

T.C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**AORTIK KARBOKSİPEPTİDAZ BENZERİ PROTEİN  
(AKBP) VE WILMS TÜMÖRÜ 1 (WT1) GENLERİNİN  
ÇOCUKLUK YAŞ GRUBUNDA GÖRÜLEN  
KASIK BÖLGESİ PROBLEMLERİ  
ÜZERİNE ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

DR. PINAR DURMAZ SARITEKİN

**TEZ DANIŞMANI**

DOC. DR. BİLLUR DEMİROĞULLARI

**ANKARA-2008**

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>GİRİŞ</b>	1
<b>GENEL BİLGİLER</b>	
Embriyoloji ve Anatomi .....	3
İnguinal Herni.....	4
Hidrosel.....	5
İnmemiş Testis.....	6
Çocuk Fıtığı Oluşum Kuramları.....	9
Testislerin Skrotuma İniş Kuramları.....	12
AKBP.....	15
WT1.....	17
<b>GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	19
<b>BULGULAR.....</b>	21
<b>TARTIŞMA.....</b>	28
<b>SONUÇ.....</b>	31
<b>ÖZET.....</b>	32
<b>SUMMARY.....</b>	33
<b>KAYNAKLAR .....</b>	35

**KISALTMALAR**

**WT1:** Wilms tümörü 1

**AKBP:** Aortik Karboksipeptidaz-benzeri protein

**K:** Kontrol

**KF:** Kasık fitiği

**İNT:** İnmemiş testis

**H:** Hidroset

**PV:** Prosesus Vajinalis

**PHÖ:** Programlanmış Hücre Ölümü

**HGF:** Hepatosit Growth Factor

**VP:** Ventriküloperitoneal

**AR:** Androjen reseptör

**GFN:** Genitofemoral Nöron

**KGBP:** Kalsitonin-gen-bağlantılı peptid

**INSL3:** İnsülin-benzeri hormon 3

**GnRH :** Gonadotropin salgılayıcı hormon

**HDM:** Hücre Dışı Matriks

**GDNF:** Glial kökenli nörotrofik faktör

## GİRİŞ

Çocukluk çağında kasık bölgesinin fitik, hidrosel (H) ve inmemiş testis (İNT) gibi cerrahi problemleri sık görülmektedir (1,2). Özellikle kasık fitiği (KF) çocukluk çağının cerrahi tedavi gerektiren en sık doğumsal anomalisidir. Erkek çocuklarda kızlara göre 8-10 katı daha fazla görülmektedir (3,4). Yenidoğan döneminde H görülme sıklığı % 58 olmasına rağmen genellikle yaşamın birinci yılında kaybolmaktadır (5). H olan çocuklarda KF gelişme potansiyelinin yüksek olduğu kabul edilse de aslında buna ait bir kanıt yoktur. Son yıllarda yapılan bir çalışmada 6361 olgu 18 yaşına kadar izlenmiş ve H oranının % 19, KF oranının ise % 1 olduğu bildirilmiştir (6). Çocukluk çağında erkeklerde cerrahi tedavi gerektiren diğer kasık bölgesi sorunu İNT'dir. Bir yaş civarında gerçek İNT görülme oranı % 1 kadardır.

Aslında fitik kesesi, H ve İNT'deki prosessus vaginalis (PV) yapıları peritonun dışarıya doğru uzantısıdır. İnsan anatomisinin en karışık bölgelerinden kabul edilen kasık bölgesindeki bu problemlerin nedenlerine yönelik olarak hem çocuklarda hem de erişkinlerde bir çok araştırma yapılmaktadır. Erişkinlerdeki ve çocuklardaki KF oluşum mekanizması farklıdır. Erişkinlerde direk, çocuklarda ise indirek KF kesesi vardır. Erişkinlerde yapılan çalışmalarda direk ve indirek KF keselerindeki periton yapısının farklı olduğu gösterilmiştir (7). Çocuklarda kasık bölgesindeki periton uzantılarının hepsi indirek olmasına rağmen, son yıllarda KF, H ve İNT'deki periton açıklığının farklı mekanizmalarla oluştuğu yönünde ciddi çalışmalar vardır (8,9,10,11). Hatta kız ve erkek çocuklarındaki KF oluşumunun bile farklı olduğu ileri sürülmektedir (12).

Birçok çalışma sonucunda çocuklardaki KF oluşumuyla ilgili değişik kuramlar geliştirilmiştir. Bunlar başlıca; karın içi basınç artışı, bölgesel bağ dokusu ve rektus kas yapısında zayıflık, bölgesel kollajen yapımında anormallik, genetik faktörler ve testisin inişinden sonra PV açıklığının devam etmesi şeklinde özetlenebilir.

Aortik karboksipeptidaz benzeri protein (AKBP), ilk defa insan aortundaki düz kas hücrelerinden elde edilmiştir (13). Daha sonra bu proteinin hücrelerarası dokuda bulunduğu, dermal yara iyileşmesi ve karın duvarının kapanmasında rol aldığı keşfedilmiştir (14). Düz kas hücreleri ve kollajen dokusu ile yakın ilişkisinden dolayı AKBP'nin KF gelişiminde etkisi olabileceği varsayılarak bu çalışmada incelenmesi planlanmıştır.

Wilms Tümör-1 Geni (WT1), esasen tümör süpresör gen olarak bilinmesine rağmen insan organizmasının gelişimi ve fonksiyonunda oldukça kompleks görevlere sahiptir (15). Özellikle ürogenital sistemin gelişmesinde tahmin edilenden daha fazla etkisi vardır. Yakın dönemde mezonefrik tübül ve gonadlarda WT1'in güçlü bir şekilde yer aldığı yeniden vurgulanmıştır. "Acaba bu gen çocuklardaki kasık bölgesiyle ilgili problemlerde rol oynayabilir, en azından bir katkıda bulunabilir mi?" sorusundan yola çıkılarak bu çalışmada WT1'in incelenmesine karar verilmiştir.

## GENEL BİLGİLER

### KARIN DUVARI, PERİTON VE KASIK BÖLGESİNİN EMBRİYOLOJİ VE ANATOMİSİ

Gebeliğin 6. haftasında vertebral kolonun her iki yanındaki myotomlar somatoplevrayı kaplar (primitif karın duvarı). Bu dönemde karın ön duvarı vücut sapı ve açık durumdaki orta barsak tarafından doldurulmuş durumdadır. Yedinci haftanın ortalarına doğru, mezoderm tabakası farklılaşmaya başlayarak bu haftanın sonunda tüm karın kaslarını oluşturur. Bu gelişim süreci içerisinde mezoderm tabakası, yanlara ve öne göç ettikten sonra sağ ve sol rektus kaslarını oluşturarak, 12. hafta civarında orta hatta birleşerek karın ön duvarını kapatır. Karın duvarının alt kısmı ikinci mezoderm olarak tanımlanan bir tabaka tarafından oluşturulur. Bu yapı temelde kloakal bölgenin kapanmasını sağlar. (16)

Transvers kölüm gebeliğin 4. ayında daha sonra diafragmayı oluşturacak olan septum ile ayrılmaya başlar. Bu septumun üstündeki göğüs boşluğu plevra, altındaki karın ve pelvis boşluğu ise periton ile döşenir. Periton, başlıca iki tabakadan oluşur. Mezotelyum, tunika serozayı oluşturur ve periton sıvısının salgılanmasını, böylece dokular arası kayganlığı sağlar. Diğer tabaka olan tunika subseroza ise fibroblastlardan ve diğer bağ dokusu hücrelerinden zengin bir yapıya sahiptir. İçerdiği bağ dokusu hem bol miktarda damar ve sinir hücreleri içerir hem de organların karın içinde tutunmasını sağlar. Periton, 2 m<sup>2</sup> ye yakın yüzey alanıyla insan vücudundaki en büyük zarıdır. Organları saran bölümüne viseral, karın duvarını kaplayan kısmına ise pariyetal periton adı verilir (16).

Kasık bölgesi, yukarıda spina iliaca anterior superior, ortadan rektus kasının dış kenarı ve aşağıda inguinal ligaman tarafından sınırlanan üçgen şeklindeki alandır. İnguinal ligamanın üzerinde yer alan inguinal kanal, gerçekte retroperitoneal bölgeden gelen ve skrotuma giden testisin göç yoludur. İnguinal kanalın alt duvarını inguinal ligaman, üst duvarını transvers fasya ve iç-dış oblik karın kasları, iç duvarını rektus kasının kenarı, dış

duvarını iç oblik karın kası, ön duvarını dış oblik karın kası ve arka duvarını transvers fasiya oluşturmaktadır (16). Gebeliğin 3. ayında her iki taraftaki karın duvarından inguinal kanalın içine doğru periton çıkıntıları oluşur. Bu çıkıntılar gubernakulumu doğru balonlaşarak PV açıklığını oluşturur (17). İlerleyen zaman içerisinde testis skrotuma yerleşir, PV'in testisi saran kısmı tunika vajinalisi yapar, inguinal kanala doğru olan uzantısı ise kapanır. Erişkinlerde ve ergenlerde inguinal kanalın uzunluğu yaklaşık 4-5 cm iken yaş küçüldükçe kısalır ve bebeklerde 1-1,5 cm boyutuna iner. (16 )

İnguinal kanalın içinde erkeklerde funnikulus spermaticus yapıları bulunmaktadır; vas deferens ve arteri, iç-dış spermatic arter, spermatic ven, kremasterik lifler, kapanmış PV, lenfatik damarlar ve sinirler. Kızlarda ise; teres / round ligamanı, kapanmış PV, over ve epigastrik arter dalları bulunmaktadır (16)

### **KASIK FITIĞI**

Genel olarak KF görülme sıklığı % 1 ile 5 arasındadır, erkeklerde kızların yaklaşık 10 katı fazladır (18). Prematür ve düşük doğum ağırlıklı erkek bebeklerde görülme sıklığı %7 ile 30'a kadar çıkmaktadır. Her iki cinste de sağda % 60, solda % 30, sağ ve solda % 10 oranında görülür (18,19). Sağ testis sola göre skrotum içine daha geç indiği ve PV daha geç kapandığı için KF sağda daha fazla görülür. Olguların % 90'ı iki yaşından önce klinik olarak bulgu verir (20,21). En korkulan komplikasyonu fitik boğulması ve kese içine giren organların dolaşımının bozulmasıdır. Yaş küçüldükçe bu risk arttığından tanı konur konmaz elektif koşullarda hemen cerrahi tedavi uygulanmalıdır.

Bazı durumlar KF gelişimi için zemin hazırlamaktadır (Tablo 1). Ancak bu problemler olguların az bir kısmını oluşturmaktadır.

<b>Ürogenital problemler</b>	İnmemiş testis Ekstrofia vezika
<b>Periton sıvısında artış</b>	Asit Ventrikülo-peritoneal şant Periton dializi
<b>Karın içi basıncında artış</b>	Gastroşizi ve omfalosel onarımı
<b>Kronik solunum hastalıkları</b>	Kistik fibrosiz
<b>Bağ dokusu hastalıkları</b>	Ehler Danlos Sendromu Hunter-Hurler Sendromu

**Tablo 1. KF' ye zemin hazırlayan nedenler (22)**

## **HİDROSEL**

Doğum sonrası kapanması gereken PV'in sadece periton sıvısının geçebileceği kadar bir açıklığa sahip olmasına H denir. Periton sıvısı PV'den skrotuma geçerek testis etrafında birikir, içi su dolu kistik bir kitle olarak ele gelir. Karın ile bağlantısı olanlara kominike, olmayanlara ise non-kominike H denir. Kominike H'de muayenede skrotumdaki sıvının karın içine doğru boşaltığı fark edilir. Yenidoğan erkek bebeklerin yarısından fazlasında H görülmesine rağmen (23) İlk yaş içerisinde PV'in kapanmasıyla olguların büyük kısmında H kendiliğinden geçer. Bu nedenle bir yaşından önce H için cerrahi girişim yapılması uygun değildir. Çocukluk dönemindeki H keselerinin aspirasyonla boşaltılması hem karın ile bağlantısı olduğu için hem de inkarsere KF ile karışabileceği için önerilmez (22).

## İNMEMİŞ TESTİS

Testisin mekanik, hormonal veya yapısal nedenlere bağlı olarak inguinal kanal içinden geçerek skrotuma yerleşememesine İNT denir. Prematürelde % 30, miadında doğan bebeklerde %3.4 civarında İNT görülmektedir. Bu bebekler bir yaşına ulaştıklarında İNT görülme oranı % 0.7 ile 1 arasındadır. Diğer bir deyişle doğumda skrotumda olmayan testislerin % 70-75'i bir yaşında skrotuma inmektedir. Olguların %70-90'ında İNT tek taraflı ve genellikle sağdadır. %10-30 olguda ise iki taraflı İNT görülür (24,25).

Testisin skrotuma inişinde etkili olan faktörler başlıca hormonal ve mekanik olarak ikiye ayrılır (Tablo 2).

<b>Hormonal Faktörler</b>	<b>Mekanik Faktörler</b>	<b>Nöral Faktörler</b>
Gonadotropinler (FSH, LH)	Karın içi basınç artışı	Genitofemoral sinir
Androjenler	Karın duvarının yapısı	
Östrojen	Gubernakulum	
Müllerian Inhibiting Faktör (MIF)	Epididim	
Desendin	Kranial asıcı bağ	
Epidermal Growth Faktör	Spermatik arterin uzunluğu	
	Retroperitoneal fibrozis	
	Skrotum yapısı	

**Tablo 2. Testisin inişinde etkili olan faktörler (22)**

Testisin skrotuma inişi başlıca üç evrede gerçekleşmektedir (26,16):

1. Karın içi evre: Gebeliğin 1 ile 7. ayları arasındaki dönemi kapsar. Gebeliğin 5. haftasında oluşan ürogenital kabartıdan primitif gonadlar gelişir. Altıncı haftada bu gonadların içine yolk kesesinden gelen primordial germ hücreleri yerleşir. Bu arada testis dokusunda Sertoli hücreleri görülmeye başlar. Yedi ve 8. haftalarda seksüel farklanma belirgin hale gelir ve bu dönemde testiste Leydig hücrelerinin oluştuğu izlenir. Gebeliğin 3. ayına kadar gonadlar, kranialde asıcı bağ ve kaudalde genital bağ arasında asılı olarak retroperitoneal bölgede kıpırdamadan dururlar. Daha sonra kızlarda asıcı bağlar devam ederken, erkeklerde testosteron etkisiyle kranial bağ yok olur, kaudaldeki genital bağ ise gonadal mezenter ve genital mezenşim ile birlikte gubernakulum yapısına katılır. Gubernakulum yapısındaki hyalüronik asit miktarının artmasıyla şişer ve testisin geçebilmesi için inguinal kanalın genişlemesini sağlar. Bu arada 3. aydan itibaren fetusun boyu hızlı bir şekilde uzar, ancak bu uzamaya gubernakulum eşlik etmediği için, ayrıca karın içi basıncın artması ve hormonal faktörlerin de etkisiyle testis aşağıda kalır. Böylece testis 7. aya kadar inguinal kanalın iç halkasının girişinde gubernakulumla tutunmuş olarak bulunur. Karın duvarı kapandıktan sonra periton 3. aydan itibaren gubernakulumun içine balonlaşmaya başlayarak PV'yi yapar ve ilerleyen aylarda bu balonlaşma skrotuma doğru devam eder.
2. Kanaliküler evre: Gebeliğin 7 ile 8. aylarında karın içi basıncı, inguinal kanalı çevreleyen kasların basıncı, PV ve gubernakulumun etkisiyle testis inguinal kanaldan skrotuma doğru yönelir.
3. Skrotal evre: Gebeliğin 8 ve 9. aylarında sol taraf daha önce olmak üzere testisler skrotuma ulaşır. Bu dönemde PV'nin distalde testisi saran kısmı

tunika vajinalisi oluşturur, proksimaldeki kısmı ise inguinal kanaldan itibaren kapanır.

Testis skrotuma inmeyip yukarıda kaldığında hem daha fazla vücut ısısına maruz kalır, hem de kendisini saran ve kollayan dokudan yoksun kalır. Böylece erken dönemde infertilite, torsiyon, travmaya ve KF oluşumuna eğilim, geç dönemde ise psikolojik sorunlar, malignite gibi komplikasyonlara zemin hazırlanmış olur (27,28,29). Bu nedenlerle ilk yaş sonunda testis hala skrotuma ulaşmamışsa cerrahi olarak indirilmesi gerekir.

## ÇOCUKLUK ÇAĞI KASIK FITIĞI OLUŞUM KURAMLARI\*

### KARIN İÇİ BASINCINDA ARTIŞ

Karın içinde basınç artışının KF ve H gelişimindeki etkisini araştıran birçok çalışma vardır (30,31). Hidrosefali tedavisinde uygulanan ventriküloatrial (VA) şantta KF ve H görülme sıklığı % 1,2 iken ventriküloperitoneal (VP) şant takılan hastalarda bu oran % 23'e kadar çıkmaktadır (32,33). VP şantı olan hastalarda karın içindeki artmış sıvı nedeniyle oluşan basınç artışının PV'in kapanmasını önlemesi ya da kapanmamış PV'in potansiyel bir fitikten klinik olarak belirgin fitik haline gelmesi ile KF ve H geliştiği ileri sürülmektedir. VP şant uygulanan hastalarda iki taraflı KF oranının % 47-75 gibi yüksek olması, kapanmamış PV'in potansiyel bir fitikten klinik olarak belirgin fitiğe dönüşümünü desteklemektedir.

### BAĞ DOKUSU VE REKTUS KASI KILIFINDAKİ ZAYIFLIK VE İNCELME

Erişkinlerde yapılan çalışmalarda KF olanların rektus kas kılıfının kontrol grubuna göre daha ince olduğu, kollajen liflerin düzensiz yapılandığı, elastik liflerde incelme ve miktarında azalma olduğu saptanmıştır (34,35).

### ANORMAL KOLLAJEN METABOLİZMASI

Erişkinlerdeki KF keselerinde tip III kollajen seviyesinin arttığı, tip I / tip III kollajen oranının azaldığı, bu değişikliklerin bağ dokusu gerilme kuvvetini ve mekanik stabilizasyonu bozarak KF'na yol açtığı ileri sürülmüştür (36,37). Çocuklarda ise kız ve erkek KF, H ve İNT keselerinde yapılan bir araştırmada tip I ve tip III kollajen düzeyinde kontrol grubuna göre farklılık olmadığı gösterilmiştir (10). Yine erişkin ve çocuk fitik keselerindeki tip I / tip III kollajen oranı karşılaştırılmış, erişkinlerde bu oran düşük bulunurken çocuklarda fark olmadığı bildirilmiştir (38). Başka bir çalışmada ise laminin ekspresyonunun İNT ve KF keselerinde, tip I kollajenin sadece H keselerinde, tip 4 kollajenin hem KF hem de H keselerinde artış gösterdiği saptanarak, çocukluk çağında görülen değişik kasık problemlerinde farklı doku gerilme kuvvetleri olabileceği ileri sürülmüştür (39)

## GENETİK FAKTÖRLER

Son yıllarda domuzlarda yapılan bir çalışmada 3. kromozomda bulunan  $\beta$ -glukuronidaz geninin potansiyel olarak KF oluşumundan sorumlu olabileceği, aynı genin insanda 7. kromozomda bulunduğu bildirilmiştir (40). Yine domuz ve insanlarda yapılan bir genom tarama çalışmasında 1, 6, 11, 12, 15 ve 19. kromozomlarda bulunan bazı genlerin KF gelişimi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir.

Dış genital organların gelişmesinde önemli bir rol oynayan androjen reseptör (AR) geni X kromozomunda yerleşimlidir. AR geninde 8 ekson bulunmaktadır, 1.ekson yüksek polimorfik glutamin tekrarlayıcı sekansını (CAG) kodlar. İnmemiş testisli çocuklarda inmiş testis kontrol grubuyla karşılaştırmalı yapılan bir araştırmada, tek taraflı İNT ve karşı tarafta kapanmamış PV olan olgularda CAG tekrarlarının daha uzun olduğu saptanmış, böylece daha uzun poliglutamin zincirinin AR'ünün fonksiyonunda azalmaya yol açarak testisin inişinde yavaşlamaya ve PV'in tam kapanamamasına yol açabileceği öne sürülmüştür (41).

## TESTİSİN SKROTUMA İNİŞİNDEN SONRA PV'İN AÇIK KALMASI

Testisin skrotuma inişinden sonra PV'in kapanış mekanizması henüz açıklığa kavuşmamıştır. PV'in testisin inişinden sonra kapanamaması ardışık olarak yapılan çalışmalara dayanılarak başlıca iki teori ile açıklanmaktadır.

### 1. PV üzerine düz kasların etkisi:

Önceleri PV'in basit bir periton uzantısı olduğu düşünülürken, fitik keselerinde yaygın, H keselerinde yama şeklinde, İNT keselerinde az miktarda düz kas bulunduğu, buna karşı pariyetal periton ve kapanmış PV örneklerinde kas hücresi bulunmadığı gösterilmiştir (8). Daha sonra kız fitik keselerinde erkeklerden farklı olarak düz kas yanısıra çizgili kas hücrelerinin de bulunduğu bildirilmiş ve PV'in seksüel olarak dimorfik yapıda olduğu düşünülmüştür (42). Bu çalışmalar sonucunda, PV'in kapanması düz kasın kaybolması

gerektiği, eğer kaybolmazsa bölgedeki düz kas miktarına bağlı olarak KF, H veya İNT oluğuğu öne sürülmüştür.

Fıtık keselerinde düz kas varlığı bildirildikten sonra yapılan bir çalışmada bölgedeki düz kasların matürasyon durumu araştırılmıştır (43). Düz kasın gelişiminde görev alan miyozin ağır zincir (MHC) izoformları SM1 ve SM2, aynı gen tarafından ancak fetal gelişimin farklı zamanlarında üretilir (44). Diğer bir MHC izoformu olan SMemb ise farklı bir gen tarafından yapılır ve kas dışı bölgelerde bulunur, ancak gelişmekte veya bölünmekte olan düz kas hücrelerinde SM1 ile birlikte ortaya çıkar (45). Bahsi geçen çalışmada SMemb izoformunun sadece erkek KF'da, SM1 izoformunun ise sadece H'de görüldüğu saptanmıştır (43). Bu bulgular daha önce öne sürülen kız ve erkek fıtık keselerinin farklı olduğu görüşünü desteklemektedir (42). Ayrıca, erkek fıtığındaki düz kaslar embriyonik safhada kalırken H'dekilerin bir ileri evrede kaldığı, yani PV'deki düz kasın evresine göre farklı kasık bölgesi problemlerinin geliştiği sonucu çıkmaktadır.

Düz kasların PV içinde sebat etmesinin programlı hücre ölümü (PHÖ) ile ilişkisinin olup olmadığı da araştırılmıştır. Testis skrotuma indikten sonra PV'de bulunan düz kasların önce myoblast hücrelerine dönüştüğu, sonra da PHÖ ile bölgeden kaybolduğu ve böylece PV'nin kapandığı gösterilmiştir (46). Bu bulgulardan yola çıkılarak yapılan bir diğer çalışmada fıtık keselerindeki mezotel tabakası ve vasküler yapılarda PHÖ'ne rastlanırken düz kaslarda PHÖ olmadığı saptanmıştır ve bunun sonucunda PV'in kapanamadığı ileri sürülmüştür (47). Diğer taraftan düz kas dokusunun sürekliliği için sempatik tonusun şart olduğu bilinmektedir. Testisin skrotuma inişi gerçekleştikten sonra sempatik tonusun bölgedeki etkisi azalarak parasempatik sistemin baskın hale geçtiği ve PHÖ ile düz kasların kaybolarak PV'in kapandığı, kasık bölgesindeki sempatik tonusun devam etmesinin KF ve H gelişimine zemin hazırladığı yapılan bir çalışmada savunulmuştur (48).

## 2. PV üzerine genitofemoral sinirden (GFS) salgılanan moleküllerin etkisi:

PV'in normal gelişimi için gubernakulumun distalde skrotumla bağlantılı olması gerektiği, bu bölgenin innervasyonunun GFS ile olduğu, distalde yapılan gubernakulotominin PV gelişimini engellediği daha önceden gösterilmiştir (49). GFS seksüel olarak dimorfik yapıdadır ve gelişmekte olan fetal testisten salınan androjenler GFS'i maskülinize ederek gubernakular migrasyonu etkileyen kalsitonin-gen-bağlantılı peptid (KGBP) salınımını sağlar. GFS'den salınan KGBP'in iç mezotelial tabakanın kaynaşmasını sağlayarak PV'in kapanmasına yol açtığı öne sürülmüştür (50). Erkeklerde doğum sonrası 1 ile 3. aylar arasında androjen düzeyinde artış olmasının sebebi GFS'in KGBP salgılayarak PV'in kapanmasının uyarılması olarak açıklanmıştır. Kızlarda ise az miktarda salınan KGBP'in tam gelişmemiş PV'in kapanmasını sağladığı var sayılmıştır. Bu hipotezi desteklemek amacıyla yapılan bir çalışmada fitik keselerindeki mezenkimal doku ve kan damarlarında KGBP içeren sinir lifleri ve reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir (51). Kız ve erkek fitik keselerinden alınan örneklerle yapılan in vitro organ kültürlerinde, KGBP uyarısıyla mezenkimin epitele dönüşerek PV'deki açıklığın kapanmasının gösterilmesi bu hipotezi daha da desteklemektedir (48). Aynı çalışmada, mezenkimin epitele dönüşümü sırasında PHÖ'ünde bir değişiklik olmadığı dikkat çekmiş, ayrıca KGBP analog ve antagonistleri ile dihidrotestosteronun PV'in kapanmasını etkilemediği de saptanmıştır. Bir ileri adım olarak in vitro organ kültürlerinde ortama hepatosit büyüme faktörü (HBF) konularak mezenkimin epitele dönüşmesi ve PV'in kapanması sağlanmış, bu olayın fibroblastlarda bulunan KGBP reseptörleri tarafından indirek yönlendirildiği ortaya çıkarılmıştır (52,53). Hatta, bu bilgiler ışığında, KF'nın günün birinde tıbbi olarak tedavi edilebileceği tartışılmaktadır (54).

### TESTİSLERİN SKROTUMA İNİŞ KURAMLARI\*

Testisin iniş mekanizmasını ve sebeplerini açıklamaya yönelik 200 yılı aşkın bir süredir çok sayıda kuram öne sürülmesine karşın testisin karın boşluğundan skrotuma inişi

ile ilgili tartışmalar halen devam etmektedir (55). Son yıllarda, testisin iniş mekanizmasını açıklamaya yönelik ardışık çalışmalarla oluşturulan üç kuram önem kazanmıştır. Bunlar; Hutson tarafından öne sürülen iki aşamalı GFS kuramı, Tanyel'in geliştirdiği otonom innervasyonda tonus düzensizliği ve Hadziselimovic tarafından bildirilen epididimo-testiküler yapının inişinde morfolojik ve fonksiyonel olarak normal epididim bulunmasının gerekliliği kuramlarıdır (54, 57,58).

## **GENİTOFEMORAL SİNİRİN ETKİSİ**

Hutson, testisin karın boşluğundan skrotuma inişinin farklı anatomik mekanizma ve farklı hormonal kontrolü içeren karın içi ve inguinokrotal olmak üzere iki ardışık fazda gerçekleştiğini öne sürmüştür (59).

### ***Karın içi faz***

Transabdominal fazda gubernakulumun anahtar rolü oynadığı belirtilmektedir (60). Gonadların henüz farklılaşmadığı dönemde, gubernakulumun kısa ve ince bir ligaman şeklinde hem ambiseksüel gonadı hem de Wolffian ve Müllerian kanalları içeren ürogenital kabartıyı inguinal bölgeye bağladığı bildirilmiştir. Ürogenital kabartının kranial ucunda kranial asıcı bağ erkek fetusta gerilerken kız fetusta overi pelvis yada karın boşluğunda yüksek pozisyonda tespit eder.(61). Karın duvarı kasları kasık bölgesinde gubernakulumun mezenkimal distal ucu etrafında gelişerek gelecekteki inguinal kanalı oluşturur. Erkek fetusta gubernakulumun distal ucu hiyaluronik asit depolanması ve mitoz yoluyla genişler, bu olay genişleme reaksiyonu olarak adlandırılmaktadır. Genişleme reaksiyonu embriyo büyüdükçe gubernakulumun uzamasını engeller ve testisin oluşmakta olan inguinal kanala çok yakın kalmasını sağlar. (62). Gubernakulumun genişleme reaksiyonundan, 1990'ların sonunda keşfedilen yeni bir hormon olan insülin-benzeri hormon 3 (İNSB3) ve reseptörü lösün-zengin tekrar-bitişik G protein içeren reseptörün (LGR8/GREAT) sorumlu olduğu bulunmuştur (63). Relaksin benzeri faktör olarak da bilinen İNSB3, fetal testisteki Leydig hücrelerinden

salgılanmaktadır (64). Karın içi fazın anatomik olarak kranial asıcı bağ ve gubernakulumun traksiyon kuvvetlerinin vektörel toplamıyla belirlendiği öne sürülmüş ve androjenin kranial asıcı bağın regresyonunu sağladığı, gubernakulumun genişleme reaksiyonunu da MIS ve androjenin etkileriyle kuvvetlendirilmiş INSB3/LGR8'in oluşturduğu bildirilmiştir (65)

### ***Inguinoskrotal faz***

Heyns tarafından gubernakulumun bu fazın başlangıcında kısa olduğu ve skrotuma ulaşması için aktif migrasyon gerektiği gösterilmiştir (66). Dolaşımdaki androjenler GFS'in dorsal köklerini (L1-L2) uyararak sensoriyel uçlardan KGBP salınmasını sağlar, bu sayede gubernakulumun distal ucu aktif proliferasyonla genişler. Aynı zamanda KGBP tarafından gubernakulum ve kremasterik kasların kasılması sağlanarak testisin PV içinden inişi desteklenir (67). Uzama fazından önce gubernakulumun distal ucunda fibroblast büyüme faktörü (Fgf) ailesinden Fgf10 ve Hoxa10 gen ekspresyonları gösterilmiş ve bu genlerin gubernakulumun aktif proliferasyonundan sorumlu olduğu düşünülmüştür (68,69)

### **OTONOM İNNERVASYONDA TONUS DÜZENSİZLİĞİ**

Bu kurama göre gubernakulum, primitif bir mezenkimal dokudur ve testisin inişinde önemli bir yeri yoktur. Testisin skrotuma inişi, tıpkı özefagustan bir bolusun aşağıya indirilmesi gibi, PV duvarındaki düz ve kremasterik kasların itici hareketleri ile sağlanmaktadır. Androjen etkisiyle erkeklerde sempatik tonus daha baskındır, bu da düz kas dokusunun devamlılığı sağlayarak testisin inişini desteklemektedir. Testisin skrotuma inişinden sonra sempatik tonusta geçici bir azalma olarak parasempatik tonus baskın hale gelir ve daha sonra PHÖ başlayarak düz kaslar kaybolur ve PV kapanır. Eğer testisin inişinden önce bu otonom dengede bir bozukluk olursa İNT gelişir. Bu kuramı araştırmak için İNT'lerden alınan kremasterik kaslar incelenmiş, nörojenik değişikliklerin varlığının ve toplam kalsiyum içeriğinin düşüklüğünün sempatik innervasyon bozukluğunu desteklediği bildirilmiştir (70,71). Ancak Hutson, yenidoğan sıçanlarda yaptığı çalışmalarda gubernakulum

ve kremaster kasındaki kasılmanın sempatik sistemden ziyade GFS'den salgılanan KGBP yoluyla oluştuğunu ve testis inişinde sempatik sistemin önemli bir rol oynamadığını öne sürmüştür (72,73).

### **EPİDİDİM YAPISININ ÖNEMİ**

Gonadotropin salgılayıcı hormon (GnBH) tarafından pituiter bez uyarılarak gonadotropinler salınır. Bu hormonlar ise Leydig hücrelerinden testosteron salınmasını sağlar. Böylece yüksek bölgesel testosteron seviyesiyle mezonefrik kanal epididime diferansiye olur. Epididimin itici gücüyle testisin skrotuma inişi gerçekleşir. Bu kurama göre, embriyonel dönemde bu mekanizmadaki herhangi bir aksaklık İNT oluşumuna yol açmaktadır (74). Hadziselimovic hipotalamo-pituiter-gonadal eksenindeki bozukluğun İT'in temel nedeni olduğunu ve bu bozukluğun %80 olguda saptandığını bildirmiştir (75). İNT'li olguların testis biyopsileri incelendiğinde doğum sonrası birinci aydan başlayarak Leydig hücrelerinde hipoplazi geliştiği, erişkin tipi dark (Ad) spermatogonia sayısının azaldığı saptanmış ve bu durumun gelecekte infertiliteye yol açabileceği ileri sürülmüştür (76,77) Luteinizan hormon salgılayıcı hormon analogu verilerek tedavi edilen İNT'li olguların %20'inde testisin indiği, PV'in kapandığı ve normal bir epididim bulunduğu bildirilmiştir (78,79) Son zamanlarda, İNSB3/LGR8 eksikliği olan farelerde yapılan deneysel bir çalışmada, epididimdeki düz kas yapısında gelişimsel bir bozukluk ve testisin yüksek karın içi pozisyonda saptanmış olması epididimotestiküler birimin inişi için normal epididim yapısı ve fonksiyonunun gerekliliğini desteklediği tarzında yorumlanmıştır (80)

### **AORTİK KAROBOKSİPEPTİDAZ BENZERİ PROTEİN (AKBP)**

İlk olarak Lane ve ark. tarafından 1998 yılında düz kas hücrelerinin gelişimi ve çoğalmasıyla ilgili bir çalışma yapılırken AKBP'nin varlığı saptandı (81). Başlangıçta erişkin sıçan aortundan elde edilen bu proteinin daha sonraki çalışmalarda damarların yanısıra dermis

ve gelişmekte olan iskelette hücre dışı matris (HDM) yapısında da bulunduğu ortaya konuldu (81). Farelerde AKBP'nin tüm cDNA yapısı incelendiğinde, bir adet diskoidin I benzeri domain ve bir adet katalitik olarak inaktif metallokarboksipeptidaz domain içerdiği ve insan DNA yapısıyla % 85 homolog olduğu gösterilmiştir (81,82).

Fare embriyolarında AKBP, koitus sonrası 9.5'uncu günde ilk olarak dorsal aorta ve somitlerden düşük düzeyde salınır. Daha sonra 10.5'uncu günde hem yolk kesesi hem de embriyonik damar yapılarında AKBP aktivitesi görülür. Büyük ve küçük damar yapılarındaki AKBP aktivitesi giderek artarak 16,5'uncu günde oldukça yoğun bir hale ulaşır. Daha sonraki günlerde ek olarak dermis, iskelet, bağ dokusu, göbek halkası gibi mezenşimal hücrelerin bulunduğu yerlerde ve kollajenden zengin tendon, bazal membran gibi diğer dokularda da AKBP aktivitesi gelişir (83). AKBP<sup>-/-</sup> yapılan ya da null mutasyon olan farelerin doğmadan veya doğduktan hemen sonra öldüğu, AKBP eksik olarak doğanlarda ise gastroşizis geliştiği bildirilmiştir (84). AKBP eksikliğine rağmen yaşayabilen farelerde ise dermal fibroblastlarda AKBP yapılamadığı için yara iyileşmesinde bozukluk görölmektedir.

Kısaca, son dönemde saptanan bu yeni protein, esas olarak kemik, kan damarları ve derinin HDM'inde bulunmaktadır ve hem embriyonun gelişiminde hem de erişkin dönemde yara iyileşmesinde önemli bir yere sahiptir. Ancak henüz tüm işlevleri tam olarak aydınlatılamamıştır. Örneğin yağ dokusunda düşük düzeyde de olsa AKBP varlığı gösterilmiş, fakat yağ hücrelerinin gelişimindeki yeri henüz bulunamamıştır (85). AKBP'nin kan damarlarındaki düz kas hücrelerinin gelişimi ve farklanması yolundaki yeri hem in vivo hem de in vitro olarak net bir şekilde gösterilmiştir. Damar yaralanmalarında AKBP aktivitesinin neointimadaki damar düz kas hücresinde arttığı ve iyileşmesine katkıda bulunduğu anlaşılmıştır (86). AKBP'nin düz kas hücreleri üzerine olan etkisi alışılmış yollardan farklı olmaktadır ve halen araştırılmaktadır (82,87). Aynı şekilde AKBP'nin yara

iyileşmesi ve özellikle karın duvarı kapanma defektleri üzerine olan etkileri hakkında hala araştırılması gereken birçok konu vardır.

### WİLMS TÜMÖR 1 GENİ (WT1)

İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan araştırmalar sonucunda WT1'in tümör süpresör görevinden başka fonksiyonlarının da olduğu görülmüştür. WT1'in transkripsiyon sonrası uğradığı değişiklikler sonucu 24 farklı izoformu gelişmekte ve bunlar hücrel fonksiyonların yürütülmesinde oldukça önemlidir (88). Pek çok organın gelişiminde ve devamlılığında WT1'in önemli fonksiyonları vardır. Memeli embriyoları gelişirken başlıca ürogenital sistem, dalak, beyin, spinal kord, mezotelial organlar, diafragma, ekstremiteler, kölom epiteli, epikardium ve subepikardial mezenşimde WT1 aktivitesi görülür (89). WT1 geni bloke edildiğinde gonad ve böbreklerin gelişmediği, ciddi kalp, akciğer, dalak, adrenal ve mezotelial anormallikler oluştuğu saptanmıştır (89). Son dönemde WT1'in sinir sisteminin gelişiminde de önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir (Wagner 02b). WT1'in -/- olduğu durumlarda gonad, böbrek, dalak ve retinada PHÖ belirgin bir şekilde artmaktadır (90)

Gonadlarda daha cinsiyete göre farklanma oluşmadan çok önce WT1 aktivitesi başlar. Bu aşamada, WT1'in bazı izoformları bcl-2 üzerinden PHÖ'nü engelleyerek gonadın sürekliliğini sağlar (91). İlerleyen dönemde ise diğer izoformları devreye girerek Sry, Sox9 ve MİS genleri üzerinden gonadın erkek yönünde gelişimini uyarırlar (92,93). Gonad farklanması tamamlandıktan sonra ise sertoli ve granüloza hücrelerinde aktivitesi devam eden WT1, testis ve overlerin hücrel fonksiyonlarına ömür boyu katkıda bulunur. Aynı şekilde böbrek fonksiyonlarının da hayat boyu normal şekilde devam etmesinde WT1'in önemli bir yeri vardır. Bu gende sonradan olan mutasyonlarda hem insanlarda hem de farelerde böbrek fonksiyonlarının bozulduğu gösterilmiştir (94,95).

WT1, ürogenital kabartıda gonad yanısıra mezonefrik sistemin değişiminde de aktif rol alır. Mezonefrik sistemin kranial kısmı Wolffian kanallarını oluştururken kaudal kısmı

metanefrik sisteme katılarak nefronların oluşumunda yer alır. WT1'in mezonefrik sistemin kaudal bölgesindeki mezenşim dokuya etki ettiği gösterilmiştir (96). Mezenşim dokusundan glial kökenli nörotrofik faktör (GDNF) ve HBF'nin salınımını sağlayarak PHÖ'nü engeller ve üreter tomurcuğunun gelişmesine yardımcı olur, böylece epitel-mezenşim dönüşümüne katkıda bulunur.

Sonuçta, WT1, değişik izoformları sayesinde tahmin edilenden çok daha fazla fonksiyonu olan, birçok organın gelişiminde ve devamlılığında önemli roller üstlenen, bu nedenle üzerinde yapılacak pek çok çalışmayı hak eden bir gendir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İnsan Etik Kurulu onayı alınarak Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı Polikliniğine Mart - Eylül 2008 tarihleri arasında KF, H ve İNT nedeniyle başvuran, başka ek sağlık problemi olmayan çocuklar bu çalışmaya dahil edildi. Çalışma grupları kız KF, erkek KF, H ve İNT olarak oluşturuldu. Kontrol grubu için aynı dönemde kliniğimizde over kisti, kolelitiazis, mekel divertikülü, kolostomi, invajinasyon ve progresif familial intrahepatik kolestaz nedeniyle ameliyat edilen toplam altı hastadan alınan periton örnekleri kullanıldı. Ameliyat sırasında alınan kese ve periton örnekleri önce serum fizyolojik ile yıkandı, sonra düzgün bir şekilde açılarak mantar tabakaları üzerine dört tarafından tutturularak %10 formaldehid içerisinde saklandı. Nüks KF, H ve İNT olguları çalışmaya dahil edilmedi, çift taraflı olgularda ise sadece tek taraftaki kese örneği alındı.

Toplanan örnekler Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda, aynı kişi tarafından kör olarak değerlendirildi.

### ***İmmünohistokimya Çalışması:***

Alınan doku örnekleri, oda ısısında, %10' luk formaldehid solusyonu içerisinde 72 saat saklandıktan sonra dokular alışımlı ışık mikroskop takip yönteminden geçirilerek parafin bloklar elde edildi. Hazırlanan bloklardan mikrotomla (Leica SM 2000, Germany) polizimli lamlara 4 - 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Parafinden arındırılması için kesitler bir gece 37 °C ve ertesi gün 1 saat 60 °C olacak şekilde etüvde bekletilerek 15' x 2 kere ksilol'e maruz bırakıldılar. Dokular, dehidratasyon amacıyla 10'ar dakika olacak şekilde sırasıyla % 100, % 96 ve % 80'lik alkol serilerinden geçirildi.

Dehidrate edilen dokular alkolden arındırılmak için 5' x 2 kez distile sudan geçirildikten sonra, pap pen (Super PAP Pen, PN IM3580, Becman Coulter Company, France) ile kesit üzerindeki dokuların etrafı çizildi. Daha sonra, 15 dakika % 3' lük hidrojen peroksit maruz bırakılan dokularda endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. İşlem

sonrasında PBS (Phosphate buffer saline, pH=7,49) (Invitrogen Immunodetection, Ref/Cat No: 00-3000, Lot: 1373125, Zymed, USA) ile camlar yıkandı.

Yıkanan camlara 5 dakika Ultra V block (Ref/Cat No: 85-9043, Lot: 457501A Zymed, USA9) uygulanarak özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bu işlemden sonra dokular yıkanmadan primer antikör aşamasına geçildi. Bu amaçla kesitlere AKBP (E-13) primer antikoru (Lot: H1908, Santa Cruz), WT1 (C-16) Ab4 (Lot: H2608, Santa Cruz) damlatılarak 60 dakika oda ısısında bekletildi. Daha sonra PBS ile yıkanan camlara 20 dakika biyotinli sekonder antikör (Ref/Cat No: 85-9043, Lot: 457501A, Zymed, USA) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. PBS ile yıkanan camlar 20 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Ref/ Cat No: 85-9043, Lot: 457501A, Zymed, USA) maruz bırakıldı, böylece camlarda enzimin biyotine bağlanması sağlandı. Son olarak ortama kromojen AEC (3 – amino – 9 – ethylcarbazde) (Cat: 00 – 2007, Lot: 319293A, Zymed, USA ) eklenerek yaklaşık 10 dakika bekletildi ve gözle görülebilir ürünün ortaya çıkması sağlandı.

Zemin boyası olarak Mayer'in Hemotoksilen'i (0B52Y092, Merck) kullanıldı. Negatif boyama primer antikör aşamasında yapıldı. Bu şekilde boyanan camlar ultra-mount (VM 13518, Lab Vision Corporation, San Francisco, CA, USA) ile kapatılıp, bilgisayar donanımlı, kamera ataçmanlı foto-ışık mikroskopta (DM 4000 B, Leica, Weetlar, Germany, DFC280 Plus Camera, Leica, Weetlar, Germany) fotoğraflanarak değerlendirildi.

### ***Örneklerin Değerlendirilmesi;***

Işık mikroskobunda X 100 ve X 400 büyütme ile damar çevresi, epitel altı ve HDM bölgelerinde AKBP ve WT1 tutulumu olup olmadığı değerlendirildi. Belli belirsiz tutulum 1., zayıf tutulum 2., orta tutulum 3., kuvvetli tutulum 4. ve çok kuvvetli tutulum 5. derece olarak kabul edildi. Ayrıca, değerlendirmede tutulumun bölgesel veya yaygın dağılım gösterip göstermediğine de dikkat edildi.

**İstatistiksel değerlendirme:**

İstatistik çalışması için SPSS 11 programı kullanıldı. Gruplar arası farklılığın olup olmadığı  $X^2$  Testi ile değerlendirildi. P değerinin hesaplanmasında iki yönlü Pearson Testi kullanıldı.  $P < .05$  olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

**BULGULAR**

Çalışmaya dahil edilen çocukların yaşları Tablo 3'te gösterilmiştir.

GRUP	YAŞ (ay)						Ortalama
<b>K</b>	168 ay	84 ay	72 ay	2 gün	12 ay	9 ay	57,5 ay
<b>H</b>	20 ay	40 ay	48 ay	24 ay	36 ay	42 ay	35 ay
<b>Kız KF</b>	2 ay	24ay	60 ay	120 ay	84 ay	50 ay	56.6 ay
<b>İNT</b>	24 ay	30 ay	45 ay	48 ay	60 ay	28ay	39 ay
<b>Erkek KF</b>	4 ay	36 ay	55 ay	72 ay	1 ay	100 ay	48 ay

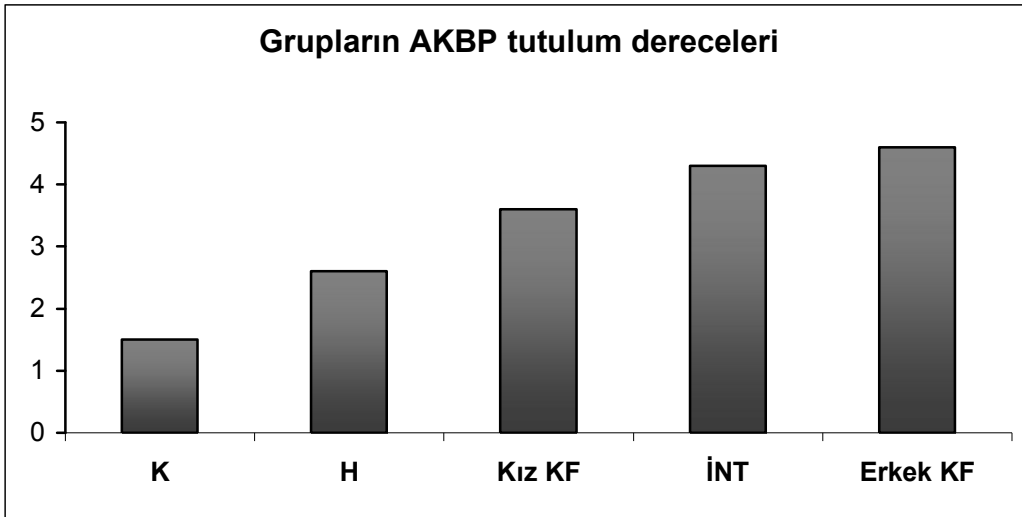
**AKBP:**

Tablo 4'de grupların AKBP sonuçları yer almaktadır. Kontrol grubundaki periton örneklerindeki AKBP immün reaksiyonu damar duvarı ve epitel dokusunda izlenmedi, sadece HDM'de bölgesel tutulum vardı (Resim1). Kontrol grubundaki AKBP reaksiyonu diğer gruplara göre anlamlı derecede düşük bulundu ( $ort= 1,5, p < .05$ ) (Grafik 1).

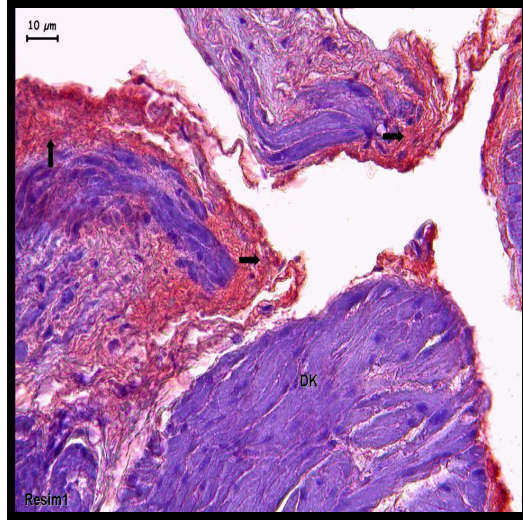
Hidrosel keselerinde HDM'de orta dereceli, epitel ve damar düz kaslarında ise zayıf immün reaksiyon izlendi (Resim 2). Ancak bu tutulum kontrol grubuna göre daha yüksekti ( $ort= 2,6, p = .027$ ).

GRUP	TUTULUM DERECEŚİ					
	K	2	1	1	2	1
H	3	3	2	3	3	2
Kız KF	4	3	4	4	3	4
İNT	4	5	4	4	5	4
Erkek KF	5	4	4	5	5	5

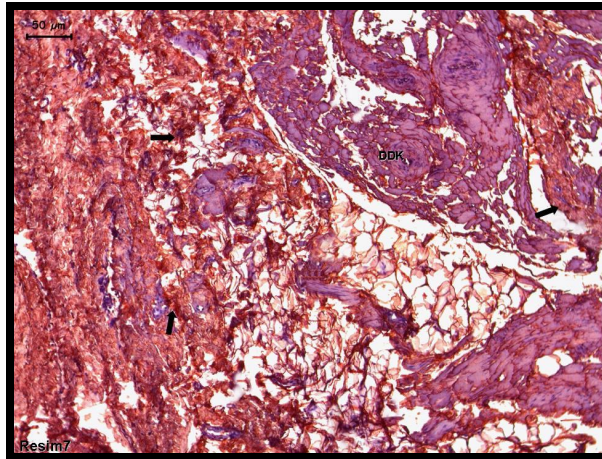
**Tablo 4. AKBP sonuçları (K: kontrol, 1: belli belirsiz, 2: hafif, 3: orta, 4: kuvvetli, 5: çok kuvvetli tutulum)**



**Grafik 1. Grupların AKBP değerlerinin karşılaştırılması (K: kontrol)**

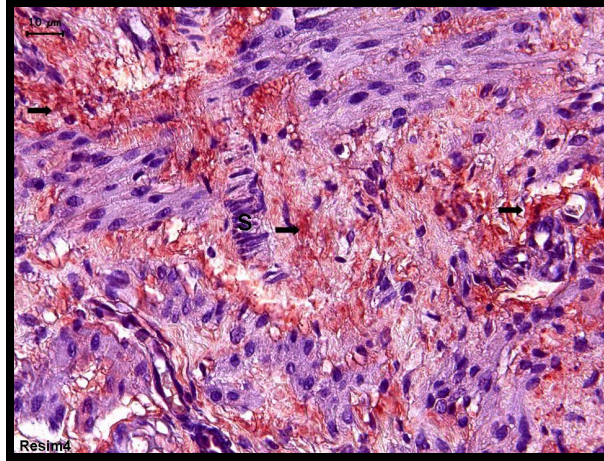


**Resim 1:** Kontrol grubuna ait bir örnekte HDM’de AKBP immün reaksiyonu (→) görülüyor. Tutulum olmayan bölgelerdeki düz kas hücrelerinin normal yapıda ve düzende oldukları izleniyor (İmmün peroksidaz & Hematoksilen X 400).



**Resim 2:** Hidrosel grubuna ait örnekte HDM’de orta dereceli AKBP immün reaksiyon (→) görülüyor. Epitel ve damar duvarı düz kas hücrelerinde zayıf tutulum izleniyor. (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X 100)

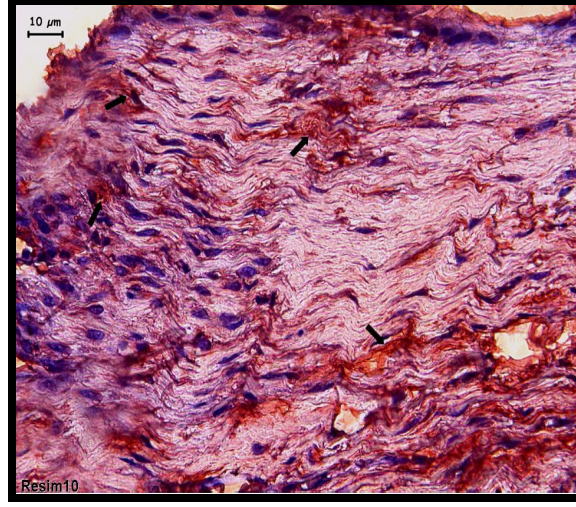
Kız KF keselerinde esas olarak HDM'de ve yer yer epitelde, bölgesel ve genelde orta dereceli bir immün reaksiyon olduğu, damar duvarında çoğunlukla tutulum izlenmediği dikkat çekti ( $ort= 3,6$ ) (Resim 3). Bu tutulum derecesi H grubundan istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ( $p=.036$ ). Ancak İNT grubuyla aralarında istatistiksel olarak fark yoktu ( $p=.135$ ).



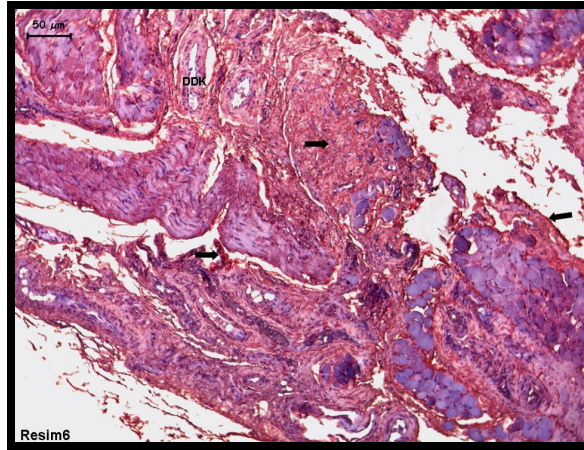
**Resim 3:** Kız KF kesesine ait örnekte HDM'deki orta dereceli AKBP immün reaksiyonu (→) görülüyor. Düz kas hücrelerinde ise tutulum izlenmiyor (İmmün peroksidaz & Hematoksilen X 400).

İNT grubunda incelenen PV örneklerinde HDM'deki aktivitenin çok kuvvetli ve yaygın, düz kaslardaki aktivitenin ise orta dereceli ve bölgesel olduğu saptandı (Resim 4). Kız KF ve erkek KF gruplarıyla İNT grubu arasında istatistiksel fark bulunmadı ( $ort=3,6$ , sırasıyla  $p= .135$  ve  $p= .248$ ), H grubuyla ise anlamlı fark vardı ( $p= .007$ ).

Erkek KF kesesine ait örneklerdeki AKBP aktivitesi hem HDM hem de damar düz kas ve epitel hücrelerinde oldukça kuvvetli ve yaygın olarak izlendi (Resim 5). Bu grupta saptanan tutulum derecesi kız KF grubundan anlamlı olarak farklı bulundu ( $ort=4,6$ ,  $p= .036$ ).



**Resim 4:** İNT grubuna ait örnekte HDM’de kuvvetli AKBP immün reaksiyonu (→) görülüyor (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X 400).



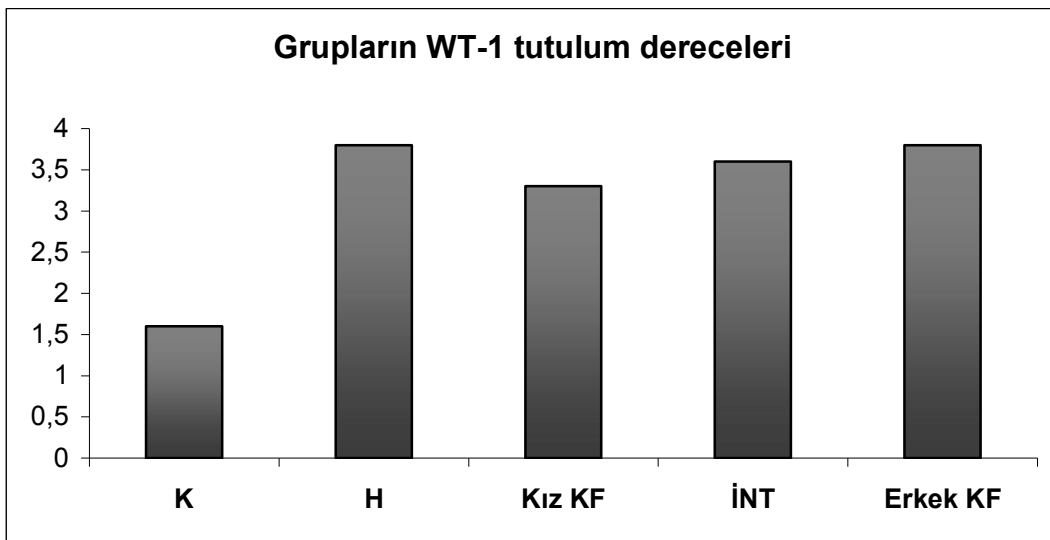
**Resim 6:** Erkek KF kesesine ait örnekte HDM, epitel ve damar düz kas hücrelerinde kuvvetli AKBP immün reaksiyonu (→) görülüyor (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X 100).

**WT1:**

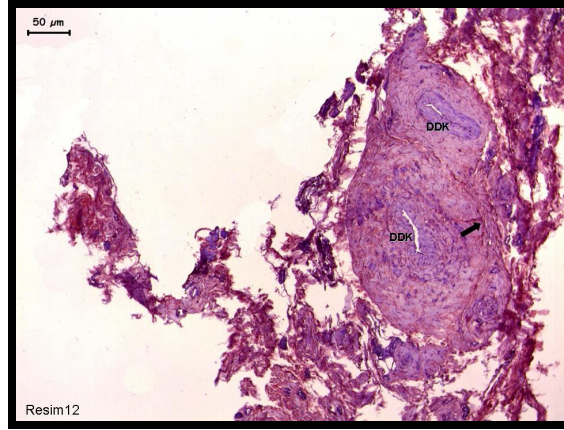
Tablo 5'te WT1 bulguları yer almaktadır. Kontrol grubundaki periton örneklerindeki WT1 immün reaksiyonu damar duvarı ve epitel dokusunda izlenmedi, sadece HDM'de bölgesel tutulum vardı (Resim6). Kontrol grubundaki WT1 reaksiyonu diğer gruplara göre anlamlı derecede düşük bulundu ( $ort= 1,6, p < .05$ ) (Grafik 2).

GRUP	TUTULUM DERECELERİ					
<b>K</b>	2	2	1	2	1	2
<b>H</b>	4	3	4	4	4	4
<b>Kız KF</b>	3	3	4	4	3	3
<b>İNT</b>	4	3	3	4	5	3
<b>Erkek KF</b>	4	4	4	3	5	3

**Tablo 4. WT1 sonuçları (K: kontrol, 1: belli belirsiz, 2: hafif, 3: orta, 4: kuvvetli, 5: çok kuvvetli tutulum)**

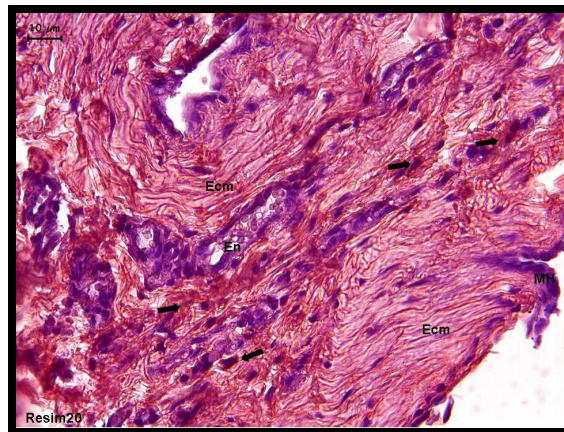


**Grafik 2. Grupların WT1 değerlerinin karşılaştırılması (K: kontrol)**



**Resim 6:** Kontrol grubuna ait örnekte HDM’de bölgesel WT1 immün reaksiyonu (→) görülüyor. Bu gruba ait damar düz kas ve epitel hücrelerinde aktivite tutulumunun olmadığı izleniyor (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X 100).

Diğer gruplar arasında hem aktivite tutulumu hem de dağılımı açısından istatistiksel bir fark bulunamadı (*H, kız KF, İNT ve erkek KF gruplarının ortalamaları sırasıyla 3.8, 3.3, 3.6 ve 3.8,  $p > .05$* ). Tüm çalışma gruplarına ait örneklerde ortak olarak WT1 aktivite tutulumunun en fazla HDM’de olduğu, epitel ve damar düz kaslarında ise zayıf bir tutulum gözlemlendiği dikkat çekti (Resim 7).



**Resim 7:** İNT grubuna ait örnekte HDM’de kuvvetli WT1 immün reaksiyonu (→) görülüyor. Diğer bölgelerde ise aktivite tutulumu izlenmiyor (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X400).

## TARTIŞMA

Çocukluk çağında kasık bölgesi problemlerinin oluşum mekanizmalarını araştıran birçok çalışma yayınlanmıştır. Pek çok farklı etyolojik neden ileri sürülse de sonuçta ortak varılan nokta; artık buradaki periton açıklığının basit bir olay olmadığı ve bu olayların cinsiyete göre değişebildiğidir. Bu çalışmada ilk kez AKBP ve WT1'in kasık bölgesindeki etkileri araştırılmıştır.

AKBP aktivitesinin karın duvarı kapanma defektlerinde düşük olduğu bildirilmesine karşın (Layne 01) biz tüm çalışma gruplarında kontrol grubuna göre aktivitesini yüksek bulduk. Bu durumda AKBP'nin salınımında primer bir problem olmadığı, aksine peritonun açık kalmasının bu proteinin yapımını artırdığı düşünülebilir. Gruplar arasında AKBP tutulum derecesinin farklı bulunması İNT, H, kız ve erkek KF'nin farklı mekanizmalarla oluşumunu desteklemektedir. Ancak peritondaki açıklık ile AKBP yüksekliği arasında bir birliktelik yoktur. Periton açıklığının en az olduğu İNT grubu ile açıklığın en geniş olduğu erkek KF grubunda AKBP aktivitesi en yüksek olarak saptanması bunu desteklemektedir. Nicelik olarak benzer bulunmasına rağmen AKBP aktivitesinin dokuların farklı bölgelerinde yoğunlaştığı dikkat çekmiştir. Örneğin İNT grubunda HDM'deki tutulum ön planda iken erkek KF grubunda hem HDM hem de damar düz kas hücrelerinde aşırı AKBP aktivitesi görülmüştür. Benzer şekilde kız ve erkek KF gruplarında hem nicelik hem de AKBP'in yoğunlaştığı bölgeler arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p < .05$ ). Buna göre, kız fitik keselerinin hemen tamamında HDM'de tutulum izlenmiştir.

Daha önce kasık bölgesinde açık kalan peritonda, normalde kaybolması gereken düz kas hücrelerinin devam ettiği bildirilmiş, peritondaki açıklıkla orantılı şekilde bölgedeki düz kasların farklandığı belirtilmiştir (Tanyel 99). Başka bir çalışmada ise bahsi geçen düz kasların farklı kasık problemlerinde farklı olgunlaşma tipine sahip olduğu vurgulanmıştır

Hoşgör 04). Ancak, biz, yaptığımız çalışmada önceki çalışmalarda bildirilen sonuçları elde edemedik. Bu nedenle, bölgedeki düz kas miktarı ve olgunlaşma tipinden ziyade, düz kas hücrelerinin gösterdiği aktivitenin AKBP'in tutulum derecesini belirlemiş olabileceğini düşündük. Ayrıca, İNT, H ve fitik keselerindeki kollajen yapısında artış olduğu (Oğuzkurt 07) ve AKBP'nin de kollajenden zengin dokularda bulunduğu hatırlanacak olursa; vücut, kasık bölgesindeki periton açıklığını kapanmamış bir yara olarak algılayarak AKBP salınımını uyarılmış olabilir.

Kontrol grubuna göre çalışma gruplarında aktivitesinin yüksek bulunması WT1'in periton açıklığıyla ilişkisi olduğunu, en azından bölgedeki olaylardan etkilendiğini göstermektedir. Ancak bu etkilenme çalışma grupları arasında farklı değildir. Tüm gruplarda WT1 tutulumunun en fazla HDM'de görülmesi büyük bir ihtimalle esas olarak mezenşim dokusunu etkilemesinden kaynaklanmaktadır. WT1, mezonefrik sistemdeki mezenşimden GDNF ve HBF salınımını artırarak PHÖ'nü engelleyici ve epitel-mezenşim dönüşümünü sağlayıcı etkisini kasık bölgesinde de yapıyor olabilir. HBF'nin dışarıdan verildiğinde epitel-mezenşim dönüşümünü uyararak PV'i kapattığı artık bilinmektedir (Cook 00). Kasık bölgesinde yeterince HBF yapılamaması WT1'in aşırı uyarılması ve birikmesine yol açmış, böylece epitel-mezenşim dönüşümü gerçekleşmemiş ve damar düz kas hücrelerinin PHÖ engellenmiş olabilir. Yani, sadece KGBP değil WT1'in de PV'in kapanmasında rolü olduğu düşünülebilir. Ayrıca, WT1'in kasık bölgesindeki bu etkileri sadece erkek çocuklarında değil, kız çocuklarında da gerçekleşmektedir.

Kasık bölgesinde sadece anatominin değil, burada gelişen olaylar zincirinin de oldukça karışık olduğu görülmektedir. Bu çalışmada, İNT, H, kız ve erkek KF problemlerinde AKBP ve WT1'in de yeri olduğu ilk kez ortaya konulmuştur. Ancak kasık bölgesinde peritonun kapanamamasında bu genlerin etkilerinin hangi yolla olduğu tam olarak anlaşılamamıştır. WT1, birçok izoformu ve vücutta çok değişik fonksiyonlara sahip olması

nedeniyle, kasık bölgesindeki etkisi için daha ileri araştırmaları hak etmektedir. AKBP'nin ise kasık bölgesi dışında göbek fitiğı, umbilikal kord hernisi, gastroşizis, omfalosel, ekstrofia vezika, kloakal ekstrofi gibi karnın diğer kapanma problemlerinde araştırılması çocuk cerrahisinde yeni ufuklar açabilir.

## SONUÇ

Bu çalışmada AKBP ve WT1'in kasık bölgesindeki etkileri araştırılmıştır. Buna göre:

- Kontrol grubuna göre tüm çalışma gruplarında AKBP ve WT1 tutulumu istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p < .05$ ).
- AKBP aktivitesinin doku içerisindeki tutulumu farklı bölgelerde izlendi. Kız KF ve H gruplarında daha çok epitel ve HDM'de orta derecede aktivite hakim iken; İNT grubunda en fazla HDM'de, damar duvarlarında orta derecede, erkek KF grubunda ise damar duvarı, HDM ve epitelde oldukça kuvvetli şekilde AKBP immün reaksiyonu görüldü.
- Çalışma gruplarında sırasıyla genel AKBP tutulumu en fazla erkek KF ve İNT, sonra kız KF ve en az H grubunda izlenmiştir ( $p < .05$ ).
- Kasık bölgesindeki periton açıklığı ile AKBP miktarı arasında bir ilişki saptanmadı.
- AKBP'deki artışın daha çok kasık bölgesindeki periton açıklığına sekonder olduğu düşünüldü.
- Çalışma grupları arasında hem aktivite tutulumu hem de dağılımı açısından istatistiksel bir fark bulunamadı (*H, kız KF, İNT ve erkek KF gruplarının ortalamaları sırasıyla 3.8, 3.3, 3.6 ve 3.8,  $p > .05$* ).
- Tüm çalışma gruplarına ait örneklerde ortak olarak WT1 aktivite tutulumunun en fazla HDM'de olduğu, epitel ve damar düz kaslarında ise zayıf bir tutulum gözlemlendiği dikkat çekti.
- WT1'in, PV bölgesinde epitel-mezenşim dönüşümünü etkileyen mekanizmalar içerisinde rol alabileceği düşünüldü.

## ÖZET

Çocukluk çağında kasık bölgesinin fitik, hidrosel (H) ve inmemiş testis (İNT) gibi cerrahi problemleri sık görülmektedir ve hala nasıl oluştukları bilinmemektedir. Son yıllarda bu konuyu açıklamaya yönelik ülkemizden ve yurt dışından birçok çalışma yayınlanmaktadır. Bu çalışmada kız ve erkek kasık fitiği (KF), H ve İNT keselerinde aortic carboxypeptidase-like protein (AKBP) ve Wilms Tümör 1 (WT1) aktivitesi araştırılmıştır.

Etik kurul onayını takiben ameliyat sırasında alınan kız ve erkek KF, H ve İNT keseleri serum fizyolojik ile yıkanarak %10 formaldehid içerisinde saklandı. Kontrol grubu için laparotomi sırasında alınan periton örnekleri kullanıldı. Her gruptaki altışar örneğe immün histokimya boyaması yapılarak kan damarlarındaki düz kasta, hücre dışı matriste (HDM) ve epitelde AKBP ve WT1 tutulumu 1'den 5'e kadar sırasıyla belli belirsiz, hafif, orta, kuvvetli ve çok kuvvetli olacak şekilde derecelendirildi. Ayrıca tutulumun bölgesel ya da yaygın olup olmadığı değerlendirildi. Sonuçlar  $X^2$  testi ile karşılaştırıldı,  $p < .05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Kontrol grubuna göre tüm çalışma gruplarında AKBP ve WT1 tutulumu istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. AKBP aktivite artışı diğerlerine göre en fazla erkek KF ve İNT, sonra sırasıyla kız KF ve H örneklerinde saptandı ( $p < .05$ ). WT1 için ise, yüksek bulunmasına rağmen gruplar arasında fark yoktu.

AKBP'deki artışın daha çok kasık bölgesindeki periton açıklığına sekonder olduğu, WT1'in ise epitel-mezenşim dönüşümünde rol oynayarak etki yaptığı düşünüldü. Bu çalışmada ilk kez kasık bölgesinde AKBP ve WT1 etkisi gösterilmiştir. Bu etkilerin gelecekte daha ileri çalışmalarla araştırılması uygun olacaktır.

## SUMMARY

Surgical problems of inguinal region such as hernia, hydrocele and undescended testis are seen frequently and its etiology is still obscure. Recently innumerable studies have been conducted both in our country and abroad in order to explain this etiology. In this study we investigated ACLP and WT1 activities in the sacs of inguinal hernia, hydrocele and undescended testis.

After the approval of the local ethical committee, the samples, obtained from the patients who were operated for inguinal hernia, hydrocele and undescended testis, were stored in 10 % formalin solution after rinsed with saline. The samples of the peritoneum, obtained from the other abdominal operations, were served as the controls. Immunohistochemical staining for vascular smooth muscle, extracellular matrix and epithelium was performed on 6 specimens in each groups. The degree of positive staining for ACLP and WT1 was evaluated by semiquantitative scoring on a scale of 1 to 5 such as inconspicuous(1), mild(2), moderate(3), strong(4), very strong(5) and for the distribution focal, diffuse. The results of the immunohistochemical scores were assessed by  $\chi^2$  test. The probability level of .05 or less was chosen to represent statistical significance

The degree of the ACLP and WT1 expression in all study groups were found to be statistically significant when the results were compared with the control group. The result of AKBP expression was most significantly increased in male inguinal hernia and undescended testis groups. This result of male inguinal hernia and undescended testis were succeeded by the result of ACLP expression in female inguinal hernia and hydrocele ( $p < .05$ ). Even though the result of WT1 expression was found to be statistically significant between the study and control groups, no significant difference was found between the study groups.

The increase in ACLP expression was thought to be secondary to the failure of the obliteration of the processus vaginalis. The increased WT1 expression which thought to have

pivotal role in epithelium – mesenchyme transformation was believed to occur due to the failure of this transformation in inguinal pathologies. We believe that further studies in this subject would shed more light on the etiology of the inguinal pathologies in children.

## KAYNAKLAR

1. Weber TR, Tracy TF, Jr: Groin hernias and hydroceles, in Ashcraft KW, Holder TM (eds): Pediatric Surgery. Philadelphia, PA, Saunders, 1993, pp 562-570
2. Heyns CF, Hutson JM: Historical review of theories on testicular descent. J Urol 153:754-767, 1995
3. Raffensperger JG: Inguinal Hernia. In Raffensperger JG (eds): Swenson's Pediatric Surgery, Fifth edition, Connecticut, Appleton & Lange, 1990, pp.121-134
4. Rickwood AMK: The male genital tract. In Lister J and Irving IM (eds): Neonatal Surgery, Third Edition, London, Butterworth & Co Ltd, 1990, pp.702-708
5. Tanyel FC, Öcal T, Büyükpamukçu N. Excessive sac pressures: the pathogenesis and innocence of hydroceles in children. BJU Int 87:172-75, 2001
6. Ein SH, Njere I, Ein A. Six thousand three hundred sixty-one pediatric inguinal hernias: a 35 year review. J Pediatr Surg 41: 980-86. 2006
7. Abci I, Bilgi S, Atlan A: Role of TIMP-2 in Transversalis on Development of Inguinal Hernias. Journal of Investigative Surgery, 18:123-128, 2005
8. Tanyel FC, Dağdeviren A, Müftüoğlu S, Gürsoy MH, Yürüker S, Büyükpamukçu NÇ: Inguinal hernia revisited through comparative evaluation of peritoneum processus vaginalis, and sacs obtained from children with hernia, hydrocele and undescended testis. Journal of Pediatric Surgery 34,: 552-555, 1999
9. Cook BJ, Hasthorpe S, Hutson JM: Fusion of Childhood Inguinal Hernia Induced by HGF and CGRP Via an Epithelial Transition. Journal of Pediatric Surgery 35: 77-81, 2000

10. Hoşgör M, Karaca İ, Özer E, Erdağ G, Süzek D, Ululuş Ç, Özdamar A: Do alterations in collagen synthesis play an etiologic role in childhood inguinoscrotal pathologies: An immunohistochemical study. *J Pediatr Surg* 39:1024-1029, 2004
11. Oğuzkurt P, Kayaselçuk F, Tuncer I, Alkan M, Hiçsönmez A: Evaluation of Extracellular Matrix Protein Composition in Sacs Associated with Undescended Testis, Hydrocele, Inguinal Hernia, and Peritoneum. *UROLOGY* 70: 346-350, 2007
12. Tanyel FC, Talim B, Kale G, Büyük pamukçu N: Differences in the morphology of the processus vaginalis with sex and underlying disease condition. *Pathol Res Pract* 196: 767-770, 2000
13. Layne MD, Endege W O, Jain MK, Yet SF, Hsieh CM et al: Aortic carboxypeptidase-like protein, a novel protein with disoidin and carboxypeptidase-like domains, is up-regulated during vascular smooth muscle cell differentiation. *J. Biol. Chem* 273: 15654-15660, 1998
14. Layne MD, Yet SF, Maemura K, Hsieh CM, Bernfield M, Perrella MA, Lee MU-EN: Impaired Abdominal Wall Development AND Deficient Wound Healing in Mice Lacking Aortic Carboxypeptidase-Like Protein. *Mol Cell Biol.* 2001, 21: 5256-5261
15. Wagner KD, Wagner N, Scheld A: The complex life of WT1. *Journal of Cell Science* 116, 1653-168, 2003 The Company of Biologists Ltd
16. Skandalakis Cerrahi Anatomi Modern Cerrahinin Embriyolojik ve Anatomik Temelleri : Karın Duvarı ve Fıtıkları. Birinci Baskı Başaklar AC (ed, Türkçe çeviri). Palme Yayıncılık 2008, S: 394-391
17. Sadler T.W, Urogenital Sistem: Langman's Medikal Embriyoloji. Altıncı. Baskı. Başaklar AC (ed, Türkçe çeviri). Palme Yayıncılık, 1993, S: 246-282
18. Raffensperger JG : Inguinal Hernia. In Raffensperger JG (eds): Swenson's Pediatric Surgery, Fifth Edition, Connecticut, Appleton & Lange, 1990 pp. 121-134

19. Rajjput A, Gauderer MWL, Hack M: Inguinal hernias in very low birth weights infants: Incidence and timing of repair. *J Pediatr Surg* 27:1322, 1992
20. Czeizel A, Gordonyi J: A family study of konjenital inguinal hernia. *Am J Med Genet* 4:247-248. 1979
21. Tam PKH: Inguinal Hernia. In Lister J and Irving IM (eds): *Neonatal Surgery*, Third Edition, London, Butterworth & Co Ltd, 1, pp.367-375, 1990
22. Başaklar AC: İnguinal Herni, Hidrosel ve Kordon Kisti: Bebek ve Çocukların Ürolojik ve Cerrahi Hastalıkları 1. Baskı Başaklar AC (ed) Palme Yayıncılık . Ankara 2006, S:1695-1717
23. Skoog SJ, Conlin MJ: Pediatric hernias and hydroceles. *Urol Clin North Am* 22:119, 1995
24. Wallen EM, Shortlife LMD: Undescended testis and testicular tumors. In Ashcraft KW et al (eds): *Pediatric Surgery*. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2000, pp.6663-6673
25. Baker LA, Silver RI, Docimo SG: Cryptorchidism. In Gearhart JP, Rink RC, Mouriquand PDE (eds): *Pediatric Urology*, WB Saunders Company, Philadelphia, , pp.738-753, 2001
26. Elder JS: Cryptorchidism: Isolated and associated with other genitouriner defects. *Pediatr Clin N Am* 34(4): 1033-1050, 1987.
27. Kogan SJ: Fertility in cryptorchidism: An overview in 1987. *Eur J Pediatr* 146 (Suppl 1): S521, 1987
28. Ellis DG: Undescended testis: Cryptorchidism. In Ashcraft KW (ed): *Pediatric Urology*, WB Saunders Company, Philadelphia, 1990, PP. 415-427

29. Huff DS, Haziselimovic F, Snyder HMD: Histologic maldevelopment of unilaterally cryptorchid testes and their descended partners. *Eur J Pediatr* 152 (Suppl 2): S10-11, 1993.
30. Modi KB, Grant AC, Garret A, Rodger RS. Indirect inguinal hernia in CAPD patients with polycystic kidney disease. *Adv Perit Dial* 5:84-6., 1989
31. Zhou TC, Yang B, Zhang YC, Zhang L, Chen S. Study on intra-abdominal pressure in indirect inguinal hernia patients. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*;45:1455-57, 2007
32. Clarnette TD, Lam SLK, Hutson JM. Ventriculo-peritoneal shunts in children reveal the natural history of closure of the processus vaginalis. *J Pediatr Surg*;33:413-16. 1998
33. Çelik A, Ergün O, Arda SM, Yurtseven T, Erşahin Y, Balik E. The incidence of inguinal complications after ventriculoperitoneal shunt for hydrocephalus. *Childs Nerv Syst*;21:44-7. 2005
34. Read RC. Attenuation of the rectus sheath in inguinal herniation. *Am J Surg* 120:610-614, 1970
35. Szczesny W, Cerkaska K, Tretyn A, Dabrowiecki S. Etiology of inguinal hernia: ultrastructure of rectus sheath revisited. *Hernia*;10:266-71. 2006
36. White HJ, Sun CN, Read RC. Inguinal hernia: A true collagen disease. *Lab Invest*;36:359. 1977
37. Rosch R, Klinge U, Si Z, Junge K, Klosterhalfen B, Schumpelick V. A role for the collagen I/III and MMP-I/13 genes in primary inguinal hernia? *BMC Medical Genetics*;3:1-6. 2002
38. Taniguchi S, Ueda K, Inoue T, Li TS, Kuga T, Hamano K. Impact of collagen subtype proportions in peritoneal tissues on inguinal hernia formation in adults and infants. *Ped Surgery Int*;22:600-4., 2006

39. Oğuzkurt P, Kayaselçuk F, Tuncer I, Alkan M, Hiçsönmez A. Evaluation of extracellular matrix protein composition in sacs associated with undescended testis, hydrocele, inguinal hernia, and peritoneum. *Urology*;70:346-50., 2007
40. Beck J, Bornemann-Kolatzki K, Knorr C, Taeubert H, Brenig B. Molecular characterization and exclusion of porcine GUSB as a candidate gene for congenital hernia inguinalis/scrotalis. *BMC Veterinary Research* 2006;2:1-9.
41. Silva-Ramos M, Oliveira JM, Cabeda JM, Reis A, Soares J, Pimenta A. The CAG repeat within the androgen receptor gene and its relationship to cryptorchidism. *Int Braz J Urol*;32:330-., 2006
42. Tanyel FC, Talim B, Kale G, Büyükpamukçu N. Differences in the morphology of the processus vaginalis with sex and underlying disease condition. *Pathol Res Pract* 196:767-70. 2000;
43. Hosgor M, Karaca I, Ozer E, et al. The role of smooth muscle cell differentiation in the mechanism of obliteration of processus vaginalis. *J Pediatr Surg* 2004;39:1018-23.
44. Nagair, Kuro-o M, BABİJ p, et al :Identification of two types of smooth muscle heavy chain isoforms by cDNA cloning and immunoblot analysis. *J Biol Chem* 264:9734-9737, 1989
45. Sakurai S, Fukasawa T, Chong JM, et al :Embryonic form of smooth muscle myosin heavy chain (S Memb/MHC-B) in gastrointestinal stromal tumor and interstitial cells of cajal. *Am J Pathol* 154:23-28, 1999
46. Tanyel FC, Müftüoğlu S, Dağdeviren A, Kaymaz FF, Büyükpamukçu N. Myofibroblasts defined by electron microscopy suggest the dedifferentiation of smooth muscle within the sac walls associated with congenital inguinal hernia. *BJU Int*;87:251-55, 2001

47. Tanyel FC, Erdem S, Büyükpamukçu N, Tan E. Smooth muscle within incomplete obliterations of processus vaginalis lacks apoptotic nuclei. *Urol Int*;69:42-45.,2002
48. Hutson JM, Albano FR, Paxton G, et al. In vitro fusion of human inguinal hernia with associated epithelial transformation. *Cells Tissues Organs*;166:249-58.,2000
49. Clarnette TD, Hutson JM, Beasley SW. Factors affecting the development of the processus vaginalis in the rat. *J Urol* 1996;156:1463-66.
50. Clarnette TD, Hutson JM. The development and closure of the processus vaginalis. *Hernia* 1999;3:97-103.
51. Sugita Y, Uemura S, Hasthorpe S, Hutson JM. Calcitonin gene-related peptide (CGRP)-immunoreactive nerve fibres and receptors in the human processus vaginalis. *Hernia*;3:113-16. 1999
52. Cook BJ, Hasthorpe S, Hutson JM. Fusion of childhood inguinal hernia induced by HGF and CGRP via an epithelial transition. *J Pediatr Surg*;35:77-81. 2000
53. Ting AYS, Huynh J, Farmer P, et al. The role of hepatocyte growth factor in the humoral regulation of inguinal hernia closure. *J Pediatr Surg*;40:1865-68. 2005
54. Hutson JM, Temelcos C. Could inguinal hernia be treated medically? *Medical Hypotheses*;64:37-40. 2005
55. Heyns CF, Hutson JM. Historical review of theories on testicular descent. *J Urol* 1995;153:754-67.
56. Hutson JM, Hasthorpe S. Testicular descent and cryptorchidism: the state of the art in 2004. *J. Pediatr Surg* 2005;40:297-302.
57. Tanyel FC. The descent of testis and reason for failed descent. *Turk J Pediatr* 2004;46:7-Hadziselimovic F: Mechanism of testicular descent. *Urol Res*;12:155-7. 1984
58. Hadziselimovic F. Mechanism of testicular descent. *Urol Res*;12:155-7.,1984

59. Hutson JM. A biphasic model for the hormonal control of testicular descent. *Lancet*;II:419-21. 1985
60. Beasley SW, Hutson JM. The role of gubernaculum in testicular descent. *J Urol*;140:1191-93. 1988
61. van der Schoot P, Elger W. Androgen-induced prevention of the outgrowth of cranial gonadal suspensory ligaments in fetal rats. *J Androl*;13:534-42. 1992
62. Tomiyama H, Hutson JM, Truong A, AgoulNIK AI. Transabdominal testicular descent is disrupted in mice with deletion of insulinlike factor 3 receptor. *J Pediatr Surg*;38:1793-98. 2003
63. Zimmermann S, Steding G, Emmen JM, et al. Targeted disruption of the INSL3 gene causes bilateral cryptorchidism. *Mol Endocrinol*;13:681-91. 1999
64. Kubota Y, Nef S, Farmer PJ, et al. Leydig insulin-like hormone and gubernacular development and testicular descent. *J Urol*;165:1673-5. 2001
65. Foresta C, Zuccarello D, Garolla A, Ferlin A. Role of hormones, genes and environment in human cryptorchidism. *Endocr Rev*;24: 2008In press.
66. Heyns CF. The gubernaculum during testicular descent in the human fetus. *J Anat*;153:93-112. 1987
67. Shareef YA, Sourial M, Hutson JM. Exogenous calcitonin gene-related peptide perturbs the direction and length of gubernaculum in capsaicin-treated rats. *Pediatr Surg Int*;23:305-8. 2007
68. Huynh J, Shenker NS, Nightingale S, Hutson JM. Signalling molecules: clues from development of the limb bud for cryptorchidism? *Pediatr Surg Int*;23:617-24 2007
69. Nightingale SS, Western P, Hutson JM. The migrating gubernaculum grows like a limb bud. *J Pediatr Surg*;43:387-90. 2008

70. Tanyel FC, Erdem S, Büyükpamukçu N, Tan E. Cremaster muscles obtained from boys with an undescended testis show significant neurological changes. *BJU Int*;85:116-9. 2000
71. Tanyel FC, Ulusu NN, Tezcan EF, Büyükpamukçu N. Less calcium in cremaster muscles of boys with undescended testis supports a deficiency in sympathetic innervation. *Urol Int*; 69:111-5. 2002
72. Tomiyama H, Hutson JM. Contractility of rat gubernacula affected by calcitonin gene-related peptide and  $\beta$ -agonist. *J Pediatr Surg*;40:683-87. 2005
73. Sasaki Y, Hutson JM, Clarke MCC. The role of sympathetic innervation in the developing rat gubernaculum. *J Pediatr Surg*;42:350-4. 2007
74. Huff DS, Hadziselimovic F, Snyder HM, Blyth B, Duckett JW. Early postnatal testicular maldevelopment in cryptorchidism. *J Urol*;146:624-6. 1991
75. Hadziselimovic F. Cryptorchidism: pathogenesis and histology. *Ann Urol*;18:240-5. 1984
76. Zivkovic D, Bica DTG, Hadziselimovic F. Relationship between adult dark spermatogonia and secretory capacity of Leydig cells in cryptorchidism. *BJU Int* ;100:1147-9. 2007
77. Bica DT, Hadziselimovic F. The behavior of epididymis, processus vaginalis and testicular descent in cryptorchid boys treated with busserelin. *Eur J Pediatr*;152:S38-42. 1993
78. Hadziselimovic F, Zivkovic D. Is the prohibition of hormonal treatment for cryptorchidism, as suggested by the Nordic consensus group, justifiable? *Acta Paediatrica*;1368-79. 2007
79. Hadziselimovic F, Hoecht B. Testicular histology related to fertility outcome and postpubertal hormone status in cryptorchidism. *Klin Pediatr* 2008;9:In press.

80. Hadziselimovic F, Adham I. Insulin 3-like hormone and its role in epididymo-testicular descent. *Int Braz J Urol*;33:407-13. 2007
81. Layne MD, Endege WO, Jain MK, Yet SF, Hsieh CM, Chin MT, Perella MA, Blonar MA: Aortic Caboxypeptidase-Like Protein, a Novel Protein with Discoidin and Caboxypeptidase-like Domains, Is Up-regulated during Vascular Smooth Muscle Cell Differentiation. *The Journal of BIOLOGICAL CHEMISTRY*. Vol. 273, No. 25, Issue of June 19, pp.15654-15660,1998
82. Majesky MW: Smooth Muscle Specific Transcription Without a CArG Box Element. *Circ. Res.* 90;628-630, 2002
83. Ith B, Wei J, Yet SF, Perella MA, Layne MD: Aortic Caboxypeptidase-Like Protein is expressed in collagen rich tissues during Mouse embryonic development. *Gene Expression Patterns* 5; 533-537, 2005
84. Layne MD, Yet SF, Maemura K, Hsieh CM, Bernfield M, Perrella MA, Lee MU-EN: Impaired Abdominal Wall Development AND Deficient Wound Healing in Mice Lacking Aortic Caboxypeptidase-Like Protein. *MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY*, Aug. Vol. 21, No. 15, p. 5256-5261, 2001
85. Gagnon A, Aballian JK, Crapper T, Layne MD, Sorisky A: Down Regulation of Caboxypeptidase-Like Protein the Early Phase of 3T3-L1 Adipogenesis. *Endocrinology* 143(7): 2478-2485, 2002
86. Layne MD, Yet SF, Maemura K, Hsieh CM, Liu X, Ith B, Lee ME, Perrella MA: Characterization of the Mouse Aortic Caboxypeptidase-Like Protein Promoter Reveals Activity in Differentiated and Dedifferentiated Vascular Smooth Muscle Cells. *Circ. Res.* 90; 728-736, 2002
87. Majesky MW: Developmental Basis of Vascular Smooth Muscle Diversity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 27: 1248-1258, 2007

88. Wagner KD, Wagner N, Schedl A: The complex life of WT1. *Journal of Cell Science* 116, 1653-1668, 2003. The Company of Biologists Ltd
89. Moore AW, McInnes L, Kreidberg J, Hastie ND, Schedl A: YAC complementation shows a requirement for wt1 in the development of epicardium, adrenal gland and throughout nephrogenesis. *Development* 126, 1845-1857, 1999
90. Wagner KD, Wagner N, Vidal VP, Schley G, Wilhelm D, Schedl A, Engelert C, Scolz H: The Wilms' tumor gene wt1 is required for normal development of the retina. *EMBO J.* 21, 1398-1405, 2002
91. Mayo MW, Wang CY, Drouin SS, Madrid LV, Marshall AF, Reed JC, Weismann BE, Baldwin AS: WT1 modulates apoptosis by transcriptionally upregulating the bcl-2 proto-oncogene. *EMBO J.* 18, 3990-4003, 1999
92. Hossain A, Saunders GF: The human sex-determining gene SRY is a direct target of WT1. *J. Biol. Chem.* 276, 16817-16823, 2001
93. Hammes A, Guo JK, Lutsch G, Lheste JR, Landrock D, Ziegler U, Gubler MC, Schedl A: Two splice variants of the Wilms' tumor 1 gene have distinct functions during sex determination and nephron formation. *Cell* 106, 319-329, 2001
94. Breslow W, Takashima JR, Ritchey ML, Strong LC, Gren DM: Renal failure in the Denys-Drash and Wilms' tumor-aniridia syndromes. *Cancer Res.* 60, 4030-4032, 2000
95. Guo JK, Menke AL, Gubler MC, Clarke AR, Harrison D, Hammes A, Hastie ND, Schedl A: WT1 is a key regulator of podocyte function: reduced expression levels cause crescentic glomerulonephritis and mesangial sclerosis. *Hum. Mol. Genet.* 11, 651-659, 2002
96. Sainio K, Helistedt P, Kreidberg JA, Saxen L, Sariola H: Differential regulation of two sets of mesonephric tubules by WT-1. *Development* 124, 1293-1299, 1997

\*Hosgor M: Çocuk Fıtığı Oluşum Kuramları ve Testislerin Skrotuma İniş Kuramları.(Türkiye Klinikleri Dergisine Mayıs 2009 Tarihinde yayınlanmak üzere kabul edilmiştir)