

Çocukların ürogenital sisteminde androjen, östrojen ve progesteron hormon reseptörlerinin mevcudiyeti: Hedef üreteropelvik bileşke

Serdar MORALIOĞLU*, Ayşenur CERRAH CELAYİR*, Handan ÇETİNER**, Gözde KIR***, Sinan CELAYİR****

*Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Cerrahisi Kliniği, İstanbul

**Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, İstanbul

***Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, İstanbul

****İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul

Öz

Amaç: Ureteropelvik bileşke (UPJ) bölgesinde androjen, östrojen ve progesteron hormon reseptörlerinin varlığı daha önce araştırılmamıştır. Bu çalışmada, UPJ bölgesinde bu 3 hormon reseptör yapılanmasının araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışma Ocak 2013 ile Ocak 2014 arasında prospektif olarak yapıldı. UPJ darlığı nedeniyle opere edilen hastalardan alınan biyopsi materyalleri kullanıldı. UPJ darlık bölgesinden (Grup 1, n:12) ve beraberinde eksize edilen renal pelvis bölgesinden (Grup 2, n:9) alınan biyopsiler androjen, östrojen ve progesteron reseptörlerinin varlığı açısından avidin-biotin horseradish peroksidaz tekniği ile incelendi. Her bir hormon reseptörü için reaksiyonlar nükleer boyanmanın varlığında pozitif, yokluğunda ise negatif olarak değerlendirildi.

Bulgular: Bir yıllık sürede UPJ darlığı nedeniyle 8 erkek 4 kız çocuk ameliyat edildi. Ortalama yaş 2.3 yıl (1 ay-7 yıl) idi. Grup 1'de UPJ darlık bölgesinde progesteron reseptörleri tüm olgularda negatif idi. Androjen reseptörleri 2 olguda östrojen reseptörleri ise 1 olguda pozitif bulundu. Grup 2'de renal pelvis bölgesinde 6 olguda progesteron, 2 olguda östrojen ve 8 olguda da androjen reseptörü pozitif bulundu.

Sonuç: Ürogenital sistem çok zengin bir seks hormon reseptörü ağına sahiptir ve bu çalışmadaki immünohistokimyasal yöntem ile ortaya çıkan sonuçlara göre UPJ ve komşuluğundaki renal pelvis bölgesi de bu hormonların hedeflerinden birini oluşturmaktadır. Bu sonuçlar UPJ darlığı üzerinde reseptör ve hormon etkisinin ne düzeyde etkili olduğu sorusuna yanıt olmasa ve bu konuda ileri çalışmalara gereksinim olsa da, bu çalışma hidronefrozu olan çocuklarda renal pelvis ve üreteropelvik bileşke bölgesinde östrojen, androjen ve progesteron reseptörlerinin varlığının çalışılması ve bu bölgede seks hormon reseptörlerinin varlığının gösterilmesi açısından önemlidir.

Anahtar kelimeler: UPJ darlık, hormon, reseptör, östrojen, androjen, progesteron

Alındığı tarih: 02.03.2016

Kabul tarihi: 02.05.2016

Yazışma adresi: Uzm. Dr. Serdar Moralioglu, Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Cerrahisi Kliniği, Üsküdar 34668 İstanbul

e-mail: serdarmoralioglu@gmail.com

Abstract

Expression of androgen, estrogen and progesterone hormone receptors in the urogenital system of children: Target ureteropelvic junction

Aim: The existence of androgen, estrogen and progesterone hormone receptors in the ureteropelvic junction (UPJ) has not been investigated previously. This study aims to investigate the expression of these 3 hormone receptors in UPJ region.

Material and Methods: This prospectively designed study was done between January 2013 and January 2014. Biopsy specimens of the children operated due to UPJ obstruction were used. All specimens were obtained during the operation from obstruction area of UPJ (Group 1, n=12) and concurrently excised renal pelvic region (Group 2, n=9). The presence of androgen, estrogen and progesterone hormones receptors were investigated with avidin-biotin horseradish peroxidase technique in biopsy materials excised. Reactions were interpreted as positive, and negative based on the presence and absence of nuclear staining for each receptor.

Results: Eight male and 4 female children with UPJ obstruction were operated during one-year period. The mean age was 2.3 years (1 month - 7 years). Progesterone hormone receptors were found to be negative in all specimens excised from obstructed UPJ region. Androgen (n=2), and estrogen (n=1) receptor positivities were detected in indicated number of biopsy specimens. In Group 2 progesterone, estrogen, and androgen positivities were found in renal pelvic biopsy specimens of 6, 2, and 8 cases, respectively.

Conclusion: The urogenital system has a very rich network of sex hormone receptors and according to the analytical results of our immune histochemical the UPJ and adjacent pelvic region are target regions of these hormones. However, these results do not provide responses for the role of receptor-hormone effects on the area of UPJ obstruction and further studies are necessary for the clarification of this issue. This study is important in that it investigated androgen, estrogen and progesterone hormone receptors in the renal pelvis and the UPJ region, and demonstrated the presence of sex hormones in this region in children with hydronephrosis.

Keywords: UPJ Obstruction, hormone, receptor, estrogen, androgen, progesterone

Giriş

Ürogenital sistem gelişiminde androjen, östrojen ve progesteron hormonlarının ve reseptörlerinin rolleri halen araştırma ve tartışma konusudur. Sünnet derisi, penil dokular, hipospadias olgularının penil dokuları ve mesanede seks hormon reseptörlerinin dağılımı üzerine yapılmış az sayıda çalışma mevcuttur ⁽¹⁻⁶⁾; ancak renal pelvis, üreteropelvik bileşke ve üreterde hormon reseptör yapılanması konusunda henüz yayınlanmış bir çalışma yoktur.

Literatürde renal pelvis, üreteropelvik bileşke (UPJ) veya üreterde androjen, östrojen ve progesteron hormon reseptörlerinin varlığı ile ilgili yeterince çalışma olmaması nedeniyle bu çalışmanın yapılması planlandı. Çalışmamızda, UPJ darlığı nedeniyle opere edilen olguların eksize edilen materyal örneklemelerinin seks hormon reseptörleri açısından incelenmesi ve bu ön inceleme sonuçlarına göre renal pelvis, UPJ bölgesi ve üreterde hormon reseptör yapılanması ve bunların olası etkileri konusunda bir öngörü oluşturulması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Hastanemizin Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 12.10.2012 tarih 30 numaralı onayı sonrası, Ocak 2013 ile Ocak 2014 arasındaki bir yıllık sürede kliniğimizde UPJ darlığı nedeniyle piyeloplasti ameliyatı yapılan olguların darlık bölgesi eksizyonu ve renal pelvis redüksiyonu yapılmış olguların doku parçalarından çalışmamız için biyopsi örnekleri hazırlandı. Hastaların hepsinde ağır hidronefroz ile beraber anlamlı fonksiyon ve/veya parankim kaybı mevcuttu. UPJ bölgesi (Grup 1) ve ona komşu renal pelvis redüksiyonu yapılan materyalden (Grup 2) incelenmek üzere 3x3 mm boyutunda biyopsi örnekleri alındı. Her biyopsi örneği üçer parçaya ayrıldı; her bir parça ayrı ayrı androjen, östrojen ve progesteron hormon reseptörlerinin varlığı açısından, immünohistokimyasal olarak avidin-biotin horseradish peroksidaz tekniği ile boyandı ve sonrasında ışık mikroskopu altında incelendi. Ayrıca Grup 2'deki pelvik redüksiyon materyallerinde hematoksilen-eozin boyama ile fibrozis açısından değerlendirme yapıldı. Grup 1 ve Grup 2'ye ait seks hormon reseptörlerinin üreteropelvik bileşke darlık bölgesi ve renal pelvisteki dağılımları ve hastaların demografik özellikleri değerlendirildi.

Androjen, östrojen ve progesteron reseptör ekspresyonu, avidin-biotin horseradish peroksidaz tekniği kullanılarak gösterildi (Östrojen reseptör (SP1) (DACO), Progesteron reseptör (SP2) (DACO), Androjen (SP107) (Cell Marque) antikoları ⁽⁷⁾). Beş mikron kalınlığındaki kesitlere, alkolde deparafinizasyon, dehidratasyon işlemlerinden sonra endojen peroksiti bloke etmek için metanol içerisinde %2 hidrojen peroksit ile muamele edildi. Kesitlere 850 Watt ev tipi mikrodalga fırında, 0,01M sitrat bafır (Ph 6.0) içinde 5 dk. önışlem uygulandı. Kesitler normal at serumu ile (Vector laboratories, Burlingham, CA, USA) 30 dk. inkübe edildikten sonra primer antikolarla bir gece, 4°C'de inkübe edildi. Ertesi gün kesitler; 20 mM fosfat bafırlı salinde yıkandı ve sonra 1:200 biotin ile at antifare sekonder antikolarla 30 dk. inkübe edildi. Yıkama basamağından sonra kesitler avidin-biotin peroksit complex ELİTE system (Vector Laboratories Inc., Burlingham, Ca, USA) ile 30 dk. ve ondan hemen sonra 3.3-diaminobenzidin (Vector Laboratories Inc., Burlingham, Ca, USA) ile 10 dk. inkübe edildi. Kesitler musluk suyu ile yıkayıp, hematoksilen ile zıt boyama yapıldı, dereceli alkollerde dehidrate edildikten sonra ksilen ile berraklaştırıldı. Kesitler ışık mikroskopunda incelendi. Androjen, östrojen ve progesteron reseptörleri nükleer boyanma olduğunda pozitif, olmadığında ise negatif olarak kabul edildi. Preparatların androjen, östrojen ve progesteron miyarları ile immünohistokimyasal reaksiyonu sonucunda reseptör mevcut olan hücrelerde nükleuslar kahverengi renkte boyanmıştır.

Bulgular

Çalışma süresi bir yıl olup, incelemeler bu süre içinde üreteropelvik bileşke darlığı nedeniyle piyeloplasti yapılan olgulara ait eksizyon materyallerinden alınan materyallerde gerçekleştirildi. Çalışmaya dahil edilen toplam 12 olgunun (8 erkek, 4 kız) yaş ortalaması 2.3 yıl (1 ay - 7 yaş) idi. İki olguda sağ çift toplayıcı sistemde alt pol UPJ darlığı mevcut iken, 10 olguda sol UPJ darlığı mevcuttu.

UPJ darlık bölgesi (Grup 1, n:12) ve ona komşu renal pelvis redüksiyonu yapılan materyalden (Grup 2, n:9) incelenmek üzere hazırlanan biyopsi örnekleri yukarıda tarif edilen yöntemle boyandı.

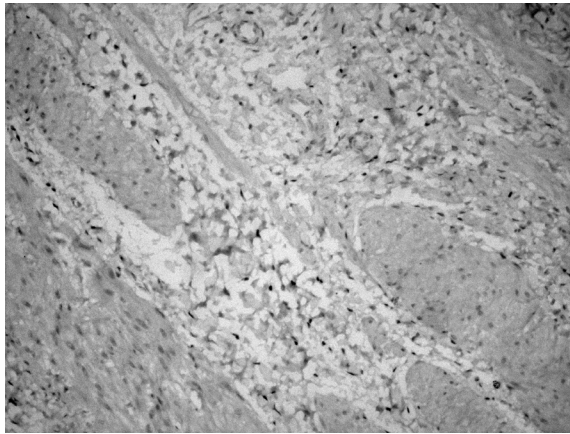
Grup 1: Üreteropelvik bileşke bölgesi materya-

li küçük olduğu için bu bölgeden hazırlanan üçer doku parçasında yalnızca seks hormon reseptörleri açısından immünohistokimyasal değerlendirme yapıldı, hematoksilin-eozin boyama ile fibrozis varlığı açısından histopatolojik değerlendirme yapılmadı. UPJ darlık bölgesinde androjen reseptörlerinin, biri kız diğeri erkek olmak üzere yalnızca 2 olguda pozitif olduğu saptandı. Östrojen reseptörü ise yalnızca 1 kız olguda hafif pozitif bulundu. Progesteron reseptörleri tüm olgularda negatifti.

Grup 2: Redüksiyon yapılan pelvis bölgesi biyopsi örneklerinden yapılan immünohistokimyasal değerlendirmede, 8 olguda da androjen reseptörü pozitif bulundu. İki kız olguda östrojen reseptörü pozitif bulundu, diğer 7 olguda östrojen reseptörleri negatifti. Dokuz olgudan 6'sında (2 kız, 4 erkek) progesteron reseptörleri pozitif bulundu. Renal pelvis redüksiyon

Tablo 1. Olguların demografik özellikleri ve immünohistokimyasal inceleme sonuçları tabloda görülmektedir. ER: Östrojen reseptörü, PR: Progesteron reseptörü, AR: Androjen reseptörü. K: Kız, E: Erkek.

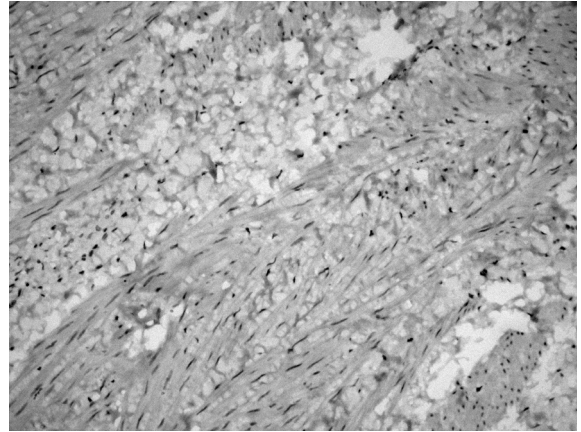
No	Yaş (ay)/Cinsiyet	Grup 1			Grup 2		
		ER	PR	AR	ER	PR	AR
1	12 ay/K	-	-	-	-	-	+
2	84 ay/E	-	-	-	-	+	+
3	21 ay/E	-	-	-	-	+	-
4	24 ay/E	-	-	-	-	-	+
5	18 ay/E	-	-	-	-	-	+
6	1 ay/E	-	-	-	-	+	+
7	60 ay/K	-	-	-	+	+	+
8	18 ay/E	-	-	-	-	+	+
9	72 ay/K	+/-	-	-	+	+	+
10	1 ay/E	-	-	-	-	-	-
11	6 ay/E	-	-	+	-	-	-
12	12 ay/K	-	-	+	-	-	-



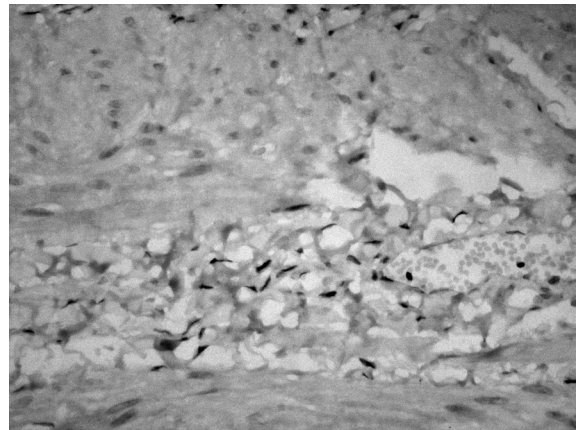
Resim 1. Avidin-biotin horseradish peroksidaz tekniği ile androjen reseptörleri pozitif nükleuslu biyopsi örneklemeinde nükleuslar kahverengi boyanmıştır (x100).

materyallerinden aynı zamanda hematoksilin-eozin boyaması yapıldı ve tüm materyallerde değişik derecelerde fibrozis, kanama odakları ve doku ödemi olduğu saptandı.

Hastaların demografik özellikleri, üreteropelvik bölgeden ve pelvis redüksiyon bölgesinden alınan biyopsi örneklerinde yapılan immünohistokimyasal inceleme sonuçlarına göre hormon reseptörlerinin dağılımı Tablo 1'de özetlenmiştir. Hazırlanan biyopsi materyallerinde immünohistokimyasal reaksiyon sonucu androjen, östrojen ve progesteron reseptörleri pozitif olanlarda nükleuslar kahverengi renkte boyanmıştır. Avidin-biotin horseradish peroksidaz tekniği ile androjen reseptörleri pozitif nükleuslu biyopsi örnekleme fotoğrafı Resim 1'de; östrojen reseptörleri pozitif nükleuslu biyopsi örnekleme fotoğrafı Resim 2'de; progesteron reseptörleri pozitif nükleuslu bi-



Resim 2. Avidin-biotin horseradish peroksidaz tekniği ile östrojen reseptörleri pozitif nükleuslu biyopsi örneklemeinde nükleuslar kahverengi boyanmıştır (x100).



Resim 3. Avidin-biotin horseradish peroksidaz tekniği ile progesteron reseptörleri pozitif nükleuslu biyopsi örneklemeinde nükleuslar kahverengi boyanmıştır (x1000).

yopsi örnekleme fotoğrafı Resim 3'te görülmektedir (Resim 1, 2, 3).

Tartışma

Ürogenital sistemin gerek prenatal gerekse postnatal gelişimi sırasında steroid hormonlara gereksinimi vardır. Bu grupta yer alan androgen, östrojen ve progesteron hormonları, bu gelişim süreçlerinde reseptörler aracılığıyla etkin olmaktadır (2,8,9). Cinsiyet hormonları cinsiyet farklılaşması yanı sıra ürogenital sistemde birçok önemli fonksiyonun gerçekleşmesinde de rol almaktadır. Özellikle işemenin düzenlenmesi ve kontrolü beyin farklı bölgeleri, mesane, üretra ve pelvik tabanda bulunan hormon reseptörleri aracılığıyla olmaktadır (9,10). Bu nedenle bu bölgelerdeki hormon reseptör yapılanmasının tanımlanması önemlidir. Ancak literatürde, UPJ bölgesinde androjen, östrojen ve progesteron hormon reseptörlerinin varlığı ile ilgili bir bilgi veya hipotez yoktur. Normal sağlıklı olgularda cerrahi operasyon yapılması olası olamayacağı için ve yine aynı şekilde UPJ darlığı nedeniyle gelişen hidronefrozu takip edilen olgularda da bu çalışmayı yapmak olası olmayacağı için bu çalışmanın üreteropelvik bileşke darlığı nedeniyle hidronefrozu olan ve ameliyat endikasyonu konulan olgularda yapılması planlanmıştır. Ameliyat endikasyonu konulan üreteropelvik bileşke darlıklı olguların materyallerinden yapılan bu ön inceleme ile renal pelvis ve üreteropelvik bileşke bölgesinde hormon reseptörlerinin yapılanması ve bunların etkileri konularında bir öngörü oluşturulması amaçlanmıştır. Her ne kadar normal yapılı üreteropelvik bileşkenin seks hormon reseptörleri açısından immünohistokimyasal sonuçları bilinmese de, ameliyatla eksize edilmiş patolojik bölgelerde seks hormon reseptör yapılanmasının var olup olmadığının ortaya konulması, bu bölge ile ilgili patolojilerin gelişiminde seks hormon reseptörlerinin bir etkisi olup olmadığı konusunda öngörüde bulunmamızı sağlayabilir. Dolayısıyla bu çalışmanın, UPJ darlığı nedeniyle opere edilen olguların eksizyon materyallerinde hormon reseptör yapılanması varlığı açısından bir ön bilgi verebileceği düşünüldü.

Literatürde yapılan pek çok çalışmada UPJ darlıklı olguların incelenen piyeslerinde darlık bölgesinde daha fazla olmak üzere biyopsi materyallerinde yoğun fibrozis olduğu gösterilmiştir (11,12). Üreteropelvik bileşkenin doğal yapısında lamina propria-

nın özellikle derin kısımlarında, organ kasıldığında kalın mukozal kıvrımlar oluşabilmesine elverecek şekilde bağ dokusu oldukça gevşektir (13). Ancak kronik inflamasyon gibi anormal uyaranlar sonucu dokunun hasar görmesi sonucu bu hasar kollajen birikimi ile karakterize fibrozis ile sonuçlanabilir. Fibrozis; doku tamir mekanizması olmakla birlikte, geliştiği yere, organa göre önemli fonksiyon ve yapı bozukluklarına yol açabilir (14). Bizim olgularımızda da izlenen fibrozis; fonksiyon ve yapı değişiklikleri ile birlikte reseptör durumundaki farklılardan da sorumlu olabilir. Çalışmamızda, üreteropelvik bölge küçük ve dar olması sebebiyle eksizyon materyali yalnızca immünohistokimyasal değerlendirmeye tabii tutulmuştur. Ancak, olgularımızın immünohistokimyasal değerlendirme için ayrılan örneklemelerden arta kalan pelvik redüksiyon materyallerinden hematoksilen-eozin ile yapılan boyamalarda, değişik derecelerde fibrozis olduğu gösterilmiştir. Üreteropelvik darlık bölgesinden yapılan biyopsi örneklemelerinden yalnızca ikisinde androjen reseptörünün pozitif ve yalnızca birinde östrojen reseptörünün hafif pozitif bulunmasına karşın; üreteropelvik darlık bölgesine hemen komşu renal pelvis materyallerindeki örneklemelerde 8 olguda androjen reseptörü, 6'sında progesteron reseptörü ve 2'sinde de östrojen reseptörü pozitif bulundu. Çalışmamızda, üreteropelvik bileşke darlık bölgesinde seks hormon reseptörlerinin negatif çıkmasının olası bir nedeninin, pelvis bölgesinde saptanan fibrozisin darlık bölgesinde daha yoğun olabileceği ve bunun sonucunda da reseptör yapılanmasının etkilenmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Renal pelvis bölgesinde progesteron reseptörlerinin pozitif, buna karşın üreteropelvik bileşke darlık bölgesinde negatif olmasının nedenlerinin edinsel veya konjenital olduğunun bilinmesi durumunda her iki ihtimalde de farklı neden sonuç ilişkilerine ve öngörülere ulaşılabilecektir. Kadınlarda gebelik döneminde gelişen hidronefrozların progesteron hormon düzeyleri ile ilişkisi sorgulanmıştır (15), ancak bu konuda erişkin kadınların üriner sistemlerinde reseptör yapılanması ile ilgili bir çalışma yapılmamıştır. Annede gebelik süresinde gebelik hormonları etkisiyle geçici hidronefroz oluşması, bebeklerde de bu bölgelerdeki hormon reseptörlerinin etkilenmesi ile benzer şekilde hidronefroz tablosu oluşturabileceği olasılığını akla getirmektedir. Özellikle bebek-

lerde görülebilen erken dönem geçici hidronefrozlarda reseptör hormon ilişkilerinin sorgulanması ile hormonların hidronefroz oluşumu ve seyri üzerine etkileri ortaya konulabilir. Antenatal tanı alan hidronefrozların birçoğunun prenatal dönemde veya erken postnatal dönemlerde gerilediği bilinmektedir (16). Prenatal dönemde renal pelvis ve üreteropelvik bileşkenin doğal reseptör yapılanmasının ortaya konulması, hidronefroz gelişim etiyojisini aydınlatılabilmek ve hidronefrozun seyri ile ilgili süreçlerde öngörü yapılabilmesini sağlayabilecektir. Ancak gerek prenatal dönem, gerekse postnatal dönemlerdeki üreteropelvik bölge ve renal pelvis biyopsi örneklemelerinin sağlıklı insan dokularında çalışmak olası olmayacağı için; postmortem yenidoğan dokularında veya hayvan dokularında planlanmış benzer ilave deneysel ve klinik çalışmalar bu bölge reseptör yapılanmalarının aydınlatılmasında yol gösterici olabilir. Prenatal ve/veya postnatal dönemlerde normal yapılı veya hidronefrotik yapılı üreter sistem örneklerinde hormon reseptör yapılanmasında yaşam dönemlerine göre farklılıklar gösterebileceği için; abortus materyallerinde veya neonatal erken dönem postmortem dokularında reseptör yapılanmasının ortaya konulması gerekmektedir, bu nedenle birbirinden bağımsız ve birbirini tamamlayıcı çalışmalara gereksinim vardır.

Çalışmamızda, sınırlı sayıda materyalde çalışılması nedeniyle erkek ve dişilerde hormon reseptör yapılanmasının cinsiyet özgüllüğü konusu tam aydınlatılamamıştır. Dişilerde androjen reseptörleri, erkeklerde progesteron reseptörleri saptanmıştır, ancak erkek olgularda östrojen reseptörleri saptanmamıştır. Ürogenital sistemde yapılan çalışmalarda bu reseptör yapılanmasının cinsiyete özgü olup olmadığı konusuna açıklık getirebilmek için gerek denek gerekse biyopsi örneklemeye sayısının artırılması gerekmektedir. Çalışmamızda kısıtlı sayıdaki olgu ve materyal örnekleme, bu bölgede reseptör yapılanmasının cinsiyete özgü olup olmadığı yönünde kesin bir yorum yapmak için yeterli olmamıştır.

Dokulardaki seks hormon reseptörlerini belirlemek amacıyla çalışmamızda kullanılan avidin-biotin horseradish peroksidaz tekniği ile immünohistokimyasal inceleme; androjen, östrojen ve progesteron açısından bilinen klasik reseptörlerin tespitine yöneliktir; ancak östrojen reseptörlerinin Beta1, Beta2 gibi alt

gruplarını gösterememektedir. Östrojen reseptörü alt gruplarının “fonksiyonel” olarak tanımlanması nedeniyle (17-19) östrojen reseptörlerinin alt gruplarının üreteropelvik bölge dokularında dağılımlarının gösterilmesi bu bölge obstrüksiyonlarının kalıcı, geçici ya da ilerleyici olması durumlarına açıklık getirebilir.

Sonuç olarak, bu çalışma her ne kadar üreteropelvik bileşke darlığının bir reseptör eksikliği, yokluğu ya da bir reseptör hormon denge kusuru sonucunda mı geliştiği konusuna kesin bir açıklık getiremese de, önemi hidronefrozlu çocuklarda renal pelvis ve üreteropelvik bileşke bölgesinde androjen, östrojen ve progesteron reseptörlerinin varlığının çalışılması ve ilk kez gösterilmesidir. Ayrıca çalışmamızın sonuçları, UPJ darlığı ve hidronefroz etiopatogenezinde seks hormon reseptörlerinin rolünün aydınlatılmasına yönelik planlanacak araştırmalara öncülük edebilir.

Kaynaklar

1. Celayir S, Celayir A, Moraloğlu S, et al. Expression of androgen, estrogen and progesterone hormone receptors in the urogenital track of children: target preputium. *Çocuk Cerrahisi Dergisi* 2015;29(2):62-66. <http://dx.doi.org/10.5222/jtaps.2015.062>
2. 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(4):1815-1824. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2002-021085>
3. Celayir S, Eliçevik M, Tireli G, et al. Expression of estrogen and androgen receptors in children with hypospadias: preliminary report. *Arch Androl* 2007;53(2):83-85. <http://dx.doi.org/10.1080/01485010601166862>
4. Agrad K, Shiroyanagi Y, Baskin LS. Progesterone receptors in the developing genital tubercle: implications for the endocrine disruptor hypothesis as the etiology of hypospadias. *J Urol* 2007;178(2):722-727. <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2007.03.110>
5. Celayir S. Is there a “bladder sex”? The relation of different sex hormones and sex hormone receptors in bladder in childhood. *Med Hypotheses* 2002;59(2):186-190. [http://dx.doi.org/10.1016/S0306-9877\(02\)00245-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0306-9877(02)00245-1)
6. Celayir S, İlçe Z, Dervisoglu S. The sex hormone receptors in bladder in childhood-I: preliminary report in male subjects. *Eur J Pediatr Surg* 2002;12(5):312-317. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2002-35951>
7. Bratthauer GL. The avidin-biotin complex (ABC) method and other avidin-biotin binding methods. *Methods Mol Biol* 2010;588:257-270. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-324-0_26
8. Falkenstein E, Tillmann HC, Christ M, et al. Multiple actions of steroid hormones—a focus on rapid, nongenomic effects. *Pharmacol Rev* 2000;52(4):513-556.
9. Hughes IA. Minireview: sex differentiation. *Endocri-*

- nology 2001;142(8):3281-3287.
<http://dx.doi.org/10.1210/endo.142.8.8406>
10. Hextall A. Oestrogens and lower urinary tract function. *Maturitas* 2000;36(2):83-92.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5122\(00\)00143-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5122(00)00143-2)
 11. Hanna MK, Jeffs RD, Sturgess JM, et al. Ureteral structure and ultrastructure. Part II. Congenital ureteropelvic junction obstruction and primary obstructive megaureter. *J Urol* 1976;116(6):725-730.
 12. Gosling JA, Dixon JS. Functional obstruction of the ureter and renal pelvis. A histological and electron microscopic study. *Br J Urol* 1978;50(3):145-152.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1464-410X.1978.tb02790.x>
 13. Reuter VE, Al-Ahmadie H, Tickoo SK. Urinary Bladder, Ureter and Renal Pelvis, in Mills SE (eds): *Histology for Pathologists* 4th ed, Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2012, pp:971-985.
 14. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, et al. Tissue Renewal, Regeneration, and Repair, in Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC (eds): *Robbins and Cotran Pathologic Basis Of Disease* 8th ed, Philadelphia, Saunders Elsevier, 2010, pp: 107-109.
 15. Ishihara K, Ooike S, Sakiyama T, et al. Hydronephrosis in pregnancy and its etiology. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1987;39(2):241-248.
 16. Yamaçake KG, Nguyen HT. Current management of antenatal hydronephrosis. *Pediatr Nephrol* 2013; 28(2):237-243.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00467-012-2240-7>
 17. Kuiper GG, Shughrue PJ, Merchenthaler I, et al. The estrogen receptor beta subtype: a novel mediator of estrogen action in neuroendocrine systems. *Front Neuroendocrinol* 1998;19(4):253-286.
<http://dx.doi.org/10.1006/frne.1998.0170>
 18. Böttner M, Thelen P, Jarry H. Estrogen receptor beta: tissue distribution and the still largely enigmatic physiological function. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014; 139:245-251.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.03.003>
 19. Matthews J, Gustafsson JA. Estrogen signaling: a subtle balance between ER alpha and ER beta. *Mol Interv* 2003;3(5):281-292.
<http://dx.doi.org/10.1124/mi.3.5.281>