



**T.C.  
TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**FİMOZİS İLE ADAMTS1 ve 5 PROTEİNAZLARIN  
İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Halise BABAYİĞİT AKPINAR**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Vedat BAKAN**

**Ankara-2014**





**T.C.  
TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**FİMOZİS İLE ADAMTS1 ve 5 PROTEİNAZLARIN  
İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Halise BABAYİĞİT AKPINAR**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Vedat BAKAN**

**Ankara-2014**

## **Bilimsel Etik Bildirim Sayfası**

Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı beyan ederim.

...../...../.....

İmza

Halise BABAYİĞİT AKPINAR

## Jüri Üyeleri Onay Sayfası

### ONAY

Halise Babayiğit Akpınar tarafından hazırlanan "Fimozis ile ADAMTS1 ve 5 Proteinazların İlişkinin Araştırılması" başlıklı bu çalışma, ..... tarihinde yapılan 2. savunma sınavı sonucunda **OYBİRLİĞİ/OYÇOKLUĞU** ile **BAŞARILI/BAŞARISIZ** bulunarak jürimiz tarafından Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalında Uzmanlık tezi olarak kabul **EDİLMİŞTİR/EDİLMEMİŞTİR.**

.....  
.....  
.....

## ÖNSÖZ

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi ABD’da 2009 yılında ihtisasıma başladığım ilk günden itibaren dört yıl boyunca benden destek, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyerek Çocuk Cerrahisi Uzmanı olarak yetişmemde büyük katkıları olan saygıdeğer hocalarım; Prof. Dr. Hüseyin DİNDAR, Prof. Dr. E. Aydın YAĞMURLU, Prof. Dr. Tanju AKTUĞ, Prof. Dr. Murat ÇAKMAK, Prof. Dr. Meltem BİNGÖL KOLOĞLU’na,

İhtisasımın geri kalan son bir yılında kendilerinden eğitim aldığım Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi ABD Başkanı tez danışmanım saygıdeğer hocam Doç. Dr. Vedat BAKAN’a,

Tez çalışmamda laboratuvarının tüm imkanlarını kullanmama fırsat veren, bilgi, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD Başkanı saygıdeğer hocam Doç. Dr. Kadir DEMİRCAN’a ve laboratuvardaki destekçilerim; Zehra FIRAT, Selda GÖKŞEN, Ayşegül UYGUR ve Büşra AYNEKİN’e,

Tezimin yazım ve düzenlenme aşamasında bilgi, tecrübe ve özverisini esirgemedi bana her türlü desteği veren Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji ABD Başkanı saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ersin Çimentepe’ye,

Tezimin istatistik çalışmaları aşamasında bilgi ve tecrübesini esirgemeyen Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı ABD Başkanı saygıdeğer hocam Doç. Dr. Mehmet KAYA’ya,

Ankara Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hematoloji Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nde rotasyon eğitimimde bulunduğum süreçte destek, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım çok kıymetli saygıdeğer hocam; Doç. Dr. Emrah ŞENEL’e,

Benim bugünlere gelmemi sağlayan, zor ve meşakkatli eğitim yıllarımda maddi ve manevi olarak sevgi, sabır ve anlayışla her daim yanımda olan canım aileme, kardeşlerime ve bilhassa adını anmaktan gurur ve kıvanç duyduğum rahmetli babam Nezir BABAYİĞİT’e ve emeğini asla ödeyemeyeceğim annem Azize BABAYİĞİT’e ve kıymetli oğlum Atahan Salih AKPINAR’a,

Sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım

Dr. Halise BABAYİĞİT AKPINAR

## ÖZET

[AKPINAR BABAYİĞİT, Halise]. [Fimozis ile ADAMTS1 ve 5 Proteinazların İlişkisinin Araştırılması], [Uzmanlık Tezi], Ankara [2014].

**Amaç:** Fimozis; glans penis ile prepsiyum arasındaki yapışıklıklara bağlı olarak prepsiyumun geri itilememesi durumudur. Fimozis tanısını koyarken geri itilememesi yanında prepsiyum orifis çapının 5 mm'den dar olması ve miksiyon esnasında prepsiyumun balonlaşması tanı için anlamlıdır. ADAMTS proteinazlar birçok hastalığın patolojisinde rol oynamaktadır. İlk olarak 1997 yılında Kuno ve arkadaşları tarafından kolon kanserinde, inflamasyonla ilişkili olarak tanımlanmış, hatta embriyolojik dönemde de sentezlenen ADAMTS'ler doku yeniden yapılanması, pıhtılaşma, anjiyogenez ve ovulasyon gibi birçok fizyolojik olayda rol aldığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, şiddetli fimozis olguları (Grup A) ile normal sünnet derisine sahip vakaların karşılaştırması yapılmıştır. Enflamasyon ve fibrozisde rol oynayan ADAMTS1 ve ADAMTS5 bu çalışma için seçilerek, fimozisin ADAMTS proteinazlar ile ilişkisi araştırılmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Aralık 2013 (28.11.2014-99950669/353 tarih ve sayılı etik kurul izni ile) - Mart 2014 tarihleri arasında Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde sünnet işlemi yapılan 4 ay ile 7 yaş ( $5,2\pm 2,3$ ) arasındaki 18 çocuk hasta çalışmaya alınmıştır. Çalışma iki grup halinde yürütülmüştür; Fimozis Grubu: Prepsiyumu retrakte edilemeyen, işerken idrar birikimine bağlı balonlaşma olan hastalar ( $3,7\pm 2,8$ ), Kontrol Grubu: Fimozisi olmayan olgular ( $6,4\pm 0,7$ ). Sünnet derileri (dış prepsiyum) cerrahi olarak ailenin imzalı onayı ile alındıktan sonra, -80 derecede saklanma koşulları yerine getirilerek laboratuvara transportu sonrasında Western Blot yöntemi ile ADAMTS proteinazlarla ilişkisi çalışılmış ve sonuçlar Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi ( $p < 0.05$  anlamlı kabul edilmiştir).

**Bulgular:** ADAMTS1/AKTİN değerleri; Fimozis grubunda;  $0,08\pm 0,04$ , Kontrol grubunda;  $0,07\pm 0,05$ , bulundu. ADAMTS5/AKTİN değerleri; Fimozis grubunda;  $0,76\pm 0,21$ , Kontrol grubunda;  $0,74\pm 0,47$  bulundu. ADAMTS1/AKTİN için  $p > 0.05$  ve ADAMTS5/AKTİN için  $p > 0.05$  olduğundan istatistiksel olarak anlamlı değildi.

**Sonuç:** Fimozis grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ADAMTS1/AKTİN ve ADAMTS5/AKTİN oranları daha yüksek bulunmakla birlikte, gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

**Anahtar Kelimeler:** Fimozis, sünnet, enflamasyon, fibrozis (skar), ADAMTS1, 5





## ABSTRACT

[AKPINAR BABAYİĞİT, Halise]. [Investigation of causation of ADAMTS1 ve 5 proteinases with Phimosis], [Dissertation], Ankara [2014].

**Purpose:** Phimosis is an event by that withdrawal of prepuce is not enough because of adhesions between penis and prepuce. In addition to inability of prepuce withdrawal, prepisium orifice radius narrower than 5 mm and swelling of prepisium during miction are meaningful for diagnosis of phimosis. ADAMTS proteinases have a role in pathology of many diseases. In 1997, it is defined by Kuno et al. that proteinases are related with inflammation by colon cancer, even it is shown that ADAMTS synthesized in embryological period play role in regeneration of tissues, coagulation, angiogenesis and ovulation. In this study, we compared cases which are healthy and suffering from severe phimosis (Group A). To investigate the correlation phimosis with ADAMTS proteinases, ADAMTS1 and ADAMTS5 proteinases, which take important parts in inflammation processes and fibrosis, were chosen.

**Materials and Methods:** Samples collected for three months – from January to March 2014 - from 18 patients age between 4 and 7 ( $5,2\pm 2,3$ ) applied Turgut Ozal University Medical School for circumcision. There are two experimental groups in the study; Phimosis Group: Patients whose preputium cannot be retracted and bubbling because of urine accumulation during urination ( $3,7\pm 2,8$ ). Control Group: Cases without phimosis ( $6,4\pm 0,7$ ). Informed written consents were taken from the patients' parents for surgery. Following the surgery, prepuce was transported to laboratory and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  and correlation of ADAMTS proteinases with phimosis were investigated using Western Blot methodology. Results were evaluated with using Mann-Withney U test ( $p < 0.05$  is considered as statistically significant).

**Findings:** Following statistical values are calculated for ADAMTS1 and ADAMTS5: For ADAMTS1/ACTIN ; In Phimosis Group;  $0,08\pm 0,04$ , in Control Group;  $0,07\pm 0,05$ . For ADAMTS5/ACTIN; In Phimosis Group;  $0,76\pm 0,21$ , in Control Group;  $0,74\pm 0,47$ . p values for ADAMTS1/ACTIN and ADAMTS5/ACTIN were both higher than 0,05, and considered as statistically non significant.

**Result:** Levels of ADAMTS1/ACTIN and ADAMTS5/ACTIN rates were found higher in phimosis group compared to control group; although the difference in between phimosis and control was not statistically significant.

**Keywords:** Phimosis, circumcision, inflammation, fibrosis (skatris), ADAMTS1, 5



# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ .....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vii
KISALTMALAR .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xi
RESİMLER DİZİNİ .....	xii
TABLolar VE GRAFİKLER DİZİNİ .....	xiii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. SÜNNET .....	3
2.1.1. Sünnetin Tarihçesi .....	3
2.1.2. Sünnet Endikasyonları .....	4
2.2. FİMOZİS .....	5
2.2.1. Fimozis .....	5
2.2.2. Fimozis Tanısı .....	9
2.2.3. Fimozis Tedavisi .....	10
2.3. ADAMTS PROTEİNAZLAR .....	11
2.3.1. Çinko (Zn) Bağımlı Proteinazlar .....	12
2.3.1.1. ADAM, ADAMTS ve MMP'ler .....	12
2.3.1.2. ADAM (Disintegrin motifli metalloproteinazlar) ailesi .....	12
2.3.1.3. ADAMTS (Trombospondin motifli disintegrin ve metalloprotein) ailesi .....	12
2.3.1.4. MMP (Matriks metalloproteinaz) ailesi .....	13
2.3.1.5. ADAM, ADAMTS ve MMP'lerin yapı ve aralarındaki motif farklılıkları .....	13
2.3.2. ADAMTS Proteinazların Yapısı .....	14
2.3.2.1. ADAMTSlerin Fonksiyonları ve Sınıflandırılmaları .....	17

3.2.2. ADAMTS'lerin İnhibitörleri .....	19
3.2.3. ADAMTS'lerin Patolojik Durumlarla İlişkisi.....	20
3.2.4. ADAMTS1 ve ADAMTS5' in Fimozis ile İlişkilendirilmesi.....	22
3. MATERYAL ve METOD.....	24
3.1. DENEYDE KULLANILAN CİHAZLAR.....	26
3.2. WESTERN BLOT .....	26
3.2.1. Protein İzolasyonu.....	27
3.2.2. Protein Miktar Tayini .....	28
3.2.3. Kaynatma.....	30
3.2.4. SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat- Poliakrilamid Jel Elektroforezi).....	30
3.2.5. Yükleme .....	32
3.2.6. Transfer İşlemi .....	33
3.2.7. Bloklama .....	34
3.2.8. Birinci Antikor ( 1. Ab).....	35
3.2.9. İkinci Antikor ( 2. Ab).....	35
3.2.10. ECL solüsyonu ile görüntüleme .....	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. WESTERN GÖRÜNTÜLEME .....	38
4.1.1. ADAMTS1 .....	38
4.1.2. ADAMTS5 .....	38
4.2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ ve BULGULAR.....	39
5. TARTIŞMA.....	42
6. KAYNAKLAR.....	44
EK: ONAM FORMU.....	54

## KISALTMALAR

L	: Litre
ml	: Mililitre
dl	: Desilitre
U	: Ünite
$\mu$ g	: Mikrogram
kDa	: Kilodalton
DNA	: Deoksiribonükleik asit
RNA	: Ribonükleik asit
ADAM	: A Disintegrin and Metalloproteinase
ADAMTS	: A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin motifs
BME	: Betamerkaptoetanol
BSA	: Bovin serum albümin
BMP	: Bone morfogenetik protein
COMP	: Kıkırdak oligomerik matriks proteini
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
ECM	: Ekstraselüler matriks
EM	: Elektron mikroskopisi
FGF-2	: Fibroblast büyüme faktörü-2
HE	: Hematoksilen Eozin
HRE	: Hipoksi cevap elementi
IM	: Işık mikroskopisi
MMP	: Matriks metalloproteinaz

NFAT	: Aktif T hücre nüklear faktörü
NF- $\kappa$ B	: Aktif B hücre kappa hafif zinciri nüklear faktörü
PAS	: Periodic Acid Schiff
p65	: NF- $\kappa$ B transkripsiyon faktör proteini
PAGE	: Poliakrilamid jel elektroforezidir
PKC	: Protein kinaz C
PBS	: Phosphate Buffered Saline
RunX	: Runt-ilişkili transkripsiyon faktör;
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
STZ	: Streptozosin
TIMP	: Tissue Inhibitors of Metalloproteinase
T-PER	: Tissue Protein Extraction Reagent
TSR	: Thrombospondin type 1 Sequence Repeat
vWf	: Von Willebrand Faktörü
VEGF	: Vasküler epitelyal büyüme faktörü
TBS-T	: Tris Buffered Saline- Tween 20

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

<b>Şekil 1.</b>	ADAM, ADAMTS ve MMP'ler ve aralarındaki motif farklılıkları.....	13
<b>Şekil 2.</b>	ADAMTS1 domain yapısının şematik olarak gösterilişi.....	14
<b>Şekil 3.</b>	ADAMTSproteinazların domain organizasyonu .....	16
<b>Şekil 4.</b>	ADAMTS ilişkili hücresel olaylar ve bağlantılı moleküller.....	20
<b>Şekil 5.</b>	ADAMTS1'in Aktin ile birlikte western blot bant görüntüsü (bir adet membrana ait örnek görüntü) .....	38
<b>Şekil 6.</b>	ADAMTS5'in Aktin ile birlikte western blot bant görüntüsü (bir adet membrana ait örnek görüntü) .....	38



## RESİMLER DİZİNİ

### Sayfa No

<b>Resim 1.</b>	Fimozis sınıflandırması .....	9
<b>Resim 2.</b>	Liysis buffer, proteaz inhibitörü .....	
<b>Resim 3.</b>	Santrifüj 14,000 rpm, 20 dk, +4 °C.....	28
<b>Resim 4.</b>	Spektrofotometre.....	29
<b>Resim 5.</b>	Heat Block .....	30
<b>Resim 6.</b>	Jel dökme aparatı .....	32
<b>Resim 7.</b>	Jel Yükleme Tankı .....	33
<b>Resim 8.</b>	Turbo Transfer Cihazı.....	34



## TABLolar VE GRAFİKLER DİZİNİ

### Sayfa No

<b>Tablo 1.</b> ADAMTS proteinazların görevlerine göre sınıflandırılması.....	17
<b>Tablo 2.</b> Western blot bant yoğunluğunun sayısal olarak ifadeleri.....	37
<b>Tablo 3.</b> Grup Ortalamaları .....	39
<b>Grafik 1.</b> ADAMTS1 box plot grafi .....	40
<b>Grafik 2.</b> ADAMTS5 box plot grafi .....	41

# 1. GİRİŞ

Prepisyum, glans penisi flask halde iken içte mukoza, dışta penil deri ile sınırlayan oluşumun adıdır. Fimozis ise; glans ile prepisyum arasındaki yapışıklıklara bağlı olarak prepisyumun geri itilememesi durumudur (1). Sünnet derisinin geri çekilememesi küçük yaş gruplarında fizyolojiktir. Fimozisin ancak %5'i konjenitaldir. Fimozis tanısını koyarken geri çekilememesi yeterli değildir. Prepisyum orifis çapının 5 mm'den dar olması ve miksiyon esnasında prepisyumun balonlaşması tanı için anlamlıdır (2). Fimozis dini amaçla ve geleneklere bağlı olarak yapılan sosyal sünnet olgularının dışında tıbbi gereklilik arzeden ve tedavisinde sünnet cerrahisini gerektiren patolojik bir durumdur.

Sünnet, tüm dünyada uygulanan en yaygın cerrahi girişimlerden biridir (3). Sünnet Müslüman nüfusun yoğun olduğu bölgelerde, Güney Doğu Asya'nın bazı bölgelerinde, Amerika'da, Filipinler'de, İsrail'de ve Güney Kore'de sık olarak uygulanırken, Avrupa'da, Latin Amerika'da, Güney Afrika'nın bazı bölgelerinde, Asya'nın büyük bölümünde ve Okyanusya'da göreceli olarak daha az sıklıkla uygulanmaktadır (4). Her yıl 13.3 milyon erkek çocuğu sünnet edilmektedir (5).

ADAMTS proteinazlar birçok hastalığın patolojisinde rol oynamaktadır. İlk olarak 1997 yılında Kuno ve arkadaşları tarafından kolon kanserinde, enflamasyonla ilişkili olarak tanımlanmıştır. Embriyolojik dönemde de sentezlenen ADAMTS' ler doku yeniden yapılanması, pıhtılaşma, anjiyogenez ve ovulasyon gibi birçok fizyolojik olayda rol alır. Ayrıca hücre dışı matriksin ve bazal membranın parçalanması, tümör hücresi invazyonu ve metastaz gibi patolojik süreçlerde de görevleri bulunmaktadır (6). Bu çalışmanın amacı; ADAMTS1 ve ADAMTS5'in fimozis olgularında enflamasyon ve fibrozis ile ilişkisini incelemektir.

Fimozisde hijyen bozukluğuna bağlı kronik enfeksiyonlar sorumlu tutulmakla birlikte (7); Sekonder fimozise yol açan etkenler arasında zorlu retraksiyona bağlı travmalar, dermatit ve balanopostit etiyolojisi aydınlatılmış nedenler arasındadır (8). Fimozis patolojisinde suçlanan bu etkenlere eşlik eden, tekrarlayan geçirilmiş (semptomatik veya asemptomatik) idrar yolu enfeksiyonları sonrasındaki enflamasyonun ve fibrozisin neden olduğu üzerinde durulmaktadır. ADAMTS1 ve ADAMTS5'i seçmemizin nedeni daha önce yapılan başka çalışmalarda bunların

enflamasyon ve fibrozis ilişkili olduklarının saptanmasıdır. ADAMTS konu başlıklı bölümde kaynaklar gösterilerek bu çalışmalardan bahsedilmiştir. ADAMTS 1 ve 5'in düzenleyici agrekanazlar olması nedeniyle patolojik fimosis dokusunda da ADAMTS proteinazlarının seviyelerinde artış ya da azalış beklenmektedir. Fimosis olgularının ADAMTS1 ve ADAMTS5 ile ilişkisinin Western Blot yöntemi ile değerlendirilmesi ilk kez araştırılacaktır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. SÜNNET

#### 2.1.1. Sünnetin Tarihçesi

Sünnet, dünyada ve ülkemizde en sık uygulanan cerrahi girişimlerden birisidir (9). Bugün dünyada tartışmasız en çok yapılan cerrahi işlem sünnettir ve M.Ö. 2300 yıllarına ait Mısır mumyalarının sünnetli olduğu ve duvar resimlerinde sünnetin bir gelenek olarak uygulandığını gösteren bulgulara rastlanılmıştır. Bu kadar eski tarihi olan bir işlem konusunda, dini inanış ve gelenek farklılıkları, maddi sebepler ve bilimsel verilerdeki farklı görüşler nedeniyle halen tartışmalar devam etmektedir (10).

Tarih boyunca çeşitli inanışlarla yapılagelmiş olan sünnet; bazı toplumlarda adak ve ceza olarak, bazı toplumlarda ise tıpkı vücut temizliği gibi fitrat gereği insanın doğasına uygun bir davranış olarak görülmüştür (11).

Türkiye gibi Müslüman toplumlarda daha çok geleneksel, Musevi toplumlarda ise dini bir yükümlülük olan sünnet, genellikle örf ve adetlere uygun şekilde törenlerle yapılagelmiştir (12). İslam öncesi Arabistan'da sünnet, bir hijyen tedbiri olarak düşünülmüştür (13). Sünnetin ilk olarak Hz. İbrahim ile başladığına ve temizlik amaçlı bir gelenek olduğuna inanıldığı için Arabistan'da "tahâret" yani temizlik ismiyle de kullanılmaktadır (14).

Sünnet adetinin ne zaman ortaya çıktığı tam olarak bilinmemektedir. Başlangıcının en az 10.000 yıl öncesine dayandığı düşünülmektedir. Daha belirgin bulgular M.Ö. 2300 lere dayanmaktadır (15). Kristof Kolomb'un yenedünyayı keşfettiği zamanlarda birçok yerlinin sünnetli olduğuna dair bilgiler vardır (10).

15. yüzyılda yaşamış olan Şerafeddin Sabuncuoğlu; üç ciltlik el yazması, "Cerrahiye-i İlhaniye" isimli eserinde çocuk cerrahisi açısından önemli yeri olan sünnet ve sünnet hatalarını içeren bilgileri tüm detayları ve açıklayıcı resimleri ile anlatmıştır (16).

19. yüzyıl ise; Tıbbi nedenlerle yapılan sünnetin ilk başlangıcını oluşturur. 1891 yılında Remondino sünnetin tıbben yararlı bir girişim olduğu üstünde durarak; alkolizm, astım, enüresis, epilepsi, fitik ve gut gibi bazı hastalıklardan korunmada etkili olduğunu öne sürmüştür (17). Bu şekilde 20. yüzyılın ilk yarısına kadar sünnetin faydaları

yönünde çıkan araştırmalar özellikle İngilizce konuşan ülkelerde tıbbi sünnetin, sıklıkla yenidoğan döneminde yapılmak üzere yaygınlaşmasına neden olmuştur (18).

1949 yılında Gairdner yazdığı makalede rutin sünneti sorgulayarak sünnet derisinin özellikleri ve önemini vurgulamıştır (19). Bu makaleden sonra ise sırasıyla İngiltere, Kanada ve ABD’de Çocuk Hastalıkları Dernekleri rutin sünneti tavsiye etmekten vazgeçmişlerdir (18). Sünnet oranları bu ülkelerde belirgin olarak düşmüş, ancak özellikle sünnetin çocuklarda idrar yolu enfeksiyonlarını (İYE) belirgin olarak düşürdüğünün gözlenmesi ile 1989 yılında Amerikan Çocuk Hastalıkları Akademisi yeni bir bildirgeyle kararı daha çok aileye bırakan daha tarafsız bir konum almıştır. 1989 yılında Amerikan Pediatri Akademisi’nin sünnetle ilgili komisyonu, yenidoğan sünnetinin potansiyel tıbbi faydaları ve avantajları yanında, risk ve dezavantajları da olduğunu açıklayarak, girişim öncesinde ebeveynlere bunların anlatılmasını önermiştir (20). Son yıllarda özellikle İngilizce konuşan toplumlarda ve bilim çevrelerinde yenidoğan dönemindeki çocukların sünneti ile ilgili tartışmalar dikkat çekicidir. Tartışma, sünneti savunan ve karşı çıkan görüş olarak iki grup altında gerçekleşmekte, sünnete bağlı komplikasyonlar üzerinde durulmakta ve ailenin isteğine bağlı yapılan işlemde onam-olur konuları üzerinde durulmaktadır ( 21 ). Sünnet uygulamasının yasal ve ahlaki olarak izin verilmesini savunanlar ( 22) olduğu gibi buna karşı çıkanlar da her zaman olmuştur. Tüm bunlara rağmen; bugün, dünyadaki erkeklerin neredeyse dörtte biri tıbbi nedenlerle ya da geleneksel, dinsel yani tıbbi olmayan nedenlerle sünnet olmaktadır ( 23, 24 ).

### **2.1.2. Sünnet Endikasyonları**

Sünnet; glans penisi örten prepişyum adı verilen sünnet derisinin belirli şekil ve uzunlukta cerrahi yolla alınması ve penis uç kısmının açığa çıkarılması işlemidir ( 25, 26 ). Başka bir makalede erkek üreme organının ucundaki prepişyumun glans penisi ortaya çıkaracak şekilde eksizyonu olarak tanımlanmıştır ( 27 ).

Sünnet uygulamasında tıbbi endikasyonların yanı sıra, dini ve geleneksel faktörler de rol oynamaktadır (28). Ülkemizde sünnet endikasyonu olarak daha çok geleneksel ve dini, batı toplumlarında ise tıbbi gerekçeler ile yapılması ön plana çıkarılmıştır (29, 30).

Gerek dini ve geleneksel, gerekse de medikal nedenlerle halen dünya çapında sünnet yapılıyor olması sünnete ilginin devam ettiğinin göstergesidir (31).

### **Sünnet yapılma nedenleri ve endikasyonları:**

- 1- Fimozis tedavisi,
- 2- Sosyal ve dini nedenler,
- 3- AIDS başta olmak üzere, cinsel yolla bulaşan hastalıkların bulaşıcılıklarının azaltılmasına yönelik bir önlem olması (32),
- 4- İdrar yolu enfeksiyonu geçirme riskinin azaltılması (bebeklerde idrar yolu enfeksiyonunu %7'den, %0,7'ye düşürdüğü görülmüştür (10)),
- 5- Penis iltihaplarına yakalanma riskinin azaltılması,
- 6- Penis kanserine yakalanma olasılığının belirgin bir şekilde azaltılması,
- 7- Fimozis ve parafimozis oluşmasının engellenmesi,
- 8- Genital temizliği kolaylaştırması,
- 9- İnsan papillomavirus ( HPV ) enfeksiyonuna yakalanma riskini düşürmesi (Sünnetsiz erkeklerin eşlerinde HPV'a bağlı kanser türü, sünnetli erkeklerin eşlerine göre 2,5 kat daha sık görülmüştür) (10),
- 10- Balanitis Xserotica Obliteransın ( BKO ) tedavisi ( BKO'nın edinsel meatal stenozun en sık nedenleri arasında yer aldığı ve çocuklardaki fimozisin de yaklaşık olarak %10'undan sorumlu tutulmaktadır ) ( 33 ),
- 11- Balanit, balanopostit tedavisi,
- 12- Travma sonucunda penis yaralanmaları,
- 13- Ürolojik anomali varlığı,
- 14- Prepisyum kistleri,
- 15- Penil lenfödem varlığı.

## **2.2. FİMOZİS**

### **2.2.1. Fimozis**

Prepisyum, glans penisi flask halde iken içte mukoza dışta penil deri ile sınırlayan oluşumdur. Fimozis ise; glans ile prepisyum arasındaki yapışıklıklara bağlı olarak prepisyumun geri itilememesi durumudur (1).

Fimozis çocuklarda sıkça görülen bir durumdur ve bazen acil servislerde bazen de poliklinik şartlarında komplikasyonlarıyla karşımıza çıkan bir patolojidir. Hastanın acil servise idrar yapamama, şiddetli karın ağrısı, glob gelişmesi, enfeksiyona bağlı ateş ve lokal enflamasyon durumu balanit, balanopostit vb. acil durumlarla getirilmesi acilde karşılaşılan bir durumdur. Geçirilen enfeksiyonların tekrarlanmasıyla, idrar yolu enfeksiyonlarının sıklığının ve şiddetinin artması, olası komplikasyonlara zemin hazırlar. Mesane duvarı düzensizlikleri, mesane anatomisi, kapasitesi ve fonksiyonlarının bozulmasıyla ortaya çıkacak inkontinans ve vezikoureteral reflü ve reflüye bağlı olarak gelişebilecek ureter ve böbrek anatomisinin bozulması ve en sonunda fonksiyonel işleyişin aksaması ve organ kaybı klinikte karşılaşılabilecek patolojilerdir. Sünnet derisinin ucundaki darlığa (fimoze) bağlı olarak; idrar yapmada zorluk, buna bağlı gelişen enfeksiyon, daha ileriki zamanlarda ise obstrüksiyona bağlı olarak üst üriner sistem patolojilerinin ortaya çıktığı gösterilmiştir (34).

Toplumda kim tarafından yapıldığı çok fazla önemsenmeyen ve sadece rutin bir sünnet işlemi olarak görülen ve aileler bilgilendirilmediği takdirde istenilen yaş ve durumda ve hatta uygun olmayan kişilerce ve ortamlarda yapılabilmesinin normal olduğu düşünülen sünnet cerrahisi; işte bu acil ve kritik durumlardan dolayı anne-baba, hekim ve çocuk üçgeninde tüm psikolojik, sosyolojik ve en önemlisi de tıbbi boyutu göz önüne alınarak planlanmalıdır. Ülkemizde hiç şüphesiz en çok yapılan ameliyat olmasına rağmen, yıllarca sosyal güvenlik kurumlarınca kapsam dışında tutulması nedeniyle sünnet, çoğunlukla hekim olmayan yetkisiz kişiler tarafından yapılmıştır (35). Temmuz 2007 tarihinden sonra sünnetin sosyal güvence içine alınması, cerrahi bir işlem için gerekli tüm koşulları sağlayabilen uzman hekimler tarafından yapılmasını başlatmıştır (31).

Poliklinik muayenesi esnasında aile ve çocukla iletişim içinde olunmalı ve muayene esnasında çocuğu rahatsız edebilecek prosedürler anlatılarak çocuğun güveni kazanılmalıdır. Poliklinik muayenesi öncesinde ailenin, çocuğu psikolojik olarak hazırlaması da önemlidir (36).

Sünnet derisi gestasyonun 3-5. aylarında gelişir. Glans ve prepisyumun iç yüzünü örten çok katlı yassı epitel ilk zamanlar birbirine yapışıktır. Yaşamın ilk 3-4. ayında yassı hücreler keratinize olur ve smegmayı oluşturur (25). Embriyolojik olarak prepisyum gelişimi 8. haftadan itibaren, glans penisin proksimalden distale doğru

epidermal bir uzantısı olarak başlamakta ve 16. haftaya kadar sürmektedir. Prepisyum gelişimi esnasında prepisyum iç yüzü ile glans penis birbiriyle yapışık haldedir, ancak yaşla birlikte bu durum geriler ve fizyolojik fimozis kaybolur (8).

Glanduler sekresyonlar ve epitel döküntüleri smegma olarak adlandırılır. Bazı çocuklarda smegma miktarının fazlalığı çocukta derinin inceliği nedeniyle kitle görüntüsü verebilir buna sünnnet derisi incisi denir. Smegma zamanla sünnnet derisi ve glans arasındaki boşluğu oluşturup yukarı doğru kendiliğinden çıkacağından tedaviye gerek yoktur (36). Penisin büyümesi ve ereksiyonuyla infant smegmasının oluşması iki epitel yüzeyinin birbirinden ayrışmasını sağlar. Doğumdan sonraki birkaç yılda bu süreç tamamlanmış olur (25).

Yenidoğanların yalnızca %4'ünde prepisyum geri çekilebilir. Yenidoğanların ancak %50'sinde prepisyum, eksternal üretral meayı görebilecek kadar retrakte edilebilir. Altı aylık bebeklerin ancak %20'sinde prepisyum tam olarak geri çekilebilir. Normal çocukların %10'unda üç yaşına kadar prepisyum geri çekilemez. Altı yaşındakilerin bile %37'sinde glanstaki prepisyum tam olarak ayrılamaz. Ancak pubertede tam bir ayrışma oluşur bu ayrışma 10-14 yaşına kadar sürebilmektedir (25, 37). 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. Yenidoğan döneminde fizyolojik fimozis oranı %96 iken, 17 yaşında %1'e düşer (38).

Patolojik fimozis en sık yetersiz lokal hijyen nedeniyle oluşan kronik enfeksiyonların sonucu olup herhangi bir yaşta görülebilir. Fimozis, yenidoğanda fizyolojik olarak kabul edilirken, çocukluk çağındaki fimozisde ise hijyenik bozukluğa bağlı kronik enfeksiyonlar sorumlu tutulmaktadır (7). Sekonder fimozise yolaçan etkenler arasında zorlu retraksiyonlara bağlı travmalar, dermatit ve balanopostit etyolojisi aydınlatılmış nedenler arasındadır (8). Fimozis, ya hiçbir skar oluşumu belirtisi göstermeksizin primerdir (fizyolojiktir) ya da balanitis kserotika obliterans gibi bir skar oluşumuna sekonderdir. Fizyolojik bir olgu olan sünnnet derisinin normal olarak glansa yapışması ile fimozis arasında ayırım yapılması gerekmektedir (38).

Fimozise özellikle sünnnetsiz çocuklarda ve erken çocukluk döneminde sıkça rastlanmaktadır. İlk 3-4 yıl içinde epitelyal debrisin birikimi ve aralıklı ereksiyonlar sayesinde prepisyumun retraksiyonu söz konusudur. Yaşa bağlı olarak artan ereksiyon



sayısı, penil büyüme ve lokal doku üzerine hormonal etkenlerin rolü, sünnet sonrası da gelişebilen penil yapışıklıkların azalmasında önemlidir (39).

Türkiye’de yapılan bir çalışmada (40); çeşitli nedenlerle çocuk cerrahisi polikliniğine başvuran 0 -11 yaşlarındaki 362 çocukta prepisyumun geri çekilebilmesi, prepusiyel orifis çap ölçümü ve eşlik eden üriner sistem semptomları değerlendirilmiş. Prepisyumun geriye tam çekilebilme oranı; yeni doğan döneminde %9.40, 7-12 aylar arasında %35.90, 3 yaşında %48.00, 8-9 yaşlarında %80.00 ve 10-11 yaşlarında %100.00 bulunmuş. Prepusiyel orifis çapı 5mm'den fazla olanların oranları ise; yeni doğan döneminde %75.00, 7-12 aylar arasında %73.30, 3 yaşında %84.00 ve sekiz yaş üzerinde %100.00 bulunmuş. Smegma kisti oranı 2 ay ile 4 yaş arasında %18.60, 6-7 yaşlarında %34.60, 8 yaşından sonra ise %0.00 olarak saptanmış. Miksiyon zorluğu ve prepisyum balonlaşması 2-6 aylar arasında ve 4 yaşında %20.00 oranıyla en yüksek bulunmuş. Üriner sistem enfeksiyonu oranı 7-12 aylar arasında %26.60 bulunmuş ve balanit geçirme oranı 6-7 yaşlarında %15.40 olarak saptanmıştır (40).

Japon çocuklarında prepusiyel halkaya bağlı fimozis 0-6 aylık çocuklarda %84.3, 2 yaşında %40.1 ve 11-15 yaşlarında %8.6 olarak saptanmıştır (8). Dewan ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada; doğumda retraktıl prepisyumun %4, 6. ayda %15, 1. yaşında %50 ve 3 yaşında %80-90 oranında olduğu bildirilmiştir(41). Bir başka çalışmada Shankar ve Rickwood, İngiliz çocuklarda fimozis görülme insidansının yılda %0.04, ve 15 yaşına gelen bir çocukta ise %0.6 olduğunu bildirmişlerdir. Yaşamın ilk yılının sonunda, sünnet derisinin glanüler sulkus arkasına çekilmesi erkek çocukların yalnızca yaklaşık %50'sinde mümkün olmaktadır; bu oran 3 yaşın sonunda yaklaşık %89'a yükselir. Fimozis insidansı, 6-7 yaşındaki erkeklerde %8 ve 16-18 yaş arasındaki erkeklerde yalnızca %1'dir (42).

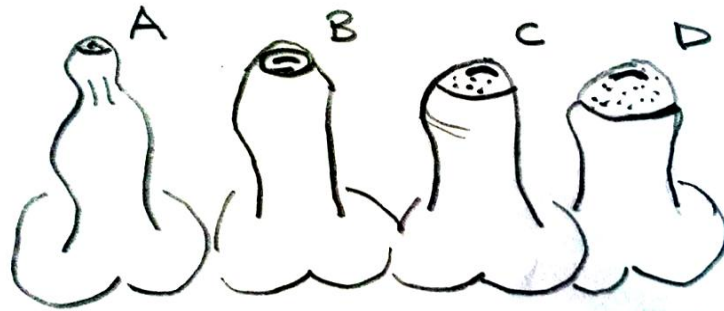
### 2.2.2. Fimozis Tanısı

Fimozis tanısı fizik muayene ile konulur. Eğer sünnet derisi geri çekilebilirlik özelliğine sahip değilse ya da kısmen sahipse ve glans penis üstünde geriye çekildiğinde sıkıştıran bir halka oluşuyorsa, sünnet derisinin genişliği ile glans penisin çapı arasında bir orantısızlığın olduğu kabul edilmektedir (43).

Sünnet derisinin geri çekilememesi küçük yaş gruplarında fizyolojiktir. Fimozisin ancak %5 i konjenitaldir. Fimozis tanısını koyarken geri çekilememesi yeterli değildir. Prepisyum orifis çapının 5 mm'den dar olması ve işeme esnasında prepisyumun balonlaşması tanı için anlamlıdır (2).

Fimozis olgularında; sünnet derisinin büzülmesine ek olarak, prepisyumun iç yüzeyleri ile glanüler epitel ve/veya frenulum arasındaki yapışıklıklar da görülebilmektedir. Frenulum breve, sünnet derisi geri çekilince glansın öne doğru eğrilmesine (ventral deviasyona) neden olur. Eğer uç kısım dar kalırsa ve glanüler yapışıklıklar ayrılmışsa, o zaman bu boşluk işeme sırasında idrarla dolarak sünnet derisinin dışı doğru balonlaşmasına neden olur. Fimozis klinik olarak; işemede güçlük, prepisyumun işeme esnasında balonlaşması, aşırı ve sık yineleyen idrar yolu enfeksiyonları (İYE) ile karakterizedir (43).

Kayaba ve ark. ları Fimozisi dört grupta sınıflandırmışlardır. Grup A, Grup B, Grup C, Grup D. Grup A, en ağır fimozis iken Grup D, normal prepisyuma en yakın yani en hafif olanıdır (44).



**Resim 1.** Fimozis sınıflandırması (Kayaba ve ark. larının yaptığı bir çalışmaya (8) göre; dış prepisyumun yeri ve geri çekilebilme özelliğine göre Fimozis sınıflandırılması yapılmış ve resim bu makaleden alınmıştır: **Grup A-** retraksiyon yok, **Grup B-** üretral meatus görünmekte, **Grup C-** glans penisin yarısı görünmekte, **Grup D-** glans penisin tama yakın görünümü mevcut)

Bizim çalışmamızda fizik muayene ile prepisyumun ne kadar retrakte edilebilir olduğu, prepisyum orifis çapı ve işeme esnasındaki balonlaşma göz önüne alınarak, hastalarımıza fimozis tanısı konulmuştur. Bunlardan yalnızca ağır fimozis hastaları yani Kayaba ve ark.'larının yaptığı çalışmaya göre Grup A da yer alan vakalar çalışmaya alınmıştır. Fimozisi olmayan sağlıklı çocuklar ise kontrol grubu olarak kabul edilmiş, böylece çalışma iki grup halinde yürütülmüştür;

**Fimozis Grubu:** Prepisyumu retrakte edilemeyen, işerken idrar birikimine bağlı balonlaşma olan hastalardan oluştu.

**Kontrol Grubu:** Fimozisi olmayan olgular

### 2.2.3. Fimozis Tedavisi

Primer (fizyolojik) fimozis ile sekonder (gerçek) fimozisin ayrımının yapılması gereklidir. Eğer sünnet derisi parsiyel olarak geri çekilebiliyor ve sonrasında glans üzerinde incelerek kalmaya devam ediyorsa bu fizyolojik fimozistir ve zamanla düzelecektir. Fakat geri çekme esnasında ucu kalınlaşmış ve yuvarlak bir hal almış bir prepisyum mevcut ise bu durum sekonder yani gerçek fimozistir. Gerçek fimoziste skarlaşma ve enflamasyon vardır ve tedavisinde sünnet şarttır (39).

Primer fimoziste; sünnet derisini koruyarak, tam geri çekilebilirlik özelliğine kavuşturmak için sünnet derisinin çevresini genişleterek dorsal insizyon yapılabilir fakat bu işlem fimozisin tekrarlaması riskini taşır. Primer fimozisin aksine, Sekonder fimozis; mutlaka sünnet gerektiren bir endikasyondur. Primer fimozisteki mecburi sünnet endikasyonları ise; üriner sistem anomalileri olan çocuklar, yinelenen balanopostit ve yinelenen idrar yolu enfeksiyonları geçirenlerdir (45, 46). Sünnet derisinin işeme sırasında balonlaşması, sünnet için kesin bir endikasyon değildir. Penil karsinomu önlemek için yenidoğanların rutin olarak sünnet edilmesi de doğru bir endikasyon değildir. Akut bir lokal enfeksiyon, koagülopati ve penisin doğumsal anomalileri, özellikle de rekonstrüktif cerrahi prosedür için sünnet derisinin kullanılabilir olması hipospadias ve gömük penis vakalarında sünnet yapılmamasını gerektirmektedir (47, 20). Distal hipospadias olgularında genellikle glanüler veya subkoronal tipte; sünnet derisi üretral meayı kapattığı için sünnet işlemine kadar bu olguların hipospadias oldukları gizli kalabilmektedir (48). Bunun için; ameliyat esnasında karşılaşılan bu durumda hipospadias cerrahisi planlanmalıdır.

Fimozis tedavisinde sünnet uygulaması, yıllardır ilk uygulanan tedavi seçeneklerinden biridir. Tekrarlayıcı balanitis atakları olan, sklerotik fimotik halkalı olgularda sünnet ilk tedavi yöntemi olarak önerilmektedir (41, 49). Ancak son yıllarda dorsal split, prepusyel plasti, balon dilatasyon gibi alternatif cerrahi yöntemlerle birlikte östrojen, anestezi etkili veya kortikosteroidli kremlerle yapılan tıbbi tedavi seçenekleri de kullanım alanı bulmuştur (50, 51). Alternatif cerrahi yöntemler sünnetin kozmetik ve psikolojik olarak kabul edilemeyeceği durumlarda uygulama alanı bulmaktadır. Topikal tıbbi tedavi uygulamaları ise, prepisyumun korunması istendiğinde ve özellikle 3 yaş öncesi enfeksiyonun eşlik etmediği durumlarda önerilmektedir (52). Fimozis tedavisinde topikal steroid uygulamalarının; antiinflamatuvar, immunosupresif ve deriyi inceltici özellikleri ile etki ettikleri gösterilmiştir (51, 53).

### **2.3. ADAMTS PROTEİNAZLAR**

Ekstraselüler matriks ( ECM ); hücrelerin hücre dışı ortamla olan etkileşimlerini sağlayarak, hücrelere mekanik destek sağlar. Aynı zamanda embriyogenez, hücre göçü, yara tamiri ve programlanmış hücre ölümü gibi birçok fizyolojik olayda da rolü vardır. Normal fizyolojik olaylarda olduğu kadar tümör metastazından AIDS'e kadar pek çok patolojik durumda da ECM' nin bu etkileşimleri söz konusudur. Bu çalışmada kullanılacak olan ADAMTS proteinazlar, ECM' de bulunan diğer proteinazlar gibi bir çok fizyolojik ve patolojik olayda önemli rollere sahiptirler (54). Bu hücrel aktiviter ve davranışlar, örneğin yüklü glikozaminoglikan yan zincirlerine sahip proteoglikanlar, kollajen, elastin, laminin ve fibronektin gibi fibril ve ağ kurucu moleküllerin tümü dahil olmak üzere özelleşmiş bazı ECM proteinleri ve glikoproteinleri tarafından yönetilmekte ve yönlendirilmektedir. ECM'nin anahtar bileşikleri olan proteoglikanlarla ilgili olarak yıllardır çalışmalar yapılmış ve çok iyi tarif edilmiştir (55).

### **2.3.1. Çinko (Zn) Bağımlı Proteinazlar**

#### **2.3.1.1. ADAM, ADAMTS ve MMP'ler**

Bu üç grup proteinaz, Zn (çinko) bağımlı akraba olan proteinazlardır (56).

#### **2.3.1.2. ADAM (Disintegrin motifli metalloproteinazlar) ailesi**

"ADAM" terimi "bir disintegrin ve metalloproteinaz (A Disintegrin and Metalloproteinaz)" anlamına gelmektedir (57). Disintegrin motifli metalloproteinazlar (ADAM) adamalysin grubu içerisinde yer alırlar (56). Ekstraselüler matriksin proteolitik yıkımında proteaz aktivitesine sahip çok sayıda molekül görev alır (54). ADAM ailesinde yer alan proteinler, hücre membranında bulunan ve çok sayıda domaine sahip olan çinko bağımlı metalloproteinazlardır. Disintegrin ve metalloproteinaz domainleri sayesinde ADAM' lar, hem adezyon proteinlerinin hem de proteinazların özelliklerine sahiptir. İşte böyle bir yapıya sahip olmaları ADAM' ları diğer hücre yüzey proteinlerinden daha özellikli, daha ayrıcalıklı yapar ve hücre-hücre etkileşimleri ve hücre-matriks etkileşim durumlarında çok önemli rollere sahip olmalarını sağlar (57). ADAM' lar, hücre zarına lokalize transmembran bölge içerirler (56).

#### **2.3.1.3. ADAMTS (Trombospondin motifli disintegrin ve metalloprotein) ailesi**

ADAM ailesinden farklı olarak; ADAMTS' ler çok sayıda kopyası bulunan thrombospondin 1 (TSP1) benzeri tekrarlar içerirler. ADAM ailesi üyelerinin aksine, hücre membranında yer almayıp, ekstraselüler matrikse salgılanan ADAMTS'ler; ADAM ailesi üyelerinin sahip oldukları tüm domainleri içermelerine rağmen kendilerine özgü enflamasyonla ilişkili olan TSP1 motiflerini de buldukları için ADAM üyeleri olarak kabul edilmeyip yeni bir aileyi oluşturmuşlardır. ADAMTS'lerin gruplandırılmaları ise modüler organizasyon, protein sekansı, gen sekansı ve substrat tercihinin korunmuşluğu ile olur (6).

ADAMTS proteinazlar birçok dokuda bulunmakla beraber embriyonik dönemde de sentezlenirler (58).

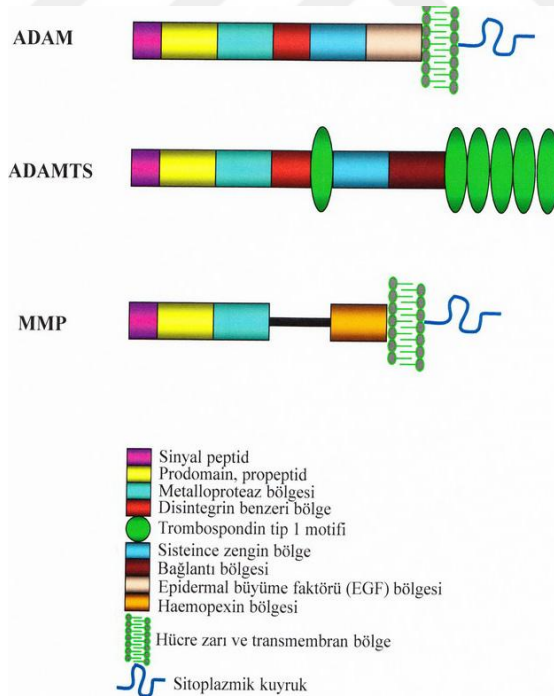
ADAMTS proteinazlar; agrekan, versikan ve brevikanı parçalar, prokollagen ve von Willebrand faktör işlenmesinde de görev alırlar. Bağ doku organizasyonu, koagülasyon, inflamasyon, artrit, anjiyogenez ve hücre göçü gibi birçok önemli role sahip oldukları ispatlanmıştır (6). ADAM ve MMP proteinazlar, hücre zarına lokalize transmembran bölge içerirlerken, ADAMTS proteinazlarda bu bölge yoktur (56).

#### 2.3.1.4. MMP (Matriks metalloproteinaz) ailesi

MMP'ler hücre dışı matriks bileşenlerini yıkıma uğratan çinko ve kalsiyum bağımlı endopeptidaz ailesidir, hücre zarına lokalize transmembran bölge içerirler (56).

#### 2.3.1.5. ADAM, ADAMTS ve MMP'lerin yapı ve aralarındaki motif farklılıkları

ADAM, ADAMTS ve MMP'ler akraba olan proteinazlardır. Trombospondin motifli disintegrin ve metalloproteinazlar (ADAMTS) ve disintegrin motifli metalloproteinazlar (ADAM) adamalysin grubu içerisinde yer alırlar. Genel olarak, özelleşmiş bazı modüller dikkate alınmaz ise adamalysin grubu (ADAM ve ADAMTS) ve MMP proteinazlar, görev yaptığı doku tipi ve aldığı rollere göre farklı modüllerden meydana gelmişlerdir. MMP'ler hücre dışı matriks bileşenlerini yıkıma uğratan çinko ve kalsiyum bağımlı endopeptidaz ailesidir. ADAM ve MMP proteinazlar, hücre zarına lokalize transmembran bölge içerirlerken, ADAMTS proteinazlarında bu bölge yoktur. İnsanda 19 adet ADAMTS, 20'den fazla ADAM ve 30'dan fazla da MMP tanımlanmıştır (56).



**Şekil 1.** ADAM, ADAMTS ve MMP'ler ve aralarındaki motif farklılıkları

(Doç. Dr Kadir Demircan'ın; Journal of Clinical and Analytical Medicine dergisinde yayınlanan "Artritten Kansere ADAMTS Metalloproteinazlar / ADAMTS Metalloproteinases From Arthritis to Cancer" adlı makalesinden izinle alınmıştır.)

ADAMTS'ler, çinko bağımlı matriks enzimleridir. Matriks metalloproteinaz (MMP) ve disintegrin ve metalloproteinazlar (ADAM), ADAMTS' ler ile ilgili diğer çinko bağımlı proteazlardır. ECM'nin hasar ve onarım sürecinde bu proteinazların rolleri olduğu bilinmektedir (59). ADAMTS'ler kollajen, versikan ve agrekan gibi hücre dışı matriksin yapısal proteinlerini parçalayarak etkilerini gösterirler ve metalloproteinazların doku inhibitörleri olarak bilinen “tissue inhibitors of metalloproteinase (TIMP)” tarafından inhibe edilirler. TIMP-3 şu an için bilinen en etkili ADAMTS inhibitörüdür. Farklı 19 adet genin ürünü olan ADAMTS proteinazlar görevlerine göre sınıflandırılmaktadır (56).

ADAMTS proteinazların ECM'e bağlanma kabiliyeti, ADAMTS ailesini ADAM ve MMP ailelerinden ayıran önemli bir özelliktir. Proteinazlar ECM'de bulunan heparin ve agrekan da dahil, sülfatlı glikozaminoglikanlara bağlanırlar. ADAMTS proteinazların gerek katalitik ve gerekse katalitik olmayan bölgeleri tam proteolitik aktivite ve substrat bağlama yeteneği gösterirler. Bu özellik olgun ADAMTS proteinazların ara bölgedeki posttranslasyonel işlemleri esnasında (C terminal budanması) kazanılır ve MMP'ler tarafından kontrol edilir (56).

### 2.3.2. ADAMTS Proteinazların Yapısı

ADAMTS proteinazlar ilk olarak 1997 yılında Kuno ve arkadaşları tarafından kolon kanserinde inflamasyonla ilişki olarak kaşektik farelerde tanımlanmıştır, daha sonra tüm memelilerde de var olduğu gösterilmiştir (6).

ADAMTS proteinazlar, adamalysin grubu içerisinde yer alırlar. Proteinlerin aminoasit sırası, yapısı ve gelişimi açısından ADAM (A Disintegrin And Metalloproteinase) proteinazlarına benzerler. Ama bunlardan farklı olarak en az bir trombospondin tip 1 (Thrombospondin type 1 Sequence Repeat: TSR) dizisi tekrarı içeren, ekstraselüler matrikste yaygın olarak bulunan metalloproteinaz proteinleridir (6,56). Aşağıda ADMTS1 örnek olarak gösterilmiştir.

Prepeptid	Propeptid	Metalloproteinaz	Dis	Sis	TS	Ara domain	TS	TS
-----------	-----------	------------------	-----	-----	----	------------	----	----

**Şekil 2.** ADAMTS1 domain yapısının şematik olarak gösterilişi

(**Prepeptid:** sinyal peptit, **Propeptid:** prodomain, **Metalloproteinaz:** katalitik domain, **Dis:** disintegrin benzeri domain, **Sis:** sisteince zengin domain, **TS:** trombospondin tip I, **Ara domain, TS:** trombospondin tip I tekrarı)

ADAMTS proteinazlara N-terminal uçtan, C-terminal uca doğru sırasıyla bakılacak olursa: sinyal sekans, pro-domain (propeptid), katalitik (metalloproteinaz) domain, disintegrin-like domain, sisteinden zengin bölge, spacer domain ve Thrombospondin type 1 Sequence Repeat (TSR) bölgelerinden oluşan kompleks bir yapısı vardır. Bazı ADAMTS' lere özel C terminal bölgesinde değişken sayıda TSR ile birlikte birbirlerinden ayırımı sağlayan farklı C terminal bölgeleri içerirler. Bu özel motifler daima molekülün karboksi ucundadır (60-94). ADAMTS' ler, ADAM proteinazlardan farklı olarak, epidermal büyüme faktörü bölgesi ve transmembran modül içermezler (56).

**N-terminal uçtan, C-terminal uca doğru sırasıyla bakılacak olursa:**

**1-Sinyal peptid (sinyal sekans, prepeptid):** Proteinler sinyal sekansı ağırlıklarına göre farklılık gösterirler. ADAMTS9 en uzun sinyal sekansına sahip iken, ADAMTS13'de ise özel olarak bir kısalık mevcuttur (58).

**2-Pro-domain (propeptid):** Propeptid kısım, enzimi inaktif halde tutan kısımdır (61-95). Propeptid sayesinde enzim substrat ile etkileşim içine giremez. Furin enzimi propeptid kısmını uzaklaştırarak enzimin aktifleşmesini sağlar buna zimojen aktivasyonu denir (61).

**3-Metalloproteinaz (katalitik domain):** Enzim aktivitesinden asıl sorumlu olan bu bölgedir. ADAMTS proteinazların katalitik bölgeleri Zn'ya bağlanan HEXXHXXGXXH dizisinden oluşur. X: herhangi bir aminoasiti temsil eder. X motifinde bir mutasyon olursa katalitik aktivite tamamen kaybolur (62).

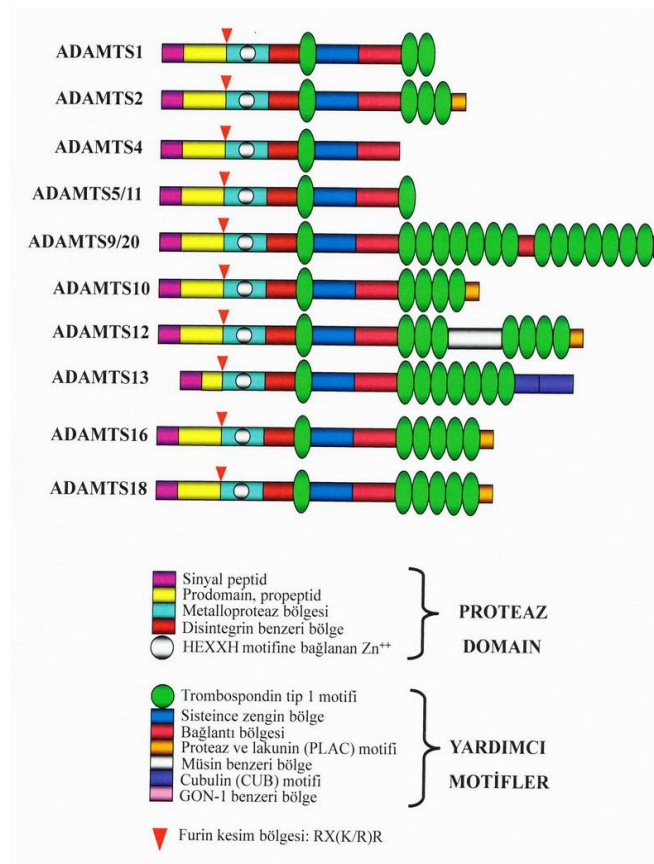
**4-Disintegrin-like domain (disintegrin benzeri bölge):** ADAMTS proteinazların disintegrin bölgeleri matris metalloproteinaz bölgesini içerirler. İntegrinler üzerinden ekstraselüler matris bağlantısını bozarlar, ekstraselüler matrisi ve bazal membran komponentlerini parçalama yeteneğine sahiptirler. Disintegrin benzeri bölgenin aminoasit dizilişi, yılan zehiri proteinazlarında (snake venom metalloprotease) bulunan disintegrin motifi ile benzerlik gösterdiği için bu adı almıştır (62). Bu bölge ADAMTS aktivitesi için gereklidir (63).

**5-Sisteinden zengin bölge (cysteine-rich domain: CRD) ve Spacer (ara bölge, bağlantı bölgesi):** Sisteince zengin bölge ve bağlantı bölgesi, substrat spesifikli-ği ve matrise yerleşme mekanizmalarında rol alırlar (62).



**6-Trombospondin tekrar bölgesi (TSR: A Thrombospondin type 1 Sequence Repeat):** ADAMTS'lere ismini veren trombospondin (TSP), 1971 yılında keşfedilen ilk anjiyogenez inhibitörüdür (64). ADAMTS'lerin TSP motifi, fibronektin, kollajen ve laminin gibi hücre dışı matriks moleküllerine bağlanarak, hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşiminde rol almaktadır. TSP, trombositlerden salınan ekstraselüler matriks adhezyon glikoproteinidir (56).

**7-Özel motifler:** Bu modüllere ilave olarak bazı ADAMTS'ler kendilerine özgü, GON, PLAC ve CUB gibi özel motifler içerirler (62).



**Şekil 3.** ADAMTSproteinazların domain organizasyonu

(Doç. Dr Kadir Demircan'ın Journal of Clinical and Analytical Medicine dergisinde yayınlanan "Artritten Kansere ADAMTS Metalloproteinazlar / ADAMTS Metalloproteinases From Arthritis to Cancer" adlı makalesinden izinle alınmıştır.)

**ADAMTS'ler yapısal olarak iki kısımda incelenebilirler:** 1) Enzim aktivitesinin olduğu proteinaz kısım 2) trombospondin tekrar dizilerinin yer aldığı yardımcı yan modüller. ADAMTS4 trombospondin tekrar motifleri (TSR) içermezken,

ADAMTS9 ve ADAMTS20, 14 adet TSR motifi içerir. ADAMTS4, ilk bulunan agrekanaz olup agrekanaz-1, ADAMTS5 ise agrekanaz-2 olarak adlandırılır. İnaktif ADAMTS, propeptid kısmının furin enzimleri ile uzaklaştırılmasıyla aktif hale gelir. ADAMTS'ler furin enzimi ile arjinin ve lizin yönünden zengin (RX(K/R)R) tanıma bölgesinden kesilerek aktifleştirilir. Bu olaya zimojen aktivasyonu denmektedir (56).

### 2.3.2.1. ADAMTS lerin Fonksiyonları ve Sınıflandırılmaları

ADAMTS genleri 1'den 20'ye kadar numaralandırılmış fakat daha sonra ADAMTS 5 ve 11' in aynı protein olduğu anlaşılmıştır. Bu nedenle ADAMTS11 olmadığından, toplamda 19 adet ADAMTS mevcuttur.

**Tablo 1.** ADAMTS proteinazların görevlerine göre sınıflandırılması( 63 ).

ADAMTS ailesi	Üyeler
Agrekanaz ailesi	ADAMTS 1, 4, 5, 8, 9, 15, 16, 18
Anti-anjiyogenik ADAMTS'ler	ADAMTS 1, 8, 9
Cartilage oligomeric matrix protein(COMP)-ADAMTS'ler	ADAMTS 7, 12
Gonadal (GON)-ADAMTS'ler	ADAMTS 9, 20
Prokollajen ADAMTS'ler	ADAMTS 2, 3, 14
von Willebrand faktör ADAMTS	ADAMTS 13
Orphan (yetim) ADAMTS'ler	ADAMTS 6, 10, 17, 19

#### **-Agrekanazlar (ADAMTS 1, 4, 5, 8, 9, 15, 16 ve 18):**

ADAMTS'lerden; 1, 4, 5, 8, 9, 15, 16 ve 18 kıkırdağın ana bileşeni olan ve bir proteoglikan olan agrekanı enzimatik kesme özelliğine sahiptirler (63). Agrekanı kesip parçaladıkları için bu gruba agrekanazlar denir (65). ADAMTS 1, 4, 5, 8, 9, 15 ve 20 hiyalektanları (hiyaluronana bağlanan agrekan, brevikan, versikan vb. proteoglikanları) yıktıkları için hiyalektanazlar olarak da adlandırılmaktadır (66). Kıkırdak dokusu içerisinde yer alan agrekan; kıkırdak dokusunu sıkıştırmalara ve basınca karşı koruyan en önemli moleküldür. Agrekan aynı zamanda, kıkırdak dokusunda bulunan kollajeni de yıkılma ve parçalanmalardan korur (67, 68). ADAMTS4; ilk kez 1999 yılında, Agrekanaz-1 olarak isimlendirilmiştir (65). Daha sonraları ADAMTS5, Agrekanaz-2 olarak

isim almıştır. Aynı zamanda, matriks proteoglikanlarından versikan ve brevikanı da kesen agrekanazların, osteoartrit gibi kas-iskelet sistemi hastalıklarının patogenezinde rol aldıkları da gösterilmiştir (63). ADAMTS 1, 4 ve 5'in aktivitelerinin artritte bariz arttığı görülmektedir (69). Bir başka molekül olan, kırıkta oligomerik matriks proteini (COMP); 524 kDa ağırlığında, kalsiyum bağlayan, kırıkta yapısal bütünlüğünden ve diğer matriks molekülleriyle etkileşiminden sorumlu bir matriks glikoproteinidir. Kırıkta oligomerik matriks proteinini (COMP: Trombospondin-5) parçalayan proteinazlar ise; ADAMTS7 ve ADAMTS12'dir. Agresif artrit hastalarında COMP düzeyleri yüksek bulunmuştur (70).

Osteoartritte agrekanaz düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. ADAMTS5 inaktif farelerde yapılan çalışmalarda, bu farelerin osteoartrite karşı direnç kazandıkları gösterilmiştir (71, 72). Fibröz dokularda ADAMTS5 eksikliğinin, fibroblast kök hücrelerinin olgun fibroblastlara dönüşmesini engelleyen agrekan birikimine bağlı olarak sağlıklı bir onarım cevabına yol açtığı ve ADAMTS ailesi proteinazların diğer üyelerinden farklı olarak ADAMTS5'in kritik doku tamir sinyal olaylarını düzenleme kapasitesine sahip olduğu ileri sürülmüştür (73).

#### **-Anti-anjiyogenik Proteinazlar (ADAMTS 1 ve 8):**

ADAMTS1 ve ADAMTS8 anti-anjiyogenik ajanlar olarak bilinirler. Bu yüzden bu iki proteinaz, tümör supresyonunda hedef proteinazlardır. ADAMTS1 ve ADAMTS8 in, Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü'nün(VEGF) uyardığı, anjiyogenezi inhibe ederek ve Fibroblast Büyüme Faktörü-2'nin uyardığı vaskularizasyonu baskılayarak etki gösterdikleri 2000 li yılların başında bulunmuştur. ADAMTS1 birden çok organda eksprese edilirken, ADAMTS8 ekspresyonunun sadece akciğerde olduğu da yapılan çalışmalarda saptanmıştır (74). ADAMTS1, ovulasyonda görev almakla beraber kalp krizinde de güçlü bir şekilde eksprese edilmektedir (75). ADAMTS8, kırıkta dokuda eksprese edilmemekle birlikte, aterosklerozda makrofajdan zengin bölgelerde eksprese olduğu gösterilmiştir (76).

#### **-Prokollajen N-proteinazlar ( ADAMTS 2, 3 ve 14 ):**

ADAMTS2, ADAMTS3 ve ADAMTS14, prokollajen kesim enzimleridir (62). Prokollajenin N-ucundaki propeptidleri uzaklaştırarak yani enzimatik olarak keserek

prokollajenin kollajen haline dönüşümünü sağlar. İlk kez büyükbaş hayvanlarda tanımlanan ve bir bağ dokusu hastalığı olan, Ehler Danlos Sendromu Tip VIIc dermisteki tip-I prokollajenin propeptid kısmının kesilip çıkarılmaması ve kollajen yapımında bozukluk meydana gelmesiyle ortaya çıkan bir sendromdur. Böylelikle normal kollajen fibril oluşumu tamamlanamadığı için haddinden fazla elastik ve kırılabilir deri tabakası oluşmuş olur. Ehler Danlos Sendromu Tip VIIc; ADAMTS2 gen mutasyonları ile seyreden otozomal resesif geçişli bir hastalıktır (63). Derinin böylesine aşırı elastik ve kırılabilir olması tip-I kollajen liflerinin anormal morfolojisinin yanında, kollajen liflerinin çaplarını yeterince artıramadıklarına bağlı olduğu da düşünülmektedir. Sonuç olarak deride kollajen liflerinin olgunlaşması için ADAMTS2'nin fonksiyon göstermesi zorunludur (77).

#### **-von Willebrand Faktörünü Parçalayan Proteinaz (von Willebrand factor-Cleaving Protease, vWFPC) (ADAMTS13):**

Büyük, multimerik bir glikoprotein olan von Willebrand Faktör (vWF), pıhtılaşma faktörü olan faktör-8'in taşıyıcı proteinidir ve trombosit agregasyonunda görev alır. Damar hasarı oluştuğunda da, trombosit adhezyonunu sağlar (78). ADAMTS13 ise vWF'ü kesen bir proteinazdır. ADAMTS13, aynı zamanda "vWF cleaving protease: vWFPC" olarak da tanımlanmaktadır. Anemi ve trombositopeni ile karakterize olan Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP) vakalarının çoğu, büyük vWF multimerlerinin daha küçük birimlere ayrılmasından sorumlu olan ADAMTS13 enziminin eksikliğinden kaynaklanır. vWF'ün proteolizi için gerekli olan ADAMTS13'ün hepatic stellat hücrelerde varlığı gösterilmiştir (56).

ADAMTS'ler, organogenez, enflamasyon ve fertilitiyi de içine alan başka hastalık gruplarında da görev almaktadırlar. Ayrıca son çalışmalar göstermektedir ki; artrit ve pek çok kanserde bazı ADAMTS genlerinin ekspresyonları değişmektedir (63).

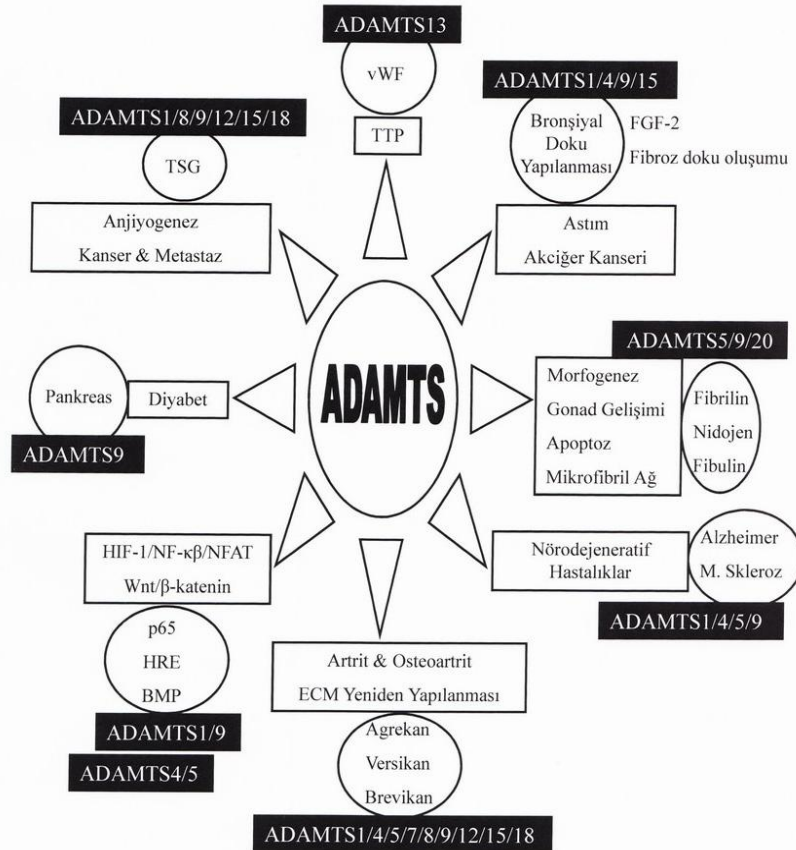
#### **3.2.2. ADAMTS'lerin İnhibitörleri**

Tüm matris proteinazların inhibisyonundan sorumlu olan TIMP'ler ( tissue inhibitors of metalloproteinase), ADAMTS'lerin de inhibitörüdürler. TIMP'ler tüm metalloproteinazların doku inhibitörleridirler. TIMP'ler hem ADAM proteinlerine hem de ADAMTS proteinlerine karşı çok daha fazla seçici davranırlar. En etkili ADAMTS

inhibitörü şu an için TIMP-3 tür (79). ADAMTS4 ve ADAMTS5; TIMP-3 tarafından çok güçlü bir şekilde inhibe edilmesine rağmen, TIMP-1, -2 ve -4 bunları inhibe edememektedir (80). Bir başka çalışmada ise ADAMTS1'i, TIMP-2 ve TIMP-3'ün 500 nM'lık konsantrasyonlarda kısmi olarak inhibe ettiği görülürken, aynı konsantrasyonlardaki TIMP-1 ve TIMP-4'ün ADAMTS1 üzerinde inhibe edici etkisinin olmadığı gösterilmiştir (81).

### 3.2.3. ADAMTS'lerin Patolojik Durumlarla İlişkisi

ADAMTS'lerin eksikliğinde ve kusurunda klinikte karşılaşılabildiğimiz ciddi hastalıklar ortaya çıkar (82). ADAMTS'lerin; bağ dokusunun yeniden yapılandırılması, pıhtılaşma, morfogenez, ovulasyon, anjiyogenez ve merkezi sinir sistemi hastalıklarında rolleri vardır. ADAMTS13'ün tam eksikliği ölümcüldür. ADAMTS9 geni olmayan fareler embriyonik hayatta ölürken, diğer ADAMTS genlerindeki mutasyonların ciddi hastalıklara yol açtığı gösterilmiştir (55).



**Şekil 4.** ADAMTS ilişkili hüresel olaylar ve bağlantılı moleküller

(Doç. Dr Kadir Demircan'ın; Journal of Clinical and Analytical Medicine dergisinde yayınlanan "Artritten Kansere ADAMTS Metalloproteinazlar / ADAMTS Metalloproteinases From Arthritis to Cancer" adlı makalesinden izinle alınmıştır.)

ADAMTS proteinazlar hem hücre dışı matriksin yeniden yapılanması (remodeling), anjiyogenez, pıhtılaşma, ovulasyon ve morfogenez gibi birçok temel fizyolojik süreçte, hem de kanser ve inflamasyon gibi çeşitli patolojik durumlarda rol alan büyük bir enzim ailesidir. ADAMTS'ler, tümör süpresör gen olarak kanser ve anjiyogenezde, HIF-1, NF- $\kappa$ B, NFAT ve RunX gibi transkripsiyon faktörleri ile beraber hipoksi ve inflamasyonda, nidojen ve fibulin molekülleri ile beraber de morfogenez ve apoptoziste çeşitli görevler üstlenirler (56).

ADAMTS4, ADAMTS9 ve ADAMTS15'in kronik astım hastalarında indüklendiği rapor edilmiştir (83). ADAMTS1 ve ADAMTS15 mRNA düzeylerinin, astımla ilişkili olduğu ve ADAMTS1'in bronşiyal dokunun yenilenmesinde rol alabileceği belirtilmiştir (84).

ADAMTS2, gen mutasyonları ile seyreden Ehler Danlos Tip VIIc, otozomal resesif geçişli bir hastalıktır (63).

ADAMTS10, deri, göz ve kalp gelişiminde önemlidir ve eksikliğinde ise; kısa boy, brakidaktili, göz ve kalp anomalileri ile karakterize nadir bir bağ doku hastalığı olan "Weill-Marchesani" sendromunu ortaya çıkarır (85).

Normal karaciğer ile karşılaştırıldığında fibrotik ve sirotik karaciğerde ADAMTS1 mRNA düzeylerinde anlamlı olarak artış olduğu bulunmuştur (83 ).

ADAMTS5, ADAMTS9 ve ADAMTS20'nin ise; apoptozis ile hücrelerin ortadan kaldırılması ve ekstraselüler matriksin temizlenmesinde rol oynadığı bulunmuş, bu sürecin aksaması durumunda, sindaktili ile karşılaşılmıştır (86).

ADAMTS16'nın 2009 yılında Joe ve ark. tarafından kan basıncı düzenlenmesinde anahtar rol oynayan yeni bir gen olduğu rapor edilmiştir (87). ADAMTS16, avuç içinde palmar fasya dokusunun fibrotik bir hastalığı olan ve kollajen birikimi ile karakterize Dupuytren hastalığında daha fazla eksprese olmaktadır (88). Özofagial skuamöz hücreli karsinomada da ADAMTS16 gen ekspresyonu yüksek bulunmuştur (89).

ADAMTS18'in, çeşitli kanserlerle sıkı bir ilişki içinde olduğu bilinmektedir (90).

ADAMTS13 mutasyonları sonucunda TTP (Trombotik Trombositopenik Purpura) ortaya çıkmaktadır (91).

ADAMTS9'un özafagial ve nazofaringeal kanserlerde tümör süpresör gen olarak rol oynadığı fonksiyonel çalışmalarla gösterilmiştir. 2000 yılında keşfedilen

ADAMTS9, tüm fetal dokularda eksprese edilmesine karşın yetişkinlerde kalp, böbrek, akciğer ve pankreas gibi dokularda daha fazla eksprese edilir. Kardiyak hücre dışı matriksinde bolca bulunan versikanın ADAMTS9 eksikliğine bağlı olarak kesilememesi sonucunda aortik anomalilerin ortaya çıktığı rapor edilmiştir. ADAMTS9 geninin, ilk kez metastaz ile ilişkisi araştırılmış ve metastatik tümörlerde ADAMTS9 mRNA ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. Bunun yanında Zeggini ve ark. büyük ölçekli bir metaanaliz çalışmasında, ADAMTS9 geninin, tip 2 diyabete yatkınlığı olan yeni bir gen lokusu olduğunu bildirmiştir (56).

ADAMTS4 uzun kemiklerin yapısında ve turn-overında görevlidir. Fare deneylerinde ADAMTS4 mutasyonlarında iskelet anomalileri izlenmiştir (82).

ADAMTS'lerin sinyal iletim yollarının belirlenmesi ve ADAMTS'leri inhibe eden faktörlerin ortaya çıkarılmasıyla ileriki zamanlarda ADAMTS'lerin klinikte kullanım alanlarının artacağı beklenen bir durumdur. Ayrıca; ADAMTS'lerin proteolitik aktivitesiyle ortaya çıkan bazı proteoglikan parçalarının ise, yeni ilaçların keşfinde kullanılacağı ihtimali gelecekte ümit verici olarak düşünülmektedir (55).

#### **3.2.4. ADAMTS1 ve ADAMTS5' in Fimozis ile İlişkilendirilmesi**

ADAMTS1; ilk olarak Kuno ve arkadaşları tarafından 1997 yılında tanımlanmıştır. ADAMTS'lerin ilk üyesi olması nedeniyle diğerlerine göre daha fazla çalışma içermektedir. 1999 yılında Vazquez ve arkadaşları tarafından ADAMTS1' in vasküler endotelial büyüme faktörü' nün (VEGF) uyardığı anjiyogenezi inhibe ettiği ve fibroblast büyüme faktörü-2'nin uyardığı vaskülarizasyonu baskıladığı bulunmuştur. Bu özelliği nedeniyle antianjiyogenik olarak tanımlanmıştır. ADAMTS1'in yapısal domainlerinin aydınlatılması, tüm ADAMTS'ler için model oluşturmuştur (92). 2009 yılında hipoksinin, ADAMTS1 gen ekspresyonunu hipoksi-indüklenebilir faktör (HIF-1) yoluyla harekete geçirdiği ilk kez gösterilmiştir (93).

Ayrıca ADAMTS1'in yapısı ve görevleri arasındaki ilişki diğer başka çalışmalarla ortaya konmuştur. ADAMTS1'in antianjiyogenik etkisi ve agrekanaz aktivitesine sahip olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir. ADAMTS1'in, agrekanın yanı sıra versikanı parçalayabildiği de bilinmektedir. Yapılan bazı çalışmalar ADAMTS1'in ekstrasellüler matriks üzerindeki etkisinin follikül üretilmesi için, versikanı degrade edici etkisinin ise ovulasyonun gerçekleşebilmesi için zorunlu

olduğunu düşündürmektedir. Nitekim ADAMTS1 devre dışı bırakılmış farelerle yapılan çalışmalarda; büyüme geriliği, yağ dokusu malformasyonu, uterus ve yumurtalık histolojisinde değişikliklerle beraber seyreden azalmış fertilité bulunmuştur. Ayrıca, ovulasyon sırasında progesteron reseptörünün ADAMTS1 mRNA'sını arttırdığı tespit edilmiştir. ADAMTS1'in kemik ve osteoblastlardaki ekspresyonu paratiroid hormon ve benzeri ajanlarla artmaktadır. Bazı kaynaklar, ADAMTS 1, 4, 5, 8, 9, 15 ve 20'yi hiyalektanları (hiyaluronana bağlanan agrekan, brevikan, versikan vb. proteoglikanları) yıktıkları için hiyalektanazlar olarak sınıflandırmaktadır (82).

ADAMTS5 fibroblast kök hücrelerinin olgun fibroblastlara dönüşmesi için ortam sağlayarak, düzenli doku tamirine yardımcı olur. ADAMTS5 eksikliğinin ise, ortamda parçalanamamış agrekanların birikmesiyle fibröz dokularda fibroblast kök hücrelerinin olgun fibroblastlara dönüşmesini engelleyen agrekan birikimine bağlı olarak sağlıklı bir onarım cevabına yol açtığı görülmüştür. ADAMTS ailesi proteinazların diğer üyelerinden farklı olarak ADAMTS5'in kritik doku tamir sinyal olaylarını düzenleme kapasitesine sahip olduğu ileri sürülmüştür (73). Osteoartritte agrekanaz düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. ADAMTS5 inaktif farelerde yapılan çalışmalarda, bu farelerin osteoartrite karşı direnç kazandıkları gösterilmiştir (71, 72).

ADAMTS1, 4, 5 ve 9' un; HIF-1, NF- $\kappa$ B, NFAT ve RunX gibi transkripsiyon faktörleri ile beraber hipoksi ve inflamasyonda rol aldıkları, ADAMTS 5, 9 ve 20'nin ise; nidojen ve fibulin molekülleri ile beraber morfogenez ve apoptoziste çeşitli görevler üstlendikleri bilinmektedir (56).

Enflamasyon ve fibrozis, fimozis patolojisinde yer alan unsurlardandır. ADAMTS1 ve ADAMTS5'in; daha önce yapılan çalışmalarda enflamasyon ve/veyafibrozisilişkisi kanıtlanmış olduğundan (54, 56, 69, 71, 73, 83, 93 ); bizim bu çalışmamızda da ADAMTS1 ve ADAMTS5 proteinazlar Western Blot yöntemi ile çalışılmıştır.



### 3. MATERYAL ve METOD

Bu çalışma; 2014 yılında Turgut Özal Üniversitesi Hastanesi Ameliyathanesi'nde Çocuk Cerrahisi Kliniği tarafından yapılan cerrahi sünnet sonucunda elde edilen prepisyum dokuları Turgut Özal Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Laboratuvarı'nda çalışıldı. Çalışmamız için öncesinde Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi tarafından Etik Kurul izni (28.11.2014-99950669/353 tarih ve sayılı etik kurul onayı) alınmış olup, doku eldesi aşamasında çocukların ailelerine çalışma ile ilgili bilgi tarafımızdan sözel ve yazılı olarak verildi ve ailelerin imzalı onamları alındı (Ek-1). Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2014 yılında sünnetini yaptığımız 4 ay ile 7 yaş arasındaki 18 çocuk hasta çalışmaya dâhil edildi. Sünnet derileri (dış prepisyum) ailenin imzalı onayı alındıktan sonra, -80 derecede saklanma koşulları yerine getirilerek laboratuvara transportu yapıldı ve dokuların ADAMTS proteinazlarla ilişkisi Western Blot yöntemi kullanılarak çalışıldı.

Çalışmaya 38 hasta ile başlandı fakat bazı örneklerin henüz protein ölçüm aşamasında içerdikleri protein miktarının yetersiz olduğu görülerek 10 örnek henüz deneyin başında çalışma dışı bırakıldı. Ölçümle protein miktarı yeterli olanlardan da, 5 tanesi hiçbir membranda görüntü vermediğinden çalışma dışı bırakıldı. Çalışmanın yürütülmesi aşamalarında 5 tane örnek çalışmayı bitiremeyecek miktarda olması nedeniyle deney sonuçları arasına konulamadı. Çalışma 18 hasta ile tamamlandı.

Kliniğimizde gerek fimozis tedavisinde ve gerekse rutin bir işlem olarak yaptığımız normal prepisyuma sahip çocuklarda cerrahi sünnet uygulandı. Poliklinikte daha önce muayenelerini yapmamıza rağmen, ameliyat öncesinde sedasyon esnasında da hastalarımızın muayeneleri tekrar yapıldı. Literatürdeki sınıflandırma 4 gruptan oluşuyordu (8). Bizim çalışmamızda da, fizik muayene ile prepisyumun ne kadar retrakte edilebilir olduğu, prepisyum orifis çapı ve işeme esnasındaki balonlaşma göz önüne alınarak, hastalarımıza fimozis tanısı konuldu. Bunlardan yalnızca ağır fimozis hastaları çalışmaya dâhil edildi. Fimozisi olmayan vakalar ise kontrol grubu olarak kabul edildi. Çalışmada bu iki grup karşılaştırıldı.

Preoperatif sedasyon sonrasında ameliyathaneye alınan çocuklarda genel anestezi verilmeye başlandığı anda penis köküne infiltrasyon anestezi (%5'lik bupivakain, SF ile birebir oranında sulandırıldı) yapıldı. Prepisyuma sirkümsizyon

kesisi yapıldıktan sonra hemostaz sağlanıp, 5/0 rapid vikrille suture ettikten sonra, uygun bir pansuman yapıldı. Sünnet derilerinin bir kısmı, içerisinde hiçbir solüsyon olmayan küçük patoloji kaplarına konuldu ve çalışılacağımız zamana kadar -80 derecede saklandı. Dokuların laboratuvara transportunda buz kalıpları kullanıldı. Böylece örneklerdeki proteinlerin denatüre olması önlendi.

Çalışmamızda Aktin; ADAMTS1 ve ADAMTS5 antikorları ile elde edilen görüntülerin güvenilirliğini doğrulamak amacıyla ve jele yüklenen protein miktarının eşit olduğunun göstergesi olarak internal kontrol olarak kullanıldı. Her bir ADAMTS bant kalınlığının sayı eldesi, Aktin bant kalınlığının sayı eldesine bölünerek ADAMTS/AKTİN oranları tespit edildi ve gerek istatistik değerlendirme ve gerekse grafikler, bu oranlar üzerinden oluşturuldu.

Değişkenler arasındaki ilişki Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak kabul edildi. Tüm verilerin istatistiksel analizi SPSS 15 programı kullanılarak yapıldı.

**Çalışma basamakları sırasıyla aşağıdaki gibi uygulandı:**

- Doku eldesi (Ameliyathanede cerrahi olarak sirkumsizyon kesisi ile alınan prepisyum örnekleri)
- Dokuların -80 derecede saklanması
- Dokuların laboratuvara uygun şartlarda transferi (buz içerisinde)
- Western blot yöntemi ile örneklerin çalışılması
- 1. Yükleme (Loading)
- 2. Elektroforez (Running)
- 3. Transfer
- 4. Antikorla muamele
- 5. Görüntüleme
- Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi

### **3.1. DENEYDE KULLANILAN CİHAZLAR**

BIORAD PowerPac Basic (041BR101855)(USA),  
BIORAD Trans-blot turbo system, 690BR006747, (USA),  
BIORAD Chemidoc MP Görüntüleme Cihazı (USA),  
Himac Microcentrifuge CT 15RE (Japan),  
Heidolph Promax 1020 shaker (Germany)  
NÜVE FN032 Dry Heat Sterilizer (Türkiye)  
Shimadzu AUW220D Hassas terazi (Japan),  
Sanyo -80 deepfreezer (MDF-U7386S,U5386S)(Japan),  
Scotsman AF80 Buz makinesi (IL, USA),  
Thermo Scientific Varioskan (USA),  
Thermo Scientific Barnstead Easypure II ultra saf su cihazı (USA),  
Techne Dri-Block DB-2D heatblock (UK),  
Tissue Ruptor, TR12521583, QIAGEN Hilden (Germany),  
VWR advanced VMS-C7 manyetik karıştırıcı (Korea),  
VWR International Vortex (Germany),  
VWR Galaxy Ministar spin arttırıcı (Korea),

### **3.2. WESTERN BLOT**

Spesifik bir proteini görüntülememizi sağlayan moleküler biyoloji tekniğinin adına western blot denir. Blotlama: Jelden membrana ( nitroselüloz veya PVDF ) geçirme/emdirme işlemine denir. Bu teknik aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır (94):

1. Total protein eldesi
2. Protein miktar tayini
3. Proteinlerin kaynatılması
4. SDS-PAGE hazırlama
5. Proteinlerin jelle yüklenmesi
6. Jel elektroforezi
7. Jelden membrana aktarım (transfer), jelin membrana emdirilmesi (blotting)
8. Birinci antikor ile muamele
9. Yıkama
10. İkinci antikor ile muamele

11. Yıkama
12. Görüntüleme
13. Kontrol proteini (Internal kontrol) çalışması
14. Analiz ve yayın için şekil hazırlanması

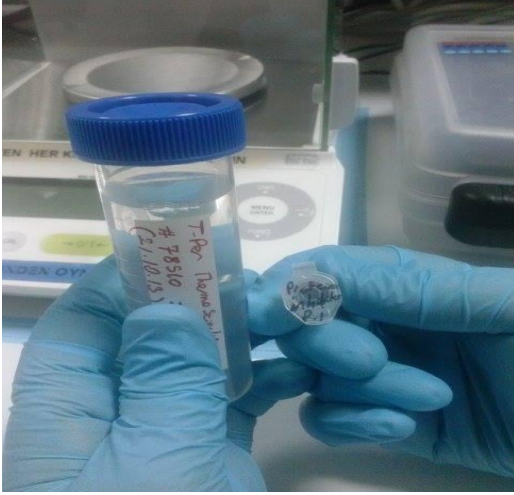
### **3.2.1. Protein İzolasyonu**

Doku içerisindeki hücrelerin parçalanarak proteinleri içeren kısmın diğer kısımlardan ayrıştırılması işlemidir. Kullanılan lizis solüsyonu ( deterjan, lipidleri ayrıştırır ) hücre zarlarını parçalar. Hücre parçalanınca hücredeki protein parçalayıcı proteaz enzimleri de ortaya çıkacağından proteinleri bundan korumak gerektiği için proteaz inhibitör kokteylleri kullanılır. Bu inhibitörler proteazların aktivitesini engeller, proteinler parçalanmaktan korur. Lizis solüsyonunun görevi biyolojik membranları parçalamak, proteaz inhibitörünün görevi ise proteinleri proteaz enzimlerinin saldırısından korumaktır.

#### **İzolasyon Protokolü:**

-80 °C den çıkarılan prepisyum dokusunu kan kalıntılarından temizlemek için soğuk PBS ile 2 kez yıkama yapıldı, ardından dokular bistüri ile kıyıldı, çok küçük parçalara ayrıldı. Parçalanmış doku 2 ml'lik ependorf tüplere alınıp 10.000 rpm 4 °C' de 5 dk santrifüj edildi. Proteinlerin ısı etkisiyle denatüre olmaması için bundan sonraki tüm basamaklar buz üstünde yürütüldü. Santrifüjden alınan tüplerin içindeki sıvı kısım atıldı. Dipte kalan pellet yani katı kısım asıl protein eldemiz için hazır hale getirilmiş oldu.

Parçalanmış ve çöktürülmüş dokulara (pellet), 240 µl lizis solüsyonu ve 10 µl proteaz inhibitörü (1/100) pipetlendi.



**Resim 2.** Liysis buffer, proteaz inhibitörü



**Resim 3.** Santrifüj 14,000 rpm, 20 dk,  
+4 °C

Eppendorfler 15 dakika shakerda sallanmaya bırakıldı. Dokular 14.000 rpm’de 20 dk tekrar santrifüj edildi. Sonuçta protein içeren kısım olan süpernatant (üstteki sıvı kısım) başka bir tüpe aktarıldı ve alttaki katı kısım olan pellet atıldı.

### 3.2.2. Protein Miktar Tayini

Western Blot yönteminde; jele ortalama 10-30 µg arası protein yüklenmesi gerektiğinden, elimizdeki protein miktarının bilinmesi gerekmekteydi bunun için spektrofotometrik ölçüm yapıldı ve Bradford protein tayin metodu kullanıldı.

#### **Protokol (Bradford yöntemi):**

Elde edilen süpernatantın 25 µl’si alındı ve temiz eppendorflara aktarıldı (Toplamda 230-240 µl örneğim varken, 25µl’sini başka eppendorflere koymuş olduk. 200µl civarında süpernatant elimizde kalmış oldu). 25 µl’lik örnek bulunan eppendorflerin üzerine 1,5 ml Bradford solüsyonu eklendi ve karıştırıldı.

Spektrofotometre 595 nm dalga boyuna ayarlanıp önce 2 tane mikro küvete sadece Bradford konuldu.(595 nm dalga boyunun seçilmesinin sebebi proteinlerin bu dalga boyunda en iyi absorban vermesidir). İçinde sadece Bradford solüsyonu olan 2 adet mikro küvetten biri kör kuyucuğuna diğeri ise birinci örnek kuyucuğuna konulup oto-zero tuşuna basıldı. Göstergede absorban 0.00’ı gösterdikten sonra birinci örnek kuyucuğundaki mikro küvet çıkarılıp yerine örneklerimizi tek tek koyarak absorban değerleri tespit edildi.



**Resim 4.** Spektrofotometre

Daha önce konsantrasyonları bilinen çözeltilere karşı elde edilen absorbans değerleri baz alınarak oluşturulan “y” denkleminde ( $y = 0,6146x + 0,1751$ ), spektrofotometrede elde edilen absorbans değerleri her bir örnek için y yerine yazılıp protein miktarı (x) hesaplandı.

Örneğin:

Örnek	Absorbance (y) OD	Miktar (x) $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
1	1,142	1,57
2	1,093	1,49
3	1,146	1,60

Burada absorbans ölçülüp denklemden y yerine yazılıp protein miktarı (x) hesaplanır.

Birinci örnek miktar  $1,57 \mu\text{g}/\mu\text{l}$  ise  $\Rightarrow 15 \mu\text{g}$  yüklemek için kaç  $\mu\text{l}$  örnek alınacağı  $X = 15/1,57 = 9,53 \mu\text{l}$  bulunur.

Bu formül ile yüklemde kullanılacak protein miktarı hesaplanmış olmaktadır. Sonuçta bulunan  $R^2$  değerinin  $0,95-0,99$  arası olması idealdir. Bu oranın altında çıkan değerlerin olması durumunda standartlar yeniden hazırlanıp ölçümler tekrarlanmalıdır. Bizim örneklerimiz iki tekrarlı olarak ölçüldü ve uygun  $R^2$  değerinin elde edildiği ölçümlerle deneye devam edildi.

### 3.2.3. Kaynatma

Elde edilen proteinler 95<sup>0</sup>C'de 5 dk kaynatılmalıdır. Kaynatma işleminin amacı proteinlerin üç boyutlu yapılarını tek boyuta indirgemektir. Bunun için Sample buffer ve betamerkaptoetanol (BME) kullanıldı.



**Resim 5.** Heat Block

Önce %5 betamerkaptoetanollü sample buffer hazırlandı. Protein örnekleri %5'lik BME ile 1:1 dilüe edildi. Bu karışım 95<sup>0</sup>C'de 7 dk kaynatıldı (heat block). Kaynatma ile proteinler arasındaki bağların kırılması ve proteinin lineer hale getirilmesi sağlandı. Böylece proteinin jelde hareketi kolaylaştırılmış oldu.

### 3.2.4. SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat- Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi)

Yüklü moleküllerin elektrik alanda ayrılmasını sağlayan teknik elektrofrezdir. En iyi ayrışım poliakrilamid jel elektrofrezisi ile sağlanmaktadır. Burada mekanizma kimyasal bir reaksiyona dayanır. Etrafı eksi yüklerle sarılan proteinler elektrik akımı verilince pozitif kutba doğru koşarlar. Binlerce protein bu şekilde moleküler ağırlık ve elektrik yükü gibi faktörler nedeniyle birbirinden ayrılır.

**SDS** (sodyum dodesil sülfat); deterjandır. Hücre zarındaki lipid tabakayı parçalar aynı zamanda proteinlerin etrafında negatif yük katmanı oluşturur. Böylece tüm proteinlerin aynı hızda jelde hareket etmesini sağlar.

**PAGE** (poliakrilamid jel elektroforezi); jel veya matriks ortam proteinlerini ayırtmaya yarar.

Bundan sonraki işlem hazırlanan proteinleri jelde yürütmektir. Bunun için iki yöntem mevcuttur; biri hazır jel diğeri ise gerekli kimyasalları kullanarak hazırlanan jeldir. Bizim çalışmamızda kendi hazırladığımız jel kullanılmıştır. Hangi kimyasalların ne ölçüde konduğu ve hazırlanma şekli aşağıda verilmiştir:

**APS** (amonyum persülfat); suda çözünür, birçok uygulamada kullanılan güçlü bir okside edici ajandır. Poliakrilamid jel yapımında akrilamid polimerizasyonunu katalize etmek için tetrametilendiamin (TEMED) ile birlikte kullanılır. Göz, burun, boğaz, akciğer ve temas halinde deriyi tahriş edebilir. APS taze olarak hazırlanır (0,1 gr / 1 ml dH<sub>2</sub>O).

**TEMED** (tetrametilendiamin); hızlı donmayı sağlar. Polimerizasyonu başlatan APS dir katalizör ise TEMED'dir.

**Bisakrilamid**; protein analizinde kullanılır. Por çapı küçük olduğundan proteinlerin daha iyi bir şekilde yürümesini sağlar.

**Tris**; bir tampondur. Jelimiz iki kısımdan (Running jel ve Stacking jel) oluştuğu için iki farklı molarite ve pH'da hazırlanır ve kullanılır.

#### **%10'luk tek bir jel için gerekli malzemeler:**

	<b>Running - resolving jel için</b>	<b>Stacking jel için</b>
MiliQ	3 ml	1,125 ml
%30 Acrylamide Bis	2,25 ml	262 µl
Tris HCl	1,875 ml	475 µl
	1,5 MpH= 8.8	0,5 MpH= 6.8
%10 SDS	75 µl	19 µl
%10 APS	37,5 µl	19 µl
TEMED	20 µl	5 µl





**Resim 6.** Jel dökme aparatı

Jel dökme aparatını hazırladıktan sonra; yukarıdaki sırayı takip ederek hazırladığımız Running jel, (TEMED polimerize etmeden yani donmadan) hızlıcamlar (biri kalın diğeri ise ince camdır ve bunların arası 1 mm'dir) arasına pipetlendi ve üzerine izopropanol ilave edilerek hava ile temasını kesildi (Böylece polimerizasyon en iyi şekilde sağlanmış oldu. Aynı zamanda izopropanol (alkol), jelde oluşan dalgalanmaları yok ettiğinden düz bir hat halinde jelin polimerleşmesi sağlandı. Bu sayede proteinlerin aynı seviyeden yürümeye başlaması ve aynı kDa'a sahip bantların, aynı hızda olması sağlanmış oldu). Polimerleşme tamamlandıktan sonra üstteki izopropanol döküldü.

Ayrı bir falkonda Stacking jel; kimyasallar aynı şekilde yukarıda belirtilen sıraya göre pipetlenerek hazırlandı. Running jelin üzerine Stacking jel hızlıca pipetlendi. Aktarım tamamlanır tamamlanmaz jel tarağı dikkatlice iki cam arasına yerleştirildi. Jelin tam olarak donması beklendi. Jel donduğunda polimerizasyon bitmiş ve jel protein yüklemeye hazır hale gelmiş oldu.

### **3.2.5. Yükleme**

Resimde gördüğümüz elektroforez tankının içerisi, yarısına kadar Running Buffer'la doldurulduktan sonra; biraz önce hazırladığımız jel tanka yerleştirildi.



**Resim 7. Jel Yükleme Tankı**

Daha önce yüklemeye hazır hale getirdiğimiz örneklerimizin her birinden 12'şer  $\mu$ l olacak şekilde jelin kuyucuklarına tek tek yüklendi. Yürütülen proteinlerin kaç kDa olduğunu anlamak için marker yüklemesi yapıldı ve bunun için bir kuyucuğa 3  $\mu$ l marker konuldu. Jel yükleme tankı önce 90 V, 20 dakikaya; ardından da, 120V, 100 dakikaya ayarlandı ve toplamda 120 dakika yürütüldü.

Tank içerisine koyduğumuz Running solüsyonu aşağıdaki gibi hazırlandı.

**10XRunning solüsyonu (1 litre dw):**

Tris	30,3 gr
Glisin	144,1 gr
SDS	10 gr

**3.2.6. Transfer İşlemi**

Aşağıdaki formüle göre transfer solüsyonu hazırlandı:

<b>Transfer Solüsyonu (Buffer)</b>	
Tris	1,14 gr
Glisin	5,4 gr
Metanol	75ml
Distile Su	300 ml'ye tamamlanır

Her bir whatman kağıdı ve nitroselüloz membran öncelikle transfer solüsyonu içerisinde iyice ıslatıldıktan sonra; sırasıyla en alta 3adet wathman kağıdı, üzerine nitroselüloz membran, sonra SDS-PAGE ( sıra SDS-PAGE (jel)'i koymaya gelinceye kadar, jel running solüsyon içerisinde bekletildi ve böylece jelin kuruması önlendi ) ve en üste tekrar 3 adet wathman kağıdı konularak transfere hazır hale getirildi ve transfer cihazına yerleştirildi. Transfer işlemi 30 dk boyunca; 25 Volt, 1 Amper ayarında yapıldı.



**Resim 8.** Turbo Transfer Cihazı

Transfer cihazı; - yükten + kutba doğru elektrik akımı vererek proteinlerin jelden membrana geçmesini sağlar. Böylelikle Jeldeki proteinler daha sağlam ve daha rahatça kullanılacak bir membrana emdirilmiş olur. Tekniğin adına bu nedenle blotlama denilmiştir.

### **3.2.7. Bloklama**

Membran üzerindeki nonspesifik bağlanma bölgelerinin bloke edilmesi, membranda bulunan proteinlerin sabitlenmesi ve membranın arka yüzünün beyaz veya temiz olması için de mutlaka yapılması gereken bir basamaktır. Bu amaçla süt tozu bovin serum albümin (BSA) kullanıldı. Membran üzerine dökülen %5'lik süt tozu ile shaker üzerinde 1.5 saat bloklama (sallanma) yapıldı.

%5'lik süt tozu czeltisi hazırlamak için TBS-T czeltisi kullanılır:

<b>TBS-T hazırlama</b> 8,8 gr Tris Base 1,2 gr NaCl 500 µl Tween 20 750 ml water En son pH ayarı yapılır Hacim 1 litreye tamamlanır	<b>%5'lik süt tozu</b> <b>(Taze hazırla, kullan at)</b> 2.5 gr süt tozu tartılır 50 ml'lik falkona konulur 50 ml TBS-T içinde czntr %5 lik süt tozu +4 derece saklanır(buna dikkat edilmelidir)
---	---

### 3.2.8. Birinci Antikor ( 1. Ab)

ADAMTS1 ve ADAMTS5 birinci antikorumuzu oluşturmaktadır. Çalışılan bu membranların internal kontrol calışması Aktin ile yapılmıştır. Her  Ab için de; 3ml %5 lik süt tozuna 0.3 µl ADAMTS Ab'u eklendi böylece 1/1000 lik Ab elde edildi. Membran bir kaba konulup, 1/1000'lik Ab solüsyonu membranın üzerine döküldü. Membranın n yüzü 1. Ab ile temas edecek şekilde +4°C'de soğuk odada bir gece shaker üzerinde beklemeye (sallanma) bırakıldı. Ertesi gün kabımızdaki antikor tekrar pipetle alınarak başka calışmalarda tekrar kullanmak üzere +4 °C ye kaldırıldı.

### 3.2.9. İkinci Antikor ( 2. Ab)

Birinci antikorları üzerine iyice bağlamış olan bu membran 3 kez 6'şar dk TBS-T ile yıkandıktan sonra membranın üzerine ikinci antikorumuz pipetlendi. %5'lik süt tozunda 1/5000 oranında 2. Ab olan; ADAMTS1 için Mouse (santacruse-sc), ADAMTS5 için Rabbit (sc) ve Aktin için ise Mouse (sc)eklendi ve oda sıcaklığında shakerda 1 saat inkübe edildi. Bir saat sonra membran TBS-T ile 3x6 dk yıkandı (bu yıkamaların sebebi başka zayıf bağlanmaları temizlemektir).

### 3.2.10. ECL solüsyonu ile görüntüleme

Görüntüleme aşamasına geçildi. Bir streç filmi calışma benimize gergince serdikten sonra; 2.7 ml distile su, 150µl Lumi A ve 150 µl Lumi B (ECL) damlalar halinde streç film üzerine damlatıldı. Membranın n yüzü ECL solüsyonuyla tam temas edecek şekilde 5-10 dakika bekletildikten sonra görüntüleme yapıldı ve elde edilen sonuçlar kaydedildi.

#### 4. BULGULAR

Bu çalışmaya yaşları 4 ay ile 7 yaş ( $5,2\pm 2,3$ ) arasında değişen 18 çocuk hasta dâhil edildi. Kontrol grubunda  $n=10$  ( $6,4\pm 0,7$ ) hasta, fimozis grubunda  $n= 8$  ( $3,7\pm 2,8$ ) hasta vardı. Fimozis grubunda 2 hastanın sık idrar yolu enfeksiyonu geçirme hikâyesi vardı ve her iki hasta da bir kez balanit geçirmişti. İdrar yaparken ağrı, huzursuzluk ya da ağlama şeklinde tarif edilen semptomlarla pediatri polikliniğine başvuran 2 hasta polikliniğimize konsulte edildi. Hastalara fizik muayene ile fimozis tanısı konuldu. Bu hastalardan 1 tanesi sağ multikistik displastik böbrek tanısıyla takipli idi. Gömülü penisi olan 1 fimozisli hastamızın aynı seansta düzeltici ameliyatı da yapıldı. Hiçbir hastada komplikasyon gelişmedi. 10. gün yaptığımız rutin kontrol muayeneleri normaldi. Aşağıda tabloda, gruplara göre ADAMTS 1, 5, aktin değerleri ve oranları verilmiştir. Her bir örneğin Western blot bant yoğunluğunun sayısal olarak ifadeleri yer almaktadır.

**Tablo 2.** Western blot bant yoğunluğunun sayısal olarak ifadeleri

HASTA SAYISI (n=18)	GRUP	<u>ADAMTS1</u> *	<u>AKTİN</u>	<u>ADAMTS1/AKTİN</u> **	<u>ADAMTS5</u>	<u>AKTİN</u>	<u>ADAMTS5/AKTİN</u>
1	F1	624474	8452000	0.07	6698556	8452000	0.79
2	F2	843570	8053640	0.10	5751627	8053640	0.71
3	F3	278118	7856586	0.04	6597564	7856586	0.84
4	F4	749880	9058934	0.08	7725225	9058934	0.85
5	F5	1243026	12632750	0.10	11028860	12632750	0.87
6	F6	1926342	10936740	0.18	12045852	10936740	1.10
7	F7	828342	11595900	0.07	4830295	11595900	0.42
8	F8	464868	9471200	0.05	4894691	9471200	0.52
9	K1	930600	8399118	0.11	4569515	8399118	0.54
10	K2	719262	9484540	0.08	4203335	9484540	0.44
11	K3	1569546	8469180	0.19	6223649	8469180	0.73
12	K4	813816	10494120	0.08	4142985	10494120	0.39
13	K5	668898	12806354	0.05	7196032	12806354	0.56
14	K6	123912	10360959	0.01	4968930	10360959	0.48
15	K7	328890	7497675	0.04	ND	ND	ND
16	K8	314250	4271425	0.07	ND	ND	ND
17	K9	ND	ND	ND	1202812	658266	1.83
18	K10	ND	ND	ND	308900	310524	0.99

(\*): ADAMTS protein düzeyinin dansitometrik bant yoğunluğunun sayısal değerleri

(\*\*): ADAMTS protein düzeyinin, Aktin protein düzeyine oranının relatif değerleri

(Not: Veri elde edilemeyen datalar ND (not determined) olarak ifade edildi. Deneyde veri elde edilememesinin nedenleri arasında; örneklerin transport zincirine dikkat edilmesine rağmen yapısının bozulabilir olabilmesi, aynı örneğin ardı ardına çalışmalarda -80 derece(saklanma) ile buz soğukluğu (çalışma esnasında) arasındaki ısı farkından dolayı proteinlerinin denatüre olabilmesi, Western blotun her bir basamağında kullanılan cihaz, materyal ve kimyasalların bileşenleri ile ilgili aksaklıklar sayılabilir.)

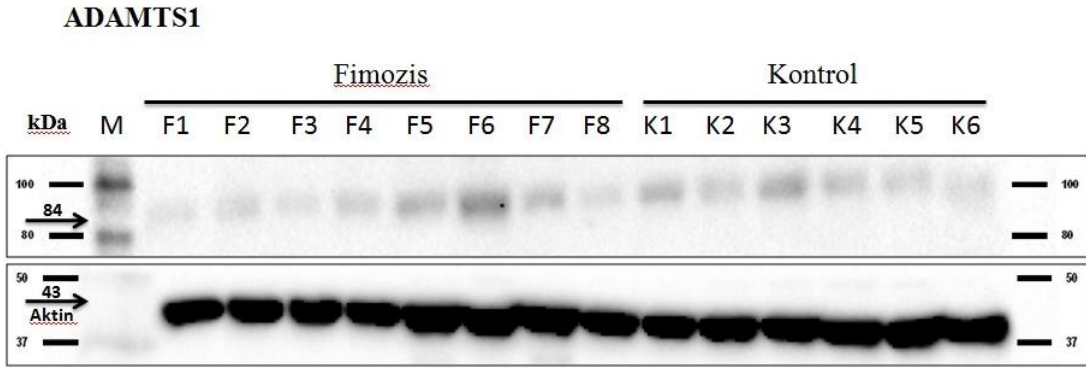
## 4.1. WESTERN GÖRÜNTÜLEME

### 4.1.1. ADAMTS1

ADAMTS1 antikorunun 84 kDa'da ADAMTS1 yürüme bandı görüntüsü elde edildi. ADAMTS1 western blot görüntüleme sonucu ve aynı proteinlerin Aktin ile doğrulanma (internal kontrol) görüntüsü aşağıda örnek bir membran üzerinde Şekil 5'de gösterilmiştir.

Fimozis Grubu: F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8

Kontrol Grubu: K1, K2, K3, K4, K5, K6, K7, K8



Şekil 5. ADAMTS1'in Aktin ile birlikte western blot bant görüntüsü (bir adet membrana ait örnek görüntü)

### 4.1.2. ADAMTS5

ADAMTS5 antikorunun 75 kDa'da ADAMTS5 yürüme bandı görüntüsü elde edildi. ADAMTS5 western blot görüntüleme sonucu ve aynı proteinlerin Aktin ile doğrulanma (internal kontrol) görüntüsü aşağıda örnek bir membran üzerinde Şekil 6'da gösterilmiştir.

Fimozis Grubu: F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8

Kontrol Grubu: K1, K2, K3, K4, K5, K6, K9, K10



Şekil 6. ADAMTS5'in Aktin ile birlikte western blot bant görüntüsü (bir adet membrana ait örnek görüntü)

## 4.2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ ve BULGULAR

Grupların ortalama değerleri SPSS istatistik programında Mann Whitney testi kullanılarak karşılaştırıldı.  $p < 0,05$  olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Fimozis grubu ile kontrol grubu ADAMTS1/AKTİN yönünden karşılaştırıldığında; fimozis grubunda elde edilen değer daha yüksek çıkmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p = 0,753$ ).

Fimozis grubu ile kontrol grubu ADAMTS5/AKTİN yönünden karşılaştırıldığında; fimozis grubunda elde edilen değer daha yüksek çıkmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p = 0,401$ ).

**Tablo 3.** Grup Ortalamaları

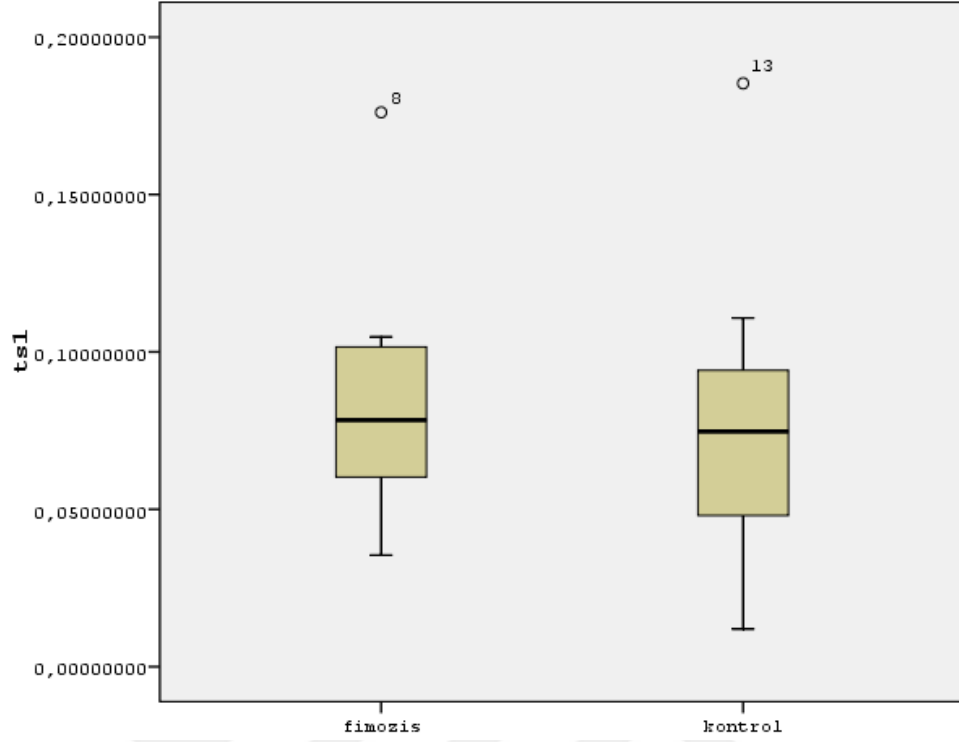
ADAMTS/AKTİN	<b>FİMOZİS</b> (Mean±SD.)	<b>KONTROL</b> (Mean±SD.)	<b>p</b>
<b>ADAMTS1/ AKTİN *</b>	0,08±0,04	0,07±0,05	0,753
<b>ADAMTS5/ AKTİN **</b>	0,76±0,21	0,74±0,47	0,401

(\*)ADAMTS1 protein düzeyinin Aktin protein düzeyine oranının tüm hasta ve kontrol gruplarındaki relatif ortalama değerleri

(\*\*)ADAMTS5 protein düzeyinin Aktin protein düzeyine oranının tüm hasta ve kontrol gruplarındaki relatif ortalama değerleri

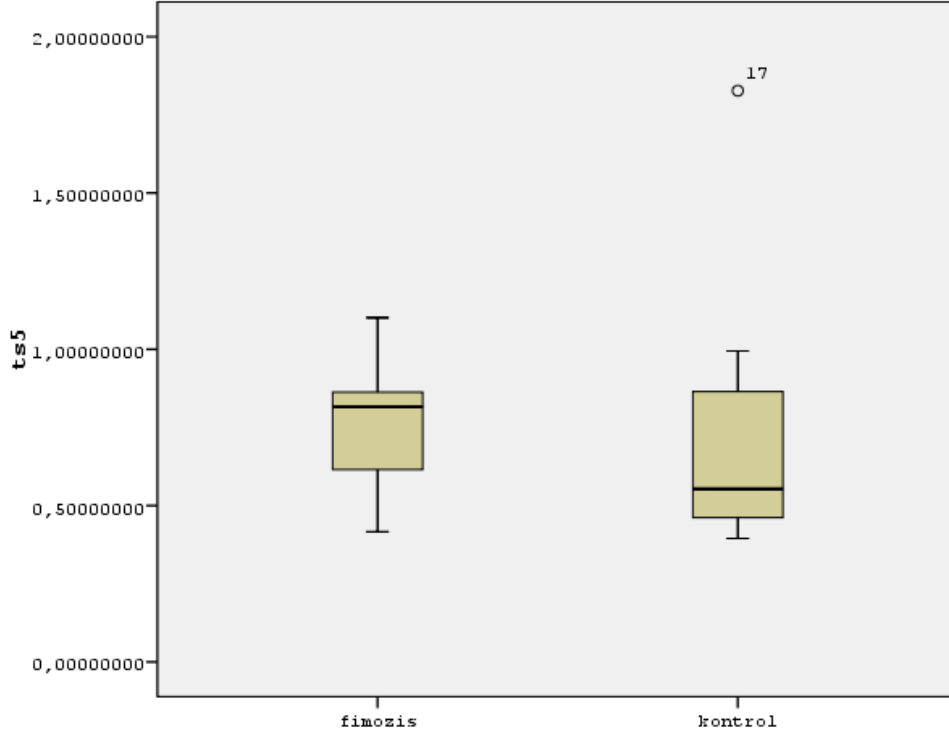
Aşağıda ADAMTS1 ve ADAMTS5' e ait box plot grafileeri verilmiştir (Grafik1 ve 2)





**Grafik 1.** ADAMTS1 box plot grafi

Yukarıdaki grafide Fimozis grubunda; ADAMTS1 ortanca: 0,07, %25. değeri: 0,05, %75. değeri: 0,1, minimum: 0,03, maximum: 0,17 olarak saptanmıştır. Kontrol grubunda ise ADAMTS1 ortanca: 0,07, %25. değeri: 0,04, %75. değeri: 0,1, minimum: 0,01, maximum: 0,18 olarak saptanmıştır. Bu bulgular Fimozis grubu ile Kontrol grubunun ADAMTS1 ortanca değerlerinin eşit olduğunu göstermektedir.



**Grafik 2.** ADAMTS5 box plot grafi

Yukarıdaki grafide Fimozis grubunda; ADAMTS5 ortanca: 0,81, %25. değeri: 0,56, %75.değeri: 0,86, minimum: 0,41, maximum: 1,1 olarak saptanmıştır. Kontrol grubunda ise ADAMTS5 ortanca: 0,55, %25. değeri: 0,45, %75. değeri: 0,92, minimum: 0,39, maximum: 1,82 olarak saptanmıştır. Bu bulgular Fimozis grubunun ADAMTS5 ortanca değerinin, Kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu göstermektedir.

## 5. TARTIŞMA

ADAMTS proteinazlar birçok hastalığın patolojisinde rol oynamaktadır. İlk olarak 1997 yılında Kuno ve arkadaşları tarafından kolon kanserinde, enflamasyonla ilişkili olarak tanımlanmıştır. Embriyolojik dönemde de sentezlenen ADAMTS'ler doku yeniden yapılanması, pıhtılaşma, anjiyogenez ve ovulasyon gibi birçok fizyolojik olayda rol alır. Ayrıca hücre dışı matriksin ve bazal membranın parçalanması, tümör hücresi invazyonu ve metastaz gibi patolojik süreçlerde de görevleri bulunmaktadır (6).

2009 yılında hipoksinin, ADAMTS1 gen ekspresyonunu hipoksi-indüklenebilir faktör (HIF-1) yoluyla harekete geçirdiği ilk kez gösterilmiştir (93).

ADAMTS1, 4 ve 5'in aktivitelerinin artritte bariz arttığı literatürde bildirilmiştir (69).

Normal karaciğer ile karşılaştırıldığında fibrotik ve sirotik karaciğerde ADAMTS1 mRNA düzeylerinde anlamlı olarak artış olduğu bulunmuştur (83).

ADAMTS1, 4, 5 ve 9'un; HIF-1, NF- $\kappa$ B, NFAT ve RunX gibi transkripsiyon faktörleri ile beraber hipoksi ve inflamasyonda rol aldıkları bilinmektedir (56).

ADAMTS'ler, organogenez, enflamasyon ve fertilitiyi de içine alan başka hastalık gruplarında da görev almaktadırlar. Ayrıca son çalışmalar göstermektedir ki; artritde ve pek çok kanserde bazı ADAMTS genlerinin ekspresyonları değişmektedir (63).

ADAMTS proteinazların birçok klinik ve patolojik durum ile ilişkisi vardır. Bizim ülkemiz gibi nüfusunun çoğunluğu Müslüman olan toplumlarda ve hatta Müslüman olmayan toplumlarda dahi çok sık yapılan sünnet cerrahisi üzerinde yapılan örnek bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

Bizim çalışmamızda fimozis patolojisinde suçlanan nedenler arasında yer alan enflamasyon ve fibrozis ile ADAMTS1 ve 5'in ilişkisi incelendi. ADAMTS1 ve 5'in düzenleyici agrekanazlar olması nedeniyle fimozis kliniğinde bu proteinazların rolünün olması beklendi.

Ayrıca; fibröz dokularda ADAMTS5 eksikliğinin, fibroblast kök hücrelerinin olgun fibroblastlara dönüşümünü önleyen agrekan birikimine bağlı olarak sağlıklı bir onarım cevabına yol açtığı ve ADAMTS ailesi proteinazların diğer üyelerinden farklı olarak ADAMTS5'in kritik doku tamir sinyal olaylarını düzenleme kapasitesine sahip

olduğu bilinmektedir (71). ADAMTS5 geni enflamasyonla ilişkili bir gen olduğundan, fimozisde meydana gelen enflamasyonda ADAMTS5'in rolü olabilir çünkü bu çalışmadaki ADAMTS5 proteinindeki artış, enflamasyon sürecindeki bazı moleküler mekanizmaların harekete geçtiğini göstermektedir.

Bizim çalışmamızda fimozis grubunda ADAMTS1 ve ADAMTS5'in arttığı tesbit edilmiş olmakla birlikte bu değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Western Blot; çok basamaklı ve güvenilirlik arzeden değerli bir laboratuvar yöntemidir. Bu konuda; vaka sayısının artırılması ve anlamlılık arzedeabilecek diğer ADAMTS'lerin de dahil edileceği çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmaya aldığımız ADAMTS1 ve 5'in yanısıra, yukarıda bahsedilen ADAMTS4, 9 ve 20'nin de bundan sonra yapılacak çalışmalara anlamlı katkı sağlayabileceğini düşünöyoruz.

Bizim çalışmamız bu hususta bir ön çalışma olup, bundan sonraki çalışmalarda daha yüksek vaka sayısı ve enflamasyonla ilişkili diğer ADAMTS'lerin de dahil edileceği yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Sonuç:** Fimozis grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ADAMTS1 ve ADAMTS5 proteinazlar daha yüksek bulunmakla birlikte, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Bunun nedeni gruplardaki olgu sayısının az olması, standart sapmaların yüksek olması olabilir. Fimozisle ADAMTS proteinazların ilişkisini net ortaya koyabilmek için daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 6. KAYNAKLAR

- 1) **Büyükalpelli, R. Sarıkaya, Ş. Aşçi, R.** (1999). Phimosi and circumciion in children. *Eur. Urol.*, 35, 1-9.
- 2) **Ellis, D. G., Mann, C. M., O'Neill, J. A., Rowe, M. I., Grosfeld, J. L., Fonkalsrud, E. W. ve Coran, A. G.** (1998). Abnormalities of the urethra, penis, and scrotum. *Pediatric Surgery*. 5th edition (Sf.1783-1795). St. Louis Mosby-Year Book.
- 3) **Brisson, P. A., Patel, H. I. ve Feins, N. R.** (2002). Revision of circumciion in children Report of 56 cases, *J Pediatr. Surg.*, 37, 1343-13466.
- 4) **WHO (2007)**. Male circumciion: global trends and determinants of prevalence, safetyandacceptability,[http://whqlibdoc.who.int/publications/2007/9789241596169\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2007/9789241596169_eng.pdf).
- 5) **Yavuz, M., Demir, T. ve Doğangün, B.** (2012). Sünnetin Çocuk Ruh Sağlığı Üzerine Etkisi: Gözden Geçirme Çalışması, *Türk Psikiyatri Dergisi*, 23, 1, 63-70.
- 6) **Kuno, K., Kanada, N., Nakashima, E., Fujiki, F., Ichimura, F. ve Matsushima, K.** (1997). Molecular cloning of a gene encoding a new type of metalloproteinase-disintegrin family protein with thrombospondin motifs as an inflammation associated gene. *J. Biol. Chem.*, 272, 1, 556-562
- 7) **Chu, C. C., Chen, K.C. ve Diau, G. Y.** (1999). Topical steroid treatment of Phimosi in boys, *J Urol.*, 162, 861-863.
- 8) **Kayaba, H., Tamura, H., Kitajima, S., Fujiwara, Y. ve Kato, T.** (1996). Analysis of shape and retractability of the prepucein 603 Japanese boys. *J Urol.*, 156, 1813-1815.
- 9) **Yapanoğlu, T., Aksoy, Y., Atmaca, A. F., Ziypak, T., Cesur, M. ve Özbey İ.** (2004). Bölgemizde Sünnet Komplikasyonları, *Türk Üroloji Dergisi*, 30, 441-445.
- 10) **Maden, H. A.** (2012). Fimozis ve Sünnet, *Dr. Sami Ulus Sağlık Dergisi*, 4, 11.

- 11) **İzgi, M. C.** (2014). Tedavi Amaçlı Olmayan Erkek Çocuk Sünnetinin Etik Değerlendirmesi, *Türk Psikiyatri Dergisi*, 25, 3.
- 12) Cankorkmaz L, Çetinkaya S, Köylüoğlu G. Pratisyen Hekimlerin Sünnetle İlgili Bilgi Düzeyleri. *Trakya University Faculty of Medicine, Balkan Med* 2011;28: 264-268.
- 12) **Cankorkmaz, L., Çetinkaya, S. ve Köylüoğlu, G.** (2011). Pratisyen Hekimlerin Sünnetle İlgili Bilgi Düzeyleri, *Trakya University Faculty of Medicine, Balkan Med.*, 28, 264-268.
- 13) **Tuğ, S.** (1973). Muhammed Hamidullah İslâm Peygamberi kitabı. (Sf. 291). İstanbul
- 14) **Bayat, A. H.** (2010). Tıp Tarihi. *Merkezeşendi Geleneksel Tıp Derneği ISBN 978-975-00024-4-1.* (sf. 45). İstanbul
- 15) **Sivash, E., Bozkurt, A. İ., Ceylan, H. ve ark.** (2003). Gaziantep Bölgesindeki Anne ve Babaların Sünnet ile İlgili Bilgi, Tutum ve Davranışları, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 46, 114-118.
- 16) **Büyükcinal, C.** (2010). Türkiye’de Çocuk Cerrahisinin Tarihçesi, *Çocuk Cerrahisi Dergisi*, 24, 2, 55-66.
- 17) **Davis, F. A.** (2007). Peter Charles Remondino History of circumcision from the earliest times to present (1891). (Sf. 21-33). Philadelphia.
- 18) **Lerman, S. E. ve Liao, J.C.** (2001). Neonatal circumcision, *Pediatr. Clin. North. Am.* 48, 1539-1557.
- 19) **Gairdner, D.** (1949). The fate of the foreskin: a study of circumcision, *Br. Med. J.*, 4642, 1433-1437.
- 20) **Amerikan Pediatri Akademisi-Biyoetik Komitesi** (1989). Report of the task force on circumcision, *Pediatrics*, 84, 388-391.

- 21) **Aksu, M., Çetin, İ. ve Yıldırım, İ.** (2008). Erkek Çocuk Sünneti ve İçinde Barındırdığı Etik Sorunlar. 5. Tıp Etiği Kongresi, Türkiye Biyoetik Derneği, (Sf.116-117). Ankara.
- 22) **Mazor, J.** (2013). The child's interests and the case for the permissibility of male infant circumcision, *J. Med. Ethics*, 39, 421-428.
- 23) **Moses, S., Bailey, R. C. ve Ronald, A. R.** (1998) Male circumcision: assessment of health benefits and risks, *Sex Transm. Infect.*, 74, 368-373.
- 24) **Sözübir, S.** (2010). Çocuk Hekimleri İçin Sünnet Bilgileri, *Türk Ped. Arş. Özel Sayı*, 45, 100-103.
- 25) **Koo, H. P. ve Duckett, J. W.** (1995). Circumcision-Quo Vadis? *Pediatric Cerrahi Dergisi*, 9, 149-154.
- 26) **Görgel, S. N. ve Tol, B. E.** (2013). The application of a penile block before circumcision: effects on the postoperative FLACC score and analgesic requirement, *Turkish Journal of Urology*, 39, 1, 39-42.
- 27) **Yılmaz, Y., Özsoy, S. A. ve Ardahan, M.** (2008). Annelerin sünnet hakkındaki davranış ve bilgi düzeylerinin incelenmesi, *Ege Journal of Medicine*, 47, 93-101.
- 28) **Gerharz, E. W. ve Haarmann, C.** (2000). The first cut is the deepest? Medicolegal aspects of male circumcision, *BJU Int*, 86, 332-338.
- 29) **Turkan, S., Kalkan, M. ve Şahin, C.** (2011). Kastamonu bölgesinde sünnet olmuş çocuklarda saptanan komplikasyon ve genital anomali oranları, *Türk Üroloji Dergisi*, 37, 1, 43-46
- 30) **Rizvi, S. A., Naqvi, S. A., Hussain, M. ve Hassan, A. S.** (1999). Religious circumcision: a Muslim view, *BJU Int*, 83, 13-16.
- 31) **Özkan, A., Özorak, A. ve Oruç M.** (2012). Bin Dokuz Yüz Sünnet Olgusunda Komplikasyonların Retrospektif İncelenmesi. *Konuralp Tıp Dergisi* 2012;4(1): 8-12.

- 32) **Hayashi, Y., Kojima, Y., Mizuno, K. ve Kohri, K.** (2011). Prepuce, Phimosi, Paraphimosi and Circumcision. *The Scientific World Journal*, 11, 289-301.
- 33) **Seçkin, D., Tekin, M. ve Güleç T. O.** (1999). Balanitis Xerotica Obliterans: A Case Report, *Turkiye Klinikleri J. Dermatol.*, 9, 3, 164-166.
- 34) **Kinkade, S., Meadows, S. ve Gracia-Trujillo J.** (2005). Clinical inquiries Does neonatal circumcision decrease morbidity?, *J Fam Pract.* 54, 81-82.
- 35) **Dayanç, M.** ( 2004). Güncel Çocuk Ürolojisi. Atlas Kitapçılık (Sf.281-294). Ankara.
- 36) **Docimo, S. G., Canning, D. A. ve Khoury, A. E.** (2013).The Kelalis-King-Belman Textboot of Clinical Pediatric Urology (Sf.183-189)
- 37) **Rowe, M. I., O'Neill, J. A., Grosfeld, J. L., Fonkalsrud, E. W. ve Coran A. G.(eds).** (1995). Essentials of Pediatric Surgery (Sf.769). St. Louis, Mosby- Year Book.
- 38) **Qster J.** (1968). Further fate of the foreskin Incidence of preputial adhesions, phimosis and smegma among Danish schoolboys. *Arc. Dis. Child.*, 43, 200-203.
- 39) **Ponsky, L. E., Ross, J. H., Knipper, N. ve Kay, R.** (2000). Penile adhesions after neonatal circumcision, *J. Urol.*, 164, 495-496.
- 40) **Balkan, E., Halil, T., Çaman, Ş., Kılıç, N. ve Doğruyol, H.** (2004). Non-Retractable Preputium in Children, *Gulhane Med. J.*, 46, 1, 29-32.
- 41) **Dewan, P. A., Tieu, H. C. ve Chieng, B. S.** (1996). Phimosis: Iscircumcision necessary?, *J. Pediatr. Child. Health.* 32, 285-289.
- 42) **Shankar, K. R. ve Rickwood, A. M. K.** (1999). The incidence of phimosisin boys, *BJU. International*, 84, 101-102.
- 43) **Tekgül S, Riedmiller H, Dogan HS, Gerharz E, Hoebeke P, Kocvara R, Nijman R, Chr. Radmayr, Stein R.** (2012). Guidelines on Paediatric Urology (Sf. 9-11). ESPU.



- 44) **Marques, T. C., Sampaio, F. J. ve Favorito, L. A.** (2005). Treatment of phimosis with topical steroids and foreskin anatomy, *Int. Braz. J.Urol.*, 31, 4, 370-374.
- 45) **Wiswell, T. E.** (2000). The prepuce, urinary tract infections, and the consequences, *Pediatrics*, 105, 860-862.
- 46) **Herndon, C. D. A., McKenna, P. H., Kolon, T. F., Gonzales, E. T., Baker, L. A. ve Docimo, S. G.** (1999). A multicenter outcomes analysis of patients with neonatal reflux presenting with prenatal hydronephrosis, *J Urol.*, 162, 1203-1208.
- 47) **Thompson, H. C., King, L. R., Knox, E. ve Korones, S. B.** (1975). Report of the ad hoc task force on circumcision, *Pediatrics*, 56, 610-611.
- 48) **Başaklar, C.** (2006). Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları II. Cilt (Sf.1578). Ankara.
- 49) **Eskala, J. M. ve Rickwood, A. M. K.** (1989). Balanitis, *Br. J. Urol.*, 63, 196-197.
- 50) **Forte, A., Palumbo, P., Baumgartner, I. M. et al.** (1998). Local anaesthesia with eutectic cream of lidocaine and prilocaine for treatment of cicatrizial phimosis in outpatients, *Eur. Rev. Med. Pharmacol Sci*, 5-6, 207-208.
- 51) **Yanagisawa N, Baba K, Yamagoe M, Iwamoto T.** (2000). Conservative treatment of childhood fimosis with topical conjugated equine oestrogen ointment. *Int. J. Urol.*, 7, 1, 1-3.
- 52) **Mansour, M. A., Rabinovitch, H. H. ve Dean, G. E.** (1999). Medical management of phimosis in children; Our experience with topical steroids, *J Urol.*, 162, 1162-1164.
- 53) **Orsola, A., Caffaratti, J. ve Garat, M.** (2000). Conservative treatment of Phimosis in children using a topical steroid, *Urology*, 1, 56, 2, 307-310.
- 54) **Rocks, N., Paulissen, G., El Hour, M., Quesada, F., Crahay, C., Gueders, M., Foidart, J. M., Noel, A. ve Cataldo, D.** (2008). Emerging roles of ADAM and ADAMTS metalloproteinases in cancer, *Biochimie*, 90, 2, 369-379.

- 55) **Stanton, H., Melrose, J., Little, C. B. ve Fosang, A. J.** (2011). Proteoglycan degradation by the ADAMTS family of proteinases, *BBA-Mol Basis Dis.*, 1812, 12, 1616-1629.
- 56) **Demircan, K., Akyol, S. ve Armutcu, F.** (2013). A Multi-Functional Gene Family From Arthritis to Cancer: A Disintegrin-Like Metalloproteinase with Thrombospondin Type-1 Motif (ADAMTS). *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 4, 5, 429-434.
- 57) **Tang, B. L.** (2001). ADAMTS: a novel family of extracellular matrix proteases, *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 33, 1, 33-44.
- 58) **Jungers, K. A., Le Goff, C., Somerville, R. P. ve Apte, S. S.** (2005). Adamts 9 is widely expressed during mouse embryo development, *Gene Expr Patterns*, 5, 5, 609-617.
- 59) **Nagase, H. ve Kashiwagi, M.** (2003). Aggrecanases and cartilage matrix degradation, *Arthritis. Res. Ther.* 5, 2, 94-103.
- 60) **Tang, B. L. ve Hong, W.** (1999). ADAMTS: A novel family of proteases with an ADAM protease domain and thrombospondin 1 repeats, *FEBS Letters*, 445, 223.
- 61) **Jones, G. C. ve Riley, G. P.** (2005). ADAMTS proteinases: a multi-domain, multi-functional family with roles in extracellular matrix turnover and arthritis, *Arthritis Res Ther.*, 7, 4, 160-169.
- 62) **Tortorella, M. D., Malfait, F., Barve, R. A., Shieh, H. S. ve Malfait, A. M.** (2009). A review of the ADAMTS family pharmaceutical targets of the future, *Curr. Pharm. Des.*, 15, 20, 2359-2374.
- 63) **Apte, S. S.** (2009). A disintegrin-like and metalloprotease (reprolysin-type) with thrombospondin type 1 motif (ADAMTS) superfamily: functions and mechanisms, *J Biol Chem.*, 284, 46, 31493-7.
- 64) **Baenziger, N. L., Brodie, G. N. ve Majerus, P. W.** (1971). A thrombin-sensitive protein of human platelet membrane, *Proc. Natl. Acad. Sci USA.*, 68, 1, 240-243.

- 65) **Tortorella, M. D., Burn, T. C., Pratta, M. A., Abbaszade, I., Hollis, J. M., Liu, R., et al.** (1999). Purification and cloning of aggrecanase-1: A member of the ADAMTS family of proteins, *Science*, 284, 5420, 1664-1666.
- 66) **Miles, R. R., Sluka, J. P., Halladay, D. L., Santerre, L. V., Hale, L.V., Bloem, L., Thirnavukkarasu, K., Galvin, R. J. S., Hock, J. M. ve Onyia, J. E.** (2000). ADAMTS-1 A cellular disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motifs as a target for parathyroid hormone in bone, *Endocrinology*, 141, 12, 4533.
- 67) **Roughley, P. J.** (2001). Articular cartilage and changes in arthritis noncollagenous proteins and proteoglycans in the extracellular matrix of cartilage, *Arthritis Res.*, 3, 6, 342-347.
- 68) **Pratta, M. A., Yao, W., Decicco, C., Tortorella, M. D., Liu, R. Q., Copeland, R. A., Magolda, R., Newton, R. C., Trzaskos, J. M. ve Arner, E. C.** (2003). Aggrecan protects cartilage collagen from proteolytic cleavage, *The Journal of Biological Chemistry*, 14, 278, 46, 45539-45545.
- 69) **Vankemmelbeke, M. N., Jones, G. C., Fowles, C., Ilic, M. Z., Handley, C. J., Day, A. J., Knight, C. G., Mort, J. S. ve Buttle, D. J.** (2003). Selective inhibition of ADAMTS-1, -4 and -5 by catechin gallate esters, *Eur. J. Biochem.*, 270, 11, 2394-2403
- 70) **Liu, C. J.** (2009). The role of ADAMTS-7 and ADAMTS-12 in the pathogenesis of arthritis, *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.*, 5, 1, 38-45.
- 71) **Stanton, H., Rogerson, F. M., East, C. J., Golub, S. B., Lawlor, K. E., Meeker, C. T., et al.** (2005). ADAMTS5 is the major aggrecanase in mouse cartilage in vivo and in vitro, *Nature*, 31, 434, 7033, 648-652.
- 72) **Glasson, S. S., Askew, R., Sheppard, B., Carito, B., Blanchet, T., Ma, H.L., et al.** (2005). Deletion of active ADAMTS5 prevents cartilage degradation in a murine model of osteoarthritis, *Nature*, 434, 7033, 644-648.
- 73) **Velasco, J., Li, J., DiPietro, L., Stepp, M. A., Sandy, J. D. ve Plaas, A.** (2011). Adamts5 deletion blocks murine dermal repair through CD44-mediated aggrecan

accumulation and modulation of transforming growth factor  $\text{po}\beta 1$  (TGF $\beta 1$ ) signaling, *J. Biol. Chem.*, 286, 29, 26016-27.

- 74) **Vazquez, F., Hastings, G., Ortega, M. A., Lane, T. F., Oikemus, S., Lombardo, M., et al.** (1999). METH-1, a human ortholog of ADAMTS-1, and METH-2 are members of a new family of proteins with angio-inhibitory activity, *J. Biol. Chem.*, 274, 33, 23349- 57.
- 75) **Nakamura, K., Hirohata, S., Murakami, T., Miyoshi, T., Demircan, K., Oohashi, T., et al.** (2004). Dynamic induction of ADAMTS1 gene in the early phase of acute myocardial in-farction, *J. Biochem.*, 136, 4, 439-446.
- 76) **Wagsater, D., Bjork, H., Zhu, C., Bjorkegren, J., Valen, G., Hamsten, A., et al.** (2008). ADAMTS-4 and -8 are inflammatory regulated enzymes expressed in macrophage-rich areas of human atherosclerotic plaques, *Atherosclerosis*, 196, 2, 514-522.
- 77) **Clark, M. E., Kelner, G. S., Turbeville, L. A., Boyer, A., Arden, K. C. ve Maki, R. A.** (2000 ). ADAMTS9, a Novel Member of the ADAM-TS/ Metallospodin Gene Family, *Genomics*, 1, 67, 3, 343-350.
- 78) **Porter, S., Clark, I. M., Kevorkian, L. ve Edwards, D. R.** (2005). The ADAMTS metalloproteinases, *Biochem. J.*, 386, 15-27.
- 79) **Levy, G. G., Motto, D. G. ve Ginsburg, D.** (2005). ADAMTS13 turns 3, *Blood*, 106, 1, 11-7.
- 80) **Hashimoto, T., Wen, G., Lawton, M. T., Boudreau, N. J., Bollen, A. W., Yang, G. Y., Barbaro, N. M., Higashida, R. T., Dowd, C. F., Halbach, V. V. ve Young, W. L.** (2003). Abnormal expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in brain arteriovenous malformations, *Stroke*, 34, 4, 925-931.
- 81) **Rodríguez-Manzaneque, J. C., Westling, J., Thai, S. N. M., Luque, A., Knauper, V., Murphy, G., Sandy, J. D. ve Iruela-Arispe, M. L.** (2002).

ADAMTS 1 cleaves aggrecan at multiple sites and is differentially inhibited by metalloproteinase inhibitors, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 293, 501.

- 82) **Jones, G. C. ve Riley, G. P.** (2005). ADAMTS proteinases: a multi-domain, multi-functional family with roles in extracellular matrix turnover and arthritis, *Arthritis Res. Ther.*, 7, 4, 160-169.
- 83) **Di Valentin, E., Crahay, C., Garbacki, N., Hennuy, B., Gueders, M., Noel, A., et al.** (2009). New asthma biomarkers: lessons from murine models of acute and chronic asthma. *Am.J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 296, 2, 185-197.
- 84) **Paulissen, G., Rocks, N., Gueders, M. M., Bedoret, D., Crahay, C., Quesada-Calvo, F., et al.** (2009). Role of ADAM and ADAMTS metalloproteinases in airway diseases. *Respir. Res.*, 10, 127.
- 85) **Dagoneau, N., Benoist-Lasselien, C., Huber, C., Faivre, L., Megarbane, A., Alswaid, A., et al.** (2004). ADAMTS10 mutations in autosomal recessive Weill-Marchesani syndrome, *Am. J. Hum. Genet.*, 75, 5, 801-806.
- 86) **McCulloch, D. R., Nelson, C. M., Dixon, L. J., Silver, D. L., Wylie, J. D., Lindner, V., et al.** (2009). ADAMTS metalloproteases generate active versican fragments that regulate interdigital web regression, *Dev. Cell.*, 17, 5, 687-698.
- 87) **Joe, B., Saad, Y., Dhindaw, S., Lee, N. H., Frank, B. C., Achinike, O. H. et al.** (2009). Positional identification of variants of Adamts16 linked to inherited hypertension, *Hum. Mol. Genet.*, 18, 15, 2825-2838.
- 88) **Johnston, P., Larson, D., Clark, I. ve Chojnowski, A.** (2008). Metalloproteinase gene expression correlates with clinical outcome in Dupuytren's disease, *J. Hand. Surg. Am.*, 33, 7, 1160-1167.
- 89) **Sakamoto, N., Oue, N., Noguchi, T., Sentani, K., Anami, K., Sanada, Y., et al.** (2009). Serial analysis of gene expression of esophageal squamous cell carcinoma: ADAMTS16 is upregulated in esophageal squamous cell carcinoma, *Cancer Sci*, 101, 4, 1038-1044.

- 90) **Li, Z., Zhang, W., Shao, Y., Zhang, C., Wu, Q., Yang, H., et al.** (2009). High-resolution melting analysis of ADAMTS18 methylation levels in gastric, colorectal and pancreatic cancers, *Med. Oncol.*, 27, 3, 998-1004.
- 91) **Moake, J. L.** (2004). von Willebrand factor, ADAMTS-13, and thrombotic thrombocytopenic purpura, *Semin Hematol.*, 41, 1, 4-14.
- 92) **Streit, M., Velasco, P., Riccardi, L., Spencer, L., Brown, L. F., Janes, L., Lange-Asschenfeldt, B., Yano, K., Hawighorst, T., Iruela-Arispe, L. ve Detmar, M.** (2000). Thrombospondin-1 suppresses wound healing and granulation tissue formation in the skin of transgenic mice, *EMBO J.*, 19, 13, 3272.
- 93) **Hatipoglu, O. F., Hirohata, S., Cilek, M. Z., Ogawa, H., Miyoshi, H., Obika, M., et al.** (2009). ADAMTS1 is a unique hypoxic early response gene expressed by endothelial cells, *J. Biol. Chem.*, 284, 24, 16325-33.
- 94) **Demircan K.** Protein Blotlama Nasıl Yapılır? Deney Protokol Kitapçığı (2013). Ankara.

## **EK: ONAM FORMU**

### **KLİNİKARAŞTIRMA İÇİN AYDINLATILMIŞ (BİLGİLENDİRİLMİŞ)ONAM FORMU**

#### ***(Hekimin Açıklaması)***

Şu ana kadar yapılmış birçok çalışmada pozitif bulunmuş, birçok hastalığın sebebinin anlaşılmasına yardımcı olan bir protein gurubu (ADAMTS) ile ilgili yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi ADAMTS proteinazlar MEVCUT HASTALIĞINDA ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI dır.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni çocuğunuzun Hastanemizde tanı- takip-tedavi ediliyor olmasıdır. Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz çalışma sonunda elde edilen veriler kimliğiniz belirtilmeden Tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Bu çalışma; çocuğunuzun FİMOZİS, SÜNNET nedeniyle tedavinin bir parçası olarak çıkarılması gereken sünnet derisinden örnek alınarak yapılacaktır. Çalışma için extra bir doku ve kan alınmayacak ameliyat sırasında çıkarılan ve atılan doku çalışma için kullanılacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığımız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır. Çalışmadan dolayı ek bir maddi külfet altına girmeyeceksiniz. Çalışmanın finansmanı araştırmacılar tarafından sağlanacaktır.

Şu anda bu çalışmanın hemen size veya çocuğunuza bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak araştırdığımız ADAMTS ile ilgili olası hastalıkların temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz.

***(Katılımcının anne ya da babasının /Hastanın ebeveyninin Beyanı)***

Doktorumuz tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya çocuğum “katılımcı” (denek) olarak davet edildi.

Eğer çocuğum bu araştırmaya katılırsa hekim ile aramda kalması gereken çocuğuma ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında çocuğumun kişisel bilgilerinin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden çocuğumu araştırmadan çekebilirim. *(Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için çocuğumun araştırmadan çekileceğini önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim)* Ayrıca çocuğumun tıbbi durumuna herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından çocuğumu araştırma dışı tutabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

Çocuğum bu araştırmaya katılmak zorunda değil ve katılmayabilir. Çocuğuma araştırmaya katılması konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer çocuğumun katılmasını reddedersem, bu durumun tıbbi bakımımıza ve hekim ile olan ilişkimize herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana çocuğum için yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Ebeveyn olarak belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde çocuğumun “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan davet büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

**Çocuğun anne /babası**



Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

**Bilgilendirme yapan doktor**

Adı, soyadı:

İmza:

