

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**NORMAL VE HİPOSPADYAK PREPİSYUMDA ANDROJEN VE
ÖSTROJEN RESEPTÖRÜ DAĞILIMI İLE APOPİTOZİS
VARLIĞI: KARŞILAŞTIRMALI ÇALIŞMA**

Dr. Hüseyin KOCATÜRK

**TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Yılmaz AKSOY**

**UZMANLIK TEZİ
ERZURUM-2010**

İÇİNDEKİLER

ONAY	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
1. Erkek Dış Genital Organlarının Embriyolojik Gelişimi	3
2. Androjenik Hormonların Genital Sistemin Embriyolojik Gelişimine Etkisi	6
3. Penis Anatomisi	10
3. 1. Penisin Arteriyel Sistemi	13
3. 2. Penisin Venöz Sistemi	14
3. 3. Penisin Lenfatik Sistemi	15
3. 4. Penisin Sinir Sistemi	15
4. Prepisyum	16
4. 1. Anatomi ve Histoloji	16
4. 2. Embriyoloji	19
5. Hipospadias	20
5. 1. Anatomi, Embriyoloji ve Etiyoloji	21
5. 2. Endokrin Bozukluklar	23
5.3. Tanı	24
5.4. Cerrahi Tedavi	24
5.5. Tedavi Zamanlaması	27
5.6. Komplikasyonlar	28
6. Apoptozis	29
MATERYAL VE METOD	34
BULGULAR	37
TARTIŞMA	47
SONUÇLAR	53
KAYNAKLAR	55

ONAY

Üroloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Hüseyin KOCATÜRK'ün "Normal ve hipospadyak prepisyumda androjen ve östrojen reseptörü dağılımı ile apoptozis varlığı: Karşılaştırmalı çalışma" konulu tez çalışması Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu Başkanlığı'nın 13.02.2009 tarih ve 1 no'lu toplantısında 10 no'lu karar ile uygun görülmüş olup bu durum 25.02.2009 tarih ve 27 sayılı yazı ile bildirilmiştir. Ayrıca Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı'nın 17.04.2009 tarih ve 547 sayılı yazısı ekinde gönderilen 15.04.2009 oturum tarihli toplantısının 5 no'lu kararı ile uygun görülmüştür.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince gerek etik gerekse mesleki her türlü cerrahi bilgi ve beceriyi edinmemde büyük emekleri olan, değerli hocalarım; Prof. Dr. Güray Okyar'a, Prof. Dr. Azam Demirel'e, Prof. Dr. Özkan Polat'a, Prof. Dr. İsa Özbey'e, Prof. Dr. Yılmaz Aksoy'a, Yrd. Doç. Dr. Turgut Yapanoğlu'na, Yrd. Doç. Dr. Tefik Tiypak'a, tüm çalışma arkadaşlarıma ve tezimin hazırlanmasında büyük katkıları olan Atatürk Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Cemal GÜNDOĞDU ve Patoloji Anabilim Dalı tüm araştırma görevlilerine teşekkürlerimi arz ederim.

Dr. Hüseyin KOCATÜRK

ÖZET

Androjenler, androjen reseptörlerine (AR) bağlanarak onları aktive etmek yoluyla normal insan eksternal genitallerinin gelişimi için önemli role sahiptirler. Androjen sentezindeki bozukluklar veya reseptör anomalileri hipospadias gibi eksternal genital organ anomalilerine neden olurlar. Bu çalışmanın amacı, hipospadiaslı ve hipospadiasız çocukların prepisyumlarında AR, östrojen reseptörü (ER) dağılımını ve apoptozis varlığını araştırmaktır.

Prepisyum dokuları, Ocak 2008 ile Haziran 2009 yılları arasında, kontrol grubu için elektif sirkümsizyon yapılan 15 sağlıklı çocuktan ve 30 distal hipospadiaslı çocuktan hipospadias onarımı sırasında elde edildi. Epitelyal hücrelerde olduğu gibi stromal hücrelerde de AR ve ER varlığı immunohistokimyasal yöntemle, apoptozis varlığı ise *in situ* DNA fragmentasyon [terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate nick-end labeling (TUNEL)] tekniği ile araştırıldı.

Epitelyal hücrelerde AR yüzdesi hipospadias grubunda %18.9 (SD 27.2) ve sirkümsizyon grubunda %3.3 (SD 5.3) idi, $p=0.034$. Hipospadias grubunda stromal hücrelerin %19.5 (SD 26.7)'inde ve sirkümsizyon grubunda %2.6 (SD 4.3)'sında pozitif boyanan AR varlığı belirlendi, $p=0.004$.

Hipospadiak grupta epitelyal ve stromal hücrelerde ER yüzdesi sırasıyla %24 (SD 24.5) ve %6.8 (SD 10.1) iken, kontrol grubunda bu değerler sırasıyla %1.3 (SD 1.1) ve %0.9 (SD 1.3) idi, ($p<0.0001$, her bir grup için).

Her iki grup arasında epitel ve stromadaki apoptotik hücre sayıları bakımından istatistiksel öneme ulaşan fark yoktu.

Hipospadias grubunda epitelyal ve stromal komponentlerdeki AR yüzdesi yaşla paralel olarak anlamlı artış gösterirken, sirkümsizyon grubunda bu artış sadece epitelyal komponentte istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Sonuç olarak, hipospadiası olanların prepisyumlarında AR ve ER sayıları sirkümsizyon grubundakinden anlamlı derecede yüksek olarak belirlendiğinden, hipospadias cerrahisi öncesi uygulanabilen androjen tedavisinin hipospadiaslılarda normal çocuklardakinden daha etkin olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Androjen reseptörü, apoptozis, foreskin, hipospadias, östrojen reseptörleri

**DISTRIBUTION OF ANDROGEN AND ESTROGEN RECEPTORS AND PRESENCE
OF APOPTOSIS IN NORMAL AND HYPOSPADIAIC FORESKIN: COMPARATIVE
STUDY
SUMMARY**

Androgens have important roles in normal human male external genital development, acting through the binding and activation of androgen receptors (AR). Deficiency of androgen synthesis or receptor anomalies causes developmental anomalies of the external genitalia such as hypospadias. The aim of this study was to investigate the distribution of AR, estrogen receptors (ER) and apoptotic situation in foreskin of boys with and without hypospadiasis.

Foreskins were obtained from 15 healthy boys during elective circumcisions for control group and from 30 distal hypospadiac boys during hypospadias repairment between January 2008 and June 2009. AR and ER were investigated immunohistochemically and apoptosis was detected using the *in situ* DNA fragmentation [terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate nick-end labeling (TUNEL)] system in stromal as well as in epithelial cells.

The percentages of AR in epithelial cells were 18.9% (SD 27.2) in hypospadiac group and 3.3% (SD 5.3) in circumcision group, $p=0.034$. Of stromal cells 19.5% (SD 26.7) in hypospadiac group and 2.6% (SD 4.3) in circumcision group were positively stained for AR, $p=0.004$.

While in hypospadiac group, stromal and epithelial cell percentages of ER were 24% (SD 24.5) and 6.8% (SD 10.1), in controls, respective values were 1.3% (SD 1.1) and 0.9% (SD 1.3) ($p<0.0001$ for both groups).

There was no statistical significant difference in epithelial and stromal components between both groups in terms of apoptotic cell numbers.

While in hypospadiac group, percentage of AR was significantly increased in epithelial and stromal components, parallel to patient's ages, the same changes were seen only epithelial component in circumcised group.

In conclusion, it may be suggested that in hypospadiac foreskin, amounts AR and ER were higher than those of normal foreskin, thus androgen therapy before surgical treatment might be more effective in hypospadiac cases than in normal ones.

Key Words: Androgen receptor, apoptosis, estrogen receptor, foreskin, hypospadias

GİRİŞ VE AMAÇ

Eksternal genital organların intrauterin gelişimi tam olarak ortaya konulamamıştır. Androjenlerin hedefi olan eksternal genital organlardaki spesifik hücreler tam olarak tanımlanamamakla birlikte, erkek eksternal genital organların oluşumu ve büyümesi androjen bağımlı bir süreçtir (1, 2). İntrauterin 6. haftada proliferen olan çölyom epiteli içine göç eden primordiyal germ hücreleri ile gonadal doku oluşmaya başlar. Şayet embriyonal genetik yapıda Y kromozomu var ve bu nedenle gonadal farklılaşma testis yönünde ise 8. haftada Sertoli ve Leydig hücreleri oluşur. Sertoli hücrelerinden salınan Müllerien Kanal İnhibe Edici Faktör (MIF) aracılığı ile paramezonefrik kanallar farklılaşırken, Leydig hücrelerinden salınan testosteron aracılığı ile mezonefrik kanal uyarılır ve erkek genital yapı gelişmeye başlar. Testosteronun DHT'ya dönüşümü ile dış genital organların farklılaşması uyarılır (3, 4).

İnsanlarda eksternal genital organların gelişimsel anomalileri en sık rastlanılan doğumsal defektlerdendir (5). Erkek üretrasının gelişimsel defektleri hipospodiasın birçok değişik formunu kapsamaktadır. Diğer bir gelişimsel defekt ise ambigu genitalia (pseudhermafroditizm)'dir. Bu durum androjen sentezindeki defektlerden ya da hedef organların androjenlere yetersiz yanıtından kaynaklanmaktadır (1, 5, 6).

Hipotalamustan gelen uyarılar ile anterior hipofizden salınan Lüteinize Edici Hormon (LH), testiste Leydig hücrelerinden steroid yapıda bir hormon olan testosteronun (T) sentez ve sekresyonunu sağlamaktadır (3). Testosteron karaciğerde konjugasyon ve oksidasyon yoluyla inaktive olurken, hedef dokularda aktif metabolitleri olan Dihidrotestosteron (DHT) ve Östradiol (E2) çevrilerek etki göstermektedir (3, 7). Steroid yapıdaki bu hormonlar vücuttaki pek çok dokunun gerek embriyonel hayatta gerekse daha sonraki dönemlerde farklılaşması ve gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar (8, 9).

Androjenler eksternal genital tüberkülün oluşması, büyümesi ve farklılaşmasında temel role sahiptirler. Bu rollerini androjen reseptörlerine bağlanarak ve onları aktive ederek gösterirler. Androjenlerin en önemli rolü penil şaftta üretranın gelişimi üzerinedir (10, 11, 12). Erkek eksternal genital organlarında hem östrojen hem de androjen reseptörlerinin (AR) ekspresyonu gösterilmiştir ve bu reseptörlerin fetal penil dokunun gelişiminde rollerinin olduğu düşünülmektedir (10, 13-16).

Androjenler hücre içine girdikten sonra reseptörleri ile birleşerek androjen-reseptör kompleksi oluştururlar ve hücre içinde etkilerini gösterirler (17). Yapılan çalışmalarda AR'lerinin fötal peniste cilt, prepisyum, üretra, korpus kavernozum ve korpus spongiozum stromal hücreleri ve glansda bulunduğu gösterilmiştir (18, 19). AR peniste özellikle dorsal üretral tabana karşılık, ventral bölgede daha yoğun bulunmuştur. Yine 5α redüktaz-II aktivitesi de bu bölgede daha fazladır. AR'lerinin bu farklı lokalizasyonu, üretra ve penil shaftın oluşumunda ve üretranın ventral füzyonunda önemli rol oynamaktadır (10, 20).

Penis dokusundaki östrojen reseptörlerinin dominant oluşu, dış genital organların intrauterin gelişimi esnasındaki bozuk östrojen ve androjen-reseptör etkileşimine yol açarak doğum sonrası östrojenizasyon bulgusu olan hipospadias neden olmaktadır (13). Son yıllarda hipospadias prevalansında bir artış söz konusudur. Dietilsitilbestrol gibi östrojenlere maruz kalan annelerin çocuklarında hipospadias riskinin artmış olması bu patolojinin etiyolojisinde östrojenlerin etkisinin olabileceğini düşündürmektedir ve günümüzde tüketilen gıdalardaki östrojen içeriğinin artışı hipospadias prevalansındaki artıştan sorumlu tutulmaktadır (13, 14, 21). Bununla birlikte üretra gelişiminde östrojenler ile androjenlerin reseptör düzeyinde etkileşiminin etkisi hala net olarak anlaşılamamıştır (9, 10).

Programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanan apoptozis fizyolojik bir olaydır. Bu süreç, embriyolojik gelişim ve erişkin dokunun gelişiminin sürdürülmesinde rol oynar (22). Apoptozis çeşitli genlerle kontrol edilen hücrelerin proliferasyon, farklılaşma ve transformasyonunda hayati role sahip bir süreçtir. Fizyolojik olarak ortadan kaldırılması gereken hücrelerin yok edilmesi, fizyolojik sistemler (nöral, endokrin ve immün sistemler) arasındaki regülasyonun sağlanması, organizmadaki normal yaşam döngüsünün sağlanması gibi önemli fonksiyonları vardır (23).

Bu çalışmanın amacı hipospadiaslı ve normal prepisyumda östrojen ve androjen reseptör dağılımını araştırarak hem hastalığın etiyolojisine yönelik bir çıkarıma gitmek hem de rekonstrüktif işlemlerde flep olarak kullanılan bu dokunun hormonal manipulasyonlarla daha sağlıklı hale getirilebilme olasılığını araştırmaktır. Ayrıca hipospadiaslı ve normal prepisyumda apoptotik hücre içeriğine göre antiapoptotik manipulasyon yapabileceğinin araştırılmasıdır.

GENEL BİLGİLER

1. Erkek Dış Genital Organlarının Embriyolojik Gelişimi

İntrauterin hayatın 2. haftasının sonunda embriyonik disk, ektoderm ve endoderm olmak üzere 2 tabakadan oluşur. Bu diskin kaudal ucunda ektodermal hücrelerin proliferasyonu ile orta hatta bir oluk (primitif çizgi) meydana gelir. Bu oluktan ektoderm ve endoderm arasında üçüncü bir hücre tabakası olan mezoderm gelişir. Mezoderm hücreleri proliferasyonla olup periferik doğru göç ederler. Böylece endoderm ve ektoderm tabakaları birbirinden ayrılmış olur. Bu primitif çizginin kaudalinde, ektoderm ve endoderm tabakaları tekrar birleşip kloakal membranı oluştururlar (24-26).

İntrauterin 5. haftada primordial germ hücreleri 10. torasik segment yakınında arka vücut duvarının mezenterikiminde toplanmak üzere yolk saktan dorsal mezenter boyunca göç ederler. Göç eden bu mezenterik hücreleri kloakal membranın her iki yanına göç ederek, kloakal katlantı adı verilen bir çift kabarıklık oluştururlar. Altıncı hafta başında bu katlantılar kloakal membranın kranialinde birleşerek genital tüberkülü oluştururlar. Koni şeklindeki bu çıkıntı embriyonun umbilikal kordu ve kuyruğu arasındadır. Primitif seks kordlarını içeren genital kabartı, mezenterik kortikal ve medüller olmak üzere iki bölgeye ayrılır. Dişi genetiğe sahip embriyolarda medulla gerileyecek ve korteks overe diferansiyasyon olacaktır. Erkek genotipinde ise korteks gerileyip medulla testise diferansiyasyon olacaktır. Bu tüberkülün ortasında üretral oluk gelişir ve distale doğru uzar. Kloakanın ön ürogenital sinüs ve arka anorektal kanala bölünmesi sırasında, ürogenital sinüsün açıklığından çıkan kloakal katlantı parçası ürogenital katlantı haline gelir. Anorektal kanal açıklığından çıkan parça ise anal katlantıyı oluşturur. Daha sonra ürogenital katlantının her iki yanında labioskrotal katlantı adı verilen bir çift yeni şişkinlik oluşur. Ürogenital kıvrımlar kloakanın ventral kısmında, anal kıvrımlar ise dorsal kısmında oluşur (24-26).

Mezoderm gelişerek 3 tabakaya ayrılır. Ortadaki kısma intermediate mezoderm denir. İntrauterin hayatın 4. haftasında böbrek gelişiminin bir ara safhası olan mezonefroz ve onun boşaltım kanalları olan mezonefrik kanallar oluşur. Bu kanallara Wolff kanalları da denir. Mezonefrik kanal primitif boşaltım kanalıdır. Genişleyip büyüyen mezonefrozun medial yanında çölemik epitelin proliferasyonu ve altındaki

mezenşimin yoğunlaşması ile germinal çıkıntı oluşur. Embriyonun cinsiyeti fertilizasyon sırasında belirlenmiştir. Y kromozomu ihtiva eden sperm embriyonun erkek (XY) olmasını sağlar (24-26). Y kromozomunda cinsiyet belirleyici bölge olan SRY geni, primitif seks kordonunun medüller bölgesindeki hücrelerin Sertoli hücrelerine farklılaşmasını başlatırken aynı zamanda kortikal seks kord hücrelerinin dejenere olmasını da sağlar. Seks kord hücreleri Sertoli hücrelerine sadece SRY proteini içerdiklerinde farklılaşırlar. Aksi halde seks kordları overyan folliküllere farklılaşırlar. Yedinci hafta sırasında farklılaşan Sertoli hücreleri testis kordlarını oluşturmak üzere organize olurlar. Daha sonra bu testis kordları kanalize olarak seminifer tübül sistemlerine farklılaşırlar. Yine testis kordları ayrıca bir lümen oluşturur ve rete testis adı verilen bir dizi ince duvarlı kanallara da farklılaşırlar. (27, 28). Gelişen Sertoli hücreleri ve primordial hücreler arasındaki doğrudan hücre kontağının erkek gametlerin uygun gelişmesinde anahtar rolü oynadığı düşünülmektedir. İntrauterin hayatın 8. haftasında testiste primitif seks kordonları prolifer olurlar ve çölemik epitelden tunika albuginea adı verilen araya giren bağ dokusu ile ayrılırlar. Sertoli hücreleri farklılaşmalarına başlarken, MIS veya Antimüllerian Substans (AMS) adı verilen bir glikoprotein hormon salgırlar (28, 29). Kordonlar arasında bulunan mezenşimden interstisyel Leydig hücreleri gelişir. 8. haftada da Leydig hücrelerinden testosteron üretimi başlar. Artık 9. haftada genital kanal ve dış genital organların cinsiyet farklılaşması başlar. Testosteron hedef doku hücrelerinde 5α -redüktaz enzimiyle dihidrotestosterona dönüştürülür. Bunlar hücre içinde reseptör proteine bağlanırlar. Testosteron-reseptör kompleksi, mezonefrik kanalların erkek iç genital kanallarının gelişmesine aracılık ederken dihidrotestosteron-reseptör kompleksi ise erkek dış genital organlarının farklılaşmasını sağlar (26). Bu sırada MIS, paramezonefrik (Müller) kanallarının 8 ve 10. haftada hızla gerilemesini sağlar. Erişkin erkekteki müller kanalı kalıntıları appendiks testis, prostatic utricles ve colliculus seminalistir. Bunlara artık organlarda denir (28, 30). Yedinci haftada dihidrotestosteron etkisi ile genital tüberkül daha da büyür, daha silindirik hale gelir ve fallus olarak belirginleşir. Bu genital tüberkülün distal ucunda oluşan oluğa koronal sulkus denir. Bu oluk glansı belirler. Fallus uzadıkça ve genişledikçe üretral oluk açık olan ürogenital delikten şaftın distaline uzanacak şekilde derinleşir. Fallus uzaması sırasında ürogenital kıvrımları öne doğru çekerek kıvrımların daha belirginleşmesini sağlar. Bu kıvrımlar üretral oluğun lateral

duvarlarını oluşturup oluğu derinleştirir. Ürogenital sinüsün fallik kısmından gelişen endodermal hücrelerin proliferasyonu ile üretral oluk kaplanır. Bu endodermal hücre proliferasyonuna üretral plak denir (26).

İntrauterin hayatın 3. ayının sonunda penisin ventral yüzündeki iki ürogenital kıvrım bu üretral plak üzerinde kapanarak penil veya spongioz üretrayı oluştururlar. Önce orijinal ürogenital delik kapanır. Proksimalden başlayan bu kapanma ilerledikçe ürogenital delik distale doğru ilerletilir. Bu kapanma penisin ventral yüzünde oluşur. Üzeri ektoderm ile örtülü bu ürogenital kıvrımların penisin orta hattında birleşmesi dışarıdan birleşme izi şeklinde görülür. Buna median raphe veya penil raphe denir. Üretra oluşurken mezenşim, fallusun dorsal kısmı içinde ve üretral oluk etrafında yoğunlaşır. Daha sonra fallusun dorsal kısmında yoğunlaşmış olan mezenşim iki korpora kavernoza oluşturmak için ortadan ikiye bölünür. Penis shaftındaki üretra etrafında ise bu mezenşim korpus spongiosum ve onu saran Buck ve Dartos fasyasını oluşturur (26).

Üretranın kapanması glans penise kadar devam eder. Üçüncü ay civarında glans penisin periferinde, üretral açıklığın her iki tarafından, ektodermal hücrelerin sirküler olarak büyümesi ile bir deri kabarıklığı oluşur. Bu deri kabarıklığı penis shaftını sarmak ve koronayı kapatmak üzere gelişir. Dördüncü ve beşinci aylarda glansı örtecek şekilde uzanan bu deriye prepisyum denir. Prepisyum ventral yüzde glans tabanında birbiri ile birleşip frenulumu oluşturur. Prepisyum geliştikçe ve büyüdükçe, glansın kenarları glandüler üretrayı iyice kapatır. Dördüncü ayda glansın ucundaki ektodermal hücrelerin glans içine doğru penetre olması ile glanstaki üretral oluk epitel hücreleri ile doldurulur. Böylece kısa bir epitelyal kordon oluşturulur ki buna glandüler plak denir. Sonra glanstaki glandüler plak penil üretra ile birleşmek üzere penis köküne doğru gelişir ve büyür. Glandüler plak denilen bu epitelyal kordon, daha sonra kanalize olur. Buna üretranın naviküler fossası denir ve bu kısım daha önce oluşmuş olan penil üretra ile birleşir. Böylece üretranın son kısmı tamamlanır ve eksternal üretral meatus glans ucuna ilerleyip dışarı açılır (26).

Yaklaşık 8. haftada genital tüberkül büyüdükçe ürogenital şişlikler veya labioskrotal şişlikler daha belirginleşir. Bunlar lateral fallik oyuk ile penisten tam anlamıyla ayrılır. Bu şişlikler penis etrafına ve arkasına doğru yer değiştirirler. Daha sonra penisin kaudalinde birleşip skrotumu oluştururlar. Ortadaki skrotal septum

skrotumu iki ayrı kompartmana ayırır. Bu oluşuma skrotal raphe de denir. Dokuzuncu aya kadar testisler skrotuma iner ve erkek dış genital organlarının gelişimi tamamlanır (26).

2. Androjenik Hormonların Genital Sistemin Embriyolojik Gelişimine Etkisi

Genital sistemin intrauterin dönemdeki gelişimi oldukça kompleks olmakla birlikte, diğer sistemlerde olduğu gibi belirli bir düzen içinde gerçekleşmektedir. İntrauterin ilk 7 hafta morfolojik olarak embriyonun cinsiyetinin belirlenemediği dönem olup, bu dönem indifferent dönem adını almaktadır (20). Bu dönemden sonra Wolff kanalı gelişimine devam edip, Müllerian kanal gerilediğinde erkek embriyo yönünde cinsiyet farklılaşması görülürken; Müllerian kanalın gelişimine devam edip Wolff kanalının gerilediği durumlarda ise dişi embriyo yönünde cinsiyet farklılaşması görülür. Bu gonadal yapılar oluşumlarını tamamlayıncaya kadar gelişimlerine devam ederek sonunda yenidoğanda tespit edilen morfolojilerine erişirler. Bu süreç içinde bir çok faktör, gerek olumlu gerekse olumsuz yönde etkilemek suretiyle gonadal gelişimi yönlendirirler. Bunlar içinde genetik ve hormonal faktörler oldukça önem taşırlar (20, 31). Ancak bunların dışında faktörlerin de örneğin; Fibroblast Growth Factor ve Transforming Growth Factor β (32), Aromataz (33), çevre kirliliği (34), aktivin (35), radyasyon (36), mitomisin C (37) gonadal gelişimi etkiledikleri değişik çalışmalarla ortaya konulmuştur.

Hormonal faktörler de, gonadal gelişimi önemli derecede etkilemektedirler. Hipotalamustan gelen uyarılar ile anterior hipofizden salınan LH, testiste Leydig hücrelerinden steroid yapıda bir hormon olan testosteronun sentez ve sekresyonunu sağlar (3). Testosteron karaciğerde konjugasyon ve oksidasyon ile inaktive olurken, hedef dokularda aktif metabolitleri olan Dihidrotestosteron (DHT) ve Östradiole (E2) çevrilir (3, 7). Steroid yapıdaki bu hormonlar vücuttaki pek çok dokunun gerek embriyonel hayatta gerekse daha sonraki dönemlerde farklılaşması ve gelişiminde önemli rol oynarlar.

Hipopituiter fetüslerde yapılan araştırmalarda, sağlıklı gonadal gelişim için hipofizer gonadotropinler olan FSH ve LH'nin mutlaka gerekli olduğu anlaşılmıştır. Hipofiz bezinin intrauterin dönemdeki hormonal fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Ancak fetal hipofizden salınan FSH ve LH salgısının tüm gebelik boyunca devam ettiği ve fetüs yaşı ve cinsiyeti ile ilişkisi olduğu ortaya konulmuştur.

Hipofizer içerik genelde 1. ve 2. trimesterde tespit edilebilmektedir. Yapılan bir çalışmada erkekte LH ve FSH konsantrasyonlarının 20. haftaya kadar arttığı ve bu dönemden sonra sabit bir seviyede kaldıkları tespit edilmiştir (38). Testis steroid üretme yeteneğini erken dönemde geliştirir ve başta FSH olmak üzere hipofizer gonadotropinleri baskılar. Gebeliğin 20. haftasında hem FSH ve hem de LH'nın en üst konsantrasyona ulaştığı görülür. Bu dönemde testiküler steroid üretimi ile artmış olan FSH ve LH konsantrasyonları aşağı çekilir, yani negatif feed-back mekanizması devreye girer. Burada dikkati çeken bir nokta gerek LH ve gerekse FSH için etkin olan feed-back mekanizmaları ile düzenlemenin her iki cinsten de gebeliğin ortasında olduğudur. Elde edilen bu veriler bize hipofizin cinsiyet farklılaşması ile ilgili olan fonksiyonlarının daha 16. haftada ortaya çıktığını göstermektedir (38).

Gebeliğin ilk dönemlerinde farklılaşmamış durumda olan gonadların erkek fenotipinde farklılaşabilmesi için, endokrinolojik olarak aktif testislerin varlığına gereksinim duyar. Bu testislerden MIS ve testosteron salgılanır. MIS embriyo ve fetus testislerinde bulunan Sertoli hücrelerinden salınan ve glikoprotein yapıda bir maddedir. Anti Müllerian Hormon adını da alır. Paramezonefrik kanalların yani Müllerian kanalların gerilemesini sağlar (39, 40). MIS yetersizliği olan erkeklerde testisler tam olarak inmesine ve fonksiyonel sperm üretmesine rağmen, dış genital organların da varlığı görülür ve bu erkekler infertil olurlar. Testislerde Leydig hücre hiperplazisi ve hatta neoplazisi görülebilir. Erkekte Müllerian kanalların gerilemesinde testosteronun yanı sıra MIS'in de etkin olduğu bilinmektedir (41). MIS'in Müllerian kanalda inhibisyonunu apoptozis mekanizması ile gerçekleştirdiği ortaya konulmuştur (42). Cinsiyet farklılaşması sürecinde yüksek miktarda androjen varlığı Wolff kanal stabilizasyonu yanı sıra dış genital organlardaki maskülinizasyon için de gereklidir (43). Wolff kanalının stabilizasyonu androjenler tarafından apoptozisin inhibisyonu ile sağlanır. Müllerian kanalın gerilemesi ve Wolff kanalının gelişimi epididimis, vaz deferens ve vezikula seminalisin gelişimi ile devam eder. DHT, bir testosteron metaboliti olup, testosterondan 5α -redüktaz enzimiyle oluşturulur. Testosteronun DHT'a dönüşümü ile dış genital organlar uyarılır ve ürogenital sinüsten prostat ve dış genital organlar gelişir (3, 4, 44). 5α -redüktaz esikliğinde dış genital organlar dışi fenotipinde gelişirken, eş zamanlı olarak Wolff kanaldan gelişen yapılar da normal gelişimlerine devam ederler (44, 45). Bu etkinin moleküler mekanizması incelendiğinde

testosteron ve DHT'un her ikisinin de aynı yüksek afiniteli reseptöre etki ettikleri ve bu reseptörün de testosteron ve DHT'u hedef hücre çekirdeğine taşıdığı anlaşılmıştır (46). Yapılan organ kültür çalışmalarında veziküla seminalisin ve epididimisin gelişiminin ve büyümesinin esas olarak DHT'a bağımlı olduğu, testosterona bağımlı olmadığı anlaşılmıştır (44).

Androjenlerin fetal ve prepubertal dönemde erkek seksüel organlarının gelişimi ve farklılaşması üzerine olan etkileri net olarak bilinmektedir. Bu dönemlerde penil dokuda yüksek oranda androjen reseptörü (AR) bulunmaktadır (3, 17). Yapılan çalışmalarda AR'leri peniste korpus kavernozum, korpus spongiozum, üretra, glans ve skrotumda gösterilmiştir. Prepisyumun iç kısımları ve frenilumda da AR pozitifdir. Midglans ile distal glans arasında AR negatifken pozitive geçen bir geçiş bölgesi bulunmaktadır. Glanüler üretranın başlangıcı bu geçiş bölgesini kapsar. Glansın distal ucu, periüretral stroma, üretranın yüzeysel epiteli ve korpus kavernozum AR pozitif iken, skrotum dokusu orta derecede AR pozitif bulunmuştur. Buna zıt bir şekilde; dış prepisyumun epitel hücreleri, penisin gövde dokusu ve skrotum derisi AR negatifdir (47, 48).

Üretranın prostatik ve membranöz bölümleri tamamen androjene bağımlı değildirler, çünkü üretranın bu segmentleri kadınlarda da gelişmektedir. Fakat prostat bezi dokuları ve mezonefrik kanallar üzerindeki androjen etkisi ile erkek üretrasında bu segmentlerin nihai gelişimi üzerinde anlamlı katkıya sahiptir.

Üretranın bülböz ve penil kısımları tamamen erkeğe özgüdür ve diferansiasyonları androjen etkisine bağlıdır. Anormal androjen reseptörü sayısı ya da fonksiyonu, 5 α - redüktaz eksikliği ya da testislerin yetersiz androjenik steroid yapımı sonucunda periferik dokulardaki yetersiz androjenizasyon, erkek üretrasının anterior segmentlerinin inkomplet tübularizasyonu ile sonlanır. Bu multipl bozukluklar genotipik erkeklerde görülebilen çeşitli inkomplet virilizasyon sendromlarını temsil eder ve anatomik spektrumda hipospadiasın hafif derecelerinden komplet fenotipik dişilere (testiküler feminizasyon sendromu) kadar değişen bir spektrumda anomalilere neden olur (49).

Erkek fetüste testosteron sentez kapasitesi 8. haftada başlar ve gestasyonun 14-16. haftalarında maksimumdur. Androjen bağımlı genital organlarının farklılaşması bu haftalarda yoğunlaşmaktadır (2, 50-52). İkinci trimesterde erkek eksternal genital

organlarında AR varlığı bize, ilk trimesterde androjenin oluşum ve büyümedeki etkisinin bu reseptörlerle düzenlendiğini göstermektedir (53).

Glanstaki açık üretra gövdesinde bulunan AR pozitif epitellerin kapalı olan üretral pleyttteki AR negatif epitellere transferi, androjenlerin glanüler üretra kanalizasyonunda rol oynadığı fikrini doğurmaktadır (54).

Erkeklerde AR defektine bağlı oluşan androjen duyarsızlık sendromu; dişi fenotipin oluşumuna sebep olmaktadır. Buradan anlıyoruz ki, dişi eksternal genitalia oluşumu için fonksiyonel AR varlığına gerek yoktur. Normal dişi eksternal genitaliasının gelişim mekanizmasıyla; AR defektli erkeklerde dişi fenotipte eksternal genitalianın oluşum mekanizmasının farklı oluşu gözden kaçırılmaması gereken bir gerçektir (6, 55).

AR sayısı yaşla birlikte azalmaktadır (56). Bu puberte sonrası penil büyümenin durması şeklinde kendini göstermektedir. AR'de izlenen bu azalma, penisin reseptör içeren tüm yapılarında (korpus kavernozum ve spongiozum, penis cildi, üretra ve glans penis) olmaktadır (57, 58).

Östrojen ve östrojen reseptörlerinin (ER) erkek ürogenital organlarındaki etkileri, Staffieri ve ark. (59)'nın 1965 yılında erkek genitoüriner sistemde ve adrenallerde östrojenin varlığını gösterdiklerinden günümüze kadar araştırılmaktadır. Östrojen etkilerinin çoğu, östrojenin bir veya iki ER alt tipine bağlanmasını içeren genomik yolla düzenlenmektedir (60). ER- α esas olarak, over ve meme gibi östrojenin direk hedef dokularında yoğunudur. Diğer yandan ER- β böbrek, kemik, akciğer ve epitel dokularında tespit edilmiştir (61, 62). Östrojen genital organlarda büyüme, kan akışı ve su balansını stimule etmesinin yanı sıra penil kan damarlarının regülasyonu ve epitel fonksiyonunda da önemli bir role sahiptir. Alt üriner sistemde testis, prostat, üretra ve penisin korpus kavernozumunu ile korpus spongiozumunda ER- α ve ER- β tespit edilmiştir (14, 61, 63, 64).

Yapılan in-vivo ve in-vitro çalışmalarda ER- α 'nın endotelin fonksiyonlarını yerine getirme ve büyümesinde önemli rol aldığı, östrojenin de ER- α 'ya ER- β 'den daha fazla bağlandığı anlaşılmıştır. Östrojenin penil kan damarlarının regülasyonunu daha çok ER- β izoformu üzerinden gerçekleştirdiği gösterilmiştir (65, 66).

3. *Penis Anatomisi*

Penil şaft, onları saran fasya tabakaları, sinirler ve damarlarla birlikte üç erektil yapıdan oluşan üzeri tamamen cilt ile örtülü, iki korpus kavernozum ve üretrayı da içine alan korpus spongiozumu içerir (67). Korpus kavernozumlar tunika albugineadan oluşan kalın kılıf ile sarılı, bir çift süngersi silindirden oluşmuştur. Distalde birbirine yapışık olan korpus kavernozumlar simfizis pubis altında ayrılarak iki krus oluştururlar. Her bir krus, iskion pubis kemiğinin altındaki tüberositas iski'ye yapışır. Simfizis pubis ile korpus kavernozumlar arasındaki ligamentum suspensoryum penis, kruslardan sonraki ikinci fiksasyon noktasını oluşturur. Kruşlar musculus iskiokavernozusla sarılıdır. Her bir korpus kavernozum elastik liflerden fakir, kollejen liflerden zengin ve distansibilitesi sınırlı olan tunika albuginea ile sarılıdır. Bu yapı ereksiyonda önemlidir. Tunika albuginea, ereksiyonda kollajen liflerinin izin verdiği kadar genişler ve kendisini delip geçen perforan (emisser) venleri sıkıştırarak venöz dönüşü engeller ve rijid ereksiyona katkıda bulunur (67, 68). Tunika albuginea çok sayıda alt tabakadan oluşan iki tabakalı bir yapıdır. İç tabakanın demetleri sirküler tarzda, dış tabakanın demetleri ise longitudinal olarak seyrederek (69). Tunikanın dış longitudinal ve iç sirküler lifleri penis flask halde iken ondüle tarzındayken, ereksiyonda sıkıca gergin vaziyettedirler (70). Tunika albugineanın oluşturduğu septal çıkıntılar korpusların içinde birçok odacıklar (trabekül) oluşturur (67, 68). Korpus kavernozumun iç boşluğu arterler, yassı endotel hücrelerinden oluşan sinüzoidler, damarlar, sinirler, yumuşak kas lifleri ve trabekülayı ihtiva eden erektil doku ile doludur. Bu doku ve albuginea kılıfı arasında birkaç kanal içeren ince bir areolar bağdokusu bulunur (71). Her korpus kavernozumun merkezindeki sinüzoidler geniş, periferindeki sinüzoidler ise daha dardır. Flask durumunda kan yavaşça merkezden periferik sinüzoidlere geçer ve kan gazları venöz kanla uyumludur. Korpus kavernozumlar arasında bir septum vardır. Bu septumda birçok fenestrasyonlar mevcut olup, her iki korpus kavernozumun sinüzoidal boşlukları arasında anastomoz sağlarlar. Korpus kavernozumlar arası septum insanda tam teşekkül etmemiştir (67, 72).

Korpus spongiozum iki korpus kavernozumun arasında ventral olukta uzanır. Korpus spongiozumun tunika albugineası daha ince olup korpora kavernozumdan daha az erektil doku içerir, ancak sinüzoidleri daha geniştir. Üretra, penis boyunca korpus spongiozumun içerisinde uzanır. Korpus spongiozum penis bulbusunda dilatedir ve

perineal membranın merkezine fiksedir. Simfizis pubis altında iki krusa ayrılan korpus kavernozumlar arasında spongioz cisim genişleyerek bulbospongiozumu oluşturur. Bulbusun distalinde korpus spongiozum incilir ve korpus kavernozumun önünde seyredip distal olarak büyüyerek ereksiyon dokusundan oluşmuş büyük bir başlık olan glans penisi oluşturur. Üretral meatus, glans penisin uç kısmının ventral yanında, uzun eksenli dik olacak şekilde bulunur. Glans penisin kenarları penis gövdesinden sarkarak korona denilen bir çerçeve oluşturur. Bu oluşumun hemen yanında da koronal sulkus bulunur. Frenilum koronanın “V” şeklini aldığı yerde glans penisin en ventral noktasında bulunan katlanmış bir deri parçasıdır (67, 71).

Eretil bölümler, derin penil bağ dokusu (Buck fasyası), yüzeğe yakın penil bağ dokusu (dartos fasyası) ve deri ile çevrelenmiştir. Buck fasyası tüm üç korporayı hemen dışında saran ve bunlara gevşekçe bağlı kuvvetli bir tabakadır. Her iki korpus kavernozumlar arasına girer ve korpus spongiozum ve korpus kavernozumlar arasında da bir tabaka oluşturur. Buck fasyası ereksiyonda sirkumfleks venler ve derin dorsal veni sıkıştırarak rijiditeye katkıda bulunur. Batına doğru Buck fasyası korpus spongiozumu çevrelemek için ikiye ayrılır. Rektus şaftından gelen elastik ve kollajen lifler, Buck fasyası ile karışarak penisin fundiform ligamenti olarak devam ederler. Pubisten gelen derin lifler ise penisin suspansuar ligamentini oluştururlar. Perinede Buck fasyası tunika albuginea ile distalde ise koronada glansın tabanıyla birleşir. Korporal yapılardaki bir yırtıktan oluşan kanama (penil fraktür) Buck fasyası içerisinde yer alır. Buck fasyasının lateral olarak spongiozuma yapışması bu yapıyı sıkıca korpus kavernozumun tunika albugineasına sabitler. Penis tabanının ilerisinde korpus kavernozumun iki bacağı ve korpus spongiozumun bulbus yapısını sararak anüsle penis arasına (perineum) doğru ilerler (68, 71, 73). Bu yapıları sıkıca pubis, iskium ve perineal membranın inferior fasyasına fikse eder ve ürogenital diafram adını alır (67).

Penisin dartos fasyası gevşekçe düzenlenmiş, yağdan yoksun yumuşak dokular ihtiva eder. Sünnet derisine ait kıvrımın iki katmanını ayırır, deriye ve Buck fasyasına gevşekçe birleşik bir şekilde penis derisinin hemen altında uzanır. Dartos fasyası penisin yüzeğe yakın arterleri, venleri ve sinirlerini ihtiva eder (71).

Penis derisi merkezden uzak bir şekilde koronada penis ucuna birleşiktir ve distalde sünnet derisini oluşturmak üzere kendi üzerine kıvrılarak penis ucunu örter. Penis derisi oldukça elastik yapıda olup kıl ya da koronanın tabanındaki smegma yapan

bezler hariç glandüler elemanlar içermez. Penil şaftın derisi yağdan oldukça fakirdir. Prepisyum iç tabakası penis ucunu kaplayan düz deri ile birleşmiştir. Penisi saran deri altındaki dartos fasyasının yumuşak yapısı nedeni ile çok ince ve mobildir. Penis derisinin beslenmesi erektil yapılara bağlı değildir. Femoral damarların eksternal pudental dallarından beslenir. Bu damarlar penisin tabanından girerek Dartos fasyasının içinde zengin bir anastomotik yapı oluşturarak longitudinal olarak seyrederek. Bundan dolayı penis derisi üretral rekonstriksüyonlarda ideal bir doku olduğundan vasküler bir pedikül olarak mobilize edilir. Glans derisi ise altındaki ince tunika albuginea ile direkt yapışık olduğundan dolayı mobil değildir (71, 73).

Mesane boynundaki internal orifisten penisteki eksternal meatusa kadar uzanan, üriner ve genital sistem için kanal görevi yapan 18-20cm uzunluğundaki üretra; glanüler, pandüloz veya penil, bulböz, membranöz ve prostatik olmak üzere 5 bölümden oluşur. Glanüler üretra stratifiye squamoz epitelyum ile kaplanmıştır. Pandüloz kısımda epitel primer olarak stratifiye veya psödostratifiye kolumnar epitelyum olup, stratifiye squamoz epitelyum de ihtiva eder. Bulböz üretra stratifiye veya psödostratifiye kolumnar epitel ile kaplıdır. Bu epitel yapısı membranöz üretrada da devam eder. Prostatik üretrada verumontanuma kadar olan bölüm ise mesane epitelinin devamıdır, yani transizyonel epitel ile döşelidir (68, 71).

Prostatik üretra 3cm uzunluğunda olup en geniş ve gerektiğinde en fazla genişleyebilen üretra kısmıdır. Verumontanum seviyesinde bir açılma yapar. Prostatik üretranın arka duvarında uzunlamasına seyreden, yüzeyel trigonun verumontanuma uzanan kas liflerinin ve üzerindeki mukozanın yaptığı plikaya krista üretralis, bunun yanlarında oluşan çukurcuklara ise sinüs prostatikus denir. Krista üretralisin orta kısmındaki tümseğe verumontanum (Colliculus seminalis) adı verilmektedir (68).

Membranöz üretra, erkekte üretranın en kısa ve eksternal meatustan sonraki en dar yeridir. Ürogenital diaframın içinde yer alan ve 2-2,5cm uzunluğundaki bu bölüm prostatın apeksinden bulber üretraya kadar uzanır. Membranöz üretra müsküler bir organ olup içinde istemsiz düz sifinkter kaslarının dışında, istemli dış sifinkteri de bulundurulur. Membranöz üretranın her iki yanında bulboüretral glandlar (cowper bezleri) bulunur. Membranöz üretranın her iki yanından saat 3 ve 9 seviyesinden kavernoöz sinirler geçerler (68).

Penil üretra membranöz üretradan eksternal meatusa kadar uzanan ve korpus spongiozumun içinde yer alan üretranın en uzun segmentidir. Ortalama 15 cm uzunluğundadır. Penil üretranın proksimal kısmı en geniş bölümüdür ve fuziform genişleme gösterir. Bulber üretra olarak da isimlendirilen bu segment, bulbospongioz kasla çevrilidir. Üretranın distalinde glans penis içerisinde yer alan fossa navikularis penil üretranın ikinci geniş yeri olmakla birlikte genişleyebilirliği sınırlıdır. Fossa navikularisin distal ucu eksternal meatus olarak adlandırılır ve 6mm genişliği ile üretranın en dar yeridir. Glandülo üretralis (Littre bezleri) skene kanalları ile üretranın penil ve bulboz bölümlerine açılır. Bulber üretranın proksimaline her iki Cowper bezinin (Bulbouretal gland) kanalları açılır (68).

3.1. Penisin Arteriyel Sistemi

Penisin gerek nutrisyonel gerekse erektil kan akımı a. iliaka internanın dalı olan a. pudenta internadan gelir. Fossa ischiorectalis'de ilerleyen a. pudenta interna'dan başka, 40 penis üzerinde yapılan bir çalışmada erektil yapıların %10 oranında a. obturatoria veya a. glutea inferior'dan da kanlandıkları gösterilmiştir (74). A. pudenta interna önce iki küçük dal vererek üretra ve korpus spongiozumu besler (bulber ve üretral arterler), sonra krusların 1/3 arka kısmından korpus kavernozumların içine kavernozaal arterleri verir ve derin dorsal arter olarak korpus kavernozumların üzerinde glansa kadar uzanır (68). Arteria urethralis (a. penis inferior) genellikle a. pudenta internadan çıkarken bazen a. dorsalis penisten de çıkabilir. Glans penise kadar korpus spongiozum penis içinde ilerler, üretra ve çevresindeki dokuları besler (74). Korpus spongiozum ve glansın ereksiyonu bulber ve üretral arterlerle sağlanır. Derin dorsal arter penis dorsali boyunca derin dorsal venin medial bölümü ile dorsal sinirlerin lateral bölümleri arasından seyrederek ve penis gevşek durumda iken helezon şeklindedir. 3-10 circumflex damara ayrılır. Proximal circumflex arterler corpus spongiozum ve üretranın kan ihtiyacının karşılanması işlemine de katılabilir. Hilumda korpus kavernozumuna giren kavernozaal arter, penis gövdesi boyunca erektil yapıları besleyen spiral şeklindeki helisin arterleri oluşturur. Bu arterlerin genişlemesiyle düz kas ve endotelden oluşan sinüzoidal boşluklar dolar (kavernöz sinüsler). Ereksiyonda kanı depolayan ana yapı burasıdır. İntrapenil arterlerden başka küçük dallar çıkarak, nutrisyonel amaçlı bir kapiller yatak oluştururlar. Nutrisyonel amaçlı kapiller yatak da, subalbugineal bir

venöz pleksus yaparak postkavernöz venüllere açılır. Bu venüllerin birleşmesiyle emisser venler oluşur. Emitter venler tunika albugineayı delerek Buck fasyası altında ve penis sırtında balık kılıcı görünümü veren sirkumfleks venleri oluşturur ve bunların birleşmesiyle derin dorsal ven meydana gelir. Korpus kavernozumda ereksiyonun sağlanması için gereken kanın %70'i kavernozaal arterlerle, %30'u ise derin dorsal arterlerle sağlanır. Gençlerde derin dorsal arterin kesilmesi ereksiyonu bozmazken yaşlılarda tek başına kavernozaal arterler ereksiyona yetmeyebilir (68, 71).

Penis derisinin ve dartosun beslenmesi sağ ve sol eksternal pudental arterler tarafından sağlanır. Bu damarlar femoral arterlerin ilk bölümünden gelir ve iki ana dala ayrılacak şekilde üst femoral üçgenin üst medial yüzeyinden geçer. Bu dallar dorsolateral ve ventrolateral şekilde dartos fasyasının içinden geçer (71).

3.2. Penisin Venöz Sistemi

Penis üç venöz sistemle drene edilir. Bunlar yüzeysel, intermediate ve derin venöz sistemlerdir.

1-Yüzeysel venöz drenaj: Bu sistem glans penis, penis derisi ve prepisyumun venöz drenajını sağlar (68, 74). Yüzeysel venler penisin dorsolateral kısmında dartos fasyası içinde bulunurlar. Penis köküne yaklaşıncaya birleşerek tek, bazen çift yüzeysel dorsal veni oluştururlar. Yüzeysel dorsal ven genellikle sol safen vene (nadiren sağa) ve bazende her ikisine drene olan iki turunkus oluşturur. Daha yüzeysel doku venleri eksternal süperfisial pudental venlere drene olur (69).

2-Intermediate sistem: Bu sistem glans penis, korpus spongiozum penis ve 2/3 distal korpus kavernozum penisini drene eder (75). Korpus kavernozumun ve spongiozumun emisser venleri dorsalde derin dorsal, lateralde sirkumfleks ve ventralde ise periüretral venlere dökülür. Korpus spongiozum ve korpus kavernozumun drenajı ise glans penisten oldukça farklıdır. Bu yapılarda tunica albuginea altına kadar kavernoza boşluklarda ilerleyen kan, tunica albugineayı oblik olarak geçen v. emisserialar aracılığı ile v. circumflexalara yönlendirilirler. V. emisseriaların 2-3 tanesi biraraya gelerek v. circumflexaları oluşturur. Bunlar 2-3 tanedir ve Buck fasciasının altında ilerleyerek v. dorsalis profunda penise açılırlar. Bu ven simfis pubis altından geçerken v. pudenta internaya dallar verir. Daha sonra plexus venosus prostaticusa drene olur ve bu plexus da kanını v. iliaca internaya boşaltır (67, 76).

3-Derin drenaj sistemi: Korpus kavernozum penis ve bulbus penisi drene eder. Küçüktürler ve derin dorsal vene ya da periprostatik pleksusa katılarak hemen hemen fark edilmezler. Penisin proksimal 1/3'ünde yerleşmiş olan v. emissarialar hilumdan 2-5 tane ince duvarlı, büyük venler olarak çıkarlar. Daha sonra bir araya toplanarak v. cavernozayı oluştururlar. V. Cavernoza da kanını v. pudenta internaya boşaltır (67, 75). Bulbus penisten çıkan küçük damarlar da v. cavernozaya açılırlar. Ancak drenaj asıl v. üretralilerle sağlanır (76). Bazı vakalarda plexus venozus prostaticus ile v. cavernoza arasında bağlantılar bulunmuştur (75).

V. dorsalis profunda penis ile v. dorsalis superficialis penis arasında v. cominicanslar aracılığı ile bağlantılar mevcuttur. Bu bağlantılar ereksiyon sırasında Buck fasciasının gerilmesi sonucu kapanmaktadırlar. Bu ven gruplarından v. pudenta interna ve plexus venosus prostaticus v. iliaca internaya, v. saphena magna ise v. femoralis yoluyla v. iliaca externaya açılır (76).

3.3. Penisin Lenfatik Sistemi

Penis, skrotum ve perine ingüinal lenf nodlarına drene olurlar. Bu nodlar fasya lata tarafından yüzeysel ve derin nodüller olmak üzere ikiye ayrılırlar. Süperfisyal nodüller safenofemoral bileşkede uzanırlar. Fasya latadaki safenik açılmada (fossa ovalis) büyük safen ven, femoral vene katılır ve süperfisyal nodüller derindeki grupla birleşir. Derindeki ingüinal nodüllerin birçoğu femoral venin medialinde seyrederek, eksternal iliak ve obturator nodüllere femoral halkanın içinden efferentlerini gönderirler. Femoral halkanın dışında büyük bir nodül mevcuttur ki Cloquet nodülü ya da Rosenmüller nodülü adı verilmektedir (73).

Penis gövdesinin derisini ve prepisyumu drene eden lenfatik kanallar dorsal olarak birleşir, sağ ve sol ingüinal lenf nodlarına katılmak üzere penisin tabanında bölünürler. Glans penisten olan drenaj frenuluma doğrudur. Lenfatik damarlar penisin içinde Buck fasyasının altında seyrederek femoral üçgenin yüzeysel ingüinal nodlarına ve derin ingüinal nodlarına presimfizial lenfatikler aracılığı ile boşalırlar (67, 71).

3.4. Penisin Sinir Sistemi

Penisin sinirleri pudental ve kavernoza sinirlerden derive olurlar. Pudental sinirler penisin somatik, motor ve duyuşal innervasyonunu sağlarlar. Kavernoza sinirler

parasempatik ve visseral afferent liflerin bir kombinasyonudur ve penisin otonomik innervasyonunu oluştururlar. Bu da erektil aparata nöral destek sağlar.

Pudental sinirler, iskiorektal fossanın posterior sınırında, küçük iskiatik çentik boyunca internal pudental damarlarla perineye girerler. Alcock kanalında ürogenital diaframın kenarına ilerlerler. Penisin her bir dorsal siniri Alcock kanalından pudental sinirin ilk dalı olarak çıkar. İnternal obturatorun üstünde ve levator ani kasının altında ana pudental dal ventralde ilerler, dorsal sinirler ise dorsolateral penis yüzeyi boyunca dorsal arterin lateralinde devam ederler. Şaft üzerinde küçük demetler ciltteki corpora kavernozaun tunikası ve sensorial uçlarda proprioseptif ve sensorial sinir uçlarını sağlamak için yelpaze gibi dağılırlar. Bu sinirler glans peniste sonlanırlar (67). Tunika albugineanın yüzeyini, deriyi ve glans penisini innerve ederler (71).

Pelvik organların ve eksternal genitalin otonomik innervasyonu pelvik pleksustan köken alır. Pleksus, sakral merkezden (sakral 2-4) çıkan preganglionik parasempatik visseral efferentler ve torakolomber merkezden (torakal 11- lumbal 2) çıkan sempatik preganglionik afferent liflerden oluşur (67). Kavernoza sinirleri bu pleksusta oluşur. Prostatın ilerisinde parasempatik sinirler ile kavernoza sinirleri membranöz üretra duvarı boyunca uzanırlar. Bunlar korpus kavernozauma girmeden önce perineal membranı delerken kavernoza arterin dorsomedialinde, Cowper bezinin yakınından geçer ve bu bezi innerve eder (71).

4. Prepisyum

4.1. Anatomi ve Histoloji

Prepisyum glans penis ve klitorisi örten eksternal genitalyanın normal parçalarından birisidir. Erkek prepisyumu ektoderm, nöroektoderm ve mezenşimin katılımı ile oluşan beş katlı bir yapıdır :

1. Skuamoz mukozal epitel,
2. Lamina propria,
3. Dartos kası,
4. Dermis,
5. Glabrous derisi (dış epitel).

Prepisyum göz kapağına, labia minörlere, anüs ve dudaklardaki yapıya benzer. Yani mukokutanöz bir doku kompleksidir. Deri ve mukoza prepisyumda bir birliktelik oluşturur. Ayrıca ereksiyon sırasında prepisyum yine glansın etrafında koruyucu bir örtü olmaya devam eder ve özel innervasyondan dolayı da erojen bir dokudur.

Prepisyum iç yüzü glansı saran epitel mukozasıdır, eksternal irritasyonu ve kontaminasyonu azaltır. Mukoza sebace glandlar ile kaplıdır. Bu yapılar glans penisi nemli tutar ve koruyucu etkisi vardır. Skuamoz mukoza epiteli ile aynı yapıda epitelidir. Doğumda prepisyum mukozası ile glans aynı epiteli paylaşırlar. Bu epitelde intraepitelyal sinir uçları ve Langerhans hücreleri de bulunur.

Prepisyumun lamina propriası, kıl folikülü, yağ ve ter bezleri içermez. Prepisyumda smegmanın salgılandığı bir bez yapısına rastlanmamıştır. Oldukça vasküler bir yapı olan lamina propria sünnette gelişen hemorajik komplikasyonlardan sorumludur. Gevşek bir kollajen yapısına sahip olan prepisyum mukokutanöz bileşkede daha rijid bir yapıdadır (77) .

Dartos kası; erkek eksternal genitalyası için spesifik bir kastır. Kas lifleri cildin sonlandığı yere kadar spiral tarzda uzanır. Dartos kası, skrotal dartos kasının devamı niteliğindedir. Elastik lifler arasındaki düz kas liflerinden oluşmaktadır. Dartos kası ısıya duyarlı olup peniste en çok prepisyumda bulunur. Bu kas, sıcaklığı ayarlamakta ve ereksiyon sırasında uzayabilmektedir. Prepisyumun kaybı penisin ısı değişikliklerine duyarlılığını azaltmaktadır. Dartos kas lifleri içindeki elastik lifler yaşla artmaktadır. Bu da bebekte büzölmüş duran prepisyumun erişkin yaşta kolayca geriye doğru çekilip elastik bir hale gelmesine neden olmaktadır. Steroid hormonlar da prepisyumdaki elastik lif miktarını ve prepisyumun geriye çekilebilirliğini artırmaktadırlar. Kas lifleri arasında sinir uçları da mevcuttur (77).

Prepisyumun dermis tabakası; bağ dokusu, kan damarları, sinir uçları, Meisner korpüsküllerini ve sebace glandları içerir. Elastik lifler çoğunluktadır. Ereksiyonda dermis geriye doğru giderken ereksiyonun sonlanmasıyla, lamina propria daha az elastik olması dolayısıyla dermisi yerine çeker (77).

Dış yüzeyindeki epiteli ise cilttir ve glansı örtüp saklamak görevini yerine getirir. Bu dış epitele glabrous derisi de denir. Keratinize skuamoz hücrelerden oluşur. Bazal tabakada melanositler, Langerhans ve Meckel hücreleri vardır. Langerhans hücrelerinin immün fonksiyonları vardır. Meckel hücreleri ise dokunma duyusunu ileten spesifik

nöroendokrin hücrelerdir ve vazointestinal polipeptid (VIP), nöronspesifik enolaz (NSE), sitokeratin 20 ve kromogranin A salgırlarlar (77).

Prepisyum iç boşluğunda (prepisyal sak) kolonize halde corynebacteriumlar, gram negatif anaeroplur (Bacteriodes melamnogemcus), enterokoklar, enterobakterler ve koagülaz pozitif stafilokoklar bulunur. Ayrıca penil karsinogeneziste rol oynayan Mycobacterium Smegmatis de bu sakta bulunabilir. Bu boşlukta deskuame epitel hücreleri de bulunur.

Smegma, beyaz krem rengi bir materyal şeklinde bu iç boşlukta toplanabilir. Smegmanın içeriği; squalan, steroid yapıda yağ asitleri, beta kolesterol ve uzun zincirli yağ asitleridir. Prepisyum dermisindeki glandlardan yapıldığı düşünölmektedir (77).

Prepisyumun iç boşluğu kanlanmasını glans penisten gelen frenöler arterden almaktadır. Çok sayıda ven içerir ve bu venler yüzeysel ve derin dorsal venlere drene olurlar. Lenfatikleri ise yüzeysel inguinal ve subinguinal lenf nodlarına boşalır (77).

Prepisyumun innervasyonu

Prepisyumun sensoryal innervasyonunu penisin dorsal sinirinden ve perineal sinirinden gelen dallar sağlar. Otonomik sinir uçları pelvik pleksustan gelir. Parasempatik visseral efferent ve afferent sinirler sakral 2-4 segmentlerden, sempatik visseral efferent ve afferent sinirler ise torakal 11- lumbal 2 medulla spinalis segmentlerinden gelir. Penisin bu komplike innervasyonundan dolayı dorsal sinir bloğuna rağmen sünnette ağrı duyulabilir. Neonatal ve çocukluk çağında prepisyumda bulunan kapsölsüz mekanik reseptörlerin çoğu Meissner korpöskölleridir. Bunlar epitelyal bazal membran ile ilişkilidirler. Glans peniste ise daha çok serbest sinir uçları mevcuttur. Bu da glans penisin ağrı, ısı ve mekanik bası reseptörlerinin körelmiş olarak algılanmasına neden olur (77).

Seksüel Fonksiyona Etkisi

Prepisyum erişkin erkekte tamamen veya kısmen glansı örter. Glanstan çok daha fazla duyarlıdır. Ancak sünnetin erişkin seksüel fonksiyonlar üzerine etkileri tartışmalıdır ve bu konuda birçok çalışma vardır. Ancak ölkemizde erişkin çağda sünnet olan sayısı az olduğundan dolayı sünnet derisi olan bir erkekte sünnetten sonra ne tür farklılıklar olduğunu belirleyen bir çalışma halen mevcut değildir (77). Fink ve ark.'nın

(78) çalışmasında, sünnet olan erişkin erkeklerde sünnetten sonra penil hassasiyette azalma olduğu bildirilmiştir. Ancak bu çalışmanın aksine, sünnet olanların % 62'si sünnetin cinsel yaşamlarında olumlu katkılar sağladığını ve partnerlerinin daha çok zevk aldıklarını söylemişlerdir. Ancak genel kanı, erkeğin sünnet ile penisinin en hassas kısmı olan prepisyumu kaybettiği yönündedir (77).

4.2. Embriyoloji

Prepisyumun gelişimi fetal hayatın üçüncü ayında başlar ve beşinci aydan önce tamamlanır. Gebeliğin 12. haftasında, ektodermden gelişen prepisyumun iç yüzeyi ve glansın epiteli çok katlı squamoz epitelden meydana gelip birbirine yapışıktır. Ayrılma 24. haftada başlar ve doğumdan sonra çocuğun büyümesiyle devam eder (79-81). Prepisyumun embriyolojik oluşumu Schweiggen-Seidel tarafından 1866'da glans orta epitelinin uzaması ve kıvrılması olarak tariflenmiştir. Ancak Glenister (48) yaptığı bir çalışmada prepisyum çöküntüsünün oluşup, bunun içine bir hücre tabakasının göç ettiğini ve böylece glans penisin mukozal epitelinin prepisyumun iç mukozası ile birlikte oluştuğu, onun için de tek bir doku gibi düşünülmesi gerektiğini vurgulamıştır (77). Prepisyal defektler, yetersiz ventral segment ve dorsal baş şeklinde hipospadiasla birlikte görülebilirler. Normal intakt bir prepisyum ile birlikte glanüler geniş bir yarıklık olabilir ki buna Megameatus Intact Prepuce (MIP) denir (82).

Yeni doğanda prepisyum neredeyse daima glansa yapışıktır. Yenidoğan döneminde prepisyum ile glans arasındaki doğal yapışıklık fizyolojik fimozis olarak adlandırılır. Fizyolojik fimozis için herhangi bir tedavi gerekmez. Çocuk büyüdükçe prepisyumun geri çekilebilme oranı yükselir. Prepisyumun iç yüz mukozası ve glans penis yıllar içerisinde yavaş yavaş birbirinden ayrılır. Glans epiteliyle prepisyumun iç yüzünü döşeyen epitel birbirinden keratinizasyonla ayrılır. Yenidoğan döneminde fizyolojik fimozis oranı %96 iken 17 yaşında bu oran %1'e düşer (83). Patolojik fimozis en sık yetersiz lokal hijyen nedeniyle oluşan kronik enfeksiyonların sonucunda oluşup herhangi bir yaşta görülebilir. Patolojik fimozisin tedavisinde geleneksel tedavi yöntemi sünnettir. Ancak penis cerrahisi ve anestezi ile ilgili komplikasyonlar nedeniyle sünnete alternatif olarak çeşitli tedavi yöntemleride geliştirilmiştir ve başarılı sonuçlar bildirilmiştir (84-87). Bunlardan en yaygın uygulanan ve kabul göreni, son yıllarda kullanımı giderek yaygınlaşan prepisyumun dar olan uç kısmına topikal kortikosteroid

içeren krem uygulanmasıdır (88). Topikal steroidlerin ve nonsteroid antiinflamatuvar pomatların seperasyonu hızlandırdığı bilinmektedir. Bu iki yapının ayrışması intrauterin hayatın geç döneminde başladığından, doğumda bebeklerin ancak %4'ünde prepisyum tümüyle geri çekilebilir. Yeni doğanların neredeyse %50'sinde prepisyum eksternal meatus görülebilecek kadar dahi geri sıyrılamaz. Altıncı aya kadar bebeklerin ancak % 20'si tümü ile sıyrılabilen prepisyuma sahipken, bu oran 3 yaşında % 90'a ulaşır. Fimotik prepisyum eksize edildiğinde mukoza normal olarak değerlendirilebilir (77).

Prepisyumun geri çekilmesi yani prepisyum ile glans epitelinin birbirinden ayrılması, glans epitelinin sıyrılması demektir. Ancak tıbbi yönden bakıldığında, prepisyumun erken manipülasyonu gereksiz olduğu gibi mukozada kanama, skatrizasyonla iyileşme, fimoziste artma, ağrı ve psşik travmaya neden olabilir. Sünnet derisinin glansdan tümüyle ayrışmasının doğumla başlayan ve 10–14 yıl kadar sürebilen normal bir gelişim süreci olduğu ebeveynlere anlatılmalı ve prepisyum sıyrılmaya çalışılmamalıdır. Çoğunlukla böyle olgularda sünnet sonrası immatür glans mukozası prepisyum artığıyla birleşerek yüzeyi tamamlayacaktır.

Genel olarak glansın normal gelişimi için prepisyum gelişimi olması gerektiği düşünülüyorsa da, normal prepisyal gelişimle birlikte hipospadias ve epispadias görülebilmesi, prepisyum embriyolojisinin daha kompleks olduğunu düşündürmektedir. Tam gelişmiş bir prepisyumla birlikte bir megameatus ve subkoronal hipospadias önemli anomalilerdir ve neonatal sirkumsizyona önemli kontrendikasyon teşkil ederler (77).

5. Hipospadias

Hipospadias, en sık görülen konjenital anomalilerden biridir ve tüm canlı doğumların 1/200 ila 1/300'ünde görülür (89). Genel anlamda üretral korpus spongiozumun ve ventral prepisyumun embriyolojik gelişim defekti, dorsalde “ hood” şeklinde anormal cilt fazlalığı ile beraber normal penil kurvaturün düzelmesindeki anomali olarak tarif edilmektedir (90, 91). Buna bağlı olarak üretra normalde olması gerektiği glans penisin uç kısmından daha proksimalde perineden glansa kadar başka bir bölgeye açılır. Hipospadias, anatomik olarak üretral orifisin açılım yerine göre sınıflandırılır:

a. Distal-anterior hipospadias (glanüler, koronal, subkoronal) penisin başında ya da distal shaftında yerleşir ve tüm olguların yaklaşık %70-80'ini oluşturur,

- b. Ara-orta (penil) hipospadias (distal penil, mid-penil, proksimal penil),
- c. Proksimal-posterior (penoskrotal, skrotal, perineal) hipospadias.

Genellikle daha ciddi hipospadias tipleri daha yüksek penil kurvatur hatta penoskrotal deri transpozisyonu ile birlikte olma eğilimindedir (89, 92-94).

Hipospadias sıklıkla izole bir anomalidir, ancak hastaların %10-15'inde ek konjenital malformasyonların olduğu da tahmin edilmektedir. Hipospadiasla birlikte görüldüğü bildirilen ve sıklıkla mikropenis, kriptorşidizm ve skrotal anomalilerle birlikte olan 49 farklı kromozomal anomali içeren sendrom rapor edilmiştir. Bu durum hipospadias etyolojisinde bir endokrinopatinin bulunduğu kanıtıdır (95, 96). Hipospadiasın derecesi arttıkça ve eşlik eden anomali varlığında, kromozomal anomali bulunma riski de artmaktadır. Birlikte bulunan anomaliler içinde inmemiş testis %8-9, inguinal herni ve/veya hidrosel %9-16, persistan prostatik utrikulus (özellikle proksimal olgularda) % 15'e varan oranlarda saptanmıştır (97, 98). Yine üriner organ anomalileri (üreteropelvik bileşke obstrüksiyonu, vezikoureteral reflü, pelvik veya at nalı böbrek, çapraz renal ektopi ve renal agenezis) anterior ve posterior hipospadiaslı hastalarda sırasıyla %1 ve %5 oranında bildirilmiştir (97, 99).

Özellikle inmemiş testis ile hipospadias birlikteliği (ambigus genitalia olsun yada olmasın) intersex açısından dikkatle incelenmelidir (91). Bilateral inmemiş testis ile birliktelik saptanırsa, bu çocuklarda karyotip analizi ve kan testleri gerekir. Tek taraflı nonpalpabl olgularda da karyotip analizi uygun olabilir. Bir tarafı nonpalpabl diğer tarafı normal olan olgularda ise en sık karşılaşılan anomali Mikst Gonadal Disgenezis (MGD)'tir. Nonpalpabl unilateral inmemiş testis grubunda interseksüalite oranı palpabl inmemiş testis grubuna göre 3 kat daha fazladır. Bilateral inmemiş testis grubunda bir ya da iki taraflı nonpalpabl testisli olgularda bilateral palpabl inmemiş testisli gruba göre interseksüalite oranı yine 3 kat daha fazla bulunmuştur (100).

5.1. Anatomi, Embriyoloji ve Etiyoloji

Histolojik çalışmalar hipospadik penisteki üretral pleytin iyi damarlanması olan; üretral spongiozumun ise iyi kanlanan sinüzoidler içeren ve skar içermeyen bir yapıya sahip olduğunu göstermiştir (101). Bu özellikler hipospadias onarımında üretral pleyt ve anormal korpus spongiozumun başarı ile kullanımını açıklamaktadır. Normal ve

hipospadik penislerdeki sinir yapıları da benzerdir. Dorsal sinir, pudental sinirden çıkar ve uretranın superior ve hafif lateral kısımlarından geçen iki iyi tanımlanmış demet halinde devam eder. Her iki krural cismi takip ederek ayrı ayrı gelen sinirler korpus kavernozumların etrafında, kavernozyapıların üretral spongiozum ile birleştiği noktaya kadar ilerler. Normal peniste olduğu gibi hipospadik peniste de saat 12 hizası nöral yapılar içermemektedir (102).

Prepisyum intrauterin dönemde uretra ile eş zamanlı olarak oluşur ve gelişimi normal üretral gelişime bağlıdır. Gebeliğin yaklaşık 8. haftasında penil gövdenin her iki tarafında aşağı prepisyal katlantılar oluşur ve bunlar koronanın proksimal kenarında düz bir kabarıklık oluşturmak üzere birleşirler. Bu kabarıklık, ventral kısımda uretranın inkomplet gelişiminden dolayı kesintiye uğrar ve tüm uretrayı çevreleyemez. Eğer hipospadiasta olduğu gibi genital katlantılar birleşemezse, ventral kısımda prepisyal dokular oluşamazken dorsal kısımda normalden fazla oluşur.

Hipospadias insidansının 1960'ların sonundan günümüze kadar yaklaşık 2 kat arttığı rapor edilmektedir. Diğer taraftan, hipospadiasın kesin etiyojisi hala tam olarak bilinmemektedir. Hipospadiasın etiyojisi bir poligenik modele uyacak şekilde multifaktöriyeldir. Bu bağlamda sorunlu etiyojistik faktörler olarak; çevresel ya da diğer endokrin ajanlar, doğal endokrinolojik ve enzimatik ya da lokal doku anomalileri ve gelişimin duraklamasına ait belirtilerin bir ya da birden fazlasının rol oynaması olasıdır. Hastaların %7'sinin babaları da hipospadiaktır. Erkek kardeşlerin ise %14'ü etkilenmektedir. Geniş kapsamlı çalışmalara rağmen, hipospadias vakalarının %5'ten daha azı androjen metabolizması bozukluğu (5 α redüktaz eksikliği tip 2), androjen reseptör defekti veya genetik bozukluklar ile açıklanabilmektedir (18, 100, 103-107). HOXA13 geninde mutasyon ile karakterize çok nadir bir otozomal dominant hastalık olan el-ayak-genitalya sendromu gibi genetik sendromların değişik ciddiyette hipospadiasa sebep olabileceği gösterilmiştir (108-110). Yine Fibroblast Büyüme Faktörü 10 (FGF 10) genindeki bozulma da hipospadias ile sonuçlanmaktadır (103). İn-vitro fertilizasyonla doğan erkek bireylerde hipospadias, normal popülasyondan 4 kat daha fazla görülmektedir (95). Monozigot erkek ikizlerde hipospadias 8.5 kat daha sık görülmesi plesantal Human Chorionic Gonadotropin (hCG) üretimine talebin artmasıyla açıklanmaktadır. Ayrıca hipospadias gelişiminde bazı maternal faktörler de

suçlanmıştır. Bunlar anne menarş yaşının geç olması ve annelik yaşının ileri olmasıdır (100).

5.2. Endokrin Bozukluklar

Dünya çapında hipospadias insidansının artmasının muhtemel sebeplerinden birisi de çevresel kirlenmedir (1, 111-114). Endokrin bozukluğa sebep olabilecek pek çok madde tatlı sulara ve deniz suyuna düşük miktarlarda karışmakta ve besin zincirinin daha üst basamaklarındaki canlılarda konsantre olarak biyoakümülyasyona uğramaktadır. Geçmişte çevresel faktörler genellikle hipospadias sebebi olarak kabul edilmezdi. Örneğin, birinci derece akrabalar arasında hipospadiasın sık görülmesi, genetik ve kalıtsal faktörlere bağlanırdı. İnsan dokusunda endokrin bozukluğa yol açacak maddelerin biriktiğinin gösterildiği çalışmaların ışığında aile bireylerinin aynı çevresel etmenlere maruz kalmaları da dikkate alınmaya başlanmıştır (115, 116). Son 30 yılda erkek üreme sistemi anomalilerinin artışı ile birlikte, sentetik kimyasal maddelerin üretiminin artması çevresel faktörlerin hipospadias, inmemiş testis ve sperm sayısında azalma gibi problemlerin etyolojisinde önemli rolü olduğu görüşünü güçlendirmiştir (117, 118). İntrauterin dönemde dietilstilbestrole (DES) maruz kalan erkek fetüslerde hipospadiası da içeren geniş bir genital anomali spektrumu görülebilmektedir (119, 120). DES'e maruz kalan fetüslerde üretra anomalilerinin ve idrar çıkışı problemlerinin insidansı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (119). Progestin tedavisinin başladığı gebelik haftası ile üretral meatusun yeri karşılaştırıldığında, gebeliğin ilk ayında tedavi alan annelerin çocuklarında daha proksimal yerleşimli hipospadias görülmesi şeklinde doğru bir ilişki saptanmıştır (103). Kimyasal maddelere maruziyetin endokrin bozukluk vasıtası ile hipospadias gibi genital anomalilere yol açtığı bilinmektedir. Hayvan modelleri ile yapılan çalışmalar, östrojenik maddeler gibi endokrin bozukluğa yol açan maddelere maternal maruziyetin hipospadiasa yol açabileceği hipotezini desteklemektedir (12). Diğer taraftan hipospadiaslı çocukların bazılarında hormonal stimülyasyona endokrin cevapta bir bozukluk olabileceğine dair kanıtlar da vardır. Hipospadiaslı çocuklarda hCG stimülyasyonuna testosteron cevabının azaldığı gösterilmiştir. Böylece üretranın gelişim zamanının etkilenebileceği ve oluşumunun yetersiz olabileceği anlaşılmıştır (100).

5.3. Tanı

Hipospadias tanısı çıplak gözle, inspeksiyonla konur. Yeni doğan erkek çocuğun fizik muayene ve işemesinin gözlemlenmesi ile tanı konulabilir. Hipospadiasın uca yakın (glans ve koronal sulcus yerleşimli) hafif şekillerinde ve prepisyumun tam olduğu durumlarda, prepisyumun geriye çekilerek dikkatli gözlemi gerekir. Tanı konulduğunda, erken dönemde çocuk üroloğu ile konsültasyon ailenin tedavi konusunda bilgilendirilmesi, rahatlatılması ve cerrahi zamanlama ve planlamasının yapılması açısından önemlidir. Hipospadiası olan çocuklara ileride yapılacak olan bir onarım için gerekli olan prepisyum dokusu sünnet ile ortadan kaldırılmamalıdır. Özellikle intersex araştırması gereken olgularda dinamik davranma gereği vardır (121, 122).

5.4. Cerrahi Tedavi

Hipospadiasın tek tedavi şekli, bozuk olan yapının cerrahi olarak fonksiyonel ve estetik biçimde onarılmasıdır. Hipospadias cerrahisinde standart bir teknik olmayıp, her hasta için çok sayıda parametre değerlendirilerek kişiye özel en uygun yöntem seçilmektedir. Yöntemi belirlemede önemli parametreler şunlardır:

A - Meatus'un yeri

- Glanuler – koronal – subkoronal
- Distal penil – proksimal penil
- Penoskrotal – skrotal
- Perineal

B - Meatus'un görünümü

- Stenotik
- Normal
- Megameatus – balık ağzı.

C - Glans'in yapısı

- Konik
- Düz – yassı

D – Ventral yarık derinliği – üretral plate'in gelişmesi

- Normal – mobil ve belirgin üretral yarık
- Kısmi yarık
- Yetersiz – düz ve ince yarık
- İmmobil – fibrotik üretral plate

E – Chordee varlığı

- Cilt
- Korporeal orantısızlık
- Kısa üretra

*F – Meatus proksimalindeki korpus spongiosum'un durumu**G – Sünnet derisinin varlığı ve durumu**H – Daha önce geçirilmiş operasyonlar – cildin beslenme ve skar durumu**I – Ek anomaliler (penoskrotal transpozisyon, vb.)*

Bu parametreler ayrıntılı olarak değerlendirildikten sonra hastaya uygulanacak cerrahi yönetime karar verilmelidir. Bu seçim sonrası en sıklıkla uygulanan yöntemler şunlardır:

Anterior olgularda;

- MAGPI (Meatoplasty and Glanuloplasty Incorporated) Tekniği
- TIPU (Tubularized, incised plate urethroplasty -Snodgrass)
- Pyramid Prosedürü
- Mathieu ya da Perimeatal Based Flap Prosedürü
- GAP (Glans Approximation Procedure) operasyonu

Posterior olgularda;

- TIPU (Snodgrass)
- Onlay ada flebi
- Transvers –tübularize- ada flebi (Duckett)

- Serbest graft tüp (buccal mukoza)
- İki aşamalı tamir
- Serbest graft (Bracka)
- Preputial flap (Nesbitt).

Hipospadias onarımında beşli bir algoritma uygulanmalıdır:

1–Ortoplasti (Varsa chordee tamiri)

2–Üretroplastisi (Üretranın penisin ucuna taşınması)

3–Glansplastisi (Glansın estetik açıdan düzeltilmesi)

4–Skrotoplastisi (Penoskrotal transpozisyon benzeri anormallikler varsa bunların düzeltilmesi)

5–Deri onarımı (Fazlalık veya eksik cildin estetiğe uygun olarak tamiri)

Hangi cerrahi yöntem olursa olsun, bu algoritmanın tüm aşamaları dikkatle ve eksiksiz uygulandığında gerek hekimi, gerek hastayı, gerekse ebeveynleri mutlu edecek sonuca ulaşmak mümkündür.

Genel teknikte dikkat edilecek önemli noktalar:

- Dokulara saygı,
- Elektrokoter uygulamasında özen,
- Bipolar koter kullanımı,
- Monopolar koterle dokunun değil, damarın koagülasyonu,
- Optik büyütme ile çalışma,
- İyi ve uygun seçilmiş dikiş materyali,
- İyi görüş – az kanama (dilüe epinefrin, turnike),
- Dikiş hatları üst üste binmemeli,
- Serbest graft'lerin üzerine preputial veya alternatif subkütan doku getirilmesi,
- Dikiş hatları gergin olmamalı,
- İdrar drenajı sağlanmalı,
- Yara örtüsü,
- Penisin immobilizasyonunun sağlanması,

- Dikiş hatlarını korumalı,
- Hemostaz sağlanmalı, ödem ve hematoma önlenmeli,
- Beslenme bozukluğu oluşturulmamalı.

Hastalara göre daha önce belirtilen cerrahi tekniklerin tümü zaman zaman uygulanmakla birlikte, bugün pek çok merkezde distal olguların büyük çoğunluğunda, penil hipospadiasların ise azımsanmayacak bir kısmında TIPU yöntemi tercihen uygulanmaktadır (121).

5.5. Tedavi Zamanlaması

Hipospadias cerrahisinde yaş önemli bir konudur. Bugüne kadar çeşitli yazarlar tarafından 3 ay ile 3 yaş arasında değişik tercihler yayınlanmıştır. Ancak, 6. aydan küçük bebeklerde anestezi riskinin daha yüksek olduğu ve 18. aydan sonra da çocuklarda cerrahiye bağlı sorunların arttığı bilinmektedir (cinsel gelişim sorunları, tuvalet eğitimi sırasında yaşanabilecek sorunlar gibi). Bu nedenlerle tuvalet eğitimi öncesinde cerrahi işlemin tamamlanması önerilmektedir. Bu bağlamda sıklıkla tercih edilen cerrahi zamanı 6 ay- 1 yaş arası olmaktadır.

Bir diğer önemli konu operasyon öncesi androjen stimülasyonu yapıp yapılmaması durumudur. Özellikle glansın çok küçük olduğu olgularda androjen uygulanması, cerrahiye kolaylaştırmakta ve başarıyı arttırabilmektedir (121). Bu tedavinin pubertal ve postpubertal genital gelişim üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığına, ameliyat öncesi penis uzunluğu ve prepisyum iç katının transvers uzunluğunda artış sağladığına dair veriler mevcuttur (122). Androjenlerin kullanımı ile hastaların büyük çoğunluğunda penis boyutları birkaç ay içerisinde uygulama öncesi düzeyine inmektedir. Alternatifler çeşitli olup sıklıkla topikal krem uygulamaları veya kas içi enjeksiyonlar şeklinde kullanılmaktadır (122):

- Testosteron enanthat 25 mg. IM ayda bir, 3ay (Primodian Depot 90 mg, Primeteston Depot 250)®
- Testosteron propionat %5 krem, haftada 2-3 kez, 1 ay
- Human Chorionic Gonadotropin 250 IU IM, haftada 2 kez, 5 hafta (Pregnyl 500 IU 3 amp)®
- Dihidrotestosteron içeren transdermal jeller

5.6. *Komplikasyonlar*

Tedavisi yapılmayan olgularda, hastalığın derecesi ile komplikasyonlar değişebilmekle birlikte:

- a-**Kozmetik problemler ve buna bağlı psikolojik sorunlar,
- b-**Chordee'nin derecesine bağlı olarak cinsel ilişkiye girememe ve cinsel fonksiyon bozuklukları
- c-**Meatusun yeri ve yapısına bağlı olarak işeme bozuklukları
- d-**Yetersiz intravajinal ejakülasyon sonucunda fertilité sorunları ortaya çıkabilmektedir.

Hipospadias cerrahisinde ve sonrasında oluşan komplikasyonların çoğu aşağıdaki sorunlardan kaynaklanmaktadır:

- 1-Yanlış teknik seçimi,
- 2-Doğru tekniğin hastaya uygulanmasındaki yetersizlik,
- 3-Temel plastik cerrahi prensiplerine tam uyulmaması,
- 4-Cerrahi uygulamadaki yetersizlik ve hatalar,
- 5-Perioperatif hasta bakımı yetersizliği.

Değişiklikler göstermekle birlikte komplikasyon oranları distal olgularda daha düşüktür (MAGPİ'de %2–8, TIPU ve meatal tabanlı onarımlarda %5–15. Kapsamlı rekonstrüksiyon gerektiren olgularda bu oranlar biraz daha yüksek olup, %5–35 düzeyindedir. İntraoperatif ve erken komplikasyonlar arasında kanama, idrar retansiyonu, ereksiyona bağlı dikiş hatlarında zorlanma sayılabilir. Ereksiyonu önlemek için amil nitrit, ketokonazol, siproteron asetat (preop. 10 gün önce başlanmalı) ve desipramin gibi alternatifler önerilmektedir (121).

Erken dönem komplikasyonlar:

- Ödem
- Kanama
- Enfeksiyon,
- Fleplerde iskemi,
- Enfeksiyona bağlı yara açılması,
- Mea darlığı erken dönemde görülebilen komplikasyonlardır (122).

Geç dönemde komplikasyonlar

a – Fistül

Enfeksiyon, iskemi veya distal obstrüksiyona sekonder olabilir.

b – Darlık

Orijinal meada skatris, iskemi, yetersiz glans tüneli veya sıkı glans sonucu oluşabilir.

c– Üretral divertikül

Distal obstrüksiyon, idrar ekstrevasyonu, fazla doku (tüp veya onlay'de) nedeniyle oluşabilir.

d – Seksüel disfonksiyon

Hipospadiasta hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın amaç, en az cerrahi morbidite ve psikososyal travma ve en düşük komplikasyon oranıyla, fonksiyonel ve estetik olarak normale en yakın penisi oluşturmaktır (121).

6. Apoptozis

Her hücre doğar, çoğalır (proliferasyon), farklılaşır (diferansiasyon) ve ölür (apoptozis). Bütün bu olaylar doğal bir denge içerisinde gelişirler. Doku homeostazisi yani yeniden yapım ve yıkımın bir düzen içinde oluşu, apoptozis/proliferasyon dengesinin sağlıklı bir şekilde sürdürülmesine bağlıdır (123, 124). Son yıllarda, bu dengenin bozulmasının birçok önemli hastalığın patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir. Örneğin; artmış proliferasyon ve azalmış apoptozisin karsinogenezde rol oynadığı düşünülmektedir (123).

Apoptozis yaşlanmış, fonksiyonunu yitirmiş, fazla üretilmiş, düzensiz gelişmiş veya genetik olarak hasarlı hücrelerin, organizma için güvenli bir şekilde yok edilmelerini sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen programlı, aktif, protein sentezine ve enerjiye gereksinim gösteren hücre ölümüdür. Bu sayede hücrelerin proliferasyonları kontrol altında tutulur (123, 125). Apoptozis, klasik hücre ölüm şekli olan nekrozisten birçok özelliği bakımından oldukça farklı bir hücre ölüm mekanizmasıdır. Nekrozis, fizyolojik bir ölüm şekli değildir. Apoptozis ise hem fizyolojik hem patolojik şartlarda meydana gelmektedir. Apoptozis morfolojik olarak kendine özgü bir yapı içerir (123, 126, 127). Nekroz; hipoksi, aşırı ısı değişiklikleri, toksinler gibi hücre dışından gelen çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenler sonucunda gelişen travmatik hücre ölümüdür ve

genellikle gruplar halinde hücreleri etkiler (123). Morfolojik olarak endoplazmik retikulum ve mitokondride dilatasyon, plazma membranının iyon transportunun bozulması, hücrelerin şişmesi ve lizisi tipiktir. Hücrelerin parçalanması ile hücre içeriği ve lizozomal enzimler ekstrasellüler ortama dökülür. Bu enzimler de komşu hücre ve dokuları zedeleyerek inflamatuvar yanıtı açarlar (125). Apoptoziste ise hücreler tek tek etkilenirler; hacimce küçülür, komşu hücrelerle temasını kaybederler (mikrovillus gibi özel yüzey farklılıkları ve diğer hücrelerle olan bağlantı yapıları bozulur). Bu olay hızla gerçekleşirken aynı anda hücrede değişik yüzey çıkıntıları ve kıvrıntıları oluşur. Bunların membranla çevrili olarak hücreden ayrılmasıyla apoptotik cisimler meydana gelir (128). Nükleer değişiklikler, piknozis (nükleer yoğunlaşma), kromatin marjinasyonu ve karyoreksisi (nükleer bozulma) içerir. ER (endoplazmik retikulum) genişler. ER dışında mitokondri veya diğer organellerde şişme olmaz ve yapılarını korurlar. Lizozomlar sağlam kalır (125, 128). Apoptotik hücre küçük cisimciklere (apoptotic bodies) parçalanır. Bu cisimcikler değişen miktarlarda nükleus veya diğer hücre içi yapılar içerirler (126). Apoptoziste nekrozdan farklı olarak apoptotik hücre veya cisimcikler komşu hücreler veya makrofajlar tarafından fagosite edildiklerinden enflamasyon oluşmaz (125, 127, 134). Apoptozisin en özgün yönü, hücre DNA'sının nükleozomlar arası bölgelerden yaklaşık 180–200 baz çifti veya bunun katları boyutunda DNA parçaları oluşturacak şekilde parçalanmasıdır. Apoptotik hücrede görülen önemli değişikliklerden biri de normalde plazma membranının iç yüzünde bulunan fosfatidilserinin erken evrede membranın dış yüzüne doğru yer değiştirmesidir (phosphatidylserine translocation). Bu değişim, apoptotik hücrelerin komşu hücreler ve makrofajlar tarafından tanınmasını sağlar (127).

Apoptotik yol çok sayıda fizyolojik, adaptif ve patolojik olayda kullanılır. Bunlar;

a. Embriyogenez ve fötogenez sırasında normal gelişimin sağlanabilmesi amacıyla, oluşmuş olan hücrelerin bir kısmı apoptoza gitmektedir. Özellikle sinir sisteminin ve immün sistemin gelişiminde apoptoz önemli rol oynamaktadır (130). Yine embriyogenez sırasında parmakların ayrılmasında, böbrek taslaklarının dejenerasyonunda önemli rol üstlenmektedir (125, 129–132).

b. Endokrin dokularda kan trofik hormon konsantrasyonunun düşmesi ile oluşan atrofi, apoptozis ile olmaktadır. Örn: menstrüel siklus esnasında endometriyumun hormon bağımlı involüsyonu, menapozda ovaryum folliküllerinin atrezisi, laktasyon sonrasında meme bezi gerilemesi, orşiektomi sonrasında prostat atrofisi gelişmesi gibi (125, 133-135).

c. Tümörlerde, özellikle regresyona gittikleri dönemlerde apoptoz görülür.

d. Sindirim sisteminin lümeninin oluşmasında,

e. T ve B lenfositleri sitokin yetersizliğine bağlı olarak apoptoz gidebilirler.

f. Hücrel immun red ve graft versus host reaksiyonlarında sitotoksik T lenfositler (CTL) aracılığı ile apoptoz oluşur.

g. Hücrelerde hasar oluşturan çeşitli etkenler normalde nekroza neden olurken, düşük dozlarda apoptozis de oluşturabilmektedirler. Örn: Isı, radyasyon, antikanser ilaçlar, hipoksi gibi (134-136).

Apoptozis, organizmada hasar görmüş veya organizma için tehlikeli olabilecek hücrelerin yok edilmesinde de görev alır. Eğer bir hücre virüsle enfekte olduğunda kendi öz kırımını gerçekleştirirse, geride kalan organizmaları virüsün yayılmasından koruyabilir; viral hepatitlerde görülen Councilman cisimcikleri apoptozise örnektir. Hasarlı DNA apoptozis yolu ile ortadan kaldırılır. Hücrenin DNA'sında meydana gelen mutasyonlar kanser gelişimine neden olabilecekleri için, bu hasarlı hücrelerin apoptozis yolu ile öldürülmesi büyük önem taşımaktadır (125, 126, 137, 138). Apoptozisin hızının bozulduğu yani yavaşladığı veya arttığı hallerde çeşitli hastalıklar ortaya çıkar. Viral bir enfeksiyon sırasında, normal şartlarda virüsler enfekte ettikleri hücrede kendi proteinlerini sentezletirler ve hücrenin kendisi için gerekli proteinlerinin yapımını durdururlar. Bu yüzden virüsle enfekte olmuş hücrede apoptozis indüklenir ve hücre ölür. Böylece virüs kendisini de yok etmiş olur. Fakat bazı virüsler (ör. Ebstein-Barr virüs veya insan Papilloma virüsü), enfekte ettikleri hücrenin apoptozise gitmesini baskılayan yollar geliştirmişlerdir. Örneğin Ebstein-Barr virüs, apoptozis sinyalini kontrol eden regülatörlerden biri olan Bcl-2'ye benzer moleküller üreterek ve ayrıca enfekte ettiği hücrenin kendi Bcl-2 üretimini indükleyen moleküller üreterek apoptozisi durdurmaktadır (123). Papilloma virüs de, güçlü bir apoptozis indükleyicisi olan p53'ü etkisizleştirmektedir. Virüslerin bu etkileri sonucunda, bazı hematolojik kanserlerin gelişimine neden oldukları düşünülmektedir (138).

Apoptozis, hücre dışı ve hücresele seviyede oluşan çeşitli sinyaller yoluyla tetiklenebilir (123). Hücresele düzeyde etkili ana fizyolojik aktivatörler, Fas Ligant (FasL) ve Tümör nekrozis faktör (TNF), Transforming growth factor beta (TGF- β), Nörotransmitterler (Glutamat, dopamin), hücre içi kalsiyum seviyesinde artış, hücre içi pH'da düşme, metabolik ve/veya hücre siklus bozuklukları, DNA hasarı, hücreyi apoptoza götüren merkezi hücre ölüm sinyallerini başlatabilmektedir. Bunların ilgili reseptörlerine bağlanması ile hücre ölümü gerçekleşir (123, 136, 138, 139). Hücre hasarına bağlı olarak viral enfeksiyonlar, bakteriyel toksinler, onkogenler (myc, rel, E1A), oksidanlar, sitotoksik T hücreleri ile apoptozis aktive olur. Yine apoptozis kemoterapötikler (Sisplatin, Bleomisin), toksinler (β -amiloid peptid, Etanol), radyasyon (gamma, UV ışınlar) gibi bazı faktörler ile de başlatılabilir. Ağır DNA hasarına yanıt olarak aktive olan p53 geni, reaktif oksijen radikalleri (hem mitokondri, hem plazma membranı, hem de genom üzerinde oluşturabileceği hasarlara bağlı olarak) apoptozisi tetikleyebilmektedir.

Apoptozisin uyarılma ve oluşum sürecinde birçok genin adı geçmektedir, ancak p53, bax gibi proapoptotik ve bcl-2 gibi anti apoptotik genler en iyi bilinenlerdendir. Bu genlerin uyumlu çalışması ile apoptozis süreci devam etmektedir. Bu uyumun bozulmasında ise, bu genler onkogen gibi hareket etmekte ve hücre proliferasyonunun kontrolü kaybolmaktadır (125). Tüm apoptozis uyarıcı yollar, proteinleri aspartat rezidülerine bölen, sistein proteazları (kaspazlar) ile olan ortak hücre yıkımı işleminde birleşir. Apoptotik uyarıya karşı mitokondrial membranlar arasında bulunan sitokrom c, sitozole salınır ve kaspazların aktivasyonunu tetikler. Kaspazların aktivasyonu ile DNA tamirinde görevli proteinler ve hücre döngüsündeki regülatuar proteinler yıkılır. Yapısal proteinlerin yıkımı ile proteolitik klivaj oluşur (140, 141).

Apoptozis çeşitli genlerle kontrol edilen hücrelerin proliferasyon, farklılaşma ve transformasyonunda hayati role sahip bir süreçtir. Fizyolojik sistemler (nöral, endokrin ve immün sistemler) arasındaki regülasyonun sağlanması, organizmadaki normal yaşam döngüsünün sağlanması gibi önemli fonksiyonları vardır. Çok hücreli canlılarda homeostazisin sağlanması için hücrelerin çoğalması ve farklılaşması kadar, bu hücrelerin gereksinim kalmadığında, yaşlandıklarında veya hasar gördüklerinde

kontrollü şekilde ortadan kaldırılabilmeleri gerekmektedir (142, 143). Apoptozisin hatalı regülasyonu, kanser, AIDS, otoimmün hastalıklar, viral enfeksiyonlar, kardiyovasküler hastalıklar, dejeneratif nöral hastalıklar, malformasyonlar ve yaşlanma ile ilgili önemli problemlere neden olabilmektedir (23). Gelişme ve homeostazis için temel olan apoptozis, mekanizması aydınlandıkça hastalıkların geniş spektrumunda önemli yararlar sağlayacaktır.

MATERYAL VE METOD

Ocak 2008 ile Haziran 2009 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı polikliniğine müracat eden 30 distal hipospadiaslı çocuk ile aynı tarihler arasında sünnet isteğiyle veya tıbbi endikasyonla sünnet önerilen 15 çocuk olmak üzere toplam 45 olgu bu çalışmaya alındı. Her iki grupta da cerrahi sırasında eksize edilen prepisyum spesmenleri %10'luk tamponlanmış formalin içerisinde konularak patolojik inceleme için Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarına gönderildi.

Alınan doku örnekleri %10 tampolanmış formaldehit içerisinde fikse edildi, sonra örnekler alkol ile dehidrate edildi ve parafin bloklar içerisinde gömüldü. Kesitler 5 mikron kalınlığında kesilerek pozitif şarjlı lamlara alınarak AR, ER proteinlerini saptamak için immünohistokimyasal boyama yapıldı. Apoptozisin tespiti için terminal deoxynucleotidyl transferase (Tdt)-mediated dUTP-biotin nick end-labeling (TUNEL) metod kullanıldı. Doku kesitleri çalışma hakkında detay bilgisi olmayan bir patolog tarafından kör random olarak numaralanmış örneklerde ışık mikroskobu kullanılarak değerlendirildi. Histolojik değişiklikler kaydedildi.

İmmünohistokimyasal Boyama

Beş mikron kalınlığında lamlara alınan kesitler Leica Bond-Max otomatik immünohistokimya cihazına yerleştirildi. Cihaz tarafından aşağıdaki işlemler sırasıyla gerçekleştirildi:

- 30 dakika 60 derecede parafinin erimesi sağlandı.
- 15 dakika dewax solüsyonunda tutularak deparafinizasyon işlemi gerçekleştirildi.
- 15 dakika %99'luk alkolde tutularak dehidratasyon gerçekleştirildi.
- Wash Buffer solüsyonu ile 3 dakika yıkandı.
- Epitop 2 solüsyonunda antijen retrieval işlemi gerçekleştirildi.
- Wash Buffer solüsyonu ile 3 dakika yıkandı.
- %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) de 10 dakika bekletildi.

- Wash Buffer solüsyonu ile 3 dakika yıkandı.
- NovaCastru marka ER veya AR antikoru damlatılarak 60 dakika beklendi.
- Wash Buffer solüsyonu ile 3 dakika yıkandı.
- Post Primer solüsyon damlatılarak 10 dakika bekletildi.
- Wash Buffer solüsyonu ile 3 dakika yıkandı.
- Polimer solüsyon (streptoavin peroksidaz) damlatılarak 10 dakika bekletildi.
- Wash Buffer solüsyonu ile 3 dakika yıkandı.
- Saf suda 3 dakika yıkandı.
- DAB+Choromogen damlatılarak 3 dakika bekletildi.
- Distile su ile yıkandı.
- Hematoksilende 5 dakika boyandı.
- Distile su ile yıkandı.
- İmmünohistokimyasal su bazlı kapatma solüsyonuyla kapatıldı.

Streptoavidin-biotin metod kullanılarak immünohistokimyasal olarak boyanan bu doku kesitleri ışık mikroskobu ile incelendi. Doku kesitlerinde epitelyal ve stromal hücrelerin 1000 tanesi sayılarak pozitif boyanan hücrelerin yüzdesi alındı ve sonuçlar pozitif boyanan hücrelerin yüzdesi olarak verildi.

TUNEL METOD

Parafine gömülmüş materyaller;

Bir hücre düzeyinde DNA'nın işaretlenmiş baz dizisindeki kırılmanın tespit edildiği apoptozis belirlenmesi için In situ Cell Death Dedection Kit-POD kullanıldı. Parafin blokları çözüldü, standart metoduyla rehidrate edildi. Proteinazlar (proteinaz K) ilave edilerek 37 °C de 30 dakika uygun normal serumun %5 ile inkübe edildi. Slaytlar PBS (phosphate-buffered saline; pH:7.3) ile yıkandı. Kesitler permabilize edildi (2 dakika buz ile) ve TUNEL reaksiyon karışımı ile inkübe edildi (60 dakika, 37 °C de).

Anti-Fluorescein-AP (anti-fluorescein antibody conjugated with alkaline phosphatase) ilave edildi ve inkübe edildi (30 dakika, 37 °C de). Sonra kesitler PBS ile yıkandı ve substrat ile 20 dakika inkübe edildi. Sonra bu işlemde geçirilen preparatlar ışık mikroskobu ile analiz edildi. Apoptozisi değerlendirmek için mikroskopik sahalar random olarak seçildi. Apoptotik hücre yüzdesi doku örneğinden 1000 hücre sayılıp apoptotik olan hücre sayısına oranlanarak yüzde olarak verildi.

İstatistiksel değerlendirme SPSS 11.0 Windows® paket programı kullanılarak yapıldı. Veriler sayı, yüzde, ortalama±standart sapma (SD) olarak verildi. Verilerin normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogorov-Smirnov (K-S) testi ile analiz edildi. Normal dağılıma uyan verilerin gruplar arasındaki karşılaştırması unpaired-t testi ile uymayanlar ise nonparametrik test olan Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Verilerin yaşla değişimi Pearson Correlation testi kullanılarak değerlendirildi. P<0.05 olması durumunda aradaki istatistiksel fark anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Ocak 2008 ile Haziran 2009 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı polikliniğine müracat eden 30 distal hipospadiaslı çocuk ile aynı tarihler arasında sünnet isteğiyle veya tıbbi endikasyonla sünnet önerilen 15 çocuk olmak üzere toplam 45 olgu bu çalışmaya dahil edildi.

Hipospadiası olan hastaların öncelikli geliş şikayetleri, 10 (%33.3)'unda peniste eğrilik, idrarın ince ve penisin alt kısmından gelmesi, 9 (%30)'unda peygamber sünnetli olarak doğması nedeniyle tavsiye üzerine, 5 (%16.7)'inde başka bir hekim tarafından tespit edilip kliniğimize yönlendirilmesiyle, 6 (%20)'sında ise penisteki anormal görünüm idi.

Sirkümsizyon grubunda ise 6 (%40) olgu fimozis nedeniyle, 6 (%40) olgu ebeveynlerin isteğiyle ve kalan 3 (%20) olgu da sık tekrarlayan üriner enfeksiyondan dolayı tıbbi endikasyonla sünnet edildi.

Bütün hipospadias olgularına Tubularized incised plate urethroplasty (TIPU) tekniği uygulandı. Olgulara stent olarak konulan 4G feeding tüpleri 5. gün alınarak eksterne edildiler. Operasyon sırasında ve sonrasında olgularımızın hiçbirinde komplikasyon gözlenmedi. Hipospadiası olan 30 (%100) olgunun hipospadiak mea yerleşimleri ve yapılan cerrahi tekniğe göre dağılımları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Hipospadiası olan hastaların mea yerleşimlerine göre dağılımları.

Yapılan cerrahi	Mea lokalizasyonu	Hasta sayısı (n)	Yüzdelerik Dağılım
TIPU	Coronal	9	30
	Subcoronal	16	53.4
	Anterior penil	5	16.6

Sirkümsizyon grubundaki çocukların hepsine cerrahi sünnet uygulandı. Sirkümsizyon hastanemiz gününbirlik ünitesinde kaudal blok ile birlikte inhalasyon anestezisi verilerek yapıldı. Hastalar 2 saat sonra evlerine gönderildiler. Hiçbir hastada intraoperatif ve postoperatif komplikasyon izlenmedi.

Her iki grupta eksizye edilen prepisyum spesmenleri %10'luk tamponlanmış formalin içerisinde konularak patolojik inceleme için Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarına gönderildi.

Tüm olguların yaş ortalaması 8.2 ± 4.5 yıl (2–16 yıl) idi. Olguların 19 (%42.2)'unu 2 – 6 yaş arası çocuklar, 12 (%26.6)'sini 7 – 10 yaş arası çocuklar, 14 (%31.2)'ünü ise 11 – 16 yaş arası çocuklar oluşturmaktaydı. Hipospadias grubunun yaş ortalaması 8.9 ± 4.8 yıl, sirkümsizyon grubunun yaş ortalaması ise 6.9 ± 3.5 yıl olup, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Her bir grup için prepisyumdaki androjen ve östrojen reseptörlerinin stroma ve epiteldeki dağılım oranları ile gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı gösteren “p” değerleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Hipospadias tamiri ve cerrahi sünnet yapılan olguların prepisyumlarının epitel ve stromasındaki AR ve ER’lerinin dağılımı ve p değerleri.

Prepisyumdaki reseptörler	Sünnet grubu (n=15)	Hipospadias grubu (n=30)	p değeri
AR Epitelde (%)	3.33 ± 5.30	18.97 ± 27.29	0.034
AR Stromada (%)	2.60 ± 4.38	19.50 ± 26.79	0.004
ER Epitelde (%)	0.93 ± 1.33	6.83 ± 10.12	0.000
ER Stromada (%)	1.27 ± 1.10	24.03 ± 24.49	0.000

Tablo 2’den de anlaşılacağı gibi, hipospadias grubundan elde edilen prepisyumların epitelinde AR varlığı sirkümsizyon grubundankinden anlamlı derecede yüksek bulundu ($\%18.97\pm 27.29$ 'a karşın $\%3.33\pm 5.30$, $p=0.034$). Benzer şekilde prepisyum stromasındaki AR oranları da hipospadias grubunda, sünnet grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($\%19.50\pm 26.79$ 'a karşın $\%2.60\pm 4.38$, $p=0.004$).

ER varlığı bakımından da hipospadias prepisyum epitelinde sünnet grubundan daha fazla sayıda boyanma belirlendi (sırasıyla $\%6.83\pm 10.12$ ve $\%0.93\pm 1.33$, $p<0.001$). Stromada ER varlığı yine hipospadiak prepisyumda sünnet grubundan elde edilen

prepisyuma kıyasla daha yüksek oranlarda belirlendi (sırasıyla %24.03±24.49 ve %1.27±1.10, p<0.001).

Tablo 2 irdelendiğinde ER'lerinin hipospadias grubunda, prepisyum stromasında epitelinden daha fazla sayıda bulunduğu belirlendi. Aynı grupta AR ise epitel ve stromada benzer oranlarda dağılım göstermekteydi.

Sirkümsizyon yapılan çocukların 10 (%66.7)'unda prepisyum epitelinde AR immünohistokimyasal olarak belirlenirken, 5 (%33.3)'inde belirlenemedi. Yine sirkümsizyon yapılan çocukların 7 (%46.6)'sinde histopatolojik olarak prepisyum stromasında AR belirlenirken, 8 (%53.4)'inde belirlenemedi.

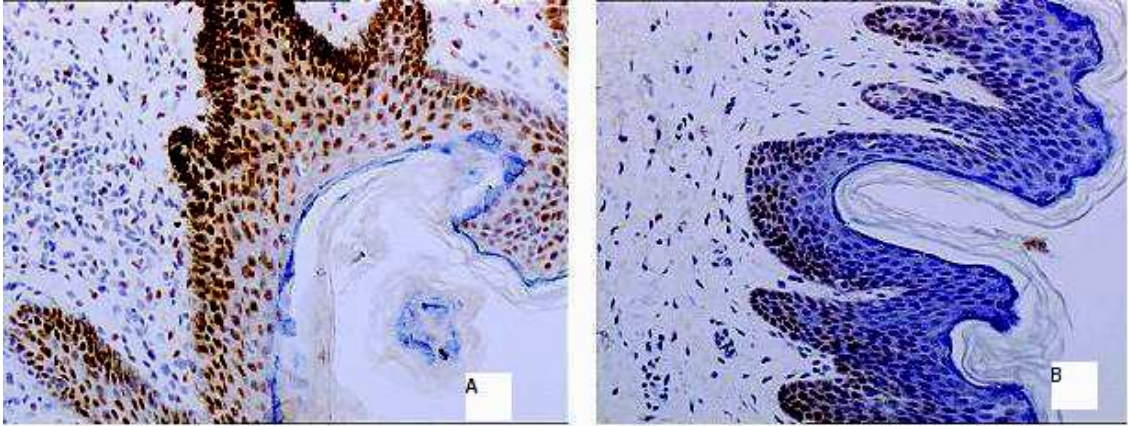
Hipospadias grubunda mea lokalizasyonuna göre prepisyum epitelinde ve stromasındaki AR pozitifliği ve negatifliği Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 3: Hipospadias grubunda mea lokalizasyonuna göre prepisyum epitel ve stromasındaki AR pozitif ve negatifliği

Hipospadiak mea lokalizasyonu	Prepisyum epiteli		Prepisyum stroması	
	AR(+) n (%)	AR(-) n (%)	AR(+) n (%)	AR(-) n (%)
Coronal n=9	7 (77.8)	2 (22.2)	7 (77.8)	2 (22.2)
Subcoronal n=16	13 (81.2)	3 (18.8)	13 (81.2)	3 (18.8)
Anterior penil n=5	4 (80)	1 (20)	4 (80)	1 (20)

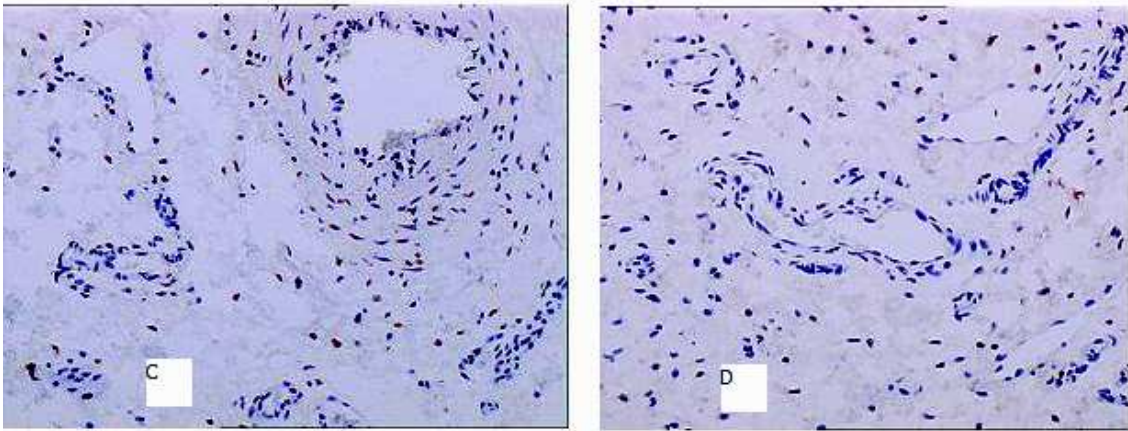
Hipospadiak ve normal sünnet prepisyum epitel ve stromasındaki AR'lerinin immünohistokimyasal görünümleri Resim 1'de verilmiştir. Hipospadiak prepisyumdaki AR'lerinin hem epitelde hem de stromada daha yaygın olarak bulunduğu dikkati çekmektedir.

Resim 1: Hipospadias ve sünnet gruplarında AR'lerinin prepisyum epitel ve stromasındaki immünohistokimyasal boyamadaki görünüşleri: **A.** Hipospadiak prepisyum epitelinde AR, **B.** Normal prepisyum epitelinde AR, **C.** Hipospadiak prepisyum stromasında AR, **D.** Normal prepisyum stromasında AR



A: Hipospadiak prepisyum epitelinde AR dağılımı X10

B: Normal prepisyum epitelinde AR dağılımı X10



C: Hipospadiak prepisyum stromasında AR dağılımı X10

D: Normal prepisyum stromasında AR dağılımı X10

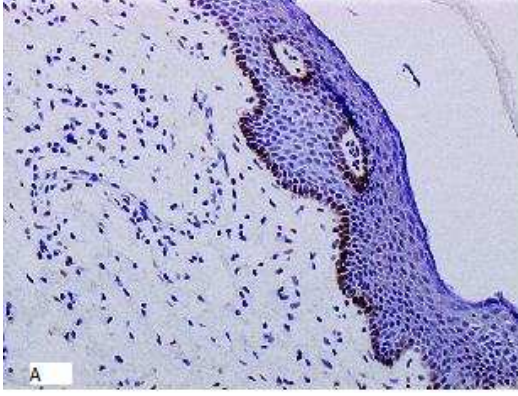
Sirkümsizyon grubunda 8 (%53.4) olgunun prepisyum epitelinde ER'lerinin varlığı immünohistokimyasal olarak belirlenirken, 7 (%46.6) olguda boyanma izlenemedi.

Koronal hipospadias nedeniyle opere edilen 9 hastanın 8 (%88.8)'inde prepisyum epitelinde ER belirlenirken, sadece 1 (%11.1) olguda ER saptanamadı. Subkoronal hipospadias tamiri yapılan 16 hastanın tümünde prepisyum epitelinde ER

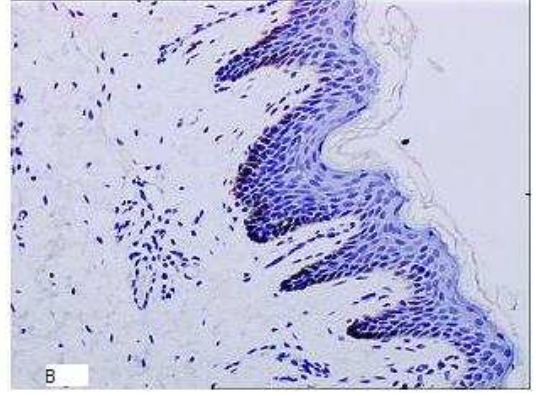
belirlendi. Anterior penil hipospadiası olan 5 hastanın 4 (%80)'ünde prepisyum epitelinde ER pozitifliği belirlendi.

Hipospadiak ve normal sünnet prepisyum epitelinde immünohistokimyasal olarak boyanmış ER'leri Resim 2'de görülmektedir. Hipospadiak prepisyumdaki ER'lerinin epitelde sirkümsizyon grubundan daha yaygın olduğu tespit edildi.

Resim 2: ER'lerinin prepisyum epitelinde immünohistokimyasal boyamadaki görüntüleri: **A.** Hipospadiak prepisyum epitelinde ER, **B.** Normal prepisyum epitelinde ER.



A: Hipospadiak prepisyum epitelinde ER dağılımı X10



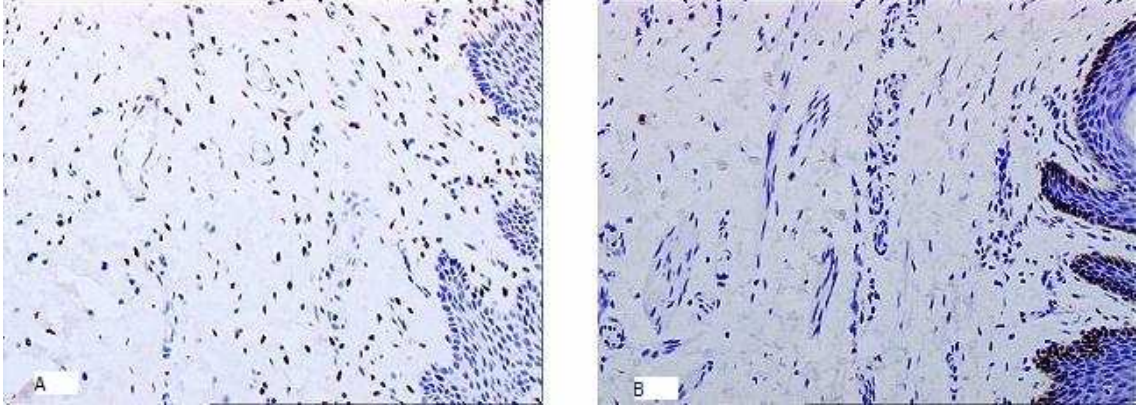
B: Normal prepisyum epitelinde ER dağılımı X10

Sirkümsizyon yapılan çocukların 11'inde (%73.4) histopatolojik olarak prepisyum stromasında ER'leri belirlenirken, 4 (%26.6)'ünde belirlenemedi.

Koronal, subkoronal ve anterior penil hipospadiası olan 30 olgunun tümünde prepisyum stromasında ER varlığı immünohistokimyasal olarak belirlendi.

Hipospadiak ve normal sünnet prepisyum stromasındaki ER'lerinin dağılımları Resim 3'de gösterilmiştir. Stromadaki ER'lerinin sirkümsizyon grubuna göre hipospadiak prepisyumda daha yaygın olduğu görülmektedir.

Resim 3: ER'lerinin prepisyum stromasındaki immünohistokimyasal boyama ile görünümleri: **A.** Hipospadiak prepisyum stromasında ER, **B.** Normal prepisyum stromasında ER.



A: Hipospadiak prepisyum stromasında ER dağılımı X10

B: Normal prepisyum stromasında ER dağılımı X10

Hipospadias ve sünnet grubundaki olgulardan elde edilen prepisyum spesmenlerinin epitel ve stroma komponentlerindeki apoptozisin dağılımı Tablo 4'de gösterilmiştir.

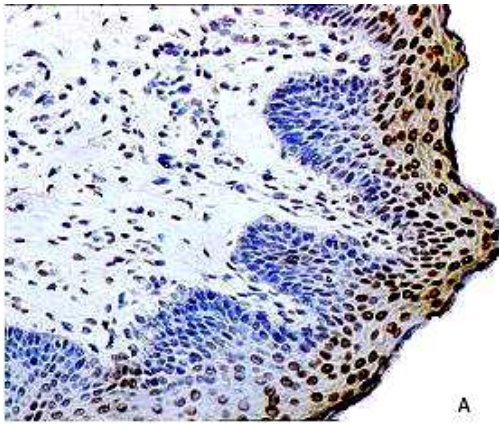
Tablo 4: Hipospadias ve sünnet gruplarında prepisyum epitel ve stromasındaki apoptozisin dağılımı.

	Hipospadias grubu n=30 (%)		Sirkumsizyon grubu n=15(%)	
	Epitel	Stroma	Epitel	Stroma
Apoptozis (+) n (%)	27 (90)	27 (90)	13 (86.7)	13 (86.7)
Apoptozis (-) n (%)	3 (10)	3 (10)	2 (13.3)	2 (13.3)

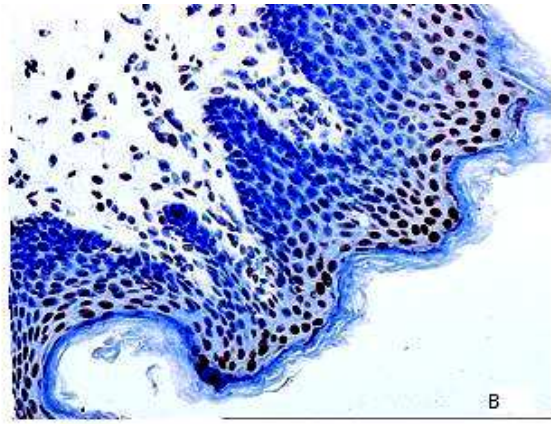
Hipospadias ve sirkumsizyon grupları arasında epitel ve stromada apoptozis bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$).

Hipospadiak ve normal prepisyum epitel ve stromasında apopitotik hücrelerin görünümü Resim 4’de gösterilmiştir.

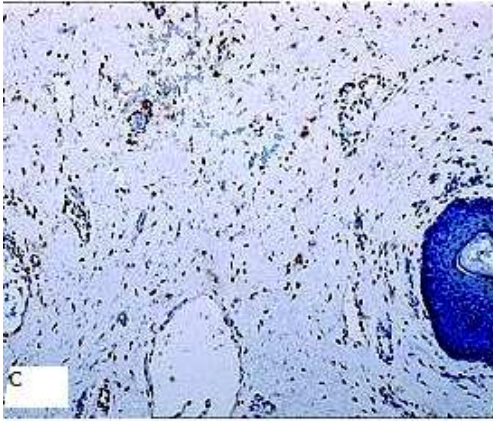
Resim 4: Apopitozisin her iki grupta prepisyum epitel ve stromasındaki görünümü: **A.** Hipospadiak prepisyum epitelinde apopitozis, **B.** Normal prepisyum epitelinde apopitozis, **C.** Hipospadiak prepisyum stromasında apopitozis, **D.** Normal prepisyum stromasında apopitozis.



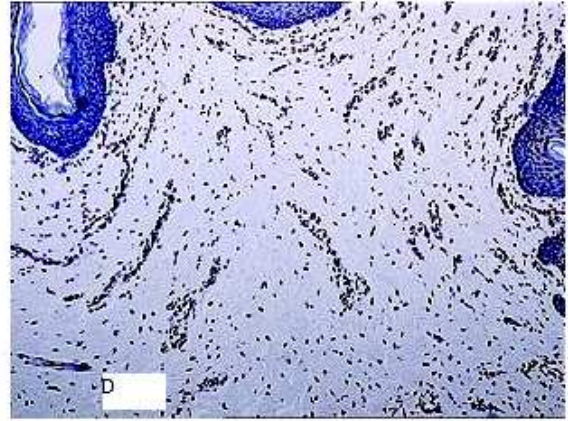
A: Hipospadiak prepisyum epitelinde apopitotik hücrelerin görünümü X 10



B: Normal prepisyum epitelinde apopitotik hücrelerin görünümü X 10



C: Hipospadiak prepisyum stromasında apopitotik hücrelerin görünümü X 4



D: Normal prepisyum stromasında apopitotik hücrelerin görünümü X 4

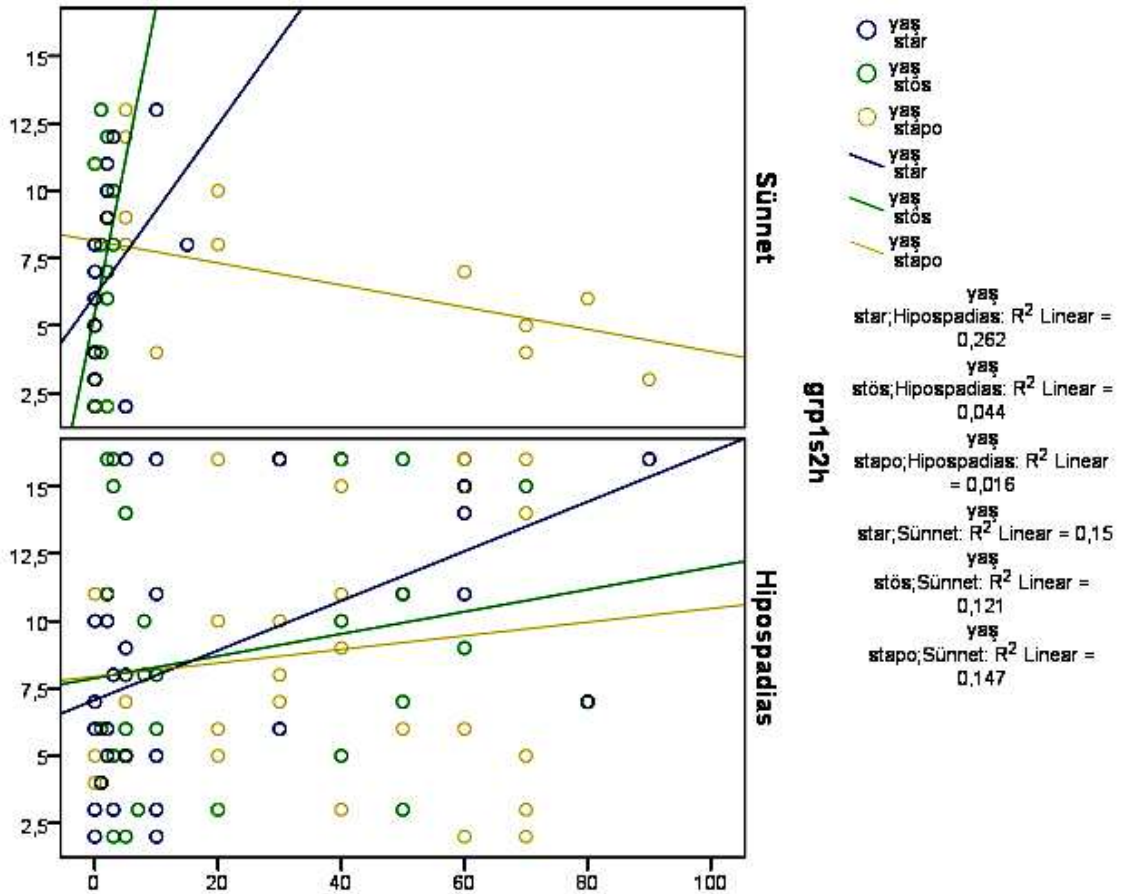
AR’lerinin yaşla değişimi Pearson korelasyonu ile değerlendirildi. AR sayısının yaşla birlikte prepisyum epitelinde hem sünnet hem de hipospadias grubunda anlamlı derecede arttığı belirlendi ve bu artış istatistiksel olarak hipospadias grubunda daha anlamlı bulundu (sırasıyla $r=0.642$, $p=0.01$ ve $r=0.554$, $p=0.001$). Prepisyum stromasında da AR’lerinin yaşla korelasyonuna bakıldığında, sünnet grubunda yaşla

Yukarıdaki grafikten de anlaşılacağı gibi; sünnet grubunda yaş arttıkça prepisyum epitelinde AR sayısının arttığı ve artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir ($r=0.642$, $p=0.01$). AR sayısı bakımından hipospadiak prepisyum ele alındığında epitelde AR sayısının yaşla sünnet grubuna göre daha anlamlı bir şekilde arttığı görülmektedir ($r=0.554$, $p=0.001$).

ER'lerinin yaş ile değişimine bakıldığında ise sünnet grubunda ve hipospadias grubunda epitelde istatistiksel olarak anlamlı değişiklik olmadığı saptandı (sırasıyla, $r=0.327$, $p=0.235$ ve $r=0.038$, $p=0.840$).

Hipospadiaslı ve normal prepisyum stromasındaki AR, ER dağılımı ve apoptozis varlığının yaş ile dağılımı Grafik 2' de gösterilmiştir.

Grafik 2: Hipospadiak ve normal prepisyum stromasındaki AR, ER'lerinin ve apoptotik hücre oranlarının yaşa göre dağılımı.



star: Stromada AR, stös: Stromada ER, stapo: Stromada apoptozis

Grafik 2’de görüldüğü gibi; sünnet grubunda yaş arttıkça prepisyum stromasında AR sayısının istatistiksel olarak anlamlı derecede artmadığı saptandı ($r=0.388$, $p=0.153$). Hipospadiak prepisyum stromasında ise sünnet grubunun aksine yaşla birlikte AR sayısının anlamlı derecede arttığı ancak bu artışın epiteldeki AR sayısındaki artıştan daha az olduğu görülmektedir ($r=0.512$, $p=0.004$ ve epitelium için $p=0.001$ ’e karşın stroma için $p=0.004$).

Prepisyum stromasında ER’lerinin yaş ile değişimine bakıldığında sünnet ve hipospadias grubunda ER sayısında istatistiksel olarak anlamlı değişiklik olmadığı saptandı (sırasıyla $r=0.348$, $p=0.204$ ve $r=0.209$, $p=0.267$).

Grafik 1 ve 2’de de görüldüğü gibi apoptotik hücre oranları epitel ve stromada hem sünnet grubunda hem de hipospadias grubunda yaşla değişiklik göstermiyordu ($p>0.05$), (Tablo 5).

Sünnet ve hipospadias grubundaki olguların prepisyumlarının epitel ve stromasındaki AR, ER ve apoptozisin yaşla değişimini gösteren Pearson Korelasyon katsayıları (r) ve p değerleri tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5: Hipospadias ve sünnet grubunda prepisyum epitel ve stromasındaki AR, ER ve apoptozisin yaş ile değişimini gösteren Pearson Korelasyon katsayıları (r) ve p değerleri.

AR, ER ve Apoptozisin Gruplara Göre Yaş ile Değişimi		p	Pearson Correlation Katsayısı (r)
Hipospadias grubu	Epitelde AR	0.001	0.554
	Stromada AR	0.004	0.512
	Epitelde ER	0.840	0.038
	Stromada ER	0.267	0.209
	Epitelde Apoptozis	0.642	0.089
	Stromada Apoptozis	0.500	0.128
Sünnet grubu	Epitelde AR	0.010	0.642
	Stromada AR	0.153	0.388
	Epitelde ER	0.235	0.327
	Stromada ER	0.204	0.348
	Epitelde Apoptozis	0.175	0.370
	Stromada Apoptozis	0.158	0.384

TARTIŞMA

Androjenler normal erkek fenotipin gelişimi için oldukça önemlidirler. Erkek seksüel farklılaşma bozuklukları androjen biyosentezindeki yetersizlik veya gecikmenin bir sonucu olarak ya da yeterli androjen olmasına rağmen hedef dokunun yanıtında yetersizlik sonucu ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte şiddetli olmayan izole hipospadiasın etiyolojisi hala tam olarak anlaşılammıştır (144, 145). Genel olarak kabul edilen görüş, diferansiyasyon sırasında genital organlardaki hedef hücrelerin androjenlere olan duyarsızlığıdır. Genital deri androjen etkisi için hem bir hedef organ hem de bu steroidlerin metabolizma yeridir (145). Şu anki konseptte göre fetal gonad tarafından sekrete edilen testosteron gelişen fallusun hedef hücreleri içerisinde 5 α -DHT'na metabolize edilir. Bu metabolik adım ürogenital sinüsün ve genital tüberkülün uygun ve yeterli şekilde androjenizasyonu için gereklidir (2).

Testosteronun DHT'na 5 α -redüksiyonundaki bozukluk inkomplet maskülinizasyonla ve erkek pseudohermafroditizmi ile sonuçlanır (146). Androjen etkisi için hedef hücrelerdeki reseptörlere DHT'nun bağlanması gerekmektedir. Nükleusta bu steroid-reseptör kompleksi etkisini kromatinle etkileşime geçmek yolu ile ortaya koyar ve spesifik androjen yanıtı genlerin transkripsiyonunu artırır (147).

Gelişen fallik dokuda AR'lerinin parsiyel eksikliği erkekteki eksternal genital organogenezisi etkileyerek, daha düşük androjen etkisine yol açmak suretiyle hipospadias gibi klinik görünümlere yol açabilmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda hipospadias etiyolojisinde AR anomalilerinin rolü araştırılmıştır. Bazı çalışmalar reseptör sayısı ve bağlanma afiniteleri arasında herhangi bir farklılık olmadığını savunurken (148, 149), bazı çalışmalar normal kişilerle hipospadiak hastalar arasında önemli fark olduğunu rapor etmişlerdir (150, 151).

Gearhart ve ark. (145) normal ve hipospadiak neonatallerden elde ettikleri prepisyal deri ve kordi dokularının fibroblast kültürlerinde AR içeriklerini ve bağlanma afinitelerini değerlendirmişler ve bu iki grup arasında reseptör sayısı, bağlanma afinitesi ve T'nun DHT'na dönüşümü bakımından bir fark olmadığını ortaya koymuşlardır. Sonuç olarak da hipospadiasın etiyolojisinde olası bir faktör olarak düşünülen üretral pleytten derive olan kordi dokusunun androjenlere olan duyarsızlığının hipospadias etiyolojisinde bir rolü olmadığını ortaya koymuşlardır.

İnsan derisinde AR'lerinin lokalizasyonlarının belirlendiği bir çalışmada 19, 20 ve 41 yaşında 3 erkekte alınan prepisyal dokuda stratum bazale ve stratum spinozumda epidermal hücrelerin nükleuslarında AR ekspresyonu gösterilmiştir (152). AR'lerinin hem erkek eksternal genital organ derisinde (prepisyum) hem de non genital deride olduğu gösterilmiştir. Genital deride AR'lerinin sadece bazal hücrelerde değil aynı zamanda spinoz ve granüler hücre tabakasında da ekspresse olduğu, aksine nongenital deri epidermisinde AR'lerinin yalnızca bazal hücrelerde sınırlı kaldığı rapor edilmiştir (152).

Son dekatta hipospadias insidansında artış olduğunun ortaya konulması, araştırmaların bu hastalığın etiyojisine ve genetiğine yönelmesine neden olmuştur. Bu araştırmalar sonucunda endokrin bozucular, birçok sentetik kimyasallar ve gıdalardaki sentetik östrojenler gibi çevresel faktörlere maruz kalan kadınların çocuklarında hipospadias insidansının arttığı ortaya konulmuştur (153, 154).

Bir östrojenizasyon göstergesi olan hipospadiasta üretral pleytin kapanmamasının yanı sıra prepisyum da ventralde oluşmamaktadır. Üretraya yönelik daha fazla sayıda çalışma olmasına rağmen (10, 155, 156) prepisyumdaki AR ve ER dağılımını gösteren çalışmalar daha az sayıdadır ve hasta sayısı yetersizdir (152, 157).

Çalışmamızda immünohistokimyasal boyama ile hipospadiak prepisyal dokuda hem epitelde hem de stromada AR sayısını normal prepisyumdan yaklaşık 6 kat daha yüksek oranlarda belirledik. Prostat gibi bazı dokularda AR miktarının östrojenler tarafından kontrol edildiğini bilmekteyiz (158). Bununla birlikte prepubertal insan prepisyumunda AR miktarının östrojen tarafından ya da diğer hormonal ve nonhormonal faktörler tarafından etkilenip etkilenmediği hala net olarak bilinmemektedir (157). Bizim olgularımızda hipospadiak prepisyumda hem AR'nin hem de ER'nin artmış olması fetal hayatta erkek fetusun östrojenlere maruz kalması sonucunda östrojenin prostattakine benzer şekilde AR sayısında bir artışa yol açmış olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Roehrborn ve ark. (157) yaşın bir fonksiyonu olarak insan prepisyumunda AR'lerinin intrasellüler dağılımlarını ve miktarındaki değişiklikleri araştırdıkları bir çalışmada, puberte zamanında nükleer fraksiyonda reseptör miktarının arttığı ve daha sonra total reseptör sayısındaki azalmaya paralel olarak giderek azaldığı ortaya konulmuştur. Yaşla birlikte total reseptör içeriğinde önemli değişiklikler olduğu

gösterilmiştir. Yine bu çalışmada, yenidoğan-1 yaş arasındaki periyotta AR konsantrasyonunda düşme olduğu belirlenirken, daha sonra artmaya başlayarak 17-18 yaş civarında maksimum düzeye ulaştığı ve bu aşamadan sonra ilerleyen yaşla birlikte tekrar düşmeye başladığı ortaya konulmuştur.

Bizim çalışma grubumuzda da bu çalışmaya benzer şekilde AR sayısı ile yaş arasında pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir. Puberte döneminde artmış androjenik stimülasyonun AR düzeylerinde artışa neden olduğu düşünülmektedir (157). İnsandakine benzer şekilde rat penisinde de puberteden sonra yaşlanmayla birlikte AR sayısında azalma olduğu gösterilmiştir (56).

Staffieri ve ark. (59)'nın 1965 yılında erkek genitöüriner organlarında östrojenlerin bulunduğunu ortaya koymalarından sonra östrojenlerin ve ER'lerinin erkek üreme organlarındaki rolü ile ilgili çalışmalar günümüze kadar süre gelmiştir. Östrojenler etkilerinin çoğunu ER'nin birine veya her ikisine bağlanarak gösterirler (60). ER'nin α izoformu (ER- α) ve daha sonra bulunan β izoformu (ER- β) çok benzer DNA bağlanma bölgeleri içerirler. ER- α 'nın temel olarak meme ve overler gibi östrojenin klasik hedef dokularında bulunmasına karşın, ER- β böbrek, akciğer, kemik ve endotelial hücrelerde bulunduğu gösterilmiştir (159, 160). Östrojenlerin seksüel organlarda büyümeyi stimüle ettiği, kan akımını artırdığı ve su retansiyonuna yol açtığı bilinmektedir (161). ER- α ve ER- β 'nin testiste, prostatta, peniste ve efferent ductuslarda bulunduğu da rapor edilmiştir (63, 64, 162).

Dietrich ve ark. (14)'nin yapmış oldukları bir çalışmada, korpus kavernozum ve spongiozumun düz kaslarının AR, ER- α ve daha bariz şekilde ER- β immüno-reaktivite gösterdiklerini bildirmişlerdir. Üretra epitelinde AR güçlü nükleer ekspresyon gösterirken, ER- α 'nın nükleer ekspresyonunun sadece intermediate hücrelerde gözlendiği, ER- β 'nin ise tüm üretral hücre nükleuslarında yüksek derecede ekspresse olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışma insan penil dokusunda ER- α ve özellikle ER- β 'nin düzenli olarak ekspresse edildiğini gösteren ilk rapordur (14). McAbee ve Doncarlos (163) 1999 yılında yaptıkları bir çalışmada beynin bazı bölgelerinde AR ile ER- α arasında bir ilişkiyi ortaya koymuşlar ve ER- α knock-out erkek farelerde AR ekspresyonunda azalma olduğunu göstermişlerdir. Bununla birlikte bu etki insan penis dokusunda gösterilememiştir (14).

Dietrich ve ark. (14) ER- β 'nın penil kavernoza dokusunda dominant subtip olduğunu göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar korpus kavernoza ve spongiozuma düz kas hücrelerinde ve endotelinde, ayrıca üretral epitel ve üretral glandlarda da ER- β 'nın bol miktarlarda ekspresyon olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca östrojenin penil kan damarı regülasyonunda ve epitel fonksiyonunda da rol oynadığını ortaya koymuşlardır.

Fonksiyonel ER farklılaşan erkek genitelyasında tespit edilmiştir ve AR ile aynı yapılarda lokalize oldukları ortaya konulmuştur. Bu birlikteliğin iki steroid hormon arasındaki olası etkileşimi gösterdiği düşünülmektedir (13, 14). Bizim çalışma grubumuzda da her iki reseptör grubunun prepisyumda belirlenmesi bu çalışmaya benzer bir bulgudur.

Gelişen murin üretrasında östrojenin fazlalığı doza bağımlı olarak hücre proliferasyonunda inhibisyonla sonuçlanmıştır (164) ve gebelik sırasında sentetik östrojenlere maruz bırakılan fare modelinde hipospadias geliştiği gösterilmiştir (12). Bizim çalışmamızda da hipospadias grubunda prepisyum dokusunda ER immüno-reaktivitesini hem epitelde hem de stromada, sünnet grubuna göre anlamlı derecede yüksek olarak belirledik. Bu artış stromada çok daha belirgindi ve sünnet grubundakinden yaklaşık 19 kat daha yüksekti. Bu oran epiteldeki AR sayısı bakımından hipospadias grubunda 7 kat daha yüksek bulundu. Bu bulgular hipospadias etiyojisinde östrojen ve ER'lerinin oldukça önemli fonksiyonları olduğunu göstermesi bakımından önemlidir. AR'leri hem epitelde hem de stromada belirgin derecede yüksek immünoreaktivite gösterirken, ER'lerini stromada daha dominant olarak belirledik. ER'lerinin α ve β subunitlerine ayrı ayrı bakmayıp global olarak araştırmamız çalışmamızın eksik bir yönüdür, ancak erkek genital organlarında ER- β subunitinin dominant olduğu çalışmalarla zaten ortaya konulmuştur (13, 14).

Mikrofallusu olan, glansı konik olan ve kordi ile birlikte proksimal hipospadiasi olan çocukların cerrahisi teknik zorluklar içermesi ve komplikasyonlarının fazla olması nedeniyle hala önemli bir problemdir. Bu tür zor olgularda cerrahi öncesi hormonal tedaviyle penisin büyütülmesi işlemi günümüzde de tartışılan bir uygulamadır. Kaff ve Jayanthi (165) proksimal hipospadias onarımından önce hCG kullanımını destekleyen deliller sunmuşlardır. Nerli ve ark. (166) mikrofallusu olan hipospadiak çocuklarda topikal ve parenteral testosteronun etkinliğini karşılaştırmışlardır. Her iki tedavi yönteminin de penis boyu, glans çevresi gibi parametrelerde anlamlı iyileşmeye yol

açtığını rapor etmişlerdir. Gearhart ve Jeffs (167) ise 2mg/kg testosteron enanthate'ın operasyondan 5 ve 2 hafta önce verilmesinin rekonstrüktif penil cerrahiye kolaylaştırdığını, penis boyunda %50 artış sağladığını ve mevcut deriyi artırıp lokal vaskülariteyi iyileştirdiğini ortaya koymuşlardır. Özellikle proksimal hipospadias cerrahisinde sıklıkla prepisyal dokunun inlay veya onlay olarak kullanımı gerekmektedir (168). Prepisyal dokunun yeterli olamadığı olgularda lokal veya sistemik testosteron tedavisinin prepisyumda olumlu gelişme sağlayarak rekonstrüktif cerrahiye pozitif yönde katkı sağlayabileceği, penis boyutunda ve glans çevresinde %50'ye varan artış sağladığının gösterilmesi dolayısı ile tahmin edilebilir. Bizim çalışmamızda AR yoğunluğunun özellikle hipospadiaslı hastaların prepisyumunda normal kişilerden anlamlı derecede yüksek bulunması, prepisyumu kaliteli hale getirmek için kullanılacak tetosteron tedavisine bilimsel bir dayanak teşkil edebilecektir.

AR sayısı yaşla korele olarak artmasına rağmen, ER sayısında yaşla pozitif veya negatif bir korelasyon saptayamadık.

Programlanmış hücre ölümü anlamına gelen apoptozis insan gonadlarının ve eksternal genitallerinin embriyogenezinde hayati öneme sahiptir. Erkek anterior üretrasının normal gelişiminin araştırıldığı bir çalışmada, prepisyum gelişiminin glandüler üretranın füzyonu tamamlandıktan sonra başladığı gözlemlenmiştir (169). Hipospadiasta bu füzyon oluşmadığından, prepisyumun ventral gelişimi de üretral kapanma gibi eksik kalmakta ve hipospadiaklarda prepisyum başlık tarzında gelişmektedir.

Shabsigh ve ark. (170) kastrasyondan sonra androjenik uyarının azalmasına bağlı olarak rat penisinde kavernozaal hücrelerde apoptozisin arttığını ve aynı modelde androjen substitüsyonundan sonra DNA replikasyonunun ve androjene bağımlı hücre proliferasyonunun artarak apoptozisin azaldığını ortaya koymuşlardır.

Bu gözlemden yola çıkarak fetal gelişim sırasında östrojene maruz kalan ve yetersiz androjenizasyon gösteren hipospadiak erkek eksternal genitali olanlarda apoptozisin normalden daha fazla sayıda olabileceği düşünülebilir. Bu nedenle çalışmamızda ventral gelişimini tamamlayamamış olan prepisyal dokuda apoptozis varlığını araştırmayı planladık. Ancak çalışmamızın sonucunda apoptozis bakımından hipospadiak ve normal prepisyumun farklılık göstermediğini ortaya koyduk. Apoptozisin hipospadiak prepisyumda daha fazla olmaması, hipoandrojenizasyon

gösteren bu hastalarda kompensatuar olarak artmış olan AR sayısına ve sonuç olarak gelişim sürecinde artmış olan androjenik uyarıya bağlı olabilir. Artmış AR'leri sayesinde dokunun doğumdan sonra androjen uyarısına yeterli derecede maruz kaldığı düşünülebilir. Apoptotik hücre sayısı yaşla birlikte pozitif veya negatif bir değişim de göstermiyordu.

Sonuç olarak, bu çalışma ile hipospadiak prepisyumda AR ve ER sayılarının normal prepisyumdan anlamlı derecede yüksek olduğu, ancak apoptozisin farklı olmadığı ortaya konulmuştur. Daha proksimal hipospadias olgularının çalışmaya dahil edilerek, serum T, DHT ve östrojen düzeylerine de bakılarak yapılacak daha geniş katılımlı klinik çalışmaların bize daha yeterli sonuçlar sunabileceğini ve aklımızdaki sorulara daha mantıklı yanıtlar verebileceğini düşünmekteyiz. Bu çalışmanın proksimal hipospadias onarımlarında prepisyumun inlay veya onlay olarak kullanılması gerektiği durumlarda, prepisyumun rehabilitasyonu için yapılacak olan testosteron tedavisine bilimsel bir dayanak olacağını düşünmekteyiz.

SONUÇLAR

- Onbeş olguluk sirkümsizyon yapılan çocukların 10 (%66.7)'unda prepisyum epitelinde AR'leri immünohistokimyasal olarak belirlenirken, 5 (%33.3)'inde belirlenemedi.
- Sirkümsizyon grubunda 8 (%53.4) olgunun prepisyum epitelinde ER'lerinin varlığı immünohistokimyasal olarak belirlenirken, 7 (%46.6) olguda boyanma izlenemedi.
- Sirkümsizyon yapılan çocukların 7 (%46.6)'sinde immünohistokimyasal olarak prepisyum stromasında AR'leri belirlenirken, 8 (%53.3)'inde belirlenemedi.
- Sirkümsizyon yapılan çocukların 11'inde (%73.4) immünohistokimyasal olarak prepisyum stromasında ER'leri belirlenirken, 4 (%26.6)'ünde belirlenemedi.
- Koronal hipospadias nedeniyle opere edilen 9 hastanın 7 (%77.8)'sinde prepisyum epitelinde AR belirlenirken, 2 (%22.2) olguda AR saptanamadı. Subcoronal hipospadias tamiri yapılan 16 hastanın 13 (81.2)'ünde prepisyum epitelinde AR belirlenirken 3 (18.8) hastada AR belirlenemedi. Anterior penil hipospadiası olan 5 hastanın 4 (%80)'ünde prepisyum epitelinde AR pozitifliği belirlendi.
- Koronal hipospadias nedeniyle opere edilen 9 hastanın 8 (%88,8)'inde prepisyum epitelinde ER belirlenirken, sadece 1 (%11.2) olguda ER saptanamadı. Subcoronal hipospadias tamiri yapılan 16 hastanın tümünde prepisyum epitelinde ER belirlendi. Anterior penil hipospadiası olan 5 hastanın 4 (%80)'ünde prepisyum epitelinde ER pozitifliği belirlendi.
- Hipospadias grubunda prepisyum stromasındaki AR dağılımı prepisyum epitelinde elde edilen veriler ile aynıydı.
- Koronal, subcoronal ve anterior penil hipospadiası olan 30 olgunun tümünde prepisyum stromasında ER varlığı immünohistokimyasal olarak belirlendi.
- Hipospadias grubundan elde edilen prepisyumların epitelinde AR varlığı sirkümsizyon grubundankinden anlamlı derecede yüksek bulundu (%18.97±27.29'a karşın %3.33±5.30, p=0.034). Benzer şekilde prepisyum stromasındaki AR oranları da hipospadias grubunda, sünnet grubuna göre

istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (%19.50±26.79'a karşın %2.60±4.38, p=0.004).

- ER varlığı bakımından da hipospadias prepisyum epitelinde sünnet grubundan daha fazla sayıda boyanma belirlendi (sırasıyla %6.83±10.12 ve %0.93±1.33, p<0.001). Stromada ER varlığı yine hipospadiak prepisyumda sünnet grubundan elde edilen prepisyuma kıyasla daha yüksek oranlarda belirlendi (sırasıyla %24.03±24.49 ve %1.27±1.10, p<0.001).
- ER'lerinin hipospadias grubunda prepisyum stromasında prepisyum epitelinden daha fazla sayıda bulunduğu belirlendi. Aynı grupta AR ise epitel ve stromada benzer oranlarda dağılım göstermekte idi.
- AR sayısının yaşla birlikte prepisyum epitelinde hem sünnet hem de hipospadias grubunda anlamlı derecede arttığı belirlendi ve bu artış istatistiksel olarak hipospadias grubunda daha önemli bulundu (sırasıyla p=0.01 ve p=0.001). Prepisyum stromasında da AR'lerinin yaşla korelasyonuna bakıldığında, sünnet grubunda yaşla artışın önemli olmadığı (p=0.153), hipospadias grubunda ise artışın önemli olduğu (p=0.004) belirlendi.
- ER'lerinin yaşla değişimi hem sünnet grubunda hem de hipospadias grubunda epitel ve stromada anlamlı bulunmadı (her bir grup için p>0.05).
- Sünnet ve hipospadias grubunda prepisyum epitelyum ve stromasında apoptotik hücre oranları da yaşla değişim göstermiyordu (her bir grup için p>0.05).

KAYNAKLAR

1. Blyth B, Churchill BM, Houle A-M, McLorie GA. Intersex. In: Gillenwater JY, Grayhack JT, Howard SS, Duckett Jr JW, eds. *Adult and Pediatric Urology*, 2nd ed. St. Louis: Mosby Year Book. 1991; vol 2: 2141-2171.
2. Siiteri PK, Wilson JD. Testosterone formation and metabolism during male sexual differentiation in the human embryo. *J Clin Endocrinol Metab.* 1974; 38: 113-125.
3. Jockenhövel F. Testosterone therapy-what, when and to whom? *Aging Male.* 2004; 7: 319-324.
4. Baflaklar C. Urogenital sistem. In: Baflaklar C, ed. *Medikal Embriyoloji*. Ankara, Palme Yayıncılık. 1993, pp 246-281.
5. Sweet RA, Schrott HG, Kurland R, Culp OS. Study of the incidence of hypospadias in Rochester, Minnesota, 1940-1970, and a case-control comparison of possible etiologic factors. *Mayo Clin Proc.* 1974; 49:52-4958.
6. Brown TR, Lubahn DB, Wilson EM, French FS, Migeon CJ, Corden JL. Functional characterization of naturally occurring mutant androgen receptors from subjects with complete androgen insensitivity. *Mol Endocrinol.* 1990; 4: 1759-1772.
7. Schanzer W. Metabolism of androgenic steroids. *Clin Chem.* 1996; 42: 1001-1020.
8. Mooradian AD, Morley JE, Korenman SG. Biological actions of androgens. *Endocr Rev.* 1987; 8: 1-27.
9. Bhasin S, Storer T, Berman N, et al. The effects of supraphysiological doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. *N Eng J Med.* 1996; 335: 1-7.
10. Kim KS, Liu W, Cunha GR, et al. Expression of the androgen receptor and 5 alpha-reductase type 2 in the developing human fetal penis and urethra. *Cell Tissue Res.* 2002; 307: 145-153.
11. Rey R, Picard JY. Embryology and endocrinology of genital development. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* 1998; 12: 17-33.
12. Kim KS, Torres CR Jr, Yucel S, Raimondo K, Cunha GR, Baskin LS. Induction of hypospadias in a murine model by maternal exposure to synthetic estrogens. *Environ Res.* 2004; 94: 267-275.
13. Crescioli C, Maggi M, Vannelli GB, et al. Expression of functional estrogen receptors in human fetal male external genitalia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88: 1815-1824.

14. Dietrich W, Haitel A, Huber JC, Reiter WJ. Expression of estrogen receptors in human corpus cavernosum and male urethra. *J Histochem Cytochem.* 2004; 52: 355–360.
15. Mowa CN, Jesmin S, Miyauchi T. The penis: a new target and source of estrogen in male reproduction. *Histol Histopathol.* 2006; 21: 53–67.
16. Schultheiss D, Badalyan R, Pilatz A, et al. Androgen and estrogen receptors in the human corpus cavernosum penis: immunohistochemical and cell culture results. *World J Urol.* 2003; 21: 320–324.
17. Brinkmann AO, Blok LJ, de Ruiter PE, et al. Mechanism of androgen receptor activation and function. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1999; 69: 307-313.
18. Allera A, Herbst MA, Griffin JE, Wilson JD, Schweikert HU, McPhaul MJ. Mutation of the androgen receptor coding sequence are infrequent in patients with isolated hypospadias. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995; 80: 2697-2699.
19. Baskin LS, Erol A, Jegatheesan P, Li Y, Liu W, Cunha GR. Urethral seam formation and hypospadias. *Cell Tissue Res.* 2001; 305: 379-387.
20. Drews U. Female Organs In *Color Atlas of Embryology*, Thieme Medical Publishers Inc, New York. 1995; 22-31.
21. Klip H, Verloop J, van Gool JD, Koster ME, Burger CW, van Leeuwen FE; OMEGA Project Group. Hypospadias in sons of women exposed to diethylstilbestrol in utero: a cohort study. *Lancet.* 2002; 359: 1102–1107.
22. Cooper GM. Programmed cell death. The cell. In Cooper GM (ed) Chapter 14. Washington: ASM Pres;1994; 592-596.
23. Geske FJ, Gerschenson LE. The biology of apoptosis. *Hum Pathol.* 2001; 32: 1029-1038.
24. Walsh PC, Retik AB, Vaugan ED, Wein AJ, Campbells Urology. Çeviri Anafarta MK, Yaman MÖ. Campbell Üroloji. Ankara: Güneş Kitapevi. 2005; 1753-1764.
25. Yiee JH, Baskin LS. Penile embryology and anatomy. 2010; 29; 10: 1174-1179.
26. Sinisi AA, Pasquali D, Notaro A, Bellastella A. Sexual differentiation. *J Endocrinol Invest.* 2003; 26: 23-8.
27. Greenfield A, Kopman P: SRY and mammalian sex determination. *Curr Top Dev Biol.* 1996; 34: 1-23
28. Foster JW, Dominguez-Steglich MA, Guioli S, et al. Camptomelic dysplasia and autosomal sex reversal caused by mutations in an SRY-related gene, *Nature.* 1994; 372: 525-530.

- 29.** Kurzrock EA, Baskin LS, Li Y, Cunha GR. Epithelial-mesenchymal interactions in development of the mouse fetal genital tubercle. *Cells Tissues Organs*. 1999; 164: 125-130.
- 30.** Kurzrock EA, Baskin LS, Cunha GR. Ontogeny of the male urethra: Theory of endodermal differentiation. *Differentiation*. 1999; 64: 115-122.
- 31.** Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE et al. Embryology and Development In "Gray's Anatomy" Ed. by Collins P, 3rd-8th ed. Churchill Livingstone Inc New York. 1995; 91-343.
- 32.** Godin I and Wylie CC. TGF beta 1 inhibits proliferation and has a chemotropic effect on mouse primordial germ cells in culture, *Development*. 1991; 113, 1451-1457.
- 33.** Weniger JP. Aromatase activity in fetal gonads of mammals, *J of Develop Physiol*. 1990; 14: 303-306.
- 34.** Cajaraville MP, Marigomez JA and Angulo E. Comparative effects of the water accommodated fraction of three oils on mussels-1. Survival, growth and gonad development. *Comp Biochem Physiol*. 1992; 102: 103-112.
- 35.** Feijen A, Goumans MJ, van den Eijnden, van Raaij AJM. Expression of activin subunits, activin receptors and follistatin in postimplantation mouse embryos suggests specific developmental functions for different activins, *Development* 1994; 120: 3621-37.
- 36.** Ujeno Y. Epidemiological studies on disturbances of human fetal development in areas with various doses of natural background radiation. I. Relationship incidences of Down's syndrome or visible malformation and gonad dose equivalent rate of background radiation, *Arch Environ Health*. 1985; 40: 177-180.
- 37.** Tam PP, Snow MH. Proliferation and migration of primordial germ cells during compensatory growth in mouse embryos, *J Embryol Exp Morphol*. 1981; 64: 133-147.
- 38.** Siler-Khodr TM and Khodr GS. Studies in human fetal endocrinology: II. LH and FSH content and concentration in the pituitary. *Obstet Gynecol*. 1980; 56: 176-181.
- 39.** Blyth B and Duckett JW Jr. Gonadal differentiation: A review of the physiological process and influencing factors based on recent experimental evidence. *J Urol*. 1991; 145: 689-694.
- 40.** Taketo T, Saeed J, Manganaro T, Takahashi M, Donahoe PK. Müllerian Inhibiting Substance production associated with loss of oocytes and testicular differentiation in the transplanted mouse XX gonadal primordium, *Biol Reprod*. 1993; 49: 13-23.
- 41.** Behringer RR, Finegold MJ and Cate RL. Müllerian-inhibiting substance function during mammalian sexual development. *Cell*. 1994; 79: 415-425.

- 42.** Catlin EA, Tonnu VC, Ebb RG, et al. Müllerian Inhibiting Substance inhibits branching morphogenesis and induces apoptosis in fetal rat lung. *Endocrinology*. 1997; 138: 790-796.
- 43.** Warren DW, Dufau ML, Catt KJ. Hormonal regulation of gonadotropin receptors and steroidogenesis in cultured fetal rat tests. *Science*. 1982; 218: 175-177.
- 44.** Tsuji M, Shima H, Cunha GR. In vitro androgen-induced growth and morphogenesis of the Wolffian duct within urogenital ridge. *Endocrinology*. 1991; 128: 1805-1811.
- 45.** Wilson JD, George FW, Griffin JE. The hormonal control of sexual development. *Science*. 1981; 211: 1278-1284.
- 46.** Wilson JD, Griffin JE, Leshin M, George FW. Role of gonadal hormones in development of the sexual phenotypes. *Hum Genet*. 1981; 58: 78-84.
- 47.** Altemus AR, Hutchins GM. Development of the human anterior urethra. *J Urol*. 1991; 146: 1085-1093.
- 48.** Glenister TW. The origin and fate of the urethral plate in man. *J Anat*. 1954; 88: 413-425.
- 49.** Walsh PC, Retik AB, Vaugan ED, Wein AJ, Campbells Urology. Çeviri Anafarta MK, Yaman MÖ. Campbell Üroloji. Ankara: Güneş Kitapevi. 2005; 2207-2228.
- 50.** Jirasek JE. Morphogenesis of the genital system in the human. *Birth Defects Orig Artic Ser*. 1977; 13: 13-39.
- 51.** Cunha GR. Development of the male urogenital tract. In: Rajfer J, ed. *Urologic endocrinology*. Saunders; 1986; 6-16.
- 52.** Winter JSD, Faiman C, Reyes FI. Sex steroid production by the human fetus: its role in morphogenesis and control by gonadotropins. *Birth Defects Orig Artic Ser*. 1977; 13: 41-58.
- 53.** Sultan C, Terraza A, Devillier C, Michel B, Descomps B, Jean R. Androgen receptors in cultured human skin fibroblasts. *Br J Dermatol*. 1982; 107: 40-46.
- 54.** Marshall M Jr, Beh WP, Johnson SH 3rd, Price SE Jr, Barnhouse DH. Etiologic considerations in penoscrotal hypospadias repair. *J Urol*. 1978; 120: 229-231.
- 55.** Wilson JD. Syndromes of androgen resistance. *Biol Reprod*. 1992; 46: 168-173.
- 56.** Rajfer J, Namkung PC, Petra PH. Identification, partial characterization and age-related changes of a cytoplasmic androgen receptor in the rat penis. *J Steroid Biochem*. 1980; 13: 1489-1492.

- 57.** Takane KK, Husmann DA, McPhaul MJ, Wilson JD. Androgen receptor levels in the rat penis are controlled differently in distinctive cell types. *Endocrinology*. 1991; 128: 2234-2238.
- 58.** Takane KK, Wilson JD, McPhaul MJ. Decreased levels of the androgen receptor in the mature rat phallus are associated with decreased levels of androgen receptor messenger ribonucleic acid. *Endocrinology*. 1991; 129: 1093-1100.
- 59.** Staffieri JJ, Badano H, Celoria G. Study of testicular estrogenic production in normal individuals and in patients with various alterations of the seminiferous tube. *Rev Iber Endocrinol*. 1965; 12: 85-93.
- 60.** Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC. Production and actions of estrogens. *N Engl J Med*. 2002; 346: 340-352.
- 61.** Makela S, Savolainen H, Aavik E, et al. Differentiation between vasculoprotective and uterotrophic effects of ligands with different binding affinities to estrogen receptors alpha and beta. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96: 7077-7082.
- 62.** Windahl SH, Norgard M, Kuiper GG, Gustafsson JA, Andersson G. Cellular distribution of estrogen receptor beta in neonatal rat bone. *Bone*. 2000; 26: 117-121.
- 63.** Bodker A, Bruun J, Balslev E, Iversen HG, Meyhoff HH, Andersson KE. Estrogen receptors in the human male prostatic urethra and prostate, in prostatic cancer and benign prostatic hyperplasia. *Scand J Urol Nephrol*. 1999; 33: 237-242.
- 64.** Salmi S, Santti R, Gustafsson JA, Makela S. Co-localization of androgen receptor with estrogen receptor β in the lower urinary tract of the male rat. *J Urol*. 2001; 166: 674-677.
- 65.** Brouchet L, Krust A, Dupont S, Chambon P, Bayard F, Arnal JF. Estradiol accelerates reendothelialization in mouse carotid artery through estrogen receptor- α but not estrogen receptor- β . *Circulation* 2001; 103: 423-428.
- 66.** Gargett CE, Zaitseva M, Bucak K, Chu S, Fuller PJ, Rogers PAW. 17β -estradiol up-regulates vascular endothelial growth factor receptor-2 expression in human myometrial microvascular endothelial cells: role of estrogen receptor- α and - β . *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87: 4341-4349.
- 67.** Walsh PC, Retik AB, Vaugan ED, Wein AJ, Campbells Urology. Çeviri Anafarta MK, Yaman MÖ. Campbell Üroloji. Ankara: Güneş Kitapevi. 2005; 3886-3952.
- 68.** Anafarta K. Ürogenital Organların Anatomik ve Histolojik Yapısı. Çeviri Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N (yazarlar). Temel Üroloji. Ankara: Güneş Kitabevi. 2007; 1-19.
- 69.** Walsh PC, Retik AB, Vaugan ED, Wein AJ, Campbells Urology. Çeviri Anafarta MK, Yaman MÖ. Campbell Üroloji. Ankara: Güneş Kitapevi. 2005; 1591-1613.

- 70.** Goldstein AM, Meehan JP, Zakhary R, et al: New observations on microarchitecture of corpora cavernosa in man and possible relationship to mechanism of erection. *Urology*. 1982; 20: 259-266.
- 71.** Angermeier KW. Penisin Cerrahi Anatomisi. Çeviri Akdemir Ö. In Novick AC, Jones JS. *Operative Urology at the Cleveland Clinic*. Ankara: Güneş Kitabevi. 2008; 377-383.
- 72.** Salih M. Ürogenital Sistemin Görüntüleme Yöntemleri ve Enstrumantal Muayenesi. In Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N (yazarlar). *Temel Üroloji*. Ankara: Güneş Kitabevi. 2007; 67-187.
- 73.** Walsh PC, Retik AB, Vaugan ED, Wein AJ, Campbells *Urology*. Çeviri Anafarta MK, Yaman MÖ. *Campbell Üroloji*. Ankara: Güneş Kitabevi. 2005; 41-79.
- 74.** Benoit G, Delmas V, Gillot C, Jardin A. The anatomy of erection. *Surg Radiol Anat*. 1987; 9: 263-272.
- 75.** Breza J, Aboseif SR, Orvis BR, Lue TF, Tanagho EA. Detailed anatomy of penile neurovasculer structures: surgical significance. *J Urol*. 1989; 141: 437-443.
- 76.** Arıncı K, Karahan ST. Penis'in Damar Sistemi ve İnnervasyonu. *Türkiye Klinikleri Temel Tıp Bilimleri* 1991; 11: 81-86.
- 77.** Tahmaz ML, Erduran D. Sünnet. In Dayanç M. *Güncel Çocuk Ürolojisi*. 1. baskı. Ankara: Atlas Yay. 2004: 281-93.
- 78.** Fink KS, Carson CC, DeVellis RF. Adult circumcision outcomes study: Effect on erectile function, penile sensitivity, sexual activity and satisfaction. *J Urol* 2002; 167: 2113-2116.
- 79.** Rowe MI, O'Neill JA, Grosfeld JL, et al(eds). *Essentials of Pediatric Surgery*. St. Louis. Missouri. Mosby-Year-Book 1995; 85: 769.
- 80.** Kayaba H, Tamura H, Kitajima S, Fujiwara Y, Kato T, Kato T. Analysis of shape and retractability of the prepuce in 603 Japanese boys. *J Urol*. 1996; 156:1813-1815.
- 81.** Bartholomew TH, Mcluer B. Other Disorders of the Penis and Scrotum, in Gonzales ET, Bauer SB. *Pediatric Urology Practice*. Philadelphia. Lippincott Williams-Wilkins 1999; 31: 533.
- 82.** Walsh PC, Retik AB, Vaugan ED, Wein AJ. *Campbells Urology*. In Anafarta MK, Yaman MÖ. *Campbell Üroloji*. Ankara: Güneş Kitabevi. 2005; 2285-2326.
- 83.** Oster J. Further fate of the foreskin. Incidence of preputial adhesions, phimosis and smegma among Danish schoolboys. *Arc Dis Child* 1968; 43: 200-203.

- 84.** Ghysel C, Vander Eeckt K, Bogaert GA. Long-term efficiency of skin stretching and a topical corticoid cream application for unretractable foreskin and phimosis in prepubertal boys. *Urol Int.* 2009; 82: 81-8.
- 85.** Fischer-Klein Ch, Rauchenwald M. Triple incision to treat phimosis in children: an alternative to circumcision. *BJU Int* 2003; 92: 459-462.
- 86.** Mori N, Tsutahara K, Fukuhara S, Hara T, Yamaguchi S. Treatment for phimosis with estrogen-containing ointment in children. *Hinyokika Kyo.* 2004; 50: 229-231.
- 87.** Atilla MK, Dündaröz R, Odabaş Ö, Öztürk H, Akın R, Gökçay E. A nonsurgical approach to the treatment of phimosis: Local nonsteroidal anti-inflammatory ointment application. *J Urology.* 1997; 158: 196-197.
- 88.** Dewan PA, Tieu HC, Chieng BS. Phimosis: Is circumcision necessary? *J Paediatr Child Health.* 1996; 32: 285-289.
- 89.** Baskin LS, Colborn T, Himes K. Hypospadias and endocrine disruption: is there a connection? *Environ Health Perspect.* 2001; 109: 1175-83.
- 90.** Baskin LS, Ebberts MB. Hypospadias: anatomy, etiology and technique. *J Pediatr Surg.* 2006; 41: 463-472.
- 91.** Retik AB, Borer JG. Hypospadias. In Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED Jr, Wein AJ (eds), *Campbell's Urology*, 8th edn, WB Saunders, Philadelphia, 2002; 2284-2331.
- 92.** Hadidi AT, Azmy AF. *Hypospadias Surgery: An Illustrated Guide.* Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. 2004; 51-163.
- 93.** Belman AB. Hypospadias and chordee. In Belman AB, King LR, Kramer SA, eds. *Clinical pediatric urology.* 4th edn. London: Martin Dunitz. 2002; 1061-1092.
- 94.** Weidner IS, Moller H, Jensen TK, Skakkebaek NE. Risk factors for cryptorchidism and hypospadias. *J Urol.* 1999; 161: 1606-1609.
- 95.** Duckett JW. The current hype in hypospadiology. *Br J Urol.* 1995; 76: 1-7.
- 96.** Carey JC, Viskochil DH. Current status of the human malformation map. *Birth Defects Orig Artic Ser.* 1996; 30: 13-34.
- 97.** Khuri FJ, Hardy BE, Churchill BM. Urologic anomalies associated with hypospadias. *Urol Clin North Am.* 1981; 8: 565-571.
- 98.** Sorber M, Feitz WF, de Vries JD. Short- and mid-term outcome of different types of one-stage hypospadias corrections. *Eur Urol.* 1997; 32: 475-479.
- 99.** Baskin LS. Hypospadias. *Adv Exp Med Biol.* 2004; 545: 3-22.

- 100.** Aydur E, Dayanç M. Hipospadias. In Dayanç M. Güncel Çocuk Ürolojisi. 1. baskı. Ankara: Atlas Yay. 2004; 295-318.
- 101.** Baskin LS, Erol A, Li YW, Cunha GR. Anatomical studies of hypospadias. J Urol. 1998; 160: 1108-1115.
- 102.** Yucel S, Baskin LS. Identification of communicating branches among the dorsal, perineal and cavernous nerves of the penis. J Urol. 2003; 170: 153-158.
- 103.** Walsh PC, Retik AB, Vaugan ED, Wein AJ, Campbells Urology. Çeviri Anafarta MK, Yaman MÖ. Campbell Üroloji. Ankara: Güneş Kitapevi. 2005; 2285-2326.
- 104.** Baskin LS. Hypospadias and urethral development. J Urol. 2000; 163: 951-956.
- 105.** Sutherland RW, Wiener JS, Hicks JP et al. Androgen receptor gene mutations are rarely associated with isolated penile hypospadias. J Urol. 1996;156: 828-831.
- 106.** Holmes NM, Miller WL, Baskin LS. Lack of defects in androgen production in children with hypospadias. J Clin Endocrinol Metab. 2004; 89: 2811-2816.
- 107.** Silver R, Russell D. 5alpha-Reductase type 2 mutations are present in some boys with isolated hypospadias. J Urol. 1999; 162: 1142-1145.
- 108.** Mortlock DP, Innis JW. Mutation of HOXA13 in hand-foot-genital syndrome. Nat Genet. 1997; 15: 179-180.
- 109.** Donnemfeld AE, Schragger DS, Corson SL. Update on a family with handfoot-genital syndrome: hypospadias and urinary tract abnormalities in two boys from the fourth generation. Am J Med Genet. 1992; 44: 482-484.
- 110.** Fryns JP, Vogels A, Decock P, van den Berghe H. The hand-foot-genital syndrome: on the variable expression in affected males. Clin Genet. 1993; 43: 232-234.
- 111.** Chia SE. Endocrine disruptors and male reproductive function a short review. Int J Androl. 2000; 23: 45-46.
- 112.** North K, Golding J. A maternal vegetarian diet in pregnancy is associated with hypospadias. The ALSPAC Study Team. Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. BJU Int. 2000; 85: 107-13.
- 113.** Kristensen P, Irgens LM, Andersen A, Bye AS, Sundheim L. Birth defects among offspring of Norwegian farmers, 1967-1991. Epidemiology. 1997; 8: 537- 544.
- 114.** Weidner IS, Møller H, Jensen TK, Skakkebaek NE. Cryptorchidism and hypospadias in sons of gardeners and farmers. Environ Health Perspect. 1998; 106: 793-796.

- 115.** Brock JW, Melnyk LJ, Caudill SP, Needham LL, Bond AE. Serum levels of several organochlorine pesticides in farmers correspond with dietary exposure and local use history. *Toxicol Ind Health*. 1998; 14: 275-289.
- 116.** Sonawane BR. Chemical contaminants in human milk: an overview. *Environ Health Perspect*. 1995; 103: 197-205.
- 117.** Sharpe RM, Skakkebaek NE. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet*. 1993; 341: 1392-1395.
- 118.** Toppari J, Larsen JC, Christiansen P, et al. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ Health Perspect*. 1996; 104: 741-803.
- 119.** Palmer JR, Wise LA, Robboy SJ, et al. Hypospadias in sons of women exposed to diethylstilbestrol in utero. *Epidemiology*. 2005; 16: 583-586.
- 120.** Henderson B, Benton B, Cosgrove M, et al. Urogenital tract abnormalities in sons of women treated with diethylstilbestrol. *Pediatrics*. 1976; 58: 505-507.
- 121.** Tokuç R. Hipospadias. *Klinik Gelişim Üroloji Özel Sayısı*. 2008; 21; 20-23.
- 122.** Demokan E, Karabulut A. Hipospadias. In Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N (yazarlar). *Temel Üroloji*. Ankara: Güneş Kitabevi. 2007; 393-398.
- 123.** Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*. 1995; 267: 1456-1462.
- 124.** Nagata S, Golstein P. The Fas death factor. *Science*. 1995; 267: 1449-1456.
- 125.** Kledjian K, Kyprianou N. Anoikis induction by quinazoline based alfa-1 adrenoreceptor antagonists in prostate cancer cells: antagonistic effect of BCL-2. *J Urol*. 2003; 169: 1150-1156.
- 126.** Yin K, Liu Q, Zhu S, Yan G. Adenovirus-mediated siRNA inhibited survivin gene expression induces tumor cell apoptosis in nude mice. *Biosci Trends*. 2008; 2: 231-234.
- 127.** Behnia M, Robertson KA, Martin WJ. Lung infections: Role of apoptosis in host defense and pathogenesis of disease. *Chest*. 2000; 117: 1771-1777.
- 128.** Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 1972; 26: 239-257.
- 129.** Fox CK, Furtwaengler A, Nepomuceno RR, Martinez OM, Krams SM. Apoptotic pathways in primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis. *Liver*. 2001; 21: 272-279.
- 130.** Cotran RS, Kumar V, Collins T. Cell Injury and Cell Death. In Robbins Pathologic Basis of Disease. Philadelphia: WB Saunders. 1999; 18-25.

- 131.** Carlson BM. Human Embryology & Developmental Biology. 2nd ed. St. Louis: Mosby Inc. 1999; 148: 190- 222.
- 132.** Lodish H, Berk A, Ziporsky SL et al. The Dynamic Cell. In Molecular Cell Biology. 4th ed. New York, WH Freeman & Co, 2000.
- 133.** Wyllie AH, Duvall E. Cell death. In McGee JO'D, Issacson PG, Wright N, eds. Oxford Textbook of Pathology, vol 1. USA, Oxford University Press 1992: 142-147.
- 134.** Mountz JD, Zhou T. Apoptosis and Autoimmunity. In Koopman WJ ed. A Textbook of Rheumatology: Arthritis and Allied Conditions. Lippincott Williams & Wilkins 2001.
- 135.** Pole RJ, Qi BQ, Beasley SW. Patterns of apoptosis during degeneration of the pronephros and mesonephros. J Urol. 2002; 167: 269-271.
- 136.** Lewin B. Apoptosis. Genes VI. In Lewin B (ed). Chapter 36. New York: Oxford University Press; 1997: 1122-1129.
- 137.** Nagata S. Apoptosis by death factor. Cell. 1997; 88: 355-365.
- 138.** Perkins AS, Stern DF. Apoptosis. Cancer Principle and Practice of Oncology. In Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds). Philadelphia: Lippincott-Raven. 1997; 96-100.
- 139.** Kastan MB. Implications for cancer. Apoptosis. Cancer Principle and Practice of Oncology. Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA (ed). Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997; 131-3.
- 140.** Tahmatzopoulos A, Kyprianou N, Apopitotic impact of alfa-1 blockers on prostate cancer growth: a nyth or an inviting reality? The prostate. 2000; 59: 91-100.
- 141.** McDonnell TJ, Troncoso P, Brisbay SM et al. Expression of the protooncogene bcl-2 in the prostate and its association with emergence of androgen-independent prostate cancer. Cancer Res. 1992; 52: 6940-6944.
- 142.** Ovalı E. Apopitozis. Editör Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1. baskı, Ankara: Güneş Kitabevi. 1999; 195-203.
- 143.** Kılıçturgay K. Apopitoz ve lenfosit aracılığı ile sitoliz. Editör Kılıçturgay K. İmmünoloji. 3. baskı, İstanbul: Nobel & Güneş Kitabevi. 2003; 191-202.
- 144.** Brown TR. Male pseudohermaphroditism: defects in androgen-dependent target tissues. Sem. Reprod. Endocr. 1987; 5: 243.

- 145.** Gearhart JP, Linhard HR, Berkovitz GD, Jeffs RD, Brown TR. Androgen receptor levels and 5 α -reductase activities in preputial skin and chordee tissue of boys with isolated hypospadias. *J Urol.* 1988; 140: 1243-1246.
- 146.** Imperato-McGinley J, Guerrero L, Gautier T and Peterson RF. Steroid 5 α -reductase deficiency in man: an inherited form of male pseudohermaphroditism. *Science.* 1974; 186: 1213.
- 147.** Eriksson H, Gustafsson JA. Excretion of steroid hormones in adults. Steroids in urine from adults. *Clin Chim Acta.* 1972; 41: 79-90.
- 148.** Evain D, Savage NO and Binet E. A specific and rapid determination of human skin dihydrotestosterone cytosol receptor. *J Clin Endocr Metab.* 1977; 45: 363.
- 149.** Eil C, Crawford JD, Donahoe PK, Johnson-Baugh R, Loriaux DL. Fibroblast androgen receptors in patients with genitourinary anomalies. *J Androl.* 1984; 5: 313.
- 150.** Keenan BS, McNeel RL, Gonzales ET. Abnormality of intracellular 5 α -dihydrotestosterone binding in simple hypospadias: studies on equilibrium steroid binding in sonicates of genital skin fibroblasts. *Ped Res.* 1984; 18: 216.
- 151.** Svensson J and Snochowski M. Androgen receptor levels in preputial skin from boys with hypospadias. *J Clin Endocr Metab.* 1979; 49: 340.
- 152.** Bläuer M, Vaalasti A, Pauli SL, Ylikomi T, Joensuu T, Tuohimaa P. Location of androgen receptor in human skin. *J Invest Dermatol.* 1991; 97: 264-268.
- 153.** Wang MH, Baskin LS. Endocrine disruptors, genital development, and hypospadias. *J Androl.* 2008; 29: 499-505.
- 154.** Giwercman YL, Kleist KE, Giwercman A, Giwercman C, Toft G, Bonde JP, Pedersen HS. Remarkably low incidence of hypospadias in Greenland despite high exposure to endocrine disruptors; possible protective effect of androgen receptor genotype. *Pharmacogenet Genomics.* 2006; 16: 375-377.
- 155.** Celayir S, Eliçevik M, Tireli G, Dervisoğlu S, Sander S. Expression of estrogen and androgen receptors in children with hypospadias: preliminary report. *Arch Androl.* 2007; 53: 83-85.
- 156.** Kalloo NB, Gearhart JP, Barrack ER. Sexually dimorphic expression of estrogen receptors, but not of androgen receptors in human fetal external genitalia. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 77: 692-698.
- 157.** Roehrborn CG, Lange JL, George FW, Wilson JD. Changes in amount and intracellular distribution of androgen receptor in human foreskin as a function of age. *J Clin Invest.* 1987; 79: 44-47.

- 158.** Moore RJ, Gazak JM, Wilson JD. Regulation of cytoplasmic dihydrotestosterone binding in dog prostate by 17 beta-estradiol. *J Clin Invest.* 1979; 63: 351-357.
- 159.** Mäkelä S, Strauss L, Kuiper G, et al. Differential expression of estrogen receptors alpha and beta in adult rat accessory sex glands and lower urinary tract. *Mol Cell Endocrinol.* 2000;170: 219-229.
- 160.** Taylor AH, Al-Azzawi F. Immunolocalisation of estrogen receptor beta in human tissues. *J Mol Endocrinol.* 2000; 24: 145-155.
- 161.** Batra S, Bjellin L, Iosif S, Martensson L, Sjögren C. Effect of estrogen and progesterone on the blood flow in the lower urinary tract of the rabbit. *Acta Physiol Scand.* 1985; 123: 191-194.
- 162.** Jesmin S, Mowa CN, Matsuda N, Salah-Eldin AE, Togashi H, Sakuma I et al: Evidence for a potential role of estrogen in the penis: detection of estrogen receptor- α and $-\beta$ messenger ribonucleic acid and protein. *Endocrinology.* 2002; 143: 4764-4774.
- 163.** McAbee MD, DonCarlos LL. Estrogen, but not androgens, regulates androgen receptor messenger ribonucleic acid expression in the developing male rat forebrain. *Endocrinology.* 1999; 140: 3674-3681.
- 164.** Yucel S, Cavalcanti AG, Desouza A, Wang Z, Baskin LS. The effect of estrogen and testosterone on the urethral seam of the developing male mouse genital tubercle. *BJU Int.* 2003; 92: 1016-1021.
- 165.** Koff SA, Jayanthi VR. Preoperative treatment with human chorionic gonadotropin in infancy decreases the severity of proximal hypospadias and chordee. *J Urol.* 1999; 162: 1435-1439.
- 166.** Nerli RB, Koura A, Prabha V, Reddy M. Comparison of topical versus parenteral testosterone in children with microphallic hypospadias. *Pediatr Surg Int.* 2009; 25: 57-59.
- 167.** Gearhart JP, Jeffs RD. The use of parenteral testosterone therapy in genital reconstructive surgery. *J Urol.* 1987; 138: 1077-1078.
- 168.** Singh BP, Solanki FS, Kapoor R, Dassi V, Kaswan HK, Agrawal V, Swain SK, Andankar MG, Pathak HR. Factors predicting success in hypospadias repair using preputial flap with limited pedicle mobilization (Asopa procedure). *Urology.* 2010; 76: 92-96.
- 169.** van der Werff JF, Nievelstein RA, Brands E, Luijsterburg AJ, Vermeij-Keers C. Normal development of the male anterior urethra. *Teratology.* 2000; 61: 172-183.
- 170.** Shabsigh R, Raymond JF, Olsson CA, O'Toole K, Buttyan R. Androgen induction of DNA synthesis in the rat penis. *Urology.* 1998; 52: 723-728.