

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**SAĞLIKLI VE HİPOSPADİASLI ÇOCUKLARDA FGF-8, FGF-
10, FGF RESEPTÖR 2, ANDROJEN RESEPTÖRÜ, ÖSTROJEN
RESEPTÖRÜ ALFA VE BETA KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. NASSİM EMARATPARDAZ**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ZAFER TÜRKYILMAZ**

**ANKARA
MAYIS 2023**

**T. C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**SAĞLIKLI VE HİPOSPADİASLI ÇOCUKLARDA FGF-8, FGF-
10, FGF RESEPTÖR 2, ANDROJEN RESEPTÖRÜ, ÖSTROJEN
RESEPTÖRÜ ALFA VE BETA KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. NASSİM EMARATPARDAZ**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ZAFER TÜRKYILMAZ**

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TTU-
2022-7828 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ANKARA
MAYIS 2023**

ÖNSÖZ

Çocuk cerrahi uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini bizlerle paylaşan; değerli hocalarım Prof. Dr. Kaan Sönmez, Prof. Dr. Y.Hakan Çavuşoğlu, Dr. Öğr. Üyesi Cem Kaya, Dr. Öğr. Üyesi Alparslan Kapısız, Öğr. Gör. Dr. Sibel Eryılmaz'a,

Uzmanlık eğitimimde bana cerrah cesareti kazandıran ve tez danışmanım sayın hocam Prof. Dr. Zafer Türkyılmaz'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmam sırasında desteğini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Ramazan Karabulut'a,

Tez çalışmasının ilk gününden itibaren yanımda olan sevgili Dr. Gökhan Arkan, Dr. Fatmanur Aracıer Uçaner başta olmak üzere beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum, beni evimde hissettiren çalışma arkadaşlarım Dr. Deniz Gökçe, Dr. Abdurrahman Azzam, Dr. Aslı Sevimli, Dr. Leyla Nur Türker, Dr. Bensu Şule Bülbül, Dr. Betül Bozkurt, Dr. Efe Dilek, Dr. Gonca Güney, Op. Dr. Hayrunnisa Oral'e,

Tez çalışmasında yer alan histolojik incelemelerle beni destekleyen Dr. Öğr. Üyesi Duygu Dayanır ve Arş. Gör. Asiye Emniyet Sert'e,

Her zaman yanımda olan yol arkadaşım ve en büyük destekçim ablam Uzm. Dr. Jale Emarat'a

Çocuk cerrahisi ekibinde çalışan hemşire, sekreter ve personel arkadaşlarıma,

Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimine TTU-2022-7828 kodlu proje için destek sağladıklarından dolayı

Sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGE VE KISALTMALAR.....	iv
TABLolar DİZİNİ	v
RESİMLER DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Üretral Embriyoloji.....	3
2.2 Penis Anatomisi	5
2.3 Hipospadias Tarihçe	7
2.4 Hipospadias Sınıflaması	9
2.5 Etiyoloji	11
2.6 Tedavi	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1 Histomorfolojik Değerlendirme.....	19
3.2 İmmünohistokimyasal Değerlendirme.....	20
4. BULGULAR	23
4.1 Prepisyum Dokusunun Histomorfolojik Değerlendirmesi	23
4.2 Prepisyum Dokusunun İmmünohistokimyasal Değerlendirmesi	24
4.3. İstatiksel İnceleme	26
4.4.Mikroskopik Bulgular.....	27
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇ	45

7. KAYNAKLAR.....	46
8. ÖZET.....	53
9. SUMMARY	54
10. EKLER	55
11. ÖZGEÇMİŞ.....	58



SİMGE VE KISALTMALAR

AR	: Androgen receptor (androjen reseptörü)
ATF	: Activating transcription factor
BMP	: Bone morphogenetic protein (kemik morfogenetik protein)
DGKK	: Diacylglycerol kinase k
DHT	: Dehidrotestosterona
ER	: Estrogen receptor (östrojen reseptörü)
FGF	: Fibroblast growth factor (fibroblast büyüme faktörü)
FGFR	: Fibroblast growth factor receptor (fibroblast büyüme faktörü reseptörü)
GL	: Glandless gen
H&E	: Hematoksilen-eozin
HCG	: Human koryonik gonadotropin
HOX	: Homeobox
İHC	: İmmünohistokimyasal
SHH	: Sonic hedgehog
TIPU	: Tubularized incised urethroplasty (Tübularize insize üretroplasti)
VAMP	: Vesicle-associated membrane protein
WT1	: Wilms tumor supressor gen 1 (Wilms tümör baskılayıcı gen 1)

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: İmmünohistokimya ile çok katlı yassı epitelin kantitatif skorlama	21
Tablo 2. Çok katlı yassı epitelin kantitatif skorlama sonuçları	25
Tablo 3. FGFR-2, FGF-8, FGF-10'un epidermis ve dermis tutulumları	26
Tablo 4. Kontrol grubu ve hipospadias grubu.....	27



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Üretra oluşum süreci	4
Resim 2: penis anatomisi	6
Resim 3: Penispenis anatomisi, damar ve sinir yapıları kesitsel görünüm	7
Resim 4: Hipospadias cerrahisinin Cerrahiyet'ül Haniye'de gösterilen resmi.	8
Resim 5: Hipospadias Duckett sınıflaması.....	9
Resim 6: Üretral meatusun yerleşimine göre hipospadias tipleri.....	10
Resim 7: Mathieu yöntemi	16
Resim 8:MAGPI yöntemi.....	16
Resim 9: TIPU(54)	17
Resim 10: FGF-8,FGF-10,FGFR-2 Dermis ve Epidermis tutulumu şematize hal	22
Resim 11: Her iki grubun H&E Boyamasında Histolojik açıdan anlamlı fark gözlenmedi.	24
Resim 12: Kontrol Grubunda Androjen Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme) Bazal keratinositlerde tutulum.....	28
Resim 13: Hipospadias Grubunda Androjen Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme) Tutulum epidermis alt 2/3 ile sınırlı	28
Resim 14:Kontrol Grubunda Östrojen Beta Reseptörü (İHC Boyama,200x Büyütme) Bazal keratinositlerde tutulum.....	29
Resim 15:Hipospadias Grubunda Östrojen Beta Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme)Tutulum epidermis alt 2/3 ile sınırlı	29
Resim 16: Kontrol Grubunda Östrojen Alfa Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme) Bazal keratinositlerde tutulum.....	30
Resim 17:Hipospadias Grubunda Östrojen Alfa Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme) Tutulum epidermis alt 2/3 ile sınırlı	30
Resim 18: Kontrol Grubunda FGFR-2 Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme)	31
Resim 19:Hipospadias Grubunda FGFR-2 Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme)	32
Resim 20: Kontrol Grubunda FGF-8 Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme)...	33

Resim 21:Hipospadias Grubunda FGFR-2 Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme)	
.....	34
Resim 22: Kontrol Grubunda FGF-10 Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme).	35
Resim 23: Hipospadias Grubunda FGF-10 Reseptör (İHC Boyama,200x	36



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hipospadias, erkek çocukların 200-300 doğumunda bir görülen, eksternal üretral meatusun penis ventral yüzü, skrotum ya da perinede yerleşimi ile karakterize bir anomalidir. Erkeklerde inmemiş testisten sonra en sık karşılaşılan konjenital anomali olarak kabul edilir (1,2). Hipospadias için birçok sınıflandırma mevcuttur ancak çocuk cerrahları tarafından yaygın olarak kullanılan ve Duckett tarafından oluşturulan sınıflandırmaya göre hipospadias, %70 sıklıkla distal (glanüler, coronal, distal shaft), %30 sıklıkla proksimal (midpenil, proksimal shaft, penoskrotal, perineal) yerleşimlidir(3). Hipospadias etiyolojisinde genetik, endokrin ve çevresel faktörlere yönelik çalışmalar devam etmektedir. Çevresel ve endokrin faktörlerin etkisi ile ilgili çalışmalarda gebelik yaşına göre küçük bebek (SGA), plasental yetmezlik, maternal hipertansiyon, preeklampsi, antiepileptik kullanımı, çoklu gebelik, diyabetik anne, anne obezitesi gibi faktörler sıklıkla hipospadias etiyolojisinde etkili rol oynadığı gösterilmiştir(4). Birçok genetik sendrom hipospadiası içermesine rağmen genetik sebepli hipospadias tüm vakaların ancak %10'dan az kısmını oluşturur. Hipospadias saptanan hastanın erkek kardeşinde hipospadias oluşma riski %10'dan fazladır(5). Proksimal hipospadiasın bazı sendromlarla sıklığı arttığı bilinse de distal hipospadias için genellikle sporadik oluşum söz konusudur. Genital tüberkül ve üretral plakta bazı genlerin ekspresyonunun ve androjen, östrojen üretimindeki kusurların da hipospadias etiyolojisinde etkili olabileceği gösterilmiştir (SHH, ER1, ER2, GL1, GL2, GL3, ATF3, FGF-8, FGFR-2, VAMP7, WT1, BMP7, WNT5A, DGKK vb.)(6). Bu çalışmada hipospadias etiyolojisinin aydınlatılmasına yönelik olarak

bazı reseptörlerin dokularda ekspresyon düzeyi, normal ve hipospadiaslı penislerin prepisyumlarında karşılaştırılmıştır. Bu çalışma kapsamında, fibroblastlast büyüme faktörü 8 (FGF), FGF-10, FGFR-2, östrojen reseptörü alfa(ER- α) ve östrojen reseptörü beta(ER- β), androjen reseptörlerinin(AR) ekspresyon düzeyleri araştırılmıştır.

Fibroblast Büyüme Faktörleri (FGF), üretral katlantıların füzyonu ve genital tüberkülün gelişimi için oldukça önemli bir katkıya sahipken ve aynı zamanda yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonunda da görev aldığı bilinmektedir(7). AR'lerinin gonadal androjenlerin etkisi ile erkek cinsel farklanmasında rol oynadığı bilinmektedir. Ayrıca AR ekspresyonundaki azalmanın infertilite, testiküler atrofi, mikropenis, hipospadias ve azalmış sperm üretimi gibi sonuçları olduğu bildirilmiştir. Hipospadiaslı çocuklarda insan koryonik gonadotropin (hCG) stimülasyonuna azalmış yanıt gösterilmesi bu reseptörün hipospadias etiyolojisindeki öneminin kanıtına işaret eder(8). Yapılan çalışmalar, ER'lerinin hipospadias ve normal prepisyumlarda anlamlı farklılıklar gösterdiği saptanmış ve bu farklılığın hipospadias etiyolojisinde rol oynayabileceğine dair veriler sunmuştur(9,11). Hipospadiasın cerrahi tedavisi kadar, hastalığı önleme yollarının da araştırılması, prevalansının giderek artması nedeniyle önem kazanmıştır(12). Çocukluk döneminde uygulanan cerrahi tedavi sonrası erişkin dönemde oluşabilecek muhtemel kordi, fistül ve kötü kozmetik sonuçlar nedeniyle hastaların psikoseksüel problemlerini önleyebilmek için hipospadiasın önlenmesi veya medikal tedavi araştırmaları önem arz etmektedir.

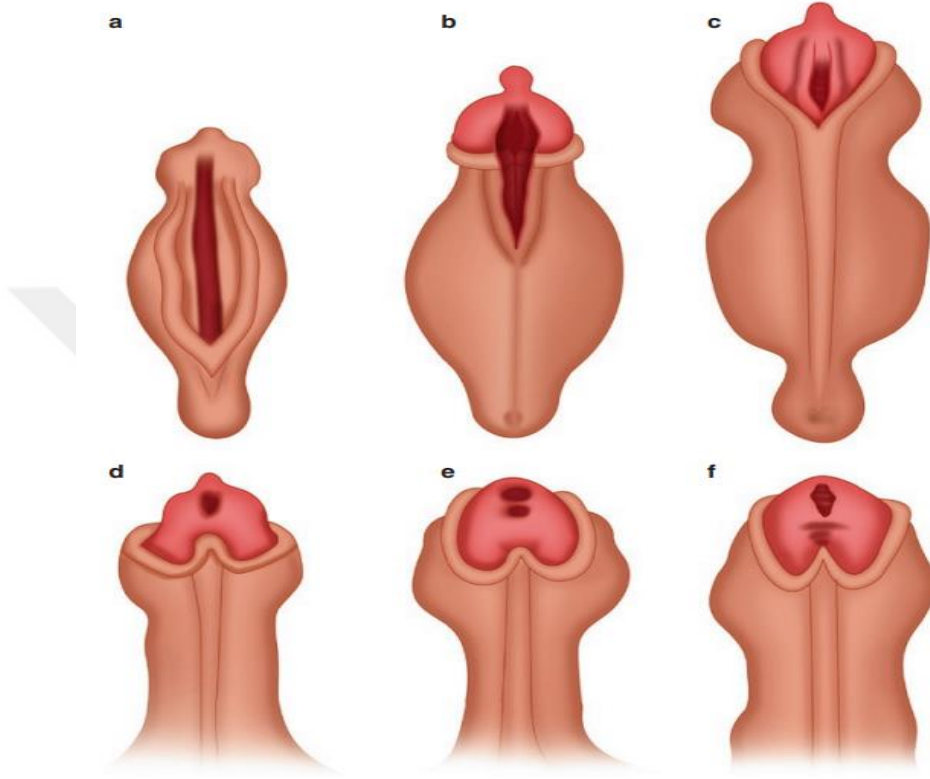
2. GENEL BİLGİLER

2.1 Üretral Embriyoloji

Erkeklerde 6. haftada kloakal membrandan üretral ve anal katlantı oluşur. Leydig hücrelerinden sentezlenen testosteron, dihidrotestosterona dönüşerek iç genital organ gelişimini uyararak epididim, vas deferens ve seminal veziküller gelişir. Yine 6. haftadan itibaren genital tüberkülün hızlı uzamasıyla oluşan fallus, bu üretral katlantıyı öne çekerek üretral oluğun lateral duvarını oluşturmaya neden olur. Ancak 3. ayın sonunda, üretral katlantı plak üzerini örterek penil üretrayı oluşturur. Ardından 4. ayda glans oluşur, ektodermal hücrelerin içeri penetrasyonu ile distal üretra oluşur ve üretra tamamlanır(13,14).

Penis oluşumu ile birlikte prepsiyum penisini çepeçevre saracak şekilde gelişir. Prepsiyumun gelişimi, corpus cavernosumlardan hızlı olması nedeniyle, gestasyonun erken döneminde normal peniste de hipospadiasta olduğu gibi prepsiyum dorsalde toplanmıştır. Daha sonra prepsiyum dorsalden oblik bir seyir göstererek ventral yüzü örter ve 8. haftadan itibaren başlayan prepsiyum gelişimi 20. haftada son halini almış olur. Hipospadiasta ise bu seyir tamamlanamaz prepsiyum dorsalde toplanmış, ventralde ise defektif olarak izlenebilir ancak vakaların %5'inde bu defekt izlenmez. Hipospadiasta sıkça rastladığımız kordi deformitesi ise mezoderm kökenli dokuların gelişimdeki bir bozukluk sonucu oluşur. Hipoplastik distal üretranın cilt, cilt altı dokulara fibrotik yapışıklığı, corpus cavernosumların penisin dorsal ve ventral yüzeylerde gelişim hızlarının

farklı olması, Buck's ve Dartos fasyalarının fibrozisi veya üretranın kısa ve fibrotik olması nedeniyle kordi deformitesi gelişebilir(16,17).

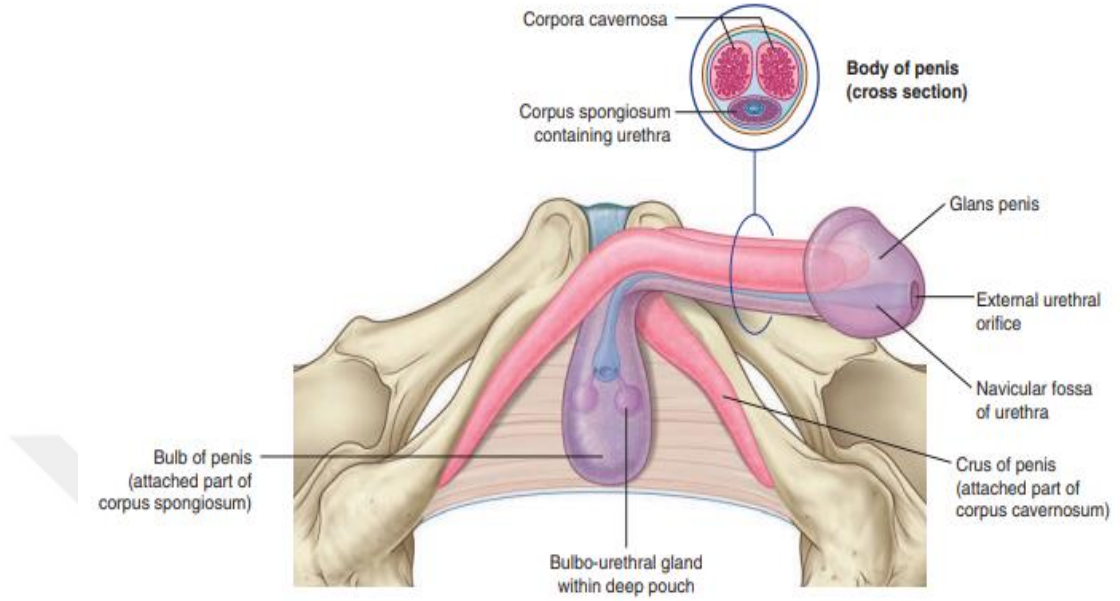


Resim 1: Üretra oluşum süreci (15)

- a. Ventral açıdan penil üretra, glans ve sünnet derisinin oluşumu
- b. Açık üretral plak
- c. Üretral plak kıvrımlarının progresif füzyonu
- d. Koronal sulkusa yakın yerleşimli üretral orifis
- e. Prepisyal kıvrımların penis başı ile füzyonu
- f. Sünnet derisinin oluşumu ve üretra

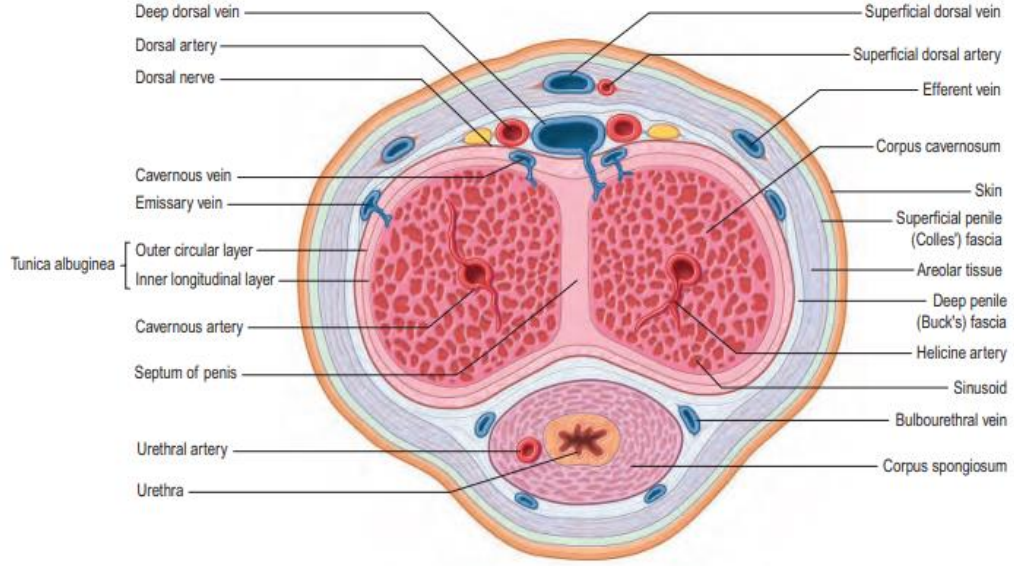
2.2 Penis Anatomisi

Penis, dorsal yerleşimli iki korpus kavernosum ve içinden üretranın geçtiği ventral yerleşimli tek bir korpus spongiosumdan oluşur. Bu 3 tübüler yapının etrafında kollojen ve elastik liflerden zengin tunika albuginea adı verilen bir kılıf bulunur. Glans penis ayrı bir yapı değildir, korpus spongiosumun distalde genişlemesiyle oluşur ve korpus kavernosumların dışı kısmını sarar. Tunika albugineanın hemen üzerinde Buck fasyası vardır. Buck fasyasının iki yaprağı arasında nöro vasküler demet bulunur. Bu yapıların orta kısmında derin dorsal ven bulunur. Derin dorsal venin her iki tarafında dorsal erterler ve nöral yapılar vardır. Özellikle penil kordi nedeniyle düzeltme ameliyatı gerekli olduğunda işlemin Buck fasyasının altından yapılması bu nörovasküler yapıların hasarlanmaması açısından çok önemlidir. Buck fasyasının üzerinde ise gevşek dartos fasyası bulunur. Üretra ise mesane tabanından başlayıp prostat içerisinden ve derin perinal poştan ilerleyerek, perineal membrandan çıkar ve penisi anteriordan kat ederek seyrini tamamlar.



Resim 2: penis anatomisi (18).

Penisin ana arteriyel akımı İnternal ilak arterin bir dalı olan internal pudendal arterden sağlanır. İnternal pudendal arter penis bazalinde 3 dala ayrılır. Bunlar dorsal arter, bulboüretral arter ve kavernozaal arterdir. Penisin venöz drenajı ise yüzeyel dorsal ven, derin dorsal ven, krural ve kavernozaal venler yoluyla sağlanır. (19). Penis derisi ve glans penis'in duyusu n. dorsalis penis ile alınır. Penisin motor innervasyonu ise erektıl fonksiyon açısından önemlidir. Penis ereksiyonu parasempatik lifler ile S2-4 üzerinden, ejakülasyon ise sempatik lifler ile L1-2 üzerinden gerçekleşir(20).



Resim 3: Penis anatomisi, damar ve sinir yapıları kesitsel görünüm(21)

Hipospadiaslı peniste, üretra defektine ventral yüzde korpus spongiosum, deri, deri altı dartos ve Buck's fasyası ve vasküler yapılarındaki atrofi de eşlik etmektedir(16,17).

2.3 Hipospadias Tarihçe

Hipospadias terimi, tarihte ilk kez bugün Türkiye Cumhuriyeti sınırları içerisinde yer alan Bergamalı Galen (M.S. 130-199) tarafından eğri penisli ve ucundan idrar yapamayan çocuklar için kullanılmıştır. Oribasius (M.S. 325-403) ise distal hipospadiaslarda glans penisin sulcus koronariusun üst kısmının kesilmesiyle uç yerleşim elde edileceğini ileri sürmüştür ve bu yöntem uzun yıllar hipospadiasın cerrahi tedavi metodu olarak kullanılmıştır(22).

Çocukların cerrahi hastalıkları ile ilgili Anadolu'da yazılmış ilk bilimsel kaynak kitap olan Cerrahiyet'ül Haniye'de, hipospadiasa cerrahi yaklaşım resmedilerek tariflenmiştir.



Resim 4: Hipospadias cerrahisinin Cerrahiyet'ül Haniye'de gösterilen resmi(23).

Hipospadias cerrahisinde yirminci yüzyıldan günümüze dek yeni teknikler tanımlanmıştır. Özellikle Mathieu, Duckett ve Snodgrass tarafından tanımlanan cerrahi teknikler ve sterilizasyon yöntemlerinin gelişmesiyle hipospadias cerrahisi başarılı bir şekilde uygulanabilir hale gelmiştir(24).

2.4 Hipospadias Sınıflaması

Hipospadias için üretral meatusun lokalizasyonuna göre tarih boyunca Smith, Schaeffer, Erbs, Barcat ve Duckett gibi farklı sınıflamalar kullanılmıştır(16). Üretral meatusun proksimalde olduğu hipospadias vakalarında daha ağır olmak üzere tüm vakaların yaklaşık %35'ine kordi eşlik eder ve kordinin düzeltilmesi ile üretral meatusun lokalizasyonunun değişmesi nedeniyle o dönemde Barcat sınıflaması daha çok tercih edilen sınıflama olmuştur(25,26). Daha sonra Duckett, Barcat'ın sınıflandırmasını değiştirerek, meatusun konumunu anterior (glanüler ve subkoronal), orta (distal penil, orta shaft ve proksimal penil) ve posterior (penoskrotal, skrotal ve perineal) olarak tanımlayan sınıflandırmayı yayımlamıştır ve yaygın olarak bu sınıflandırma kullanılmaya başlanmıştır(27).

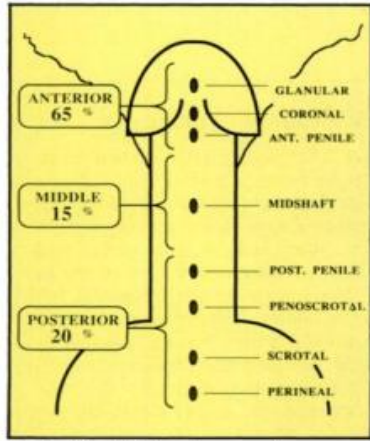


Fig 1. Classification of hypospadias.

Resim 5: Hipospadias Duckett sınıflaması(28).



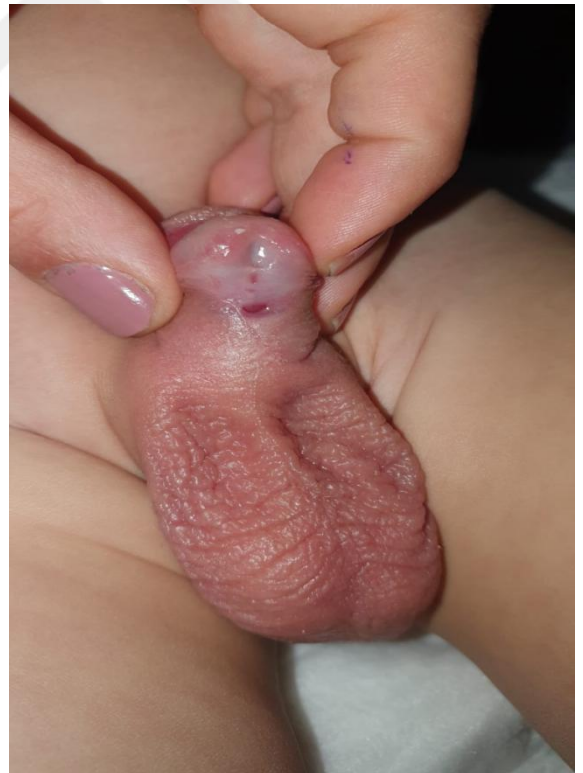
Koronal Hipospadias



Penoskrotal Hipospadias



Glanüler Hipospadias



Midpenil Hipospadias

Resim 6: Üretral meatusun yerleşimine göre hipospadias tipleri

2.5 Etiyoloji

Genetik, endokrin ve çevresel bazı faktörlerin hipospadias etiolojisinde rol oynadığı yapılan çalışmalarla gösterilmiş olsa da henüz net bilgiye ulaşılamamıştır ve çalışmalar devam etmektedir(29,30). Literatürde genetik geçişle ilgili birçok çalışma yapılmış olup hipospadiaslı bir babanın erkek çocuğunda %7 etkilenme gösterilmiştir. Aynı çalışmada hipospadiaslı bir olgunun birinci derece akrabasında görülme insidansı hipospadiasın şiddeti ile artış göstermekle birlikte ortalama %11,6 olup, ikinci derece akrabada %3,27, üçüncü derece akrabada ise %1,33 olduğu gösterilmiştir(31).

Hipospadias a ait spesifik bir gen defekti tanımlanmamış olmasına rağmen Smith-Lemli-Opitz, Opitz-frias, Patau, McKusick-Kaufman, Pallister-Hall, Trizomi 13 ve 18, WAGR , Denys-Drash sendromu gibi birçok sendromla hipospadias ilişkilendirilmiştir(16).

Fareler üzerinde yapılan genetik çalışmalarda; Homeobox genleri A (HOXA) ve D (HOXD)'nin, fallus gelişiminde görev aldığı gösterilmiş olup bu genlerin devre dışı bırakılmasının hipospadias benzeri genitoüriner bir malformasyon ile sonuçlandığı kanıtlanmıştır(32). Ayrıca Homeobox A13 (HOXA13) mutant farelerde, üretra ve glans penis gelişiminde ve kapanmasında aksama olduğu gösterilmiş olup HOXA13'ün üretral plate epitel gelişiminde önemli olan fibroblast büyüme faktörü (FGF) 8 ve kemik morfogenetik proteini (BMP)-7'nin normal ekspresyonu için esansiyel rolü olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca HOXA13'ün glans penis vaskülarizasyonunda da etkinliğinin olduğu

vurgulanarak bu gen eksikliğinde androjen sinyal antagonistlerinin artışı gösterilmiştir(33).

Hipospadiaslı hastaların prepisyumunda ve üretral plate dokusunda HOXA13 ekspresyonunun artmış olduğu görülmüştür(34). Ayrıca başka bir çalışmada HOXA13 genindeki defektin genital tüberkülün agenezisine neden olduğu saptanmıştır (35).

Testosteron, erkek cinsel özelliklerinin ve işlevinin gelişiminde ve devamında rol alan önemli bir steroid hormondur. Dihidrotestosteron ve estradiol dahil olmak üzere testosteron steroidogenezi ve metabolizmasında yer alan ilave steroid hormonları, hedef dokular üzerinde etki göstermede önemli bir konuma sahiptir(36). Androjenler etkilerini bir hücre içi reseptörü olan androjen reseptörleri (AR) aracılığı ile gösterirler. Bu reseptörler, androjen reseptör geni (ARG) tarafından kodlanmaktadır(37). 5 α -redüktaz eksikliği veya AR ve AR genlerindeki kusurlar gibi androjen metabolizmasındaki defektler hipospadias için olası etiyolojik nedenler arasındadır(38). Tam AR duyarsızlığı, kadın dış genital görünümü ile sonuçlanırken kısmi AR duyarsızlığı kuşkulu genitalyaya neden olur(39). Hipospadiaslı hastalarının sünnet derilerinde normal çocukların sünnet derisine oranla androjen reseptörünün artmış olduğu gösterilmiştir(40).

Yapılan bir çalışmada östrojenik bozuklukların AR ve ER üzerine etkili olduğu gösterilmiştir. Normal sünnet derisine göre hipospadias sünnet derisinde ER β boyanması zayıf iken ER- α boyanması ya zayıf ya da algılanamaz düzeyde bulunmuştur(10). Başka bir çalışmada ER- α ve ER- β 'nin mRNA ekspresyonunun,

normal sünnet derisinde hipospadias sünnet derisinden daha yüksek olduğu, ancak bu yüksekliğin hipospadias dereceleri ile anlamlı bir farklılık göstermediği saptanmıştır. Başka bir çalışmada ise ER- β immünohistokimyasal boyanmasının hipospadiaslı sünnet derisinde normal sünnet derisinden daha fazla olduğu, ER- α immünohistokimyasal boyanmasının ise her iki grupta da az olduğu gösterilmiştir(9). Yapılan alışmalarla ER- α içerdiği bilinen memeli dokuları erkek ve dişi üreme dokuları, dişi meme bezi ve her iki cinsiyette de kardiyovasküler sistem, kemik ve beyin bölgeleri olduğu gösterilmiştir. ER- β 'nın akciğer, mesane, kalp, adrenal, timus, böbrek, hipofiz, hipotalamus ve cilt gibi üreme dışı dokular ile beraber erkek ve dişi üreme dokularında mevcut olduğu gösterilmiştir. Ancak ER- β , erkek dış genitalinde ER- α 'ya kıyasla daha fazla immnorektif olduğu saptanmıştır (41).

FGFR'nin, dış genital organların ve özellikle üretranın gelişiminde gerekli olduğu; eksikliğinde açık bir üretral plate ve ventralde prepsiyum defekti ile sonuçlandığı fareler üzerinde gösterilmiştir. Doğumdan sonraki 7. günde incelenen FGF-10 eksikliği olan erkek farelerde, üretral füzyon başarısızlığına bağlı açık bir üretral oluk saptanmıştır. Farelerde genital tüberkül gelişiminde rol oynadığı bilinen genler arasında FGF-8, BMP7, HOXA13 bulunur(42). Yapılan insan çalışmaları da bu verileri destekler şekilde FGFR-2, FGF-8, FGF-10 daki mutasyonların hipospadias riskini 3-4 kat arttırdığını göstermiştir. Genital tüberkülün büyümesi ve hayatta kalabilmesi için mezenkimal FGF, retral tp oluşumu için ektodermal FGF, retral epitelin uygun farklılaşması ve hücre yapıştırıcı özellikleri için ise endodermal FGF sinyali gereklidir. Aynı zamanda

FGF moleküllerinin ve reseptörlerinin yara iyileşmesinde de önemli rol aldıkları bilinmektedir(43). Bu nedenle FGF eksikliğinde, özellikle proksimal hipospadias cerrahisi sonrasında yara iyileşmesindeki bozukluklar nedeniyle klinik olarak postoperatif komplikasyonların artırdığı da gösterilmiştir(7).

Hipospadias vakalarının çoğunun etiyolojisinde, hem genleri hem de çevresel faktörleri içeren çok faktörlü bir sürecin olduğu gösterilmiştir(44). Etiyolojide genetik faktörler kadar önemi bulunan çevresel faktörlerin, üretra ve penis gelişiminin farklı evrelerine etkisi gösterilmiştir(45). Örneğin; maternal diyet ile hipospadias ilişkilendirilmiştir. Organik olarak üretilmeyen meyve, balık, şarap tüketimi, vejetarjen diyet (pestisit maruziyetinin fazla olması nedeniyle) ve en çok soyada bulunan fito östrojenlerin tüketilmesinin hipospadias riskini arttırdığı çalışmalarda gösterilmiştir(46,47). Maternal hipertansiyon, preeklampsi, anne yaşının küçük olması, prematürite ve çoğul gebelik de hipospadias riskini arttıran klinik faktörler arasındadır(45).

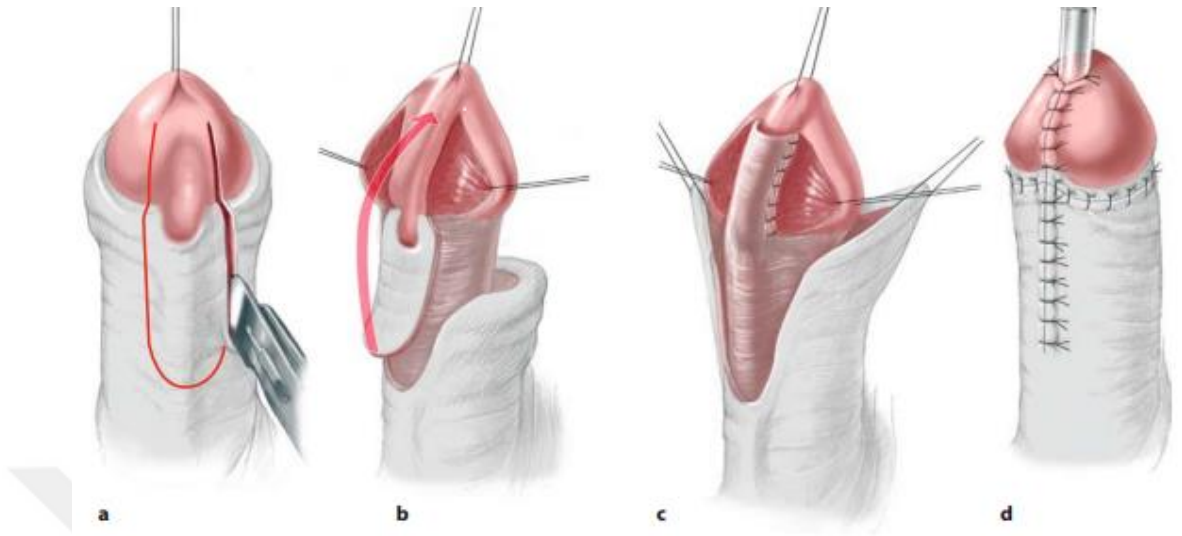
Çok yeni yapılan bir çalışmada ise gebelik öncesi vücut kitle indeksi, alkol ve kafein tüketimi ile hipospadias arasında bir ilişki bulunamamış olup sigara kullanımının ise hipospadias riskini azalttığı gösterilmiştir(48). Sonuç olarak hipospadias etiyolojisinde hem genetik hem de çevresel faktörlerin birbiriyle etkileşim içerisinde olduğu gösterilse de henüz net olarak hipospadias etiyolojisinin ortaya konulamaması nedeniyle bu alandaki çalışmalar devam etmektedir.

2.6 Tedavi

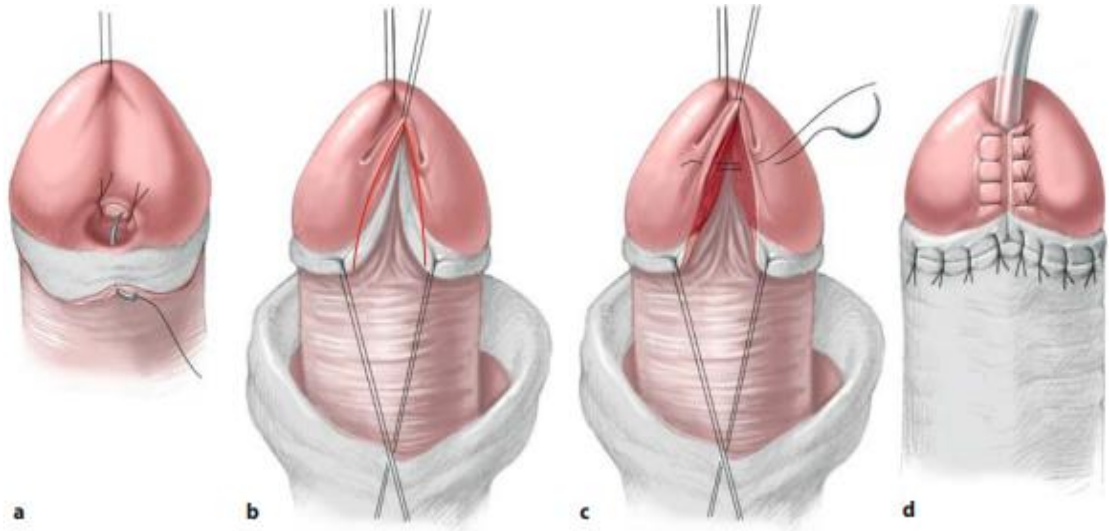
Hipospadias 3 önemli anatomik deformiteyi içerir. Bunlar ektopik yerleşimli üretral meatus, defektif prepiyum ve üretral kordidir(49). Hipospadias tedavisinde esas amaçlar; üretral meatusun glans ucuna taşınması, simetrik ve konik görünümlü bir glans penis oluşturulması, normal ereksiyon ve idrar yapmanın sağlanması, penise fonksiyonel ve estetik bir görünüm verilmesi, sağlıklı bir cinsel ilişki için kordi deformitesinin düzeltilmesidir(16).

Hipospadias tedavisinde operasyon öncesinde HCG, Dihidrotestosteron (DHT) veya gibi hormonal tedavi kullanıldığında penis uzunluğunun ve glans genişliğini geçici olarak arttığı, bu sayede cerrahi açıdan daha iyi lokal cilt koşullarının sağlandığı, cerrahi komplikasyonların azaldığı öne sürülmüştür. Hormon tedavisi seçimi, kullanım zamanı, uygun doz ve uygulama şekli (topikal ya da parenteral) konusunda farklılıklar mevcuttur. Ancak hipospadiasın günümüzde tek tedavisi halen cerrahidir(50,51). Hipospadias cerrahisi, kordi düzeltilmesi, glanüloplasti ve üretroplastiye içermektedir. Üretral meatusun yerleşimine göre MAGPI, Mathieu, Snodgrass, GAP, Duckett teknikleri uygulanan yöntemlerden bazılarıdır(16,52)(resim 7,8,9).

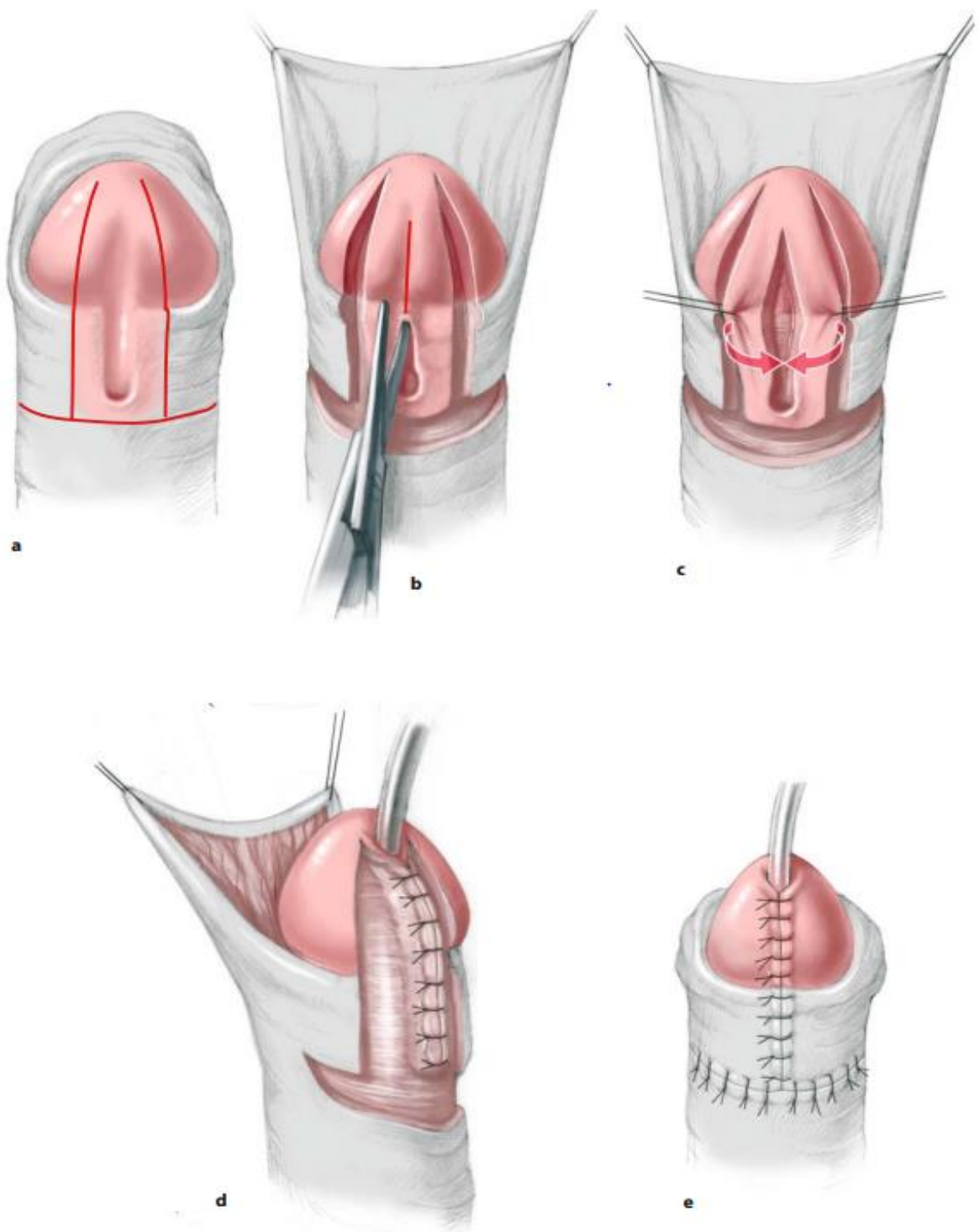
Hipospadias cerrahisinde en sık tercih edilen teknik üretral plate'i koruması ve hem distal hem proksimal hem de sekonder vakalarda kullanılabilir olması nedeniyle TIPU'dur (53).



Resim 7: Mathieu yöntemi



Resim 8: MAGPI yöntemi



Resim 9: TIPU(54)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı (07/03/2022-191) alındıktan sonra Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (9/2022-7828) tarafından sağlanan destekle gerçekleştirilmiştir.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alındıktan sonra Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi kliniğine hipospadias şikayeti ile başvuran çocuklar hasta grubunu, sünnet istemi ile başvuran çocuklar kontrol grubunu oluşturacak şekilde çalışma planlandı. Önceden hipospadias cerrahisi geçirmiş, hormon tedavisi almış, eşlik eden inmemiş testis gibi ürolojik anomalisi olanlar, endokrin bozukluğu ve sendromik olan çocuklar çalışmayı etkilemesin diye çalışma dışı bırakılmıştır. Mart 2022 tarihinden itibaren her bir grupta üstteki kriterlere uyan 20 kişi olacak şekilde çalışmaya devam edildi. Çalışmaya katılmayı kabul eden tüm hastaların yaş aralığı 14ay-12 yaş olması nedeniyle yasal vasilerinden yazılı bilgilendirilmiş onam alındı. Sağlıklı ve hipospadiaslı çocuklardan alınan yaklaşık 1x1 cm'lik prepisyum dokularında histomorfolojik ve Androjen Reseptörü, Östrojen Reseptörü Alfa ve Beta, FGF-8, FGF-10, FGF reseptör 2 bakılarak immünohistokimyasal değerlendirme yapıldı.

İstatiksel analizler için SPSS programı kullanıldı. Niceliksel verilerin normal dağılım göstermeyen iki grubun karşılaştırmasında MannWhitney U Testi kullanıldı.

3.1 Histomorfolojik Değerlendirme

Alınan doku örnekleri 48 saat %10 nötral formaldehitte bekletilerek fiksasyonu sağlandı. Fikse edilen dokular 24 saat akarsuda yıkanıp daha sonra sırası ile %70 etil alkolde 20dk, %80 etil alkolde 20dk, %96 etil alkolde 20dk, Aseton I'de 20 dk, Aseton II'de 20 dk, Aseton III'de 20 dk, Aseton IV'de 20 dk bekletildi. Asetondan çıkan dokular Ksilol I ve Ksilol II'de 30'ar dk bekletildi. Dokular gömülmeden önce 60oC'lik etüvde erimiş Parafin I ve Parafin II'de 1'er saat bekletilerek parafin bloklara gömüldü. Bloklardan elde edilen 6µm kalınlıkta kesitler 2 defa 15'er dakika ksilol içerisinde bekletildi. Ksilolden çıkarılan örnekler sırasıyla %100, %96, %90, %80,% 70 ve %50 konsantrasyondaki etil alkol çözeltilerinde 10'ar dakika tutuldu sonrasında 2 kez 5 dakika distile su içerisinde bekletilerek rehidrate edildi. Bloklardan elde edilen kesitler sonrasında histolojik değerlendirme için Hematoksilen Eosin (H&E) ile boyandı. Alkol serisinden geçirilerek dehidrate edilen örnekler, ksilolde bekletildikten sonra entellan kullanılarak lamel ile kapatıldı. Tüm örnekler Leica DM4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sistemi yardımıyla, Leica Q Vin 3 programında fotoğrafları çekilerek histopatolojik olarak değerlendirildi. Bu değerlendirmeler Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda çalışan 2 öğretim elemanı tarafından ayrı ayrı incelenmiştir.

3.2 İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Alınan doku örnekleri 48 saat %10 nötral formaldehitte bekletilerek fiksasyonu sağlandı. Fikse edilen dokular 24 saat akarsuda yıkanıp daha sonra sırası ile %70 etil alkolde 20dk, %80 etil alkolde 20dk, %96 etil alkolde 20dk, Aseton I'de 20 dk, Aseton II'de 20 dk, Aseton III'de 20 dk, Aseton IV'de 20 dk bekletildi. Asetondan çıkan dokular Ksilol I ve Ksilol II'de 30'ar dk bekletildi. Dokular gömülmeden önce 60oC'lik etüvde erimiş Parafin I ve Parafin II'de 1'er saat bekletilerek parafin bloklara gömüldü. Bloklardan elde edilen 6µm kalınlıkta kesitler 2 defa 15'er dakika ksilol içerisinde bekletildi. Ksilolden çıkarılan örnekler sırasıyla %100, %96, %90, %80 ve %70 konsantrasyondaki etil alkol çözeltilerinde 10'ar dakika tutuldu sonrasında 2 kez 5 dakika distile su içerisinde bekletilerek rehidrate edildi. Sonrasında Nemli ortamda immünohistokimya barına dizilen dokuların etrafı PAP-Pen ile çizilerek 3'er dakika boyunca 3 kez PBS (Phosphate Buffer Saline, pH: 7,4) ile yıkandı. Özgün olmayan bağlanmayı engeleyebilmek için 10 dakika serum blocking solution uygulanan örnekler Androgen receptor Ab-1(Cat. No. MS-443-PO, Thermo Fisher Scientific, Cheshire, UK), Östrojen reseptör (Cat. No. RM-9101-SO, Thermo Fisher Scientific, Cheshire, UK), Östrojen reseptör-beta (Cat. No. orb448242, Biorbyt Ltd.,Cambridge,UK), Fgf-2(Cat. No. STJ91850, St Johns Laboratory Ltd., London,uk UK), Fgf-8 (Cat. No. PA1216,Boster Biological Technology, Pleasanton, CA,USA), Fgf-10 (Cat. No. E-AB-65862, Elabscience Biotechnology Inc., Houston, TX, USA) primer antikorları ile +4°C'de 1 gece, inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası PBS ile yıkanan örneklerle endojen peroksidaz

aktivitesini engellemek için 15 dakika boyunca %3 hidrojen peroksit çözeltisi uygulandı. Örnekler PBS ile yıkandıktan sonra biotinli sekonder antikor uygulandı. Yine 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkanan örnekler diaminobenzedin (DAB) substratı içeren kromojen uygulanarak gözle görülebilir immün tepkime oluşana kadar bekletildi. PBS ile yıkanan örnekler zemin boyası olarak Mayer'in Hematoksileni kullanıldı. Alkol serisinden geçirilerek dehidrate edilen örnekler, ksilolde bekletildikten sonra entellan kullanılarak lamel ile kapatıldı. Tüm örnekler Leica DM4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sistemi yardımıyla, Leica Q Vin 3 programında fotoğrafları çekilerek değerlendirildi. Her slayt için seçilen bağımsız 10 alanda sağlanan hücre sayımlarında Androjen Reseptörü, Östrojen Reseptörü Alfa ve Beta'ya ait tutulumlar Qiao ve arkadaşları tarafından belirtilen skarlama sistemi ile değerlendirildi (Tablo 1).

SKOR	TUTULUM
0 veya -	Hiç tutulum yok
+	Bazal keratinositlerde tutulum
++	Tutulum epidermis alt 1/3 ile sınırlı
+++	Tutulum epidermis alt 2/3 ile sınırlı
++++	Tüm epidermis katmanlarında tutulum

Tablo 1: İmmünohistokimya ile çok katlı yassı epitelin kantitatif skarlama sistemi (Qiao ve ark. – (9)).

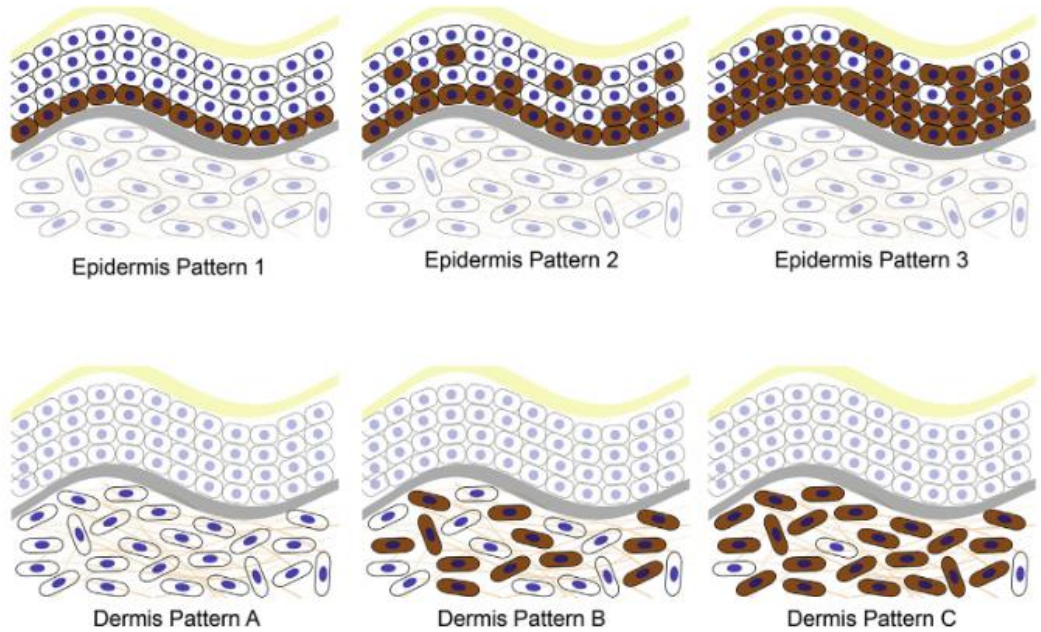
FGF-8, FGF-10 ve FGFR-2'nin değerlendirilmesi, Haid ve ark.'nın çalışması örnek alınarak aşağıdaki gibi yapıldı(7).

Epidermis değeriendirilmesi

- Patern 1: Bazal tutulum ile sınırlı
- Patern 2: Keratinositlerin %50'den azında tutulum
- Patern 3: Keratinositlerin %50'den fazlasında tutulum

Dermis değeriendirilmesi:

- Patern A: Pozitif hücre yok
- Patern B: Tüm görünür dermal hücrelerin %50'sinden azında dağınık tutulum
- Patern C: Kümelenmiş pozitif hücreler tüm görünür dermal hücrelerin %50'sinden fazlası



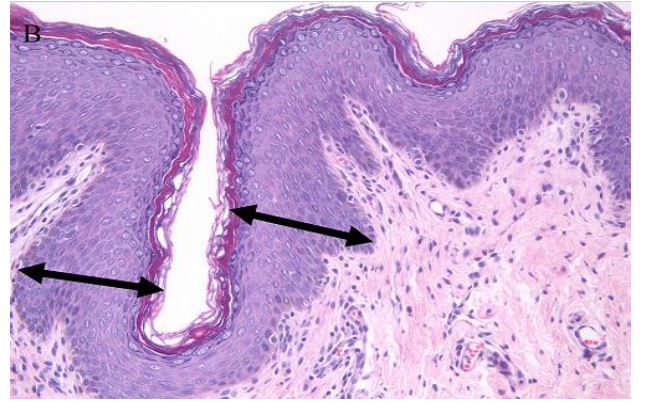
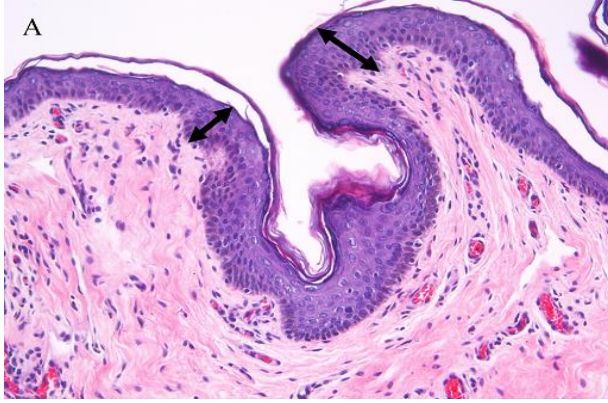
Resim 10: FGF-8,FGF-10,FGFR-2 Dermis ve Epidermis tutulumu şematize halı (7)

4. BULGULAR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi kliniğine hipospadias şikayeti ve sünnet istemi ile başvuran toplam 40 çocuk ile çalışma gerçekleştirildi. Çalışmaya dahil edilen tüm çocukların yaş aralığı 12 ay ile 132 ay değişirken yaş ortalaması 65.92 ± 33.20 ay idi. Kontrol grubu hastalarının ortalama yaşı 59.40 ± 31.80 ay (12-108 ay) hipospadiaslı hastaların ortalama yaşı 72.45 ± 34.09 (14-132 ay) bulundu (gruplar arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yok idi ($p > 0,05$)).

4.1 Prepisyum Dokusunun Histomorfolojik Değerlendirmesi

Her iki grupta çalışmaya dahil olan çocuklardan elde edilen prepisyum dokularına ait H&E ile boyalı kesitlerde epidermis çok katlı yassı epitel özellikleri ile uyumlu olarak izlendi (Resim 11). Gruplar arasında histomorfolojik açıdan anlamlı fark tespit edilmedi ($p > 0,05$)).



A. Kontrol Grubu H&E Boyama

B.Hipospadias Grubunda H&E Boyama

Resim 11: Her iki grubun H&E Boyamasında Histolojik açıdan anlamlı fark gözlenmedi.

4.2 Prepisyum Dokusunun İmmünohistokimyasal Değerlendirmesi

Androjen reseptörü, östrojen reseptörü α , östrojen reseptörü β belirteçlerine ait immünohistokimyasal tutulumlar çok katlı yassı epitelin kantitatif skorum sistemi ile değerlendirildi(9). AR kontrol grubunda 18 hastada skor + iken hipospadiaslı hastaların 15'inde skor +++ ve 5 hastada skor ++ olarak tespit edildi. Benzer şekilde ER- α ve ER β belirteçleri hipospadias grubunda, epidermiste daha geniş alanda tespit edildi (Tablo 2). AR ve ER reseptörleri için skorum yapıldığında hipospadiaslı çocukların sünnet derilerinin normal çocukların sünnet derilerine göre istatistiksel olarak daha yüksek oranda AR ve ER reseptör içerdiği gösterilmiştir(Tablo 4) ($p<0,05$).

	Androjen Reseptörü		Östrojen Reseptörü α		Östrojen Reseptörü β	
	Kontro	Hipospadias	Kontro	Hipospadias	Kontrol	Hipospadia
	1		1		s	
Skor 0	1	-	2	-	-	-
Skor +	18	-	17	-	18	-
Skor ++	1	5	1	4	2	3
Skor +++	-	15	-	16	-	17
Skor	-	-	-	-	-	-
++++						
Toplam	20	20	20	20	20	20

Tablo 2. Çok katlı yassı epitelin kantitatif skarlama sonuçları

FGFR-2, FGF-8, FGF-10 epidermis ve dermis tutulumları açısından izlendi. Epidermis alanları incelendiğinde kontrol hastalarda ağırlıklı olarak Patern 3 tutulum görülürken, hipospadiaslı hastalarda Patern 1 tutulum olduğu izlendi. Dermis alanları incelendiğinde ise, FGFR-2'nin kontrol grubundaki hastaların 17'sinde Patern C, 3'ünde Patern B, hipospadiaslı hastaların 19'unda Patern B ve 1'inde Patern A tutulum olduğu gözlemlendi. FGF-10 kontrol hastalarının 17'sinde Patern C, 3'ünde Patern B iken hipospadiaslı hastaların 18'inde Patern B, 2'sinde Patern A olarak izlendi. FGF-8 ise kontrol hastalarında 6 Patern C, 14 Patern B tutulum tespit edilirken hipospadiaslı hastaların 17'sinde Patern B, 3'ünde Patern A tutulum tespit edildi (Tablo 3).

		FGFR-2		FGF-8		FGF-10	
		Kontrol	Hipospadia	Kontrol	Hipospadia	Kontrol	Hipospadia
		l	s	l	s	l	as
Epidermis	Patern 1	-	19	-	16	-	17
	Patern 2	4	1	5	4	2	3
	Patern 3	16	-	15	-	18	-
Dermis	Patern A	-	1	-	3	-	2
	Patern B	3	19	14	17	3	18
	Patern C	17	-	6	-	17	-

Tablo 3. FGFR-2, FGF-8, FGF-10'un epidermis ve dermis tutulumları

4.3. İstatiksel İnceleme

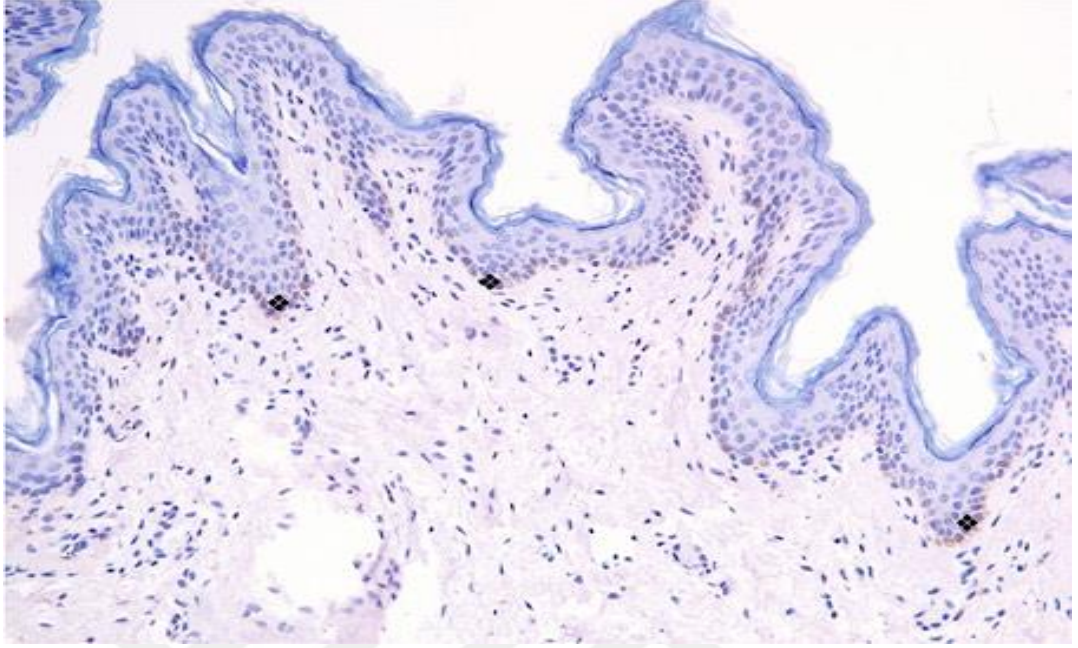
Yapılan bu çalışmada belirteçler incelendiğinde kontrol grubunda FGFR-2, FGF-8 ve FGF-10 için hem epidermis hem de dermis alanlarında daha yüksek oranda tutulum olduğu gözlemlendi. Elde edilen değerler Mann-Whitney U testi kullanılarak kontrol grubu ve hipospadias grubu arasında hipospadiaslı grup

aleyhine istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edildi. $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi (Tablo 4).

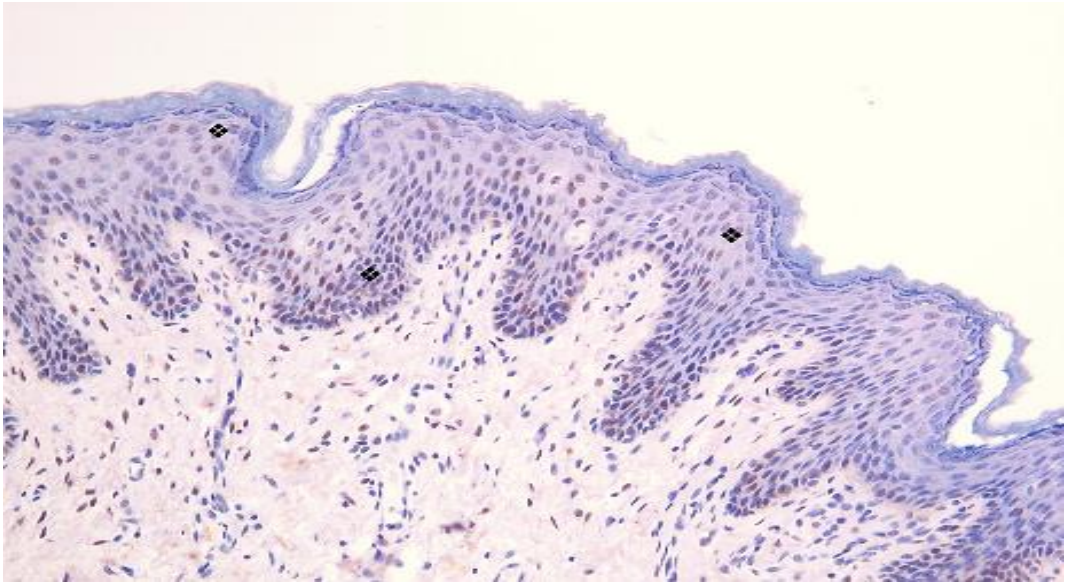
	Kontrol	Hipospadias
Androjen Reseptörü	$2 \pm 0,32$	$3,75 \pm 0,44^*$
Östrojen Reseptörü α	$1,95 \pm 0,39$	$3,80 \pm 0,41^*$
Östrojen Reseptörü β	$2,10 \pm 0,30$	$3,85 \pm 0,36^*$
FGFR 2 Epidermis	$3,80 \pm 0,41$	$2 \pm 0,32^*$
FGFR 2 Dermis	$2,85 \pm 0,36$	$1,95 \pm 0,22^*$
FGF-8 Epidermis	$3,75 \pm 0,44$	$2,15 \pm 0,48^*$
FGF-8 Dermis	$2,30 \pm 0,47$	$1,85 \pm 0,36^{**}$
FGF-10 Epidermis	$3,90 \pm 0,30$	$2,15 \pm 0,36^*$
FGF-10 Dermis	$2,85 \pm 0,36$	$1,90 \pm 0,30^*$

Tablo 4. Kontrol grubu ve hipospadias grubunda belirteçlerin ortalama $\pm$ SS immünohistokimyasal değerlendirilmesi. İstatistiksel anlamlı fark semboller ile gösterilmiştir: $*P < 0.001$, $**P < 0.05$.

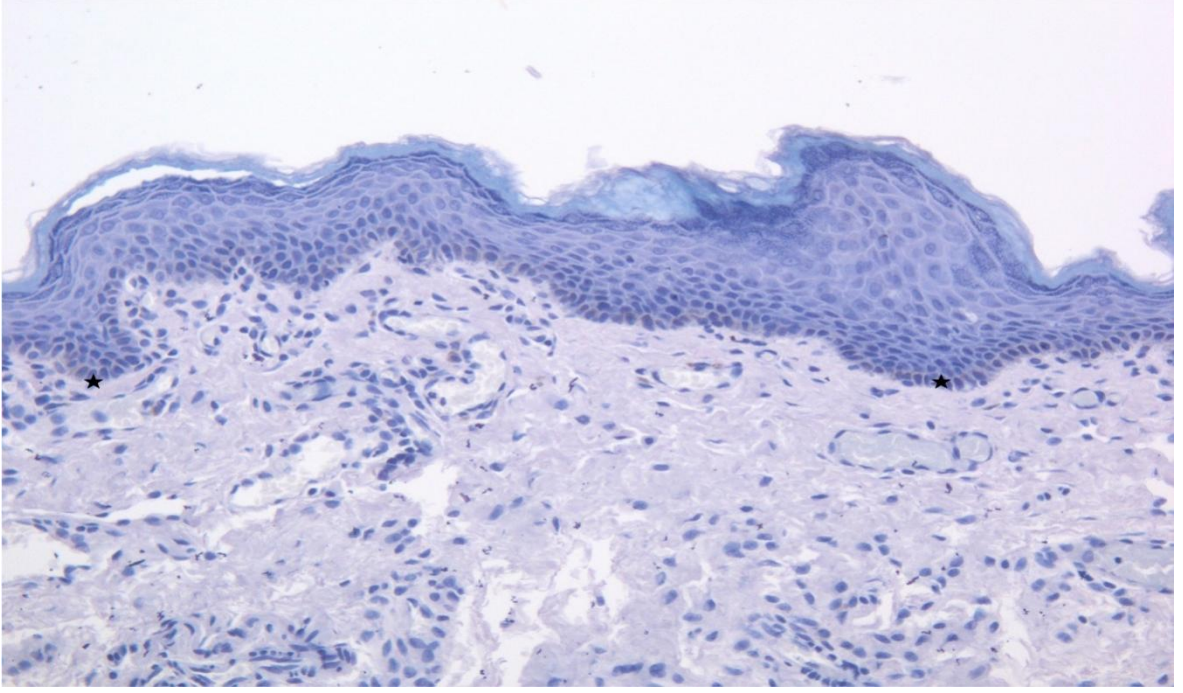
4.4. Mikroskopik Bulgular



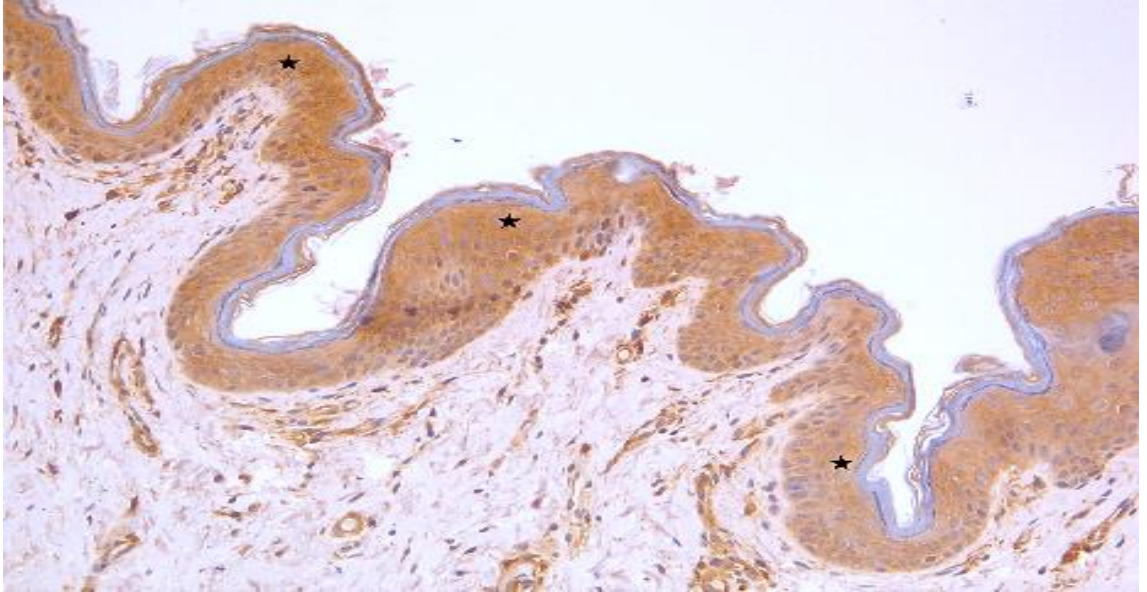
Resim 12: Kontrol Grubunda Androjen Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme)
Bazal keratinositlerde tutulum



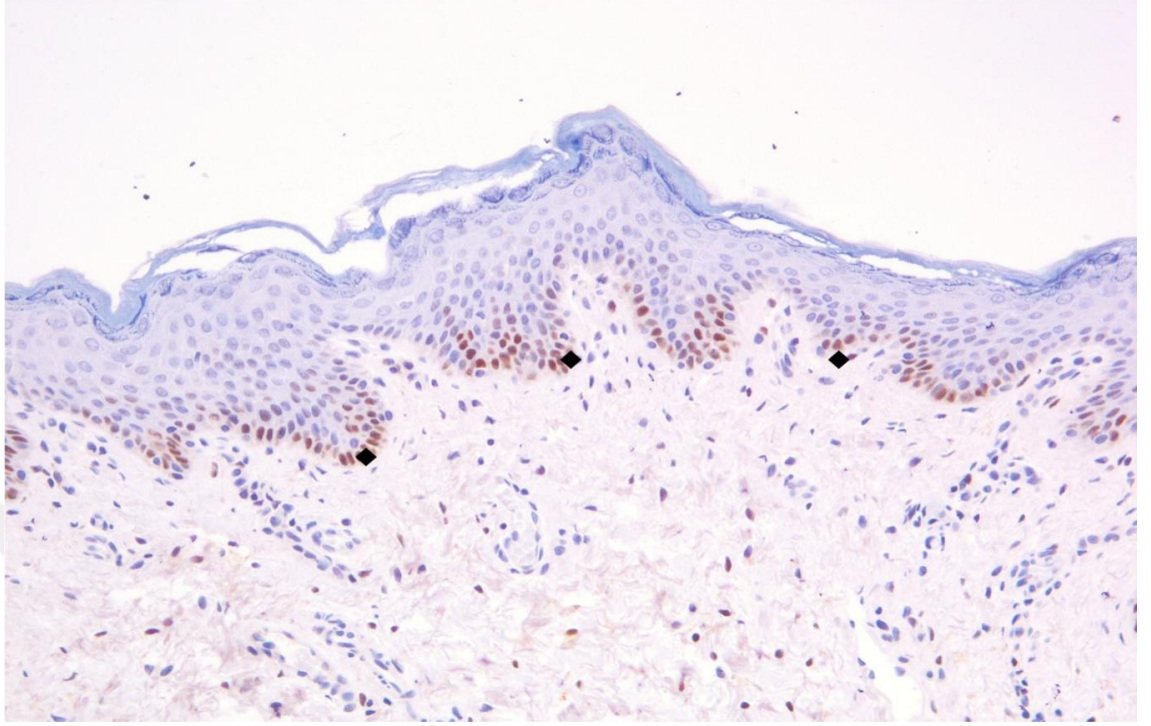
Resim 13: Hipospadias Grubunda Androjen Reseptör (İHC Boyama,200x
Büyütme) Tutulum epidermis alt 2/3 ile sınırlı



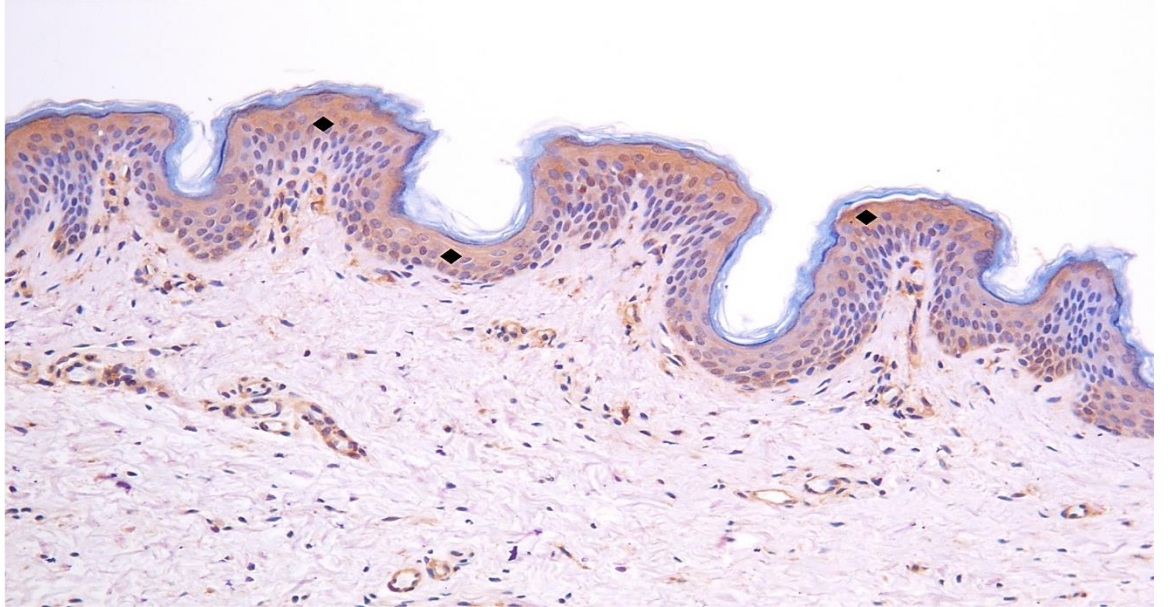
Resim 14:Kontrol Grubunda Östrojen Beta Reseptörü (İHC Boyama,200x Büyütme) Bazal keratinositlerde tutulum



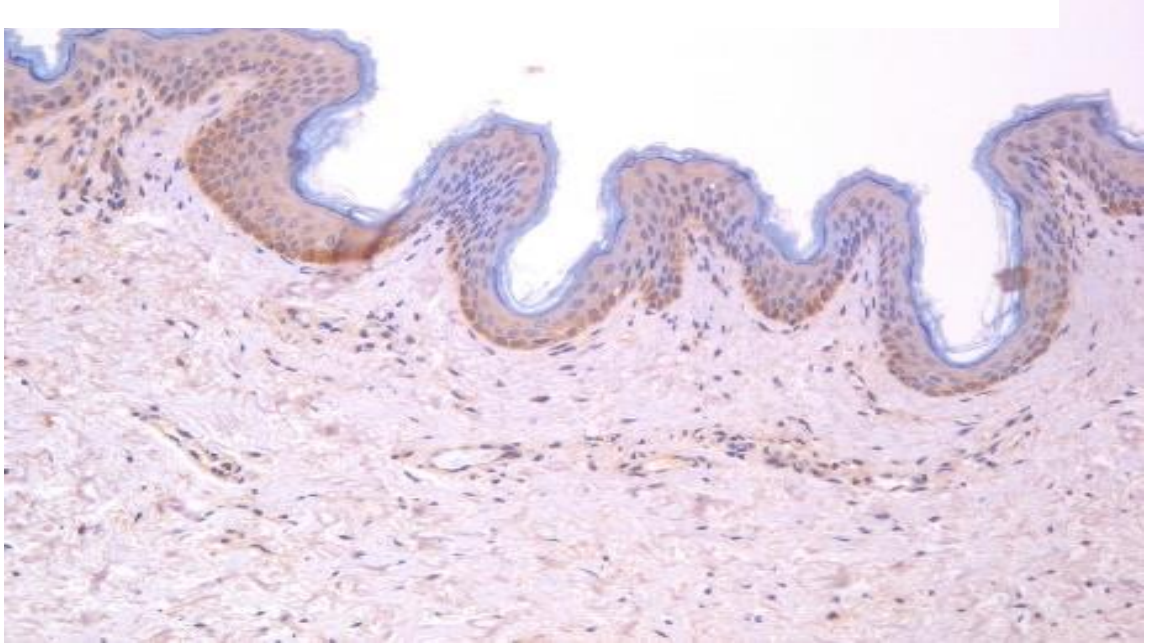
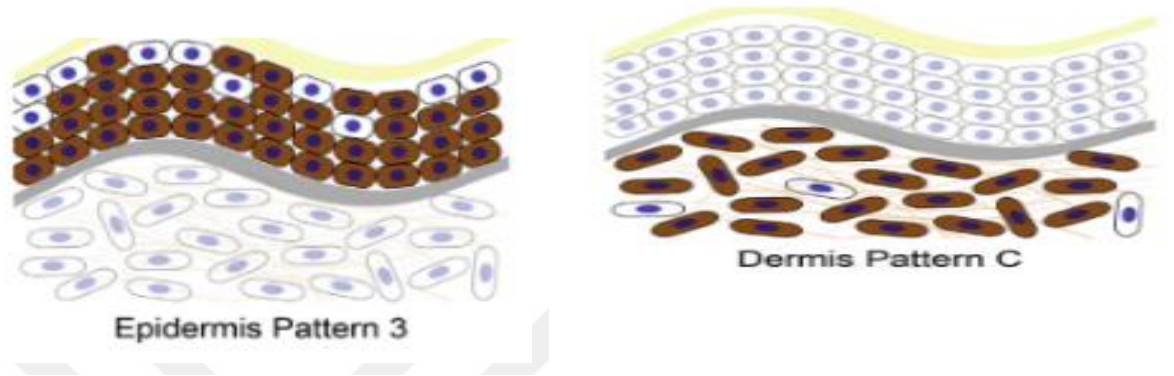
Resim 15:Hipospadias Grubunda Östrojen Beta Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme)Tutulum epidermis alt 2/3 ile sınırlı



Resim 16: Kontrol Grubunda Östrojen Alfa Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme) Bazal keratinositlerde tutulum



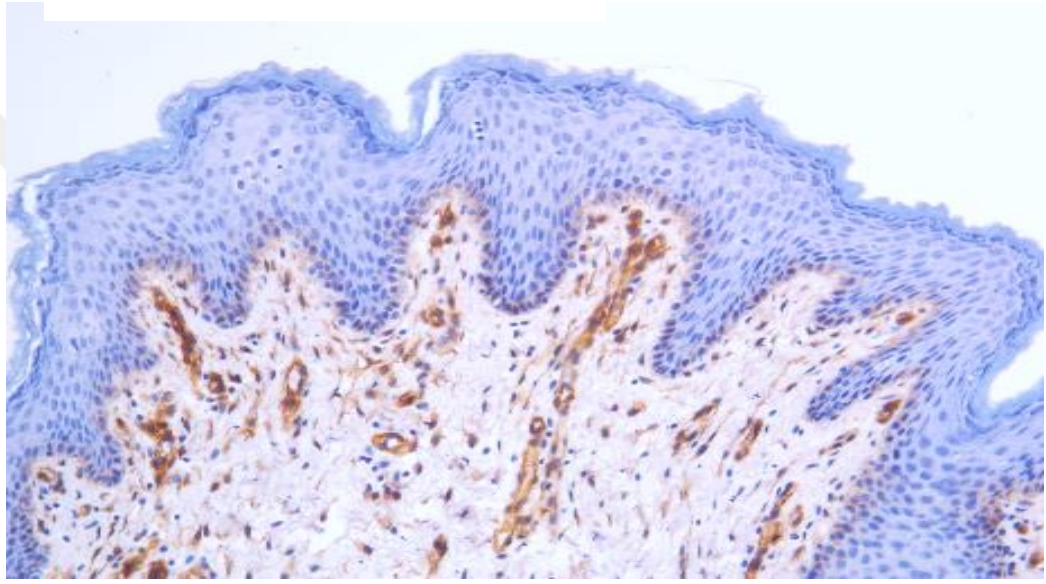
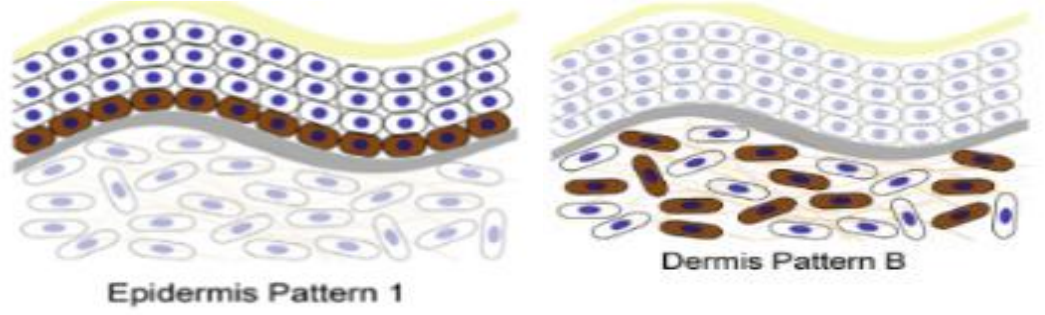
Resim 17: Hipospadias Grubunda Östrojen Alfa Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme) Tutulum epidermis alt 2/3 ile sınırlı



Resim 18: Kontrol Grubunda FGFR-2 Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme)

Epidermis Pattern 3:Keratinositlerin %50'sinden fazlasının tutulumu

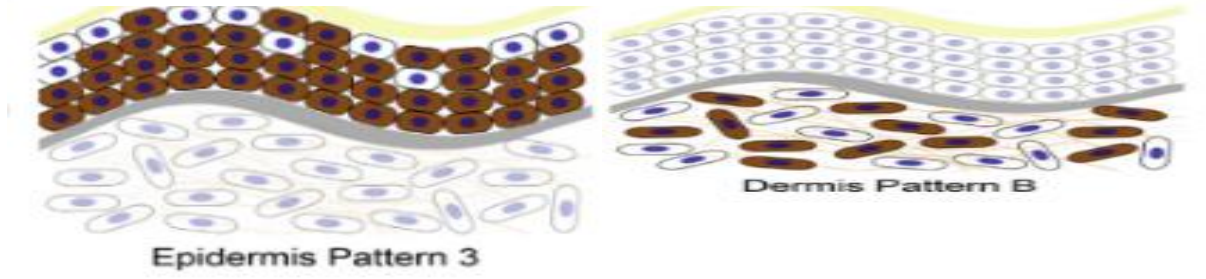
Dermis Pattern C:Kümelenmiş pozitif hücreler tüm görünen dermal hücrelerin %50sinden fazlası



Resim 19:Hipospadias Grubunda FGFR-2 Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme)

Epidermis Pattern 1:Bazal tutulum ile sınırlı,

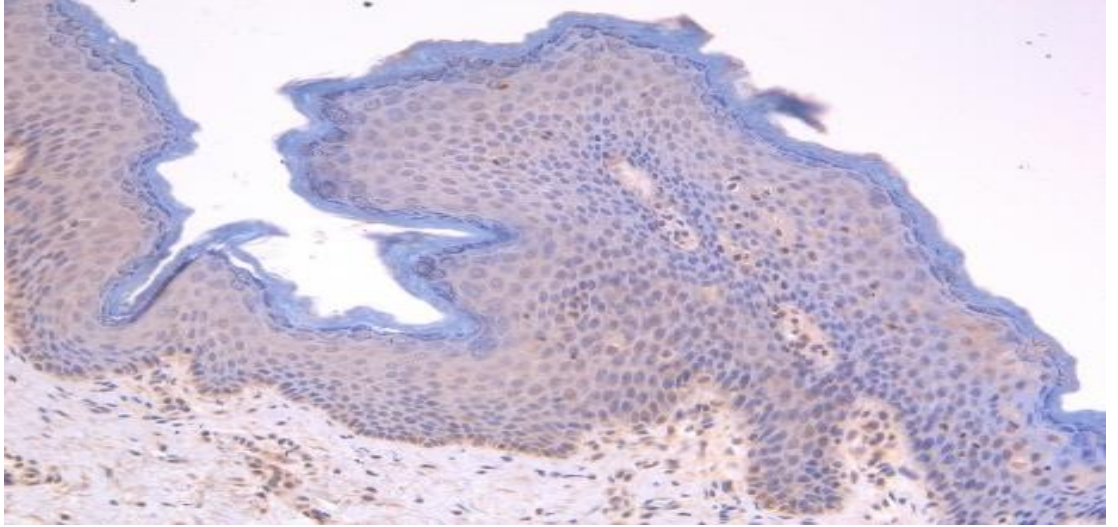
Dermis Pattern B: Dermal hücrelerin %50sinden azında tutulum

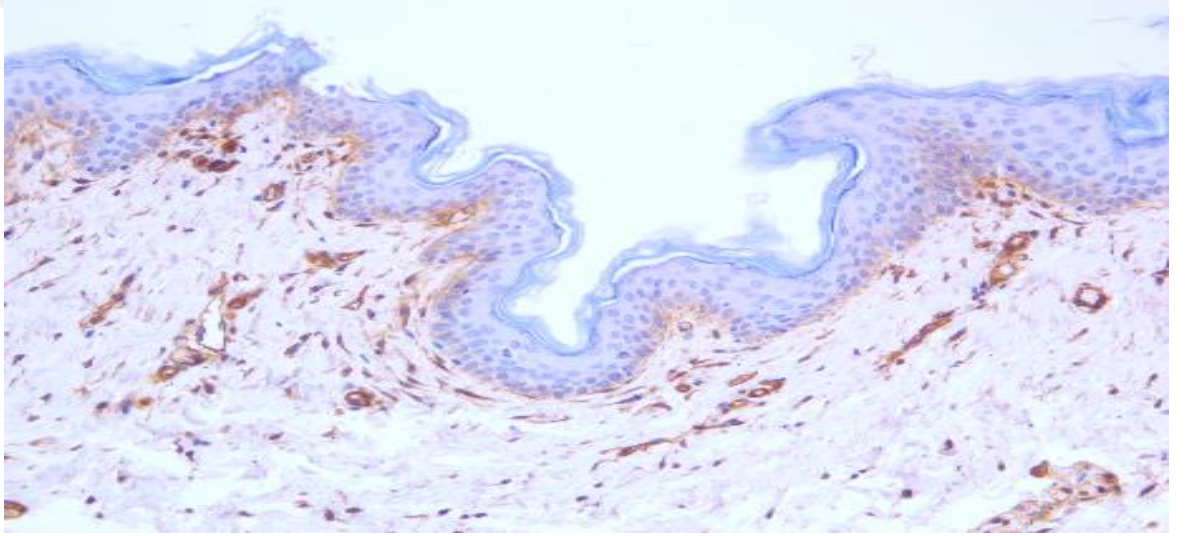
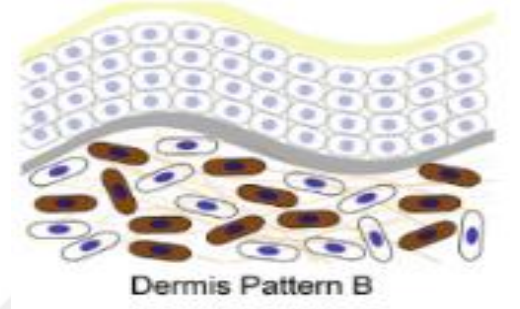
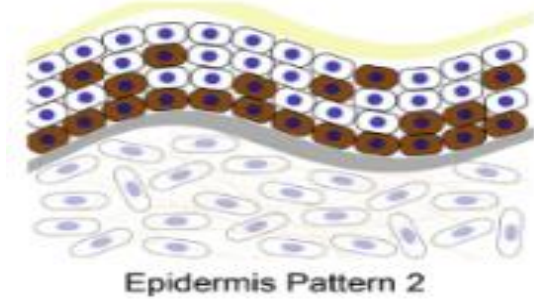


Resim 20: Kontrol Grubunda FGF-8 Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme)

Epidermis Pattern 3:Keratinositlerin %50'sinden fazlasının tutulu

Dermis Pattern B: Dermal hücrelerin %50sinden azında tutulum

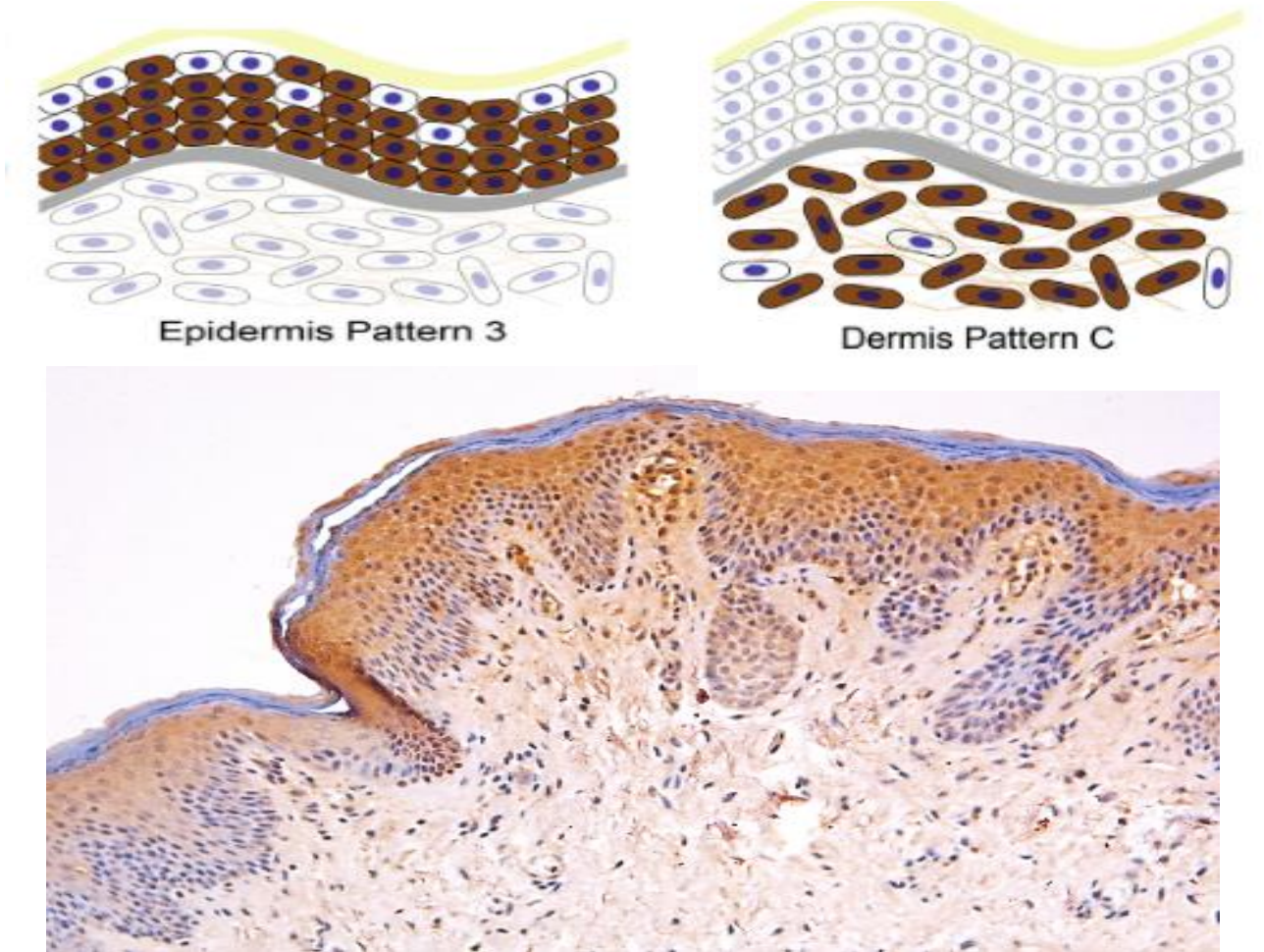




Resim 21:Hipospadias Grubunda FGFR-2 Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme)

Epidermis Pattern 2:Keratinositlerin %50'sinden azının tutulumu

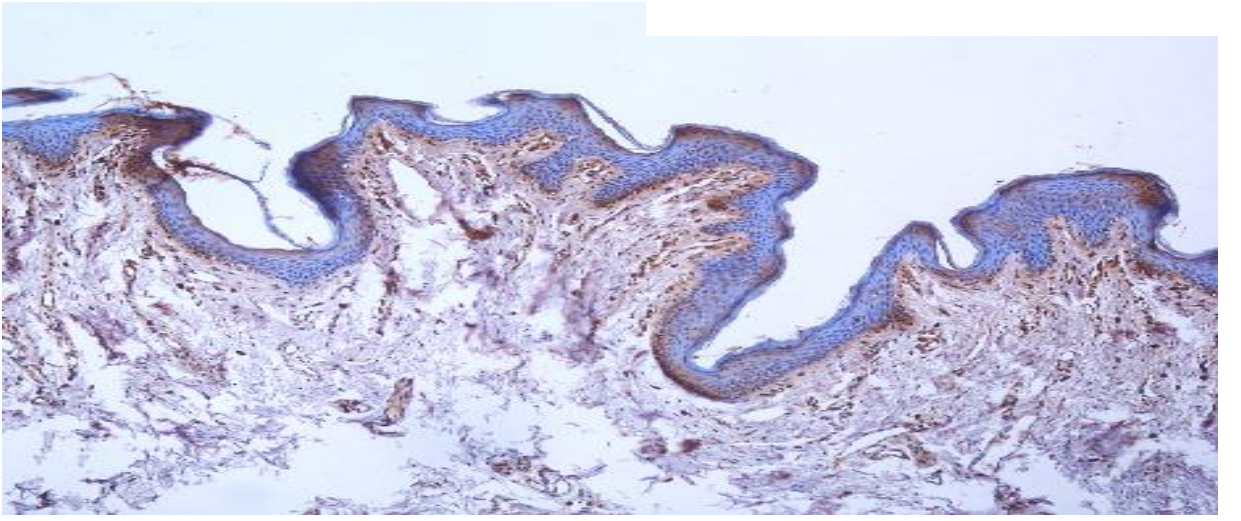
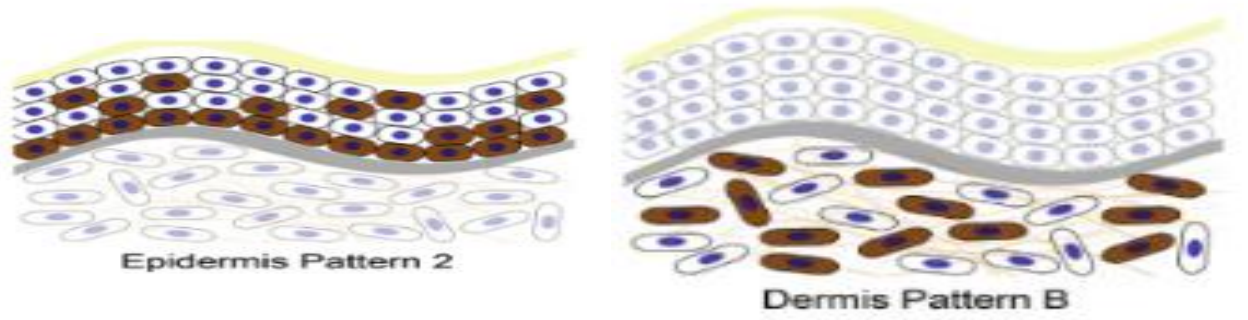
Dermis Pattern B: Dermal hücrelerin %50sinden azında tutulum



Resim 22: Kontrol Grubunda FGF-10 Reseptör (İHC Boyama,200x Büyütme)

Epidermis Pattern 3:Keratinositlerin %50'sinden fazlasının tutulumu

Dermis Pattern C:Kümelenmiş pozitif hücreler tüm görünen dermal hücrelerin %50'sinden fazlası



Resim 23: Hipospadias Grubunda FGF-10 Reseptör (İHC Boyama,200x
Büyütme)

Epidermis Pattern 2: **Keratinositlerin %50'sinden azının tutulumu**
Dermis Pattern B: **Dermal hücrelerin %50sinden azında tutulum**

5. TARTIŞMA

Hipospadias erkeklerde inmemiş testisten sonra en sık karşılaşılan konjenital anomali olarak kabul edilir. Hipospadias etiyolojisinde multifaktöriyel sebepler olduğu düşünülmüştür ve literatürde etiyolojiye yönelik moleküler, genetik, çevresel faktörler üzerine pek çok çalışma mevcuttur (1,2,2,30).

Serum testosteron düzeylerinde düşüklük, hücre çekirdeğinde yer alan androjen bağımlı yolların azalması ve sitoplazmik östrojen bağımlı yollardaki artış, hipospadias ve inmemiş testise neden olabilmektedir (58).

Ektodermal kaynaklı olan prepisyum ve penil cilt gelişiminde, mezoteliyal-epiteliyal etkileşim ile ilişkili olan üretra gelişimindeki embriyolojik anomalilerin hipospadias ortaya çıkmasında etkili olduğu gösterilmiştir (7). Androjenlerin fare ve insan penisinde büyüme ve farklılaşmayı sağladığı, eksikliğinde hipospadias olduğu gösterilmiştir. Hamile kadınlara sentetik bir östrojen olan dietilstilbestrol (DES) verilmesinin hipospadias insidansını arttırdığı gösterilmiştir (55). Preoperatif androjen stimülasyonunun ise penis boyutunda artışa sebep olduğu ancak postoperatif komplikasyon riskini değiştirmediği ve penisin androjen stimülasyonuna yanıt olarak uzamasının hipospadias şiddetinden etkilenmediği gösterilmiştir (56). AR mutasyonları da hipospadias ile ilişkili bulunmuştur (57). Serum testosteron düzeylerinde düşüklük, hücre çekirdeğinde yer alan androjen bağımlı yolların azalması ve sitoplazmik östrojen bağımlı yollardaki artış,

hipospadias ve inmemiş testise neden olabilmektedir. Hipospadias etiolojisinde tek bir faktörü sorumlu tutmak mümkün değildir ve çeşitli faktörlerin etkileşimi ile bu durumun ortaya çıktığı düşünülmektedir. Fetal testis tarafından anormal androjen üretimi, gelişmekte olan genital bölgenin hedef dokularında kısmi androjen duyarsızlığı ve leydig hücrelerinde erken atrofi ile androjen stimülasyonunun erken kesilmesi gibi intrauterin faktörler sorumlu tutulmuştur. Hipospadiasta, özellikle de ciddi formlarında, testosteronun dihidrotestosterona dönüşümünü katalize eden enzim 5-alfa-redüktaz (5-AR) tip 2' de ve androjen reseptöründe ve anormallikler bildirmiştir(10). Östrojen ve östrojen reseptörlerinin normal genital gelişim için hem erkek ve hem dişi cinsiyet için gerekli olduğu bilinmektedir. İnsan ve hayvanlarda östrojen türevi olan dietilstilbestrol ve antiestrojen letrozole (aromatase inhibitor) verildiğinde östrojen dengesizliğine bağlı hipospadias geliştiğini gösteren yayınlarda vardır (55).

Khanna ve arkadaşlarının çalışmasında hipospadiaslı çocukların sünnet derisinde gösterilmişken tam tersi normal erkek çocuklarının sünnet numunelerinde ER ekspresyonunun azalmış ve AR ekspresyonunu ise artmış olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise hipospadiaslı çocuklarda sünnet derisinde hem ER hemde AR reseptör sayısının arttığı gösterilmiştir. Yine Pichler ve arkadaşlarının bu konuyla ilgili öncül çalışmasında hipospadiaslı çocukların sünnet derilerinde AR mRNA ekspresyonu ve immünohistokimyasal olarak AR protein seviyesinin ve nükleer boyamada AR protein boyamasının arttığı ve bu artışın hipospadias derecesi ile korele olduğu da gösterilmiştir. Onlar

hipospadiaslı erkek çocukların prepisyum örneklerinde AR mRNA ve AR proteini yüksekliğinin, AR DNA bağlama kapasitesinin azalmasının dolaylı bir göstergesi olduğunu söylemişlerdir. Bu nedenle de daha fazla eksik polipeptit kodlamasına işaret eden bir sinyal kusurunu işaret ederek hipospadiasın olası bir nedeni olarak göstermişlerdir. AR mRNA ve AR proteininin diferansiyel ekspresyonunun, AR sinyal kusurunun kapsamını ve hipospadiasın ciddiyetini gösterip göstermediğini belirlemek için, bu hipotezi desteklemek için AR'nin yapısal analizi ile daha fazla çalışma yapılmalıdır şeklinde yorum yapmışlardır(8). Bizim çalışmamızda ekspresyon çalışmaları yapılmasa da AR seviyeleri dokuda yüksek bulunarak bu teoriyi destekler sonuçlar elde edilmiştir. Hipospadiası olan 33 çocuktan elde edilen derinin incelendiği Celayir ve arkadaşlarının çalışmasında ise 29(%87.8) dokuda ER ve 12 (%36.4) dokuda AR immünohistokimyasal olarak pozitif bulunmuştur. Progesteron reseptörü ise tüm spesimenlerde negatif(%0) bulunmuştur(59).

Cunha ve arkadaşları sırtlanlarda östrojenlerin penil ve klitoral gelişimde kritik bir rol oynadığını, üretral orifisin konumunu belirlediğini, üretral meatusun esnekliğini sağladığını ve distal üretra/ürogenital sinüs ve sünnet derisinin düzgün oluşumu için gerekli epitelyal füzyon olaylarını kolaylaştırdığını göstermiştir. Doğum öncesi androjenlerin, anti-androjenlerin ve bozulmuş östrojen sentezinin etkileri, androjen ve östrojen reseptörlerinin belirgin doku ekspresyonu ile ilişkilidir diyerek östrojenin prenatal penil gelişimde androjen gibi aktif bir rol oynadığını göstermişlerdir (62). Celayir ve arkadaşları hipospadiaslı çocukların penil dokularında ER'lerinin baskın ekspresyonunu dış genital organların

intrauterin gelişimi sırasında bozulmuş östrojen ve androjen reseptör etkileşiminin doğum sonrası yansıması olarak tarifleyip bozulmuş AR ve ER etkileşiminin hipospadias ve dış genital organların gelişiminde rol oynayabilir şeklinde yorum yapmışlardır (59). Qiao ve arkadaşları ise benzer şekilde hipospadias ve sünnet dokusunda östrojenin etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla, elde edilen dokularda östrojen reseptörü bakılmıştır. Östrojen reseptörü α ve β 'nin(normal sünnet derisinde baskın karakter) mRNA ekspresyonunun, kontrol grubuna göre hipospadiak derilerde anlamlı düzeyde düşük olduğu gösterilmiştir. Ayrıca ER- β immünohistokimyasal olarak hipospadiak deride zayıf boyanmışken normal deride belirgin boyanmıştır. ER- α ise normal ve hafif hipospadiaslı derilerde zayıf boyanmışken ciddi hipospadiaslılarda tespit edilememiştir(9,10).

Sonuç olarak hafif dereceli hipospadias ile karşılaştırıldığında şiddetli hipospadias olgularında daha düşük östrojen reseptör ekspresyon seviyelerine doğru bir eğilim olmasını östrojen reseptör seviyelerindeki değişikliklerin normal ve anormal sünnet derisi gelişiminde rol oynadığını söylemişlerdir(9). Bizim çalışmamızda ise hem ER hem AR hipospadiaslı dokuda artmış olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar hem östrojenin hem de androjenlerin genital sistem gelişim ve hipospadias oluşumunda rol oynadığının kanıtı olup hipospadiaslı hastalardaki artmış ER ve AR reseptör skorlamasının üstte anlatılan ve intrauterin dönemde başlayan ER ve AR dengesinin bozukluğunun devamı ve belki de vücudun bu dengesizliği dengelemeye çalışmasının ifadesi olarak gösterilebilir.

FGF'ler, özellikle FGF-8, FGF-10 ve FGFR-2, üretral kıvrımların füzyonu ve genital tüberkülün büyümesi için kritik öneme sahiptir. Fare modellerinde, FGF-8, FGF-10 ve FGFR-2 penis derisi ve sünnet derisi gibi ektodermal kökenli dokuların gelişimini etkilediği gösterilmiştir. Bu faktörlerden mutant farelerde ciddi hipospadias geliştiği de gösterilmiştir. FGF ailesi genital yapıların gelişiminde görev almakta olup özellikle FGF-8, FGF-10, FGFR-2'nin mezenkim ve üroteliyum arasında ki etkileşimde görev alması nedeniyle kusurlarında hipospadias riskinin arttığı gösterilmiştir (60). FGF-8, FGF-10 ve FGFR-2'deki tek bazlı mutasyonlar insanlarda hipospadias ile ilişkilidir ve kontrol grubuna göre hipospadias riski 3-4 kat arttığı gösterilmiştir (7). Fakat bu faktörlerin sünnet derisi veya penil dokudaki konsantrasyonu veya resöpter yoğunluğu hakkındaki çalışmalar sınırlıdır. Haid ve arkadaşlarının hipospadais sünnet derisinde FGF ailesi bileşenlerinin yoğunluğunun araştırıldığı öncü çalışmasında 32 hipospadiaslı hastanın sünnet derisinde normal sünnet derilerine göre FGF-8, FGF-10, FGFR-2 mRNA ekspresyon düzeylerinde fark bulunmazken, immunohistokimyasal boyama dağılımında ise anlamlı fark gözlenmiştir. Kontrol grubuna göre epidermiste hipospadias olanlarda daha belirgin olmak üzere bu belirteçlerin immunohistokimyasal boyamaları daha yüksek (2/3) paternde pozitif bulunmuşken proksimal hipospadias olanlarda bu belirteçler distal hipospadiaslara göre de daha belirgindir($p<0.05$). Dermiste de bu HGF'ler kontrol grubuna göre daha yüksek paternde boyanmışken(B/C) hipospadias tipleri arasında benzer boyanama paterni göstermiştir. Haid ve arkadaşları fare modellerindeki FGF-8, FGF-10 ve FGFR-2'nin mutasyonlarıyla oluşan

hipospadias ile kendi sonuçlarıyla ilişkilendirerek FGF'lerin hipospadias oluşumunda etkin rol oynadığını göstermiş olduklarını vurgulamışlardır. Onlar bu bulgularıyla, genital gelişimin erken evreleri ile ilgili FGF moleküllerindeki mutasyonların, insanlarda da ektodermal olarak türetilmiş dokular üzerinde bir etki yaratabileceği hipotezini güçlü bir şekilde destekleyerek hipospadiaslı hastalarda dartos fasyasının ciddi şekilde değişmiş mikroanatomisinin FGF'lerin mezenkimal dokular üzerindeki etkisine bağlı olduğunu söylemişlerdir. FGF sinyali epitelyal-mezenkimal sınırlar boyunca yönsel ve karşılıklı olarak çalıştığı gösterilmiş olup mezenkimal FGF ekspresyonu ile üstte yatan epitelyal farklılaşmanın indüklediği bilinmektedir. Daha çok ciddi hipospadiaslılarda yara iyileşmesinin kötü olması ve komplikasyonların sıklığının bu FGF ailesindeki değişikliklerin yansıması şeklinde gösterdiğini söyleyerek hipospadias gelişimi hakkında belirgin yorum yapmamışlardır. Bu konuda yapılmış ikinci çalışma olan bizim çalışmamızda ise mRNA ekspresyonu çalışması yapılmamış ama hem epidermis hemde dermiste FGF-8, FGF-10, FGFR-2 immunohistokimyasal çalışmalarında hipospadias grubunda daha düşük skorlamalar elde edilmiştir (7).

İnsan hipospadias sünnet derisi dokusundaki androjen yanıt elemanı dizilerine dayanan AR resöptörleriyle FGFR-2 başta olmak üzere FGF-8 ve FGF-10'un ekspresyonu, pozitif olarak düzenlenir. Bununla birlikte, AR ekspresyonu ise FGF'lerden bağımsız ve geri bildirim olmadan çalışır (63,64). Bizim çalışmamız ve Haid'in çalışmasında bu FGF değerlerindeki değişiklikler belki de üstte anlatılan FGF'ler ve AR arasındaki dengenin bozulmasından

kaynaklanabilir. Bizim çalışmamızdaki FGF düşüklüğüne rağmen AR seviyelerin düşük geri bildirim eksikliğinden kaynaklanabilir.

Farelerde FGF ailesindeki mutasyonlar ciddi hipospadias ile ilişkilendirilmişken, insanlarda da FGF-8, FGF-10 ve özellikle FGFR-2'deki tek gen mutasyonlarında hipospadias geliştiği bildirilmiştir(7). Endodermal FGFR-2 delesyonu hafif hipospadias ve defektif üretra epiteline neden olurken, ektodermal FGFR-2 delesyonu ise ciddi hipospadias ve ventral prepisyum kaybına neden olur (61). FGF-8, FGF-10 ve FGFR-2 embriyonik gelişimin androjenden bağımsız erken bir aşamasında özellikle uzuvların ve genital tüberkülün oluşumuyla Sonic Hedgehog'un düzenlenmesi yoluyla yakından bağlantılıdır. Mezenkimal FGF sinyali, ektodermal ve endodermal epiteli etkileyerek genital tüberkülün aşırı büyümesine neden olur. Fare modellerinde, FGF-8, FGF-10 ve FGFR-2'nin penis derisi ve sünnet derisi gibi ektodermal kökenli dokuların gelişimini etkilediği üstte anlatıldığı gibi literatürde gösterilmiş olmasına rağmen bu bulgu henüz insan dokusunda doğrulanmamıştır. İster Haid ve arkadaşlarının çalışması olsun ister bizim çalışmamız olsun bu konudaki çalışmaların kısıtlılığı nedeniyle birbirinden farklı sonuçlar olsada penil doku FGF-8, FGF-10 ve FGFR-2 tutulum ve skorlarının bu çalışmalarda kontrol grubuna göre farklı değerler elde edilmesiyle FGF ailesinin insanlarda da genital gelişim ve hipospadiasla ilişkili olduğunun kanıtıdır.

Bu çalışmanın kısıtlılıkları bütçe azlığı nedeniyle az sayıda vaka ile çalışılması, kan östrojen ve androjen seviyelerinin bakılamaması, mRNA

ekspresyonu yapılamamasıdır. Diğer hipospadias çalışmalarında da olduğu gibi sonuçların tek bir etnik popülasyonu veya ırkı örnek alması nedeniyle küçük bir grubu yansıtmaktadır. Bu çalışmanın güçlü yönü ise AR, ER ve FGF-8, FGF-10 ve FGFR-2' nin aynı anda bakılan tek çalışma olmasıdır.

6. SONUÇ

Hipospadiaslı ve normal çocukların sünnet derilerinde yapılan immunohistokimyasal çalışmalar ile normal çocuk doku örneklerine göre ER ve AR tutulumlarının hipospadias doku örneklerinde yüksek olduğu ve FGF-8, FGF-10 ve FGFR-2 tutulumlarının ise düşük olduğu gösterilerek bu faktörlerin hipospadias gelişiminde birbirlerini etkileyerek rollerinin olduğu desteklenmiştir. Literatürde bu konu ile ilgili kısıtlı sayıda çalışma olması ve değerlendirilen bazı parametrelerde birbiriyle örtüşmeyen sonuçlar vermesi bu konu hakkında ileride daha çok araştırma yapılması gerektiğini göstermektedir.

7. KAYNAKLAR

- 1) Bouty A, Ayers KL, Pask A, Heloury Y, Sinclair AH. The Genetic and Environmental Factors Underlying Hypospadias. *Sex Dev.* 2015;9(5):239-259. doi: 10.1159/000441988. Epub 2015 Nov 28. PMID: 26613581; PMCID: PMC5012964.
- 2) Blaschko SD, Cunha GR, Baskin LS. Molecular mechanisms of external genitalia development. *Differentiation.* 2012 Oct;84(3):261-8. doi: 10.1016/j.diff.2012.06.003. Epub 2012 Jul 11. PMID: 22790208; PMCID: PMC3443292.
- 3) van der Horst HJ, de Wall LL. Hypospadias, all there is to know. *Eur J Pediatr.* 2017 Apr;176(4):435-441. doi: 10.1007/s00431-017-2864-5. Epub 2017 Feb 11. Erratum in: *Eur J Pediatr.* 2017 Oct;176(10):1443. PMID: 28190103; PMCID: PMC5352742.
- 4) George M, Schneuer FJ, Jamieson SE, Holland AJ. Genetic and environmental factors in the aetiology of hypospadias. *Pediatr Surg Int.* 2015 Jun;31(6):519-27. doi: 10.1007/s00383-015-3686-z. Epub 2015 Mar 6. PMID: 25742936.
- 5) Kalfa N, Gaspari L, Ollivier M, Philibert P, Bergougnoux A, Paris F, Sultan C. Molecular genetics of hypospadias and cryptorchidism recent developments. *Clin Genet.* 2019 Jan;95(1):122-131. doi: 10.1111/cge.13432. Epub 2018 Oct 26. PMID: 30084162.
- 6) Wilcoz DT, Thomas DFM. *Essentials of Pediatric Urology.* CRC Press, 3rd Edition. 2022.
- 7) Haid B, Pechriggl E, Nägele F, Dudas J, Webersinke G, Rammer M, Fritsch H, Oswald J. FGF-8, FGF-10 and FGF receptor 2 in foreskin of children with hypospadias: an analysis of immunohistochemical expression patterns and gene transcription. *J Pediatr Urol.* 2020 Feb;16(1):41.e1-41.e10. doi: 10.1016/j.jpuro.2019.10.007. Epub 2019 Oct 18. PMID: 31718875.
- 8) Pichler R, Djedovic G, Klocker H, Heidegger I, Strasak A, Loidl W, Bektic J, Skradski V, Horninger W, Oswald J. Quantitative measurement of the androgen receptor in prepuces of boys with and without hypospadias. *BJU Int.* 2013 Jul;112(2):265-70. doi: 10.1111/j.1464-410X.2012.11731.x. Epub 2013 Mar 7. PMID: 23469946.
- 9) Qiao L, Rodriguez E Jr, Weiss DA, Ferretti M, Risbridger G, Cunha GR, Baskin LS. Expression of estrogen receptor alpha and beta is decreased in hypospadias. *J Urol.* 2012 Apr;187(4):1427-33. doi:

10.1016/j.juro.2011.12.008. Epub 2012 Feb 16. PMID: 22341273; PMCID: PMC3428051.

- 10) Khanna S, Shankar Raman V, Badwal S, Vinu Balraam KV. Quantification of the Androgen and Estrogen Receptors in the Penile Tissues of Hypospadias in Comparison with Normal Children. *Fetal Pediatr Pathol*. 2022 Aug 22;1-12. doi: 10.1080/15513815.2022.2104496. Epub ahead of print. PMID: 35996228.
- 11) Kocaturk H, Özkaya F, Adanur S, Yapanoglu T, Aksoy Y. Expression of androgen receptor and estrogen receptor-beta in foreskin tissue of hypospadiac and healthy boys. *Arch Esp Urol*. 2020 Mar;73(2):119-125. English, Spanish. PMID: 32124842.
- 12) Nikolaev VV, Solontsov YN. [Epidemiology and theories of the origin of hypospadias]. *Urologiia*. 2018 Jul;(3):141-145. Russian. PMID: 30035435.
- 13) Yücel S, Şekerci ÇA. Penis ve üretra embriyolojisi. Germiyanoglu RC, editör. *Hipospadias*. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2020. p.5-9.
- 14) Sadler T.W.-Langman's Medical Embriology-Lippincott Williams & Wilkins (2003). 9th edition. S.349-351.
- 15) Favorito LA. *Translational Research in Pediatric Urology*. Springer. 2021. doi:10.1007/978-3-030-50220-1_1
- 16) Başaklar A. *Hipospadias. Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları*. 2: Palme Yayıncılık; 2006. p. 1571-1659.
- 17) Kaplan GW, Brock W: The etiology of chordee. *Urol Clin North Am* 8: 383-387, 1981.
- 18) Drake, R., Vogl, W., Mitchell, A. 2019. *Gray's Anatomy Student's Book*, 4th Edition, p.501.
- 19) S. Çelik , K. D. Kılıç , G. Yiğittürk , T. Çavuşoğlu , O. Erbaş , Y. Uyanıkgil and O. Bilge , "Penis naklinde güncel durum; morfolojik bir değerlendirme", *İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Transplantasyon Dergisi*, vol. 2, no. 1, pp. 34-44, Feb. 2017, doi:10.5606/fng.transplantasyon.2017.007.
- 20) Myers RP. Whither go pro-erectile nerves of the neurovascular bundles? *Eur Urol* 2011;59:910-1.
- 21) STANDRING S. *GRAY'S ANATOMY: The Anatomical Basis of Clinical Practice*, 41.Basım. 2016.

- 22) Büyükcünal SCN. Ülkemizde Çocuk ürolojisinin gelişim sürecine bir bakış, Çocuk Cerrahisi Dergisi. 29(1):1-1. 2015.
- 23) Arkan, G, & Çobanoğlu, N. (2022). Brief History of Pediatric Surgery and Establishment Stages in Turkey. GAZI MEDICAL JOURNAL, (34)
- 24) İnanç İ. Normal ve hipospadiaslı çocukların prepisyumlarındaki yapısal ve moleküler genetik özelliklerin karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, 2020.
- 25) Camoglio FS, Bruno C, Zambaldo S, Zampieri N. Hypospadias anatomy: Elastosonographic evaluation of the normal and hypospadias penis. J Pediatr Urol. 2016 Aug;12(4):199.e1-5. doi: 10.1016/j.jpuro.2016.02.007. Epub 2016 Feb 23. PMID: 26961280.
- 26) Barcat J. Anatomic-clinical studies in hypospadias symposium. Ann Chir Infant 1969;10:285.
- 27) Abbas TO. An objective hypospadias classification system. J Pediatr Urol. 2022 Aug;18(4):481.e1-481.e8. doi: 10.1016/j.jpuro.2022.05.001. Epub 2022 May 11. PMID: 35644790.
- 28) Duckett JW Jr. Hypospadias. Pediatr Rev. 1989 Aug;11(2):37-42. doi: 10.1542/pir.11-2-37. PMID: 2668910.
- 29) Blaschko SD, Cunha GR, Baskin LS. Molecular mechanisms of external genitalia development. Differentiation. 2012 Oct;84(3):261-8. doi: 10.1016/j.diff.2012.06.003. Epub 2012 Jul 11. PMID: 22790208; PMCID: PMC3443292.
- 30) Marrocco G, Grammatico P, Vallasciani S, Gulia C, Zangari A, Marrocco F, et al. Environmental, parental and gestational factors that influence the occurrence of hypospadias in male patients. J Pediatr Urol 2015;11(1):12-9.
- 31) Kalfa N, Philibert P, Baskin LS, Sultan C. Hypospadias: interactions between environment and genetics. Mol Cell Endocrinol. 2011 Mar 30;335(2):89-95. doi: 10.1016/j.mce.2011.01.006. Epub 2011 Jan 21. PMID: 21256920.
- 32) Frisen, L., et al. "A novel duplication in the HOXA13 gene in a family with atypical hand-foot-genital syndrome." Journal of Medical Genetics 40.4 (2003): e49-e49.
- 33) Morgan EA, Nguyen SB, Scott V, Stadler HS. Loss of Bmp7 and FGF-8 signaling in Hoxa13-mutant mice causes hypospadias. Development 2003;130(14):3095-109.

- 34) Wang CH, Zeng Q, Jiang XZ, Wan B, He LY. [Distribution of HoxA13 in the prepuce and urethral plate in different types of hypospadias and its implication]. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2013 Sep;19(9):806-10. Chinese. PMID: 24386859.
- 35) Kalfa N, Philibert P, Sultan C. Is hypospadias a genetic, endocrine or environmental disease, or still an unexplained malformation? *Int J Androl*. 2009 Jun;32(3):187-97. doi: 10.1111/j.1365-2605.2008.00899.x. Epub 2008 Jul 11. PMID: 18637150.
- 36) Gerald T, Raj G. Testosterone and the Androgen Receptor. *Urol Clin North Am*. 2022 Nov;49(4):603-614. doi: 10.1016/j.ucl.2022.07.004. PMID: 36309417.
- 37) (Tilley WD, Marcelli M., Wilson JD, et. al.: İnsan androjen reseptörünü kodlayan bir cDNA'nın karakterizasyonu ve ifadesi. *Proc Natl Acad Sci ABD* 1989; 86: s. 327-331.
- 38) Khanna S, Raman S, Badwal S, Vinu Balraam KV. Preliminary Reference Interval for 5-Alpha Reductase in Normal Male Children and Its Association with Hypospadias. *J Appl Lab Med*. 2022 Oct 29;7(6):1329-1336. doi: 10.1093/jalm/jfac063. PMID: 35962645.
- 39) Kumar G, Barboza-Meca JJ. 5 Alpha Reductase Deficiency. 2022 Oct 17. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. PMID: 30969726.
- 40) Baskin L. Quantitative measurement of the androgen receptor in prepuces of boys with and without hypospadias. *BJU Int*. 2013 Jul;112(2):159-60. doi: 10.1111/j.1464-410X.2012.11783.x. PMID: 23795783.
- 41) Thornton MJ. The biological actions of estrogens on skin. *Exp Dermatol*. 2002 Dec;11(6):487-502. doi: 10.1034/j.1600-0625.2002.110601.x. PMID: 12473056.
- 42) Beleza-Meireles A, Lundberg F, Lagerstedt K, Zhou X, Omrani D, Frisén L, Nordenskjöld A. FGFR-2, FGF-8, FGF-10 and BMP7 as candidate genes for hypospadias. *Eur J Hum Genet*. 2007 Apr;15(4):405-10. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201777. Epub 2007 Jan 31. PMID: 17264867.
- 43) Harada M, Omori A, Nakahara C, Nakagata N, Akita K, Yamada G. Tissue-specific roles of FGF signaling in external genitalia development. *Dev Dyn*. 2015 Jun;244(6):759-73. doi: 10.1002/dvdy.24277. PMID: 25820239.
- 44) van der Zanden LF, van Rooij IA, Feitz WF, Franke B, Knoers NV, Roeleveld N. Aetiology of hypospadias: a systematic review of genes and

environment. *Hum Reprod Update*. 2012 May-Jun;18(3):260-83. doi: 10.1093/humupd/dms002. Epub 2012 Feb 26. PMID: 22371315.

- 45) Kaefer M, Rink R, Misseri R, Winchester P, Proctor C, Ben Maamar M, Beck D, Nilsson E, Skinner MK. Role of epigenetics in the etiology of hypospadias through penile foreskin DNA methylation alterations. *Sci Rep*. 2023 Jan 11;13(1):555. doi: 10.1038/s41598-023-27763-5. PMID: 36631595; PMCID: PMC9834259.
- 46) N O R T H K , G O L D I N G J, THE ALSPAC STUDY TEAM. A maternal vegetarian diet in pregnancy is associated with hypospadias. *BJU International*(2000),85,107-113.
- 47) Giordano F, Carbone P, Nori F, Mantovani A, Taruscio D, Figà-Talamanca I. Maternal diet and the risk of hypospadias and cryptorchidism in the offspring. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2008 May;22(3):249-60. doi: 10.1111/j.1365-3016.2007.00918.x. PMID: 18426520.
- 48) Kjersgaard CL, Arendt LH, Ernst A, Søndergaard Lindhard M, Olsen J, Henriksen TB, Strandberg-Larsen K, Ramlau-Hansen CH. Lifestyle in Pregnancy and Hypospadias in Sons: A Study of 85,923 Mother-Son Pairs from Two Danish Pregnancy Cohorts. *Clin Epidemiol*. 2022 Feb 9;14:149-157. doi: 10.2147/CLEP.S335877. PMID: 35173488; PMCID: PMC8841293.
- 49) Ceccarelli PL, Lucaccioni L, Poluzzi F, Bianchini A, Biondini D, Iughetti L, Predieri B. Hypospadias: clinical approach, surgical technique and long-term outcome. *BMC Pediatr*. 2021 Nov 26;21(1):523. doi: 10.1186/s12887-021-02941-4. PMID: 34836527; PMCID: PMC8620229.
- 50) Taghavi K, O'Hagan LA, Hewitt JK, Mouriquand P. Defining the role of pre-operative hormonal therapy in hypospadias. *J Paediatr Child Health*. 2022 Sep;58(9):1508-1519. doi: 10.1111/jpc.16087. Epub 2022 Jul 6. PMID: 35791898; PMCID: PMC9545156 .
- 51) Netto JM, Ferrarez CE, Schindler Leal AA, Tucci S Jr, Gomes CA, Barroso U Jr. Hormone therapy in hypospadias surgery: a systematic review. *J Pediatr Urol*. 2013 Dec;9(6 Pt B):971-9. doi: 10.1016/j.jpuro.2013.03.009. Epub 2013 Apr 19. PMID: 23602841.
- 52) Snodgrass W. Tubularized, incised plate urethroplasty for distal hypospadias. *J Urol*. 1994 Feb;151(2):464-5. doi: 10.1016/s0022-5347(17)34991-1. PMID: 8283561.
- 53) Yazıcı CM, Yücel S. Distal Hipospadias Cerrahisi. *Türk Üroloji Seminerleri*, 2011.

- 54) Mouriquand PM, P. Y. Hypospadias. In: Puri PH (ed). *Pediatric Surgery Atlas*: Springer; 2006. p. 529-42.
- 55) Cripps SM, Mattiske DM, Black JR, Risbridger GP, Govers LC, Phillips TR, Pask AJ. A loss of estrogen signaling in the aromatase deficient mouse penis results in mild hypospadias. *Differentiation*. 2019 Sep-Oct;109:42-52. doi: 10.1016/j.diff.2019.09.001. Epub 2019 Sep 6. PMID: 31520742.
- 56) Do MT, Kim L, Im YJ, Hahn S, Park K. Effect of Preoperative Androgen Stimulation on Penile Size and Postoperative Complication Rate in Patients with Hypospadias: A Systematic Review and Meta-analysis. *World J Mens Health*. 2023 Jan 4. doi: 10.5534/wjmh.220173. Epub ahead of print. PMID: 36649924.
- 57) Nagaraja MR, Gubbala SP, Delphine Silvia CRW, Amanchy R. Molecular diagnostics of disorders of sexual development: an Indian survey and systems biology perspective. *Syst Biol Reprod Med*. 2019 Apr;65(2):105-120. doi: 10.1080/19396368.2018.1549619. Epub 2018 Dec 14. PMID: 30550360.
- 58) Zhou X, Zhang X, Zhou X, Abulimiti G, Wang Y, Zhang Q, Cong R, Ji C, Luan J, Yao L, Yang J, Song N. Identification of endocrine-disrupting chemicals targeting the genes and pathways of genital anomalies in males. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2022 Dec 1;247:114241. doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.114241. Epub 2022 Oct 26. PMID: 36308879.
- 59) Celayir A, Moralioglu S, Cetiner H, Kir G, Celayir S. Expression of androgen, estrogen, and progesterone hormone receptors in the penile tissues of children with different types of hypospadias. *North Clin Istanb*. 2018 Sep 24;6(2):110-116. doi: 10.14744/nci.2018.47108.
- 60) Joodi M, Amerizadeh F, Hassanian SM, Erfani M, Ghayour-Mobarhan M, Ferns GA, Khazaei M, Avan A. The genetic factors contributing to hypospadias and their clinical utility in its diagnosis. *J Cell Physiol*. 2019 May;234(5):5519-5523. doi: 10.1002/jcp.27350. Epub 2018 Sep 21. PMID: 30238986.
- 61) Gredler ML, Seifert AW, Cohn MJ. Tissue-specific roles of FGFR-2 in development of the external genitalia. *Development*. 2015 Jun 15;142(12):2203-12. doi: 10.1242/dev.119891. PMID: 26081573; PMCID: PMC4483768.
- 62) Cunha GR, Risbridger G, Wang H, Place NJ, Grumbach M, Cunha TJ, Weldele M, Conley AJ, Barcellos D, Agarwal S, Bhargava A, Drea C, Hammond GL, Siiteri P, Coscia EM, McPhaul MJ, Baskin LS, Glickman SE. Development of the external genitalia: perspectives from the spotted hyena (*Crocota crocuta*). *Differentiation*. 2014 Jan-Feb;87(1-2):4-22. doi:

10.1016/j.diff.2013.12.003. Epub 2014 Feb 28. PMID: 24582573; PMCID: PMC4069199.

- 63) M.V. Lorenzi, J.E. Long, T. Miki, S.A. Aaronson. Expression cloning, developmental expression and chromosomal localization of fibroblast growth factor-8. *Oncogene*, 10 (1995), pp. 2051-2055.
- 64) V.J. Gnanapragasam, C.N. Robson, D.E. Neal, H.Y. Leung. Regulation of FGF8 expression by the androgen receptor in human prostate cancer. *Oncogene*, 21 (2002), pp. 5069-5080, 10.1038/sj.onc.1205663

8. ÖZET

Hipospadias, erkek çocuklarda ikinci en sık görülen anomali olup prevalansı yıllara göre artış göstermektedir. Hipospadias etyolojisinde çok faktör sorumlu tutulmuş olup bu konunun tedavi ve önleme açısından desteklenmesi gerekmektedir. Bu nedenle FGF-8, FGF-10, FGFR-2, ER- α , ER- β ve AR gibi faktörlerin hipospadiaslı ve normal çocukların prepisyumlarında histolojik olarak karşılaştırılıp istatistiksel analizlerle anlamlı fark gösterip göstermediği araştırılmak amaçlandı. Bu kapsamda 14 ay-12 yaş aralığında 20 hipospadiaslı, 20 normal çocuğun prepisyumlarından örnekler alınarak bu belirteçlerin immunohistokimyasal incelemesi planlandı. Sonuç olarak ER- α , ER- β ve AR reseptörlerinin hipospadiaslı çocukları sünnet derilerinde normal derilere göre İHC değerlendirilmesinde daha fazla tutulum olduğu, FGF-8, FGF-10 ve FGFR-2' nin ise düşük olduğu gösterildi($p<0.05$). Hipospadiaslı ve normal çocukların sünnet derilerinde yapılan immunohistokimyasal çalışmalar ile kontrol grubuna göre ER ve AR tutulumlarının hipospadiaslı olgularda yüksek olduğu ve FGF-8, FGF-10 ve FGFR-2 tutulumlarının ise düşük olduğu gösterilerek bu faktörlerin hipospadias gelişiminde rollerinin olduğu desteklenmiştir. Literatürde bu konu ile ilgili kısıtlı sayıda çalışma olması ve bulguların birbiriyle çelişkili sonuçlar vermesi bu konu hakkında ileride daha çok araştırma yapılması gerektiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: hipospadias, hipospadias etyolojisi, perpisyal doku reseptör düzeyleri

9. SUMMARY

Hypospadias is the second most common anomaly in boys and its prevalence is increasing over the years. Many factors have been held responsible in the etiology of hypospadias and this issue should be supported in terms of treatment and prevention.

For this reason, it was aimed to compare the factors such as FGF-8, FGF-10, FGFR-2, ER- α , ER- β and AR in the prepuce of hypospadias and normal children histologically and to investigate whether they show a significant difference with statistical analyzes. In this study, immunohistochemical examination of these markers was planned by taking samples from the prepuce of 20 children with hypospadias and 20 normal children between the ages of 14 months and 12 years.

As a result, it was shown that ER- α , ER- β and AR receptors were more involved in the evaluation of IHC in the foreskin of children with hypospadias than in foreskin of normal children, and FGF-8, FGF-10 and FGFR-2 were lower ($p<0.05$). Immunohistochemical studies performed on the foreskin of children with hypospadias and normal children showed that ER and AR uptake were higher in hypospadias patients and lower in FGF-8, FGF-10 and FGFR-2 uptake compared to the control group, supporting the role of these factors in the development of hypospadias. The limited number of studies on this subject in the literature and the contradictory results of the findings indicate that more research should be done on this subject in the future.

Keywords: hypospadias, etiology of hypospadias, level of preputium receptors

10. EKLER

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU

ETİK KURUL İLETİŞİM BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi (GÜ) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu						
	AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık (GÜTF) Binası 06500 Beşevler/Ankara						
	TELEFON	0312 202 69 58						
	FAKS	0312 202 46 73						
	E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr						

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Sağlıklı ve Hipospadişlı Çocuklarda FGF8, FGF10, FGF reseptör 2, Androjen Reseptörü, Östrojen Reseptörü Alfa ve Beta Karşılaştırılması						
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Zafer TÜRKİYILMAZ						
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI /UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı / GÜTF						
	DESTEKLEYİCİ (Varsa)							
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Prof. Dr. Kaan Sönmez, Prof. Dr. Ramazan Karabulut, Dr. Öğr. Üyesi Cem Kaya, Dr. Öğr. Üyesi Duygu Dayanır, Öğr. Gör. Dr. Alpaslan Kapısız, Arş. Gör. Dr. Nassim Emaratpardaz, Arş. Gör. Dr. Asiye Emniyet Sert						
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji koleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene tetkik tahlil ve tedavi işlemleri sırasında (önceden) elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar- Uzmanlık tezi-						
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐			

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	15.02.2022	1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU	15.02.2022	1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒ 15.02.2022
	BIYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU	☐
	DİĞER	☐

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 191	Toplantı tarihi: 07.03.2022
	Sağlıklı ve Hipospadişlı Çocuklarda FGF8, FGF10, FGF reseptör 2, Androjen Reseptörü, Östrojen Reseptörü Alfa ve Beta Karşılaştırılması başlıklı başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve "bütçesi dışında" uygun bulunmuş olup araştırma dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına GÜ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir.	
	Etik Kurulun kararı, projenin bütçesi BAP tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup BAP kararının Kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.	

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu						
BAŞKANIN ÜNVANI / ADI / SOYADI		Prof. Dr. D. Ebru ARHAN						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırmayla ilişkisi	Katılım	İmza		
Prof. Dr. Ebru ARHAN	Çocuk Sağ. ve Hast. AD. Nöroloji BD	GÜTF	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐			
BAŞKAN								

Doç. Dr. Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN BAŞKAN YARD.	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL BİLDİRİMLERDEN SORUMLU ÜYE	Tıbbi Biyokimya AD.	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Mehmet Ali ERGÜN ÜYE	Tıbbi Genetik Anabilim Dalı	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Çiğdem ÖZER ÜYE	Fizyoloji AD.	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Ö. Sezai LEVENTOĞLU ÜYE	Genel Cerrahi Anabilim Dalı	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Çiğdem ATAMAN HATİPOĞLU ÜYE	Enfeksiyon Hast ve Klinik Mik Kliniği AD.	Sağ.Bil.Üni v.Ankara Eğt Araştırma Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Müge AYDOĞDU ÜYE	Göğüs Hastalıkları AD.	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Hamit KÜÇÜK ÜYE	İç Hastalıkları AD Romatoloji BD	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Halit Nahit ŞENDUR ÜYE	Radyoloji AD.	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi İrem EKMEKÇİ ERTEK ÜYE	Psikiyatri AD.	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Cansu ÖZBAŞ ÜYE	Halk Sağlığı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
İpek GÜVENÇ ÜYE	Hukukçu	Ankara Barosu	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Nejla CAN GÜLER ÜYE	Sivil Temsilci	Sağ.Bak. Avrupa Birl. ve Dış İliş.Gn.Md.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☒	Kartı/made



Gazi Üniversitesi

Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi

Lisansüstü Tez Projeleri BEYAN FORMU

DANIŞMAN BİLGİLERİ			
Projenin Yürütücüsü (Tez Danışmanı)	Prof Dr. Zafer Türkylmaz		
Birimi, Bölümü, ABD	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı		
Dahili Telefon	6219	Mobil Telefon	05323468591
E-posta	zafert@gazi.edu.tr		

TEZ BİLGİLERİ: Tüm alanları eksiksiz doldurunuz.

Tezin Başlığı: Sağlıklı ve Hipospadiaslı Çocuklarda FGF8, FGF10, FGF reseptör 2, Androjen Reseptörü, Östrojen Reseptörü Alfa ve Beta Karşılaştırılması

Öğrencinin Adı Soyadı	Dr. Nassim Emaratpardaz
Çalışmanın Yürütüldüğü Enstitü/ABD	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı
Normal Tez Süresinin* Başlama Tarihi	04/05/2022
Normal Tez Süresinin* Bitiş Tarihi	04/05/2023
Tez Çalışmasının Durumu	(X) Normal Süresi İçerisinde () Uzatmalı
Tezin Türü	() Yüksek Lisans () Doktora () Sanatta Yeterlik (X) Tıpta Uzmanlık () DHU () ECZU () VHU

LİSANSÜSTÜ TEZ PROJELERİ DESTEKLEME İLKELERİ

- 1- Yalnızca **normal eğitim öğretim*** süresi içerisinde bulunan tez çalışmaları için destek sağlanır.
- 2- Normal sürelerini aşmış tez çalışmaları destek kapsamı dışındadır ve bu durumda olan projeler için herhangi bir harcama gerçekleştirilemez.
- 3- Lisansüstü Tez Projelerinin başvurusu, tez konusunun ilgili enstitü veya birimlerin yetkili organları tarafından kabul edilmesinden sonra gerçekleştirilebilir.
- 4- Desteklenen lisansüstü tez projelerinin sonuçlarının, en geç iki yıl içinde Uygulama Esasları Dokümanında belirtilen nitelikte bir yayına dönüştürülmesi zorunludur. Yeni bir tez projesi başvurusunda bulunan tez yürütücülerinin yayın koşulunu sağlamış olması gerekir.

YÜRÜTÜCÜ (TEZ DANIŞMANI) BEYANI

Destek başvurusunu BAP Birimi Uygulama Yönergesi, Uygulama Usul ve Esasları ile yukarıda belirtilen ilkelere uygun olarak gerçekleştirdiğimi, aksi takdirde ortaya çıkabilecek yasal sorumlulukları üstlendiğimi beyan ederim. 22/05/2022

LİSANSÜSTÜ TEZ ÇALIŞMASININ YÜRÜTÜLDÜĞÜ ENSTİTÜ/DEKANLIK ONAYI

Yukarıda belirtilen bilgilerin doğru olduğunu onaylarım. / /20..

* Beyan Formu ekinde "Tez Konusunun Onaylandığını Gösteren" ile birlikte Enstitü/Fakülte'nin onayına sunulmalı ve her iki belgede başvuru aşamasında belirtilen bilgilerin doğruluğu beyan edilmelidir.

Destek talebi kabul edilen projeler için Beyan Formunun imzalı aslı ve Tez Konusuna Yönelik Enstitü/Fakülte kurul kararının örneği BAP Koordinasyon Birimine teslim edilmelidir.

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı:Nassim

Soyadı: Emaratpardaz

Doğum Yeri ve Tarihi:

Eğitimi:

Gazi Üniversitesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı (2023)

Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi(2016)

Yabancı Dili: İngilizce, Farsça

Bilimsel Etkinlikleri:

Laparoscopy Course in Pediatric Surgery ,2022 Ankara City Hospital/Children's Hospital

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası ,2022,Ankara

39.Ulusal Çocuk Cerrahi Kongresi 2022,Kuşadası

Adolsanlarda Varikosel Kursu 2022,Antalya

Çocuk Acil Tıp ve Yoğun Bakım Sempozyumunu,2022,Ankara

Tıpta Uzmanlık Becerileri Temel Eğitimi,2022, Ankara

16th Arap Meeting of Pediatric Surgery ve 23rd Meeting of The Tunisian Association of Pediatric Surgery, 2023 ,Tunus