş

İnmemiş testis, testisin normal göç yolu üzerinde bir yerde kalmış olmasını ifade eder ve pediatrik cerrahide erkek çocuklarda inguinal herni ile beraber en fazla tespit edilen durumdur ⁽¹⁻³⁾. İnsidansı miadında doğan bebeklerde %3-5 arasında bildirilmektedir ⁽²⁻⁴⁾. Bu oran genelde üç ayın sonunda %1-2'ye, 6-12 ay arasında ise %1'e kadar düşmektedir ^(1,5,6). Testisin iniş mekanizması ve inmemiş testisin neden olduğu konusunda çok çeşitli teoriler mevcut olmakla birlikte inmemiş testisin etyolojisi ile ilgili tartışmalar halen sürmektedir ⁽⁷⁻¹⁰⁾. Bu konuda mevcut literatürde üç önemli teori öne çıkmaktadır.

Birincisi Tanyel tarafından geliştirilen, testisin seksüel dimorfik olan otonom sinir sisteminin etkisiyle indiği, inmemiş testiste sorunun otonom innervasyonda tonus düzensizliği ve persistan sempatik tonus artışının olduğu teoridir ^(8,11,12). Hadziselimovic tarafından ile-ri sürülen teoride ise testisin inişindeki mekanizmanın hipotalamo-hipofizo-gonadal aks etkisiyle intratestiküler testesteron artması olduğu ve amacın testisin değil epididimin inişi olduğu belirtilmiştir ⁽¹³⁻¹⁶⁾.

Hutson ise Hadziselimovic'in aksine hipotalamo-hipofizo-gonadal aksın ve androjenin inmemiş testisin temel nedeni olmadığını ve tam androjen duyarsızlıklarında bile testisin bir miktar indiğini belirtmiştir ^(10,17). Hutson ve arkadaşları yaptıkları randomize, kontrollü çalışmalarda, gonadotropinler ve/veya gonadotropin salgılatıcı hormonlar ile yapılan tedavilerin, testiküler inişte plasebodan minimal daha iyi olduğunu tespit etmişler ve bu sonucun sebebinin de inmemiş testis etyolojisinin androjen eksikliğinden ziyade çok daha karmaşık bir süreç olmasından kaynaklandığını ifade etmişlerdir ^(6,18). Hutson testisin inişini açıklamak için de ünlü Calcitonin gene related peptid (CGRP) deneylerini kullanmış ve inguinal inişin CGRP sayesinde olduğu hipotezini kurmuştur ^(19,20). Hutson'ın bu konuda gubernakulum, kremaster kası ve CGRP'yi içeren çalışmaları çoğunlukla hayvan deneylerindeki gözlemlere dayanmaktadır ve insanlara uyarlanabileceği konusu da tartışmalıdır.

Mevcut çalışmada kız ve erkek çocuklarında kremaster kasındaki CGRP reseptör varlığını araştırmayı ve sonrasında inmiş ve inmemiş testisi olan çocukların

kremaster kasında CGRP reseptör bulunma oranlarını karşılaştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Bu klinik prospektif çalışma Üniversitemizin lokal etik kurulundan onay alındıktan sonra (karar no:11.04.2010-71) 2010 ile 2011 yılları arasında gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen tüm çocukların ailelerinden yazılı onam alınmıştır.

Çocuk Cerrahisi polikliniğine başvuran ve palpe edilebilen inmemiş testis veya inguinal herni tanısı konularak ameliyat planlanan hastalar çalışma gruplarını oluşturmuştur. Çalışmada 3 grup oluşturulmuştur. Birinci grupta inmemiş testisi olan 15 çocuk, ikinci grupta inguinal hernisi (testisi inmiş) olan 15 erkek çocuk ve üçüncü grupta ise inguinal hernisi olan 15 kız çocuk yer almıştır. Ektopik, retraktil, palpe edilemeyen testisi olanlar ile nüks vakalar ve daha önce inguinokrotal patoloji nedeniyle cerrahi işlem geçirmiş çocuklar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Kremaster kas lif örnekleri klinikte çalışan, inmemiş testis ve inguinal herni ameliyatlarını yapan çocuk cerrahları (üç kişi) tarafından yapılan operasyonlar esnasında yaklaşık 1 mm küp olacak şekilde alınmıştır. Her örneğe bir numara verilmiş ve örnekler aynı patolog tarafından değerlendirilmiştir. Patolog tanıya ve hastanın yer aldığı gruba kör olarak değerlendirme yapmıştır.

İmmunhistokimyasal değerlendirme; Bloklara aşağıda belirtilen işlemler sıra ile uygulandı.

- "Poly-l-lysine" ile kaplanmış lam üzerinde 3 mikron kalınlığında kesitler alındı.
- Fiziksel deparafinizasyon için kesitler bir gece 37°C'de etüvde bekletildi.
- Kimyasal deparafinizasyon:3x10 dk. ksilen + 3x10 dk. % 96'lık alkol ile gerçekleştirildi.
- Lamalar deiyonize distile su içinde 5 dk. bekletildi.
- Endojen enzim blokajı: lamalar % 3'lük H₂O₂ solusyonunda 20 dk. bekletildi.
- Lamalar deiyonize distile su içinde 5 dk. bekletildi.
- Antijen retrieval: sitrat buffer (ph:6) mikrodalga fırında kaynatıldı. Sıcak distile su içinde bekletilen lamalar sitrat buffer (ph:6) solusyonuna alındı. Mikrodalga fırında 800 Watt'a şoklandı. İlk kaynama olduğu anda

enerji 150-200 watt'a düşürülerek 15 dk. kademeli şoklama yapıldı. Süre sonunda enerji kesildi ve lamlar 30 dk. soğumaya bırakıldı.

- Yıkama (2x5 dk. Phosphate bafur saline ile) yapıldı.
- Lamlardaki dokuların etrafı Pap-pen ile çizildi.
- Protein blokajı: 5 dk. Blocking Reagent-ultra v blok, "ready to use", Labvision ile yapıldı.
- Primer antikor ile inkübasyon: solusyon lam yüzeyinden uzaklaştırıldı. Lamlar primer CGRP antikorunu [(Calcitonin (SP17) antibody monoclonal, ready-to-use, GeneTex, Inc)] çözeltisi ile 37°C'de etüvde, lamın kuruması engellenecek şekilde inkübe edildi.
- Yıkama (2x5 dk. PBS ile) yapıldı.
- Sekonder antikor (linking) ile inkübasyon (20 dk. Biotinylated goat anti-polyvalentlabvision ile) gerçekleştirildi.
- Yıkama (2x5 dk. PBS ile) yapıldı.
- Streptavidin peroksidaz (labelling) ile inkübasyon (20 dk. Labvision ile) gerçekleştirildi.
- Yıkama (2x5 dk. PBS ile) yapıldı.
- Kromojen ile inkübasyon: aminoetil karbazol-AEC Labvision ile yapıldı.
- Mayer's hemotoksilen ile zemin boyanması (4 dk.) yapıldı.
- Distile su ile yıkama gerçekleştirildi ve Aques Medium ile kapama yapıldı.

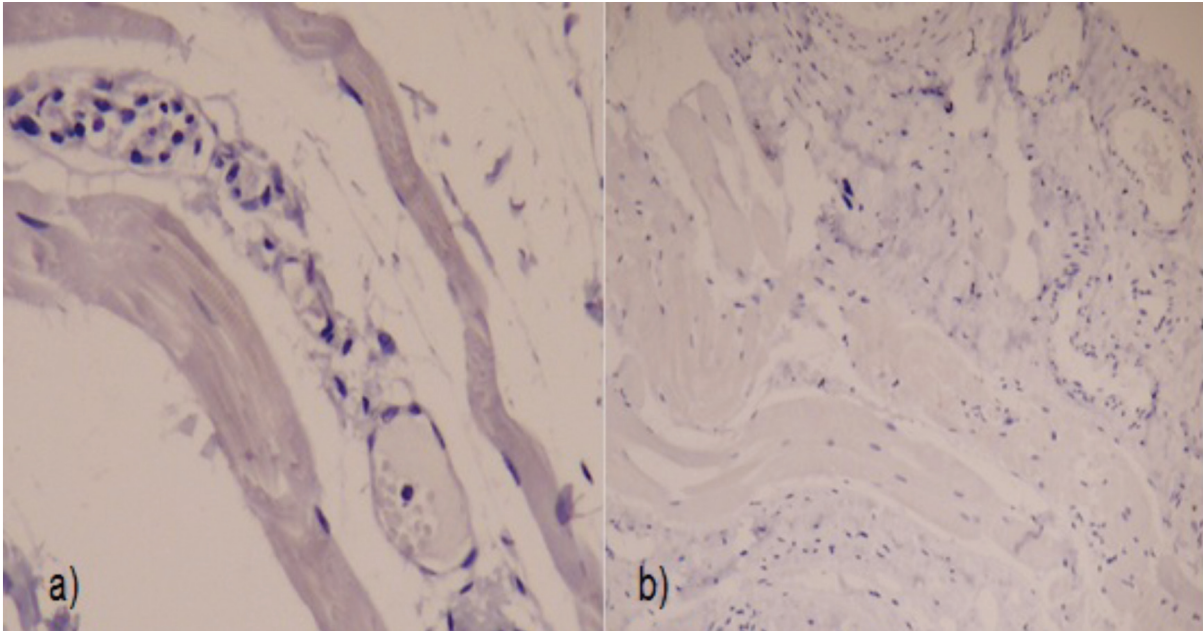
İmmunhistokimyasal olarak CGRP reseptör varlığı, ışık

mikroskopunda kremaster kasında sitoplazmik boyanma dikkate alınarak yapıldı. Boyanma var ve yok olarak sınıflandırıldı. İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007&PASS 2008 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanılmıştır. Niceliksel verilerin ve normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Oneway Anova testi kullanılmıştır. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise ki-kare testi kullanılmıştır. Anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

Bulgular

Çalışma grubunda hastaların ortalama yaşı sırasıyla, inmemiş testis grubunda $23,20\pm7,97$, inguinal hernisi olan erkek çocuk grubunda $18,65\pm11,18$ ve inguinal hernisi olan kız çocuk grubunda ise $23,52\pm15,30$ idi. Gruplara göre yaş dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$, Oneway ANOVA test).

Kremaster kasında CGRP reseptörleri inmemiş testis ve inguinal hernisi olan erkek çocuk grubunda tespit edildi (Şekil 1). Öte yandan inguinal hernisi olan kız çocuk grubunda ise kremaster kasında CGRP reseptörü tespit edilmedi. Reseptör varlığı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,01$). İnmemiş testis grubunda reseptör insidansı



Şekil 1. a) İnmemiş testisli olguda, kremaster kasında CGRP antikoruna ile yaygın boyanma izlendi. b) İnguinal hernili inmmiş testisli olguda, kremaster kasında CGRP antikoruna ile boyanma izlenmedi.

inguinal herni gruplarına göre daha yüksekti (Tablo 1). Kız inguinal herni grubunda kremaster kasında reseptör saptanmadığı için inmemiş testis ve erkek inguinal herni grubu ayrıca karşılaştırıldı (Tablo 2). Buna göre, CGRP reseptörleri inmemiş testis grubunda, inguinal hernisi olan (testisi inmiş) erkek çocuk grubuna göre daha yüksek oranda bulundu (sırasıyla; %64,7 ve %35,3), ancak iki grup arasında istatistiksel olarak fark anlamlılık sınırında saptandı ($p=0,05$ by Mann Whitney U test).

Inmemiş testis grubunda, inmeyen testisin bulunduğu taraflar arasında CGRP reseptörü açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 3).

Tablo 1. Gruplarda reseptör bulunma oranları.

Gruplar	Reseptör varlığı			p Değeri
	Yok n (%)	Var n (%)	Toplam n (%)	
İnmemiş testis	4 (%14,3)	11 (%64,7)	15 (%33,3)	0.001**
İH (erkek)	9 (%32,1)	6 (%35,3)	15 (%33,3)	
İH (kız)	15 (%53,6)	0 (%0)	15 (%33,3)	

İH= Inguinal herni

** $p<0.01$ (ki-kare testi)

Tablo 2. İnmemiş testis ve İH (erkek) gruplarında reseptör bulunma oranları.

Gruplar	Reseptör varlığı			p Değeri
	Yok n (%)	Var n (%)	Toplam n (%)	
İnmemiş testis	4 (%14,3)	11 (%64,7)	15 (%33,3)	0.005*
İH (erkek)	9 (%32,1)	6 (%35,3)	15 (%33,3)	

İH= Inguinal herni

* $p<0.05$ (ki-kare testi)

Tablo 3. İnmemiş testis grubunda taraflara göre reseptör oranlarının değerlendirilmesi.

İnmemiş testis	Reseptör varlığı			p Değeri
	Yok n (%)	Var n (%)	Toplam n (%)	
Sağ taraf	3 (%75)	4 (%36,4)	7 (%46,7)	0.185
Sol taraf	1 (%25)	7 (%63,6)	8 (%53,3)	

* $p<0.05$ (ki-kare testi)

Tartışma

Testisin normal inişi oldukça karmaşık bir süreçtir. İnmemiş testisin etyopatogenezi tam olarak anlaşıl-

lamamakla birlikte en çok gündemde olan teorilerden bir tanesi Hutson tarafından öne sürülen genitofemoral sinir (GFS), kremaster kası, gubernakulum ve CGRP'yi içeren hipotezdir⁽²¹⁻²³⁾. CGRP'yi içeren rat çalışmalarında ilk önce CGRP'in GFS'nin motor liflerinden salındığı öne sürülmüşse de⁽²⁴⁾, sonraki çalışmalarda Barthold ve arkadaşları, devamında da Hutson ve arkadaşları CGRP nöropeptidinin, L1, L2 dorsal kök ganglionlarında, GFS'nin duyu dalından salındığını göstermişlerdir^(20,25,26). Hutson'ın hipotezi çoğunlukla hayvan deneylerindeki gözlemlere dayanmaktadır. Bununla birlikte hayvan modelleri üzerine yapılan çalışmaların ve sonuçlarının insan testisinin inişine uyarlanıp uyarlanamayacağı konusunda farklı görüşler olup halen tartışmalıdır.

Hussmann ve Levy ratlar üzerinde yapılan GFS, kremaster kası ve gubernakulumu içeren çalışmalardan elde edilen sonuçların ve hipotezlerin insanlara uygulanabilirliğinin olmadığını belirtmişlerdir⁽²⁷⁻²⁹⁾. Bunu söylerken de arada çok önemli anatomik farklılıklar olduğunu belirtmişlerdir. Bu farklılıklara örnek olarak, ratlarda kremaster kasının kupa ve koni konfigürasyonunda olduğunu, insanda ise kremaster kas konfigürasyonunun şerit şeklinde olduğunu, ratlardaki gibi testisi sarmadığını ve önde uzandığını ifade etmişlerdir⁽²⁷⁻²⁹⁾. Yine gubernakulumun yapısında tamamen farklı olduğunu belirtmişlerdir⁽²⁷⁻²⁹⁾. Bu nedenlerle Hussmann ve Levy ratlarda testisin inişinde GFS'den kaynaklanan CGRP'nin aracılığı ile kremaster kas ve gubernakulum da sağlanan nöromuskuler kontrolün önemli gibi gözüktüğünü belirtip, CGRP'nin insan testiküler inişinde önemli bir rolü olmadığını ileri sürmüşlerdir^(23,27-30). Mevcut çalışmada inguinal hernisi olan kız çocukların kremaster kasında CGRP reseptörünün bulunmaması ve sadece erkek çocukların kremaster kasında reseptörün olması testisin inişi ile ilgili CGRP'nin kremaster kası aracılığıyla bir rolü olabileceğini akla getirmiştir.

Hussmann ve Levy'nin aksine Harnaen ve arkadaşları testis inişi sırasında, ratlardaki kremaster kasının ne bir kupa ne de tam bir koni şeklinde kese olmadığını göstermişlerdir⁽²²⁾. Bu bilgi sıçan ve domuzlarda kremaster kasının uzun şerit şeklinde olduğunu tarif eden Wensing tarafından desteklenmiştir⁽³¹⁾. Hutson ve arkadaşları da kremaster kası ile ilgili sıçanlar ve insanlar arasındaki farklılığın, temelden ziyade önemsiz küçük noktalarda olduğunu belirtmişler ve sıçan ile

insan kremaster kasınının homolog olduğunu ifade etmişlerdir ^(17,20,22,23). Hutson ve arkadaşları ratlarda gubernakulum ve kremaster kasında CGRP reseptörlerini göstermişler ve GFS'den salınan CGRP'nin kendi reseptörleri yoluyla doğrudan testisin inmesini sağladığını ifade etmişlerdir ^(23,29,30). Bu hipotezlerinin, rat ve insanlardaki kremaster kası arasındaki homoloji nedeniyle insanlarda da testisin inişini açıklamada geçerli olduğunu ileri sürmüşlerdir ^(22,23,29,30,32). Mevcut çalışmada inmemiş testis grubunda CGRP reseptör varlığı, inmiş testis olan gruba göre anlamlılık sınırında yüksek bulunmuştur. Ancak inmemiş testisi olup reseptör saptanan olguların yanında reseptör saptanmayan olgular da aynı grupta mevcuttur. Benzer durum inmiş testis olan grupta da söz konusudur (CGRP reseptörü olan ve olmayan olgular aynı grup içinde mevcuttur). Her ne kadar kremaster kasında CGRP reseptörlerinin kız çocuklarında bulunmayıp sadece erkek çocuklarında bulunması CGRP'nin testis inişinde rolü olabileceğini düşündürse de erkek gruplarının kendi içindeki ve gruplar arasındaki sonuçları bu konuda net bir çıkarım yapmayı kısıtlamıştır.

Sonuç olarak, hayvanlar üzerinde özellikle de kemirgenler üzerinde inmemiş testisin etyopatogenezini aydınlatmak için CGRP ve kremaster kası ile ilgili çok fazla sayıda çalışma bulunmaktadır. Mevcut çalışmanın sonuçları göz önüne alındığında kremaster kası ve CGRP'nin rolü üzerine yapılan deneysel çalışmaların insana uyarlanabilirliği konusunda şüpheler olduğunu düşünmekteyiz. Benzer hasta gruplarında kremaster kası ve CGRP ile birlikte androjen ve gubernakulumu da içerecek şekilde yapılacak kombine çalışmalara ihtiyaç vardır. Oldukça kompleks bir süreç olan inmemiş testis etyopatogenezinin aydınlığa kavuşabilmesi için çocuklarda yapılması gereken pek çok araştırmanın etik olmaması ve çalışma gruplarının oluşturulmaması bir elverişsizlik olarak gözükmektedir.

Etik Kurul Onayı: Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul onayı alınmıştır (11.04.2010/71).

Çıkar Çatışması: Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek: Çalışmayı finanse eden herhangi bir kişi ya da firma yoktur.

Hasta Onamı: Çalışmaya dahil edilen tüm çocukların ailelerinden yazılı onam alınmıştır.

Kaynaklar

- Hutson JM, O'Brien M, Beasley SW, Teague WJ, King SK, editors. Jones' clinical paediatric surgery. 7th edn. Chichester, England: Wiley, 2015; p. 332. <https://doi.org/10.1002/9781118777305>
- Yeap E, Nataraja RM, Pacilli M. Undescended testes: What general practitioners need to know. Aust J Gen Pract. 2019;48(1-2):33-6. <https://doi.org/10.31128/AJGP-07-18-4633>
- Docimo SG. The results of surgical therapy for cryptorchidism: A literature review and analysis. J Urol. 1995;154:1148-52. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(01\)67015-0](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)67015-0)
- Loebenstein M, Thorup J, Cortes D, Clasen-Linde E, Hutson JM, Li R. Cryptorchidism, gonocyte development, and the risks of germ cell malignancy and infertility: A systematic review. J Pediatr Surg. 2019;54:S0022-3468(19)30450-6. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2019.06.023>
- Gurney JK, McGlynn KA, Stanley J, et al. Risk factors for cryptorchidism. Nat Rev Urol. 2017;14(9):534-48. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2017.90>
- Hutson JM, Vikraman J, Li R, Thorup J. Undescended testis: What paediatricians need to know. J Paediatr Child Health. 2017;53(11):1101-4. <https://doi.org/10.1111/jpc.13744>
- Heyns CF, Hutson JM. Historical review of theories on testicular descent. J Urol. 1995;153:754-67. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(01\)67713-9](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)67713-9)
- Tanyel FC. The descent of testis and reason for failed descent. Turk J Pediatr. 2004;46(SUPPL.):7-17.
- Hadziselimovic F, Herzog B. The development and descent of the epididymis. Eur J Pediatr. 1993;152(2 Supplement):6-9. <https://doi.org/10.1007/BF02125424>
- Hutson JM, Donahoe PK. The hormonal control of testicular descent. Endocr Rev 1986;7(3):270-83. <https://doi.org/10.1210/edrv-7-3-270>
- Tanyel FC, Erdem S, Büyükpamukçu N, et al. Cremaster muscles obtained from boys with an undescended testis show significant neurological changes. BJU Int 2000;85(1):116-9. <https://doi.org/10.1046/j.1464-410x.2000.00362.x>
- Tanyel FC, Erdem S, Büyükpamukçu N, et al. Cremaster muscle is not sexually dimorphic, but that from boys with undescended testis reflects alterations related to autonomic innervation. J Pediatr Surg 2001;36(6):877-80. <https://doi.org/10.1053/jpsu.2001.23959>
- Hadziselimović F. Mechanism of testicular descent. Urol Res 1984;12(3):155-7. <https://doi.org/10.1007/BF00255914>
- Hadziselimović F, Krušlin E. The role of the epididymis in descensus testis and the topographical relationship between the testis and epididymis from the sixth month of pregnancy until immediately after birth. Anat Embryol 1979;155(2):191-6. <https://doi.org/10.1007/BF00305751>
- Hadziselimovic F, Zivkovic D, Bica DTG, et al. the Importance of Mini-Puberty for Fertility in Cryptorchidism. J Urol 2005;174(4):1536-9. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000181506.97839.b0>
- Hadziselimovic F, Herzog B, Barthold JS. Treatment

- with a luteinizing hormone-releasing hormone analogue after successful orchiopexy markedly improves the chance of fertility later in life. *J Urol* 1997;158(3 SUPPL.):1193-5.
[https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(01\)64422-7](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)64422-7)
17. Hutson JM, Hasthorpe S. Testicular descent and cryptorchidism: The state of the art in 2004. *J Pediatr Surg* 2005;40(2):297-302.
<https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2004.10.033>
 18. Hutson JM, Southwell BR, Li R, et al. The regulation of testicular descent and the effects of cryptorchidism. *Endocr Rev* 2013;34(5):725-52.
<https://doi.org/10.1210/er.2012-1089>
 19. Clarnette T, Hutson M. Exogenous calcitonin gene-related peptide can change the direction of gubernacular migration in the mutant trans-scrotal rat. *Pediatr Surg* 1999;34(8):1208-12.
[https://doi.org/10.1016/S0022-3468\(99\)90153-7](https://doi.org/10.1016/S0022-3468(99)90153-7)
 20. Hrabovszky Z, Farmer P, JM H. Does the sensory nucleus of the genitofemoral nerve have a role in testicular descent? *Pediatr Surg* 2000;35(1):96-100.
[https://doi.org/10.1016/S0022-3468\(00\)80022-6](https://doi.org/10.1016/S0022-3468(00)80022-6)
 21. Cousinery MC, Li R, Vannitamby A, Vikraman J, Southwell BR, Hutson JM. Neurotrophin signaling in a genitofemoral nerve target organ during testicular descent in mice. *J Pediatr Surg*. 2016 51(8):1321-6.
<https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2015.11.009>
 22. 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(12):1982-87.
<https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2007.08.012>
 23. Lie Gabrielle, Hutson JM. The role of cremaster muscle in testicular descent in humans and animal models. *Pediatr Surg Int* 2011;27:1255-65.
<https://doi.org/10.1007/s00383-011-2983-4>
 24. Larkins SL, Williams MPL, Hutson JM. Localization of Calcitonin gene-related peptide within the spinal nucleus of the genitofemoral nerve. *Pediatr Surg Int*. 1991;6:176-9.
[https://doi.org/10.1016/S0022-3468\(99\)90774-1](https://doi.org/10.1016/S0022-3468(99)90774-1)
 25. Barthold JS, Mahler HR, Sziszak TJ, et al. Lack of feminization of the cremaster nucleus by prenatal flutamide administration in the rat and pig. *J Urol*. 1996;156:767-71.
<https://doi.org/10.1097/00005392-199608001-00057>
 26. Schwindt B, Farmer PJ, Watts LM, et al. Localization of calcitonin gene-related peptide within the genitofemoral nerve in immature rats. *J Pediatr Surg*. 1999;34:986-91.
[https://doi.org/10.1016/S0022-3468\(99\)90774-1](https://doi.org/10.1016/S0022-3468(99)90774-1)
 27. Husmann DA, Levy JB. Current concepts in the pathophysiology of testicular undescend. *Urology*. 1995;46:267-76.
[https://doi.org/10.1016/S0090-4295\(99\)80207-6](https://doi.org/10.1016/S0090-4295(99)80207-6)
 28. Redman JF. Applied anatomy of the cremasteric muscle and fascia. *J Urol*. 1996;156:1337-40.
[https://doi.org/10.1016/S0022-3468\(01\)65581-2](https://doi.org/10.1016/S0022-3468(01)65581-2)
 29. Yamanaka J, Metcalfe SA, Hutson JM, Mendelsohn FA. Testicular descent. II. Ontogeny and response to denervation of calcitonin gene-related peptide receptors in neonatal rat gubernaculum. *Endocrinology*. 1993;132:280-84.
<https://doi.org/10.1210/endo.132.1.8380378>
 30. Yamanaka J, Metcalfe SA, Hutson JM. Demonstration of calcitonin gene-related peptide receptors in the gubernaculum by computerized densitometry. *J Pediatr Surg*. 1992;27:876-78.
[https://doi.org/10.1016/0022-3468\(92\)90389-0](https://doi.org/10.1016/0022-3468(92)90389-0)
 31. Wensing CJ. Testicular descent in the rat and a comparison of this process in the rat with that in the pig. *Anat Record*. 1986; 214(2):154-60.
<https://doi.org/10.1002/ar.1092140208>
 32. Vikraman J, Hutson JM, Li R, Thorup J. The undescended testis: Clinical management and scientific advances. *Semin Pediatr Surg*. 2016;25(4):241-8.
<https://doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2016.05.007>