

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YAŞLANMANIN MENİSKÜS DOKUSUNDAKİ
AQUAPORİN 1-3 YOĞUNLUĞU ÜZERİNE
ETKİSİ

Dr. Kürşad AYTEKİN

TIP FAKÜLTESİ
ANATOMİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Yrd. Doç.Dr. Yücel GÖNÜL

İKİNCİ DANIŞMAN
Prof. Dr. Adnan NARCI

Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilim Araştırması Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından Proje No: 15.SAĞ.BİL.17 proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No:2016-001
2016- AFYONKARAHİSAR

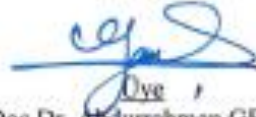
KABUL VE ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıp Anatomi Ortak Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29/04/2016



Üye
Prof. Dr. Adnan NARCI



Üye
Doç. Dr. Abdurrahman GENÇ



Jüri Başkanı
Prof. Dr. Ahmet SONGUR

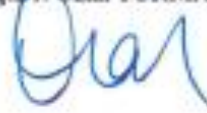
Üye
Doç. Dr. Ufuk TAŞ



Üye
Yrd. Doç. Dr. Yücel GÖNÜL



Üye
Yrd. Doç. Dr. Ozan TURMANLAR



Üye
Yrd. Doç. Dr. Murat UYSAL



Tıp Anatomi Anabilim Dalı Ortak Doktora Programı öğrencisi Kürşad AYTEKİN'in
"Yaşlanmanın Menisküs Dokusundaki Aquaporin 1-3 Yoğunluğu Üzerine Etkisi"
başlıklı tezi 28/04/2016 günü saat 16:30'de Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Sınav
Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca mesleki bilgi ve beceri edinmemde, ilgi ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, büyük bir sabırla yetişmemi sağlayan hocalarım Prof.Dr. Ahmet SONGUR, Yrd. Doç. Dr. Yücel GÖNÜL, Yrd. Doç. Dr. Ozan TURAMANLAR'a, tez aşamasında yardımları olan Doç. Dr. Ufuk Taş, Yrd. Doç. Dr. Murat UYSAL, Yrd. Doç. Dr. Hilal IRMAK SAPMAZ, Arş. Grv. Dr. Yusuf GÜLSARI, Arş. Grv. Hilal GÜZEL, Arş. Gör. Seda SOLMAZ'a teşekkür ederim. Ayrıca eğitim hayatım boyunca üzerimde emeği olan tüm öğretmenlerime teşekkürlerimi borç bilirim.

Bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan, çocukları olmaktan büyük gurur ve onur duyduğum sevgili anneme ve babama,

Sevgisi, sabrı ve fedakârlığı ile her zaman yanımda olan sevgili eşime, hayatıma kattığı tatlı anlam için biricik kızım Zeynep Şule'ye,

Sonsuz teşekkürler...

Dr. Kürşad AYTEKİN

2016

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
KISALTMALAR.....	vi
TABLO LİSTESİ.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
1.GİRİŞ.....	1
1.1 Diz eklemi	2
1.1.1 Menisküslerin anatomisi.....	5
1.1.2 Menisküs embriyolojisi.....	7
1.1.3 Menisküs histolojisi ve biyokimyası.....	8
1.1.4 Menisküsün beslenmesi.....	10
1.1.5 Menisküsün İnnervasyonu.....	10
1.1.6 Menisküs biyomekaniği.....	10
1.1.7 Yaşlanma ile menisküsde meydana gelen değişiklikler.....	12
1.1.8 Menisküs yırtılma mekanizması.....	12
1.2 Aquaporinler.....	13
1.2.1 Aquaporin tipleri.....	15
1.2.2 Aquaporinopatiler.....	18
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
2.1 Hayvanların Temini.....	20
2.2 Örneklerin Alınması.....	20
2.3 Histopatolojik İnceleme.....	20
2.4 İmmünohistokimyasal İnceleme.....	21
2.5 İstatistiksel analiz.....	23

3.BULGULAR.....	24
3.1 Histolojik bulgular.....	24
3.2 İmmünohistokimyasal bulgular.....	25
4. TARTIŞMA.....	31
5.ÖZET.....	39
6. SUMMARY.....	40
7. KAYNAKLAR.....	41
8. ÖZGEÇMİŞ.....	58

KISALTMALAR

Ateria	a
Aquaporin	aqp
Temporomandibuler eklem.....	TME
Channel-forming Integral Protein (kanal bağımlı integral protein).....	CHIP28
Ekstrasellüler matriks.....	ECM
Ligamentum	lig
mikrometre.....	µm
Major intrinsik protein.....	MIP
Nervus	n
Phosphate buffered saline.....	PBS

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Histolojik takip serileri.....	21
Tablo 2: İmmunohistokimya boyama serileri.....	23
Tablo 3. Genç ve yaşlı gruplar arasında H skor değerlerinin karşılaştırılması. *p<0.01, genç grup ile karşılaştırıldığında.....	26

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1:** Normal femoral rollback mekanizması. Tibianın yandan görünüşü. Dizin her fleksiyon derecesinde femur ve tibia temas noktasının posteriora yer değiştirmektedir.....3
- Şekil 2:** a) normal diz hareketi (kayma + yuvarlanma) b) sadece kayma hareketi c) diz ekleminde kayma hareketi olmadan sadece yuvarlanma hareketi4
- Şekil 3:** Meniscus medialis ve meniscus lateralis ile eklem içi ligamentler6
- Şekil 4.** Genç sıçanlarda hematoksilen-eozin yöntemi ile boyanmış x10'lık büyütmedeki menisküs dokusu kesiti.24
- Şekil 5.** Yaşlı sıçanlarda hematoksilen-eozin yöntemi ile boyanmış x10'lık büyütmedeki menisküs dokusu kesiti.25
- Şekil 6.** Genç sıçanda AQP1 immünohistokimya yöntemiyle boyanmış x10'lık büyütmedeki menisküs dokusu kesiti. Okun ucu AQP1 antikoruyla pozitif boyanmış fibrokondrositi göstermektedir.....26
- Şekil 7.** Yaşlı sıçanda AQP1 immünohistokimya yöntemi ile boyanmış x10'lık büyütmedeki menisküs dokusu kesiti. Okun ucu AQP1 antikoruyla pozitif boyanmış fibrokondrositi göstermektedir.....27
- Şekil 8.** Genç sıçanda AQP3 immünohistokimya yöntemi ile boyanmış x10'lık büyütmedeki menisküs dokusu kesiti. Okun ucu AQP3 antikoruyla pozitif boyanmış olan fibrokondrositi işaret etmektedir.....27
- Şekil 9.** Yaşlı sıçanda AQP3 immünohistokimya yöntemi ile boyanmış x10'lık büyütmedeki menisküs dokusu kesiti. Okun ucu AQP3 antikoruyla pozitif boyanmış olan fibrokondrositi işaret etmektedir.....28
- Şekil 10.** Genç sıçanda AQP1 pozitif kontrol böbrek dokusu kesiti.....28
- Şekil 11.** Yaşlı sıçanda AQP3 pozitif kontrol böbrek dokusu kesiti.....29

Şekil 12. Genç sıçanda Tip I kollajen immünohistokimya yöntemi ile boyanmış x10'lık büyütmedeki menisküs dokusu kesiti.	29
Şekil 13. Yaşlı sıçanda Tip I kollajen immünohistokimya yöntemi ile boyanmış x10'lık büyütmedeki menisküs dokusu kesiti.	30

1. Giriş

Yaşlanma intrauterin hayatta başlayıp tüm yaşam boyu devam eden, strese adaptasyon cevabında azalmaya yol açan, yaş ile ilişkili hastalık riskinin arttığı, birçok faktörün de etkisiyle ilerleyici olarak organ ve sistemlerde işlev değişikliklerine neden olabilen fizyolojik bir süreçtir (Fadıloğlu, 2006; Karan ve Tufan, 2010).

Yaşlanma ile menisküs dejenerasyonu artmaktadır. Menisküs dejenerasyonu ve hasarlanması ise insan vücudunda en sık görülen osteoartrit olan diz osteoartritine sebep olmaktadır (Fairbank, 1948; Fısseler-Eckhoff ve Muller, 2009; Pauli ve ark, 2011; Fox ve Bedi, 2012; Weinstein ve ark, 2013). Diz osteoartriti, articulatio genu'ya atfen gonartroz olarak isimlendirilir. Bir otopsi çalışmasında gonartroz görülme oranı %75 olarak verilmiştir (Kafer ve ark, 2005). Tedavisinde hastalığın şiddetine göre pekçok yöntem kullanılabilir. Amerika Birleşik Devletlerinde 2008 yılında 600 binden fazla total diz protezi ameliyatı yapılmış ve maliyeti 9 milyar doları geçmiştir (Losina ve ark, 2012). Gonartrozun tedavisinde kullanılan diğer tedavi seçenekleri ve işgücü kaybı hesaplandığında maliyet oldukça artmaktadır. Tedavi sırasında oluşabilecek komplikasyonlar da göz önüne alındığında diz osteoartritini önlemeye yönelik tedaviler ön plana çıkmaya başlamıştır.

Diz ekleminde az olan kemik uyumu, hareketli ve esnek bir doku olan menisküs dokusu ile tolere edilmektedir. Menisküs bu uyum sayesinde diz ekleminde osteoartrite gidişi engellemektedir (Vedi ve ark, 1999). Bir zamanlar embriyonik bir atık olarak değerlendirilen menisküsün öneminin anlaşılmasından sonra menisküs koruyucu tedavilere öncelik verilmeye başlanmış ve araştırmalar da artmıştır (Fox ve Bedi, 2012).

Diz eklemi içerisinde bulunan menisküs dokusu eklem içi sıvıdan beslenir (Tandoğan, 1997). Menisküs sahip olduğu esneklik özelliğini kendisini oluşturan yapılara ve su içeriğine borçludur. Yaşlanma ile bütün dokularda su oranında azalma

görülmekle birlikte bu azalma menisküs, intervertebral disk ve yük binen eklem kıkırdaklarında ayrı bir önem teşkil etmektedir (Wang ve Zhu, 2011; Taş ve ark, 2012; Fox ve Bedi, 2012).

1920'lerde hücrede lipid bariyerinin bulunması hücrelerin farklı yoğunluklardaki sıvılar içerisinde uygun hücre içi ortamı nasıl sağladığı ve devam ettirdiğini anlamamızı sağlamıştır. İyon kanallarının 1950'lerdeki keşfi ise maddelerin membranların karşı tarafına nasıl geçtiğini anlamamıza katkıda bulunmuştur. Suyun lipid bariyerinden basit difüzyon yolu ile geçtiği uzun süre kabul edilmiştir. Uzun deneyler sonucunda yapılan gözlemler, suyun membranın karşı tarafına taşınmasının tek yönteminin basit difüzyon olmayabileceğini göstermiştir (Agre ve ark, 2002). 1991 yılında aquaporinlerin (AQP'lerin) keşfi ile suyun transportunda farklı bir yaklaşım ortaya çıkmıştır (Smith ve Agre, 1991).

Yaşlanma ile dokularda meydana gelen sıvı kaybının AQP yoğunluğunun ya da fonksiyonlarının değişimi ile ilişkili olabileceği söylenmektedir. Böbrekler, intervertebral diskler ve tükürük bezleri gibi dokularda yaşlanma ile birlikte bazı AQP lerin konsantrasyonlarının değiştiği gösterilmiştir (Taş ve ark, 2012). Bu değişikliklerin yaşlanma süreci ve yaşlanma ile meydana gelen fonksiyon değişiklikleri ile doğrudan ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Bu amaçla bu çalışmada yaşlanmanın menisküs dokusunda AQP1 ve AQP3 ekspresyonunu üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlandı.

1.1 Diz eklemi

Diz eklemi insan vücudunda bulunan en büyük eklemdir (Arıncı, 2014). Diz ekleminin yapısına femur alt ucu, tibia üst ucu ve patella katılır. Femur distal uç anteriorunda patelanın yerleştiği bir oluk bulunur. Femurun diz eklemine katılan kondilleri yumurta şeklinde konvektir. Tibia proksimal ucundaki kondil hafif

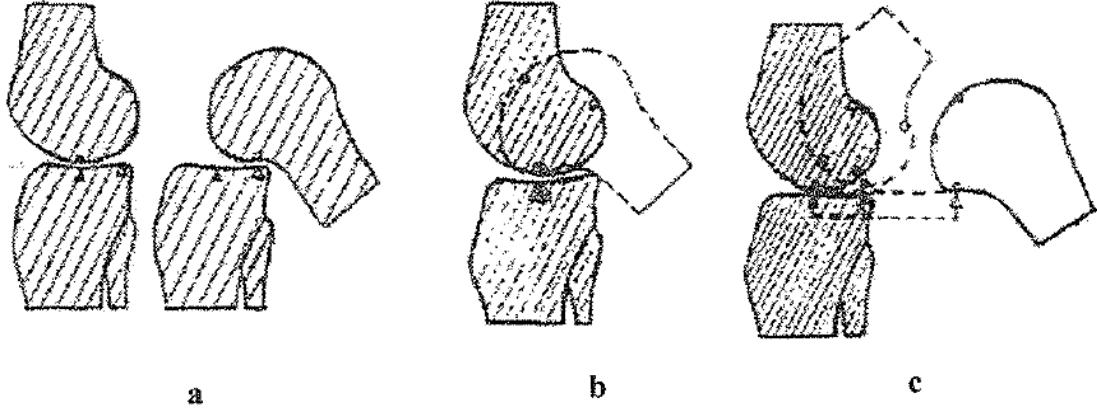
konkavdır (Pan ve Zomaya, 2011). Femurdaki kondillerin morfolojik yapısından dolayı bu eklem articulatio bicondylaris eklem grubunda tanımlanır. Ancak fonksiyonel olarak fleksiyon ve ekstensiyondan başka özellikle 30 derece diz fleksiyonu sonrası bir miktar dış rotasyon hareketi de yapabildiğinden ginglymus tipi eklem grubuna girmektedir (Pinskerova ve ark, 2009; Arıncı, 2014).

Dizin fleksiyon-ekstensiyon hareketleri esnasında, femur kondilleri tibia üzerinde yuvarlanma, kayma ve rotasyon hareketlerini de yapmaktadır (şekil 1). Eğer femur kondilleri tibia platosu üzerinde sadece yuvarlanma hareketini yapsa idi 45 derecelik diz fleksiyonunda femur kondilleri platodan dışarı çıkardı (şekil 2). Aynı şekilde sadece kayma hareketini yapsa diz fleksiyonu 130 derecede sonlanırdı (şekil 2). Bu hareket kombinasyonuna femoral roll-back mekanizması denilir (Pinskerova ve ark, 2004). Femur kondillerinin eğimi, dizin 160 dereceye kadar fleksiyon yapmasına müsaade eder (Pinskerova ve ark, 2009)

Şekil 1: Normal femoral rollback mekanizması. Tibianın yandan görünüşü. Dizin her fleksiyon derecesinde femur ve tibia temas noktasının posteriora yer değiştirmektedir (Pinskerova ve ark, 2009)



Şekil 2: a) normal diz hareketi (kayma + yuvarlanma) b) sadece kayma hareketi c) diz ekleminde kayma hareketi olmadan sadece yuvarlanma hareketi



Femoral rollback mekanizması olarak isimlendirilen kayma ve yuvarlanma hareketi ligamentum (lig) cruciatum anterius ve lig. cruciatum posterius sayesinde gerçekleşir. Mekanizma ise 4 bar sistemi ile açıklanmaktadır. Bu barlar 2 adet cruciate ligamentten ve 2 adet de ligamentlerin origolarını ve insertiolarını birleştiren hayali çizgiden oluşmaktadır (Tandoğan, 1999; Hürel ve Çelebi, 1999).

Femurun medial kondili lateral kondilinden daha konvektir. Tibia proksimal ucundaki kondil hafif konkav olup femur kondillerinin kavisli yüzeylerine tam olarak karşılık gelmez (Pan ve Zomaya, 2011). Femur distal uçtaki kondiller ve tibia proksimal uçtaki plato tarafından oluşturulan eklem yüzleri arasındaki uyumsuzluk fibrokartilaj yapıdaki menisküsler ile dengelenir (Pan ve Zomaya, 2011). Hiperfleksiyonda menisküslerin hareketli olması sayesinde posterior sıkışma engellenir ve eklem hareket açıklığı artar (Bilgen ve ark, 2011).

Eklem kırırdağına gelen fazla yükler kırırdağın hasarına ve gonartroza neden olur (Jones ve Doherty, 2005). Menisküslerin varlığı diz ekleminde yük aktarımında ve gonartroza ilerlemeyi engellemede önemli fonksiyon görürler (Takahashi ve ark, 1998). Eklem travması olmadan görülen gonartrozda da menisküs hasarı gözlenmiştir (Loeser, 2013). Tedavisi maliyetli olan ve işgücü kayıplarına sebep olabilen gonartrozun etyolojisinde menisküs hasarı gözlenebilmektedir (Musumeci ve ark, 2013).

1.1.1 Menisküslerin anatomisi

Dizin medial ve lateral bölümlerinde yer alan iki adet fibrokartilaj yapısıdır (şekil 3). Latince hilal anlamına gelir (Fox ve Bedi, 2012). Periferdeki kısmı kalın konveks ve eklem kapsülüne yapışmıştır. Menisküslerin üst yüzleri eklem uyumunu artırmak için konveks olan femur kondilleriyle uyumlu olacak şekilde konkavdır. Alt yüzleri ise tibia kondillerinin eklem yüzüne uyum sağlayacak şekilde düzdür. Her iki menisküsün ön boynuzlarını lig. transversum genus birleştirir (Arıncı, 2014).

Meniscus medialis

Lateraldekine oranla ağzı daha geniştir yarım ay şeklinindedir. Önucu lig. cruciatum anterius'u ön tarafına tutunur. Ön ucun arka kısım lifleri lig. transversum genus olarak uzanır (Arıncı, 2014).

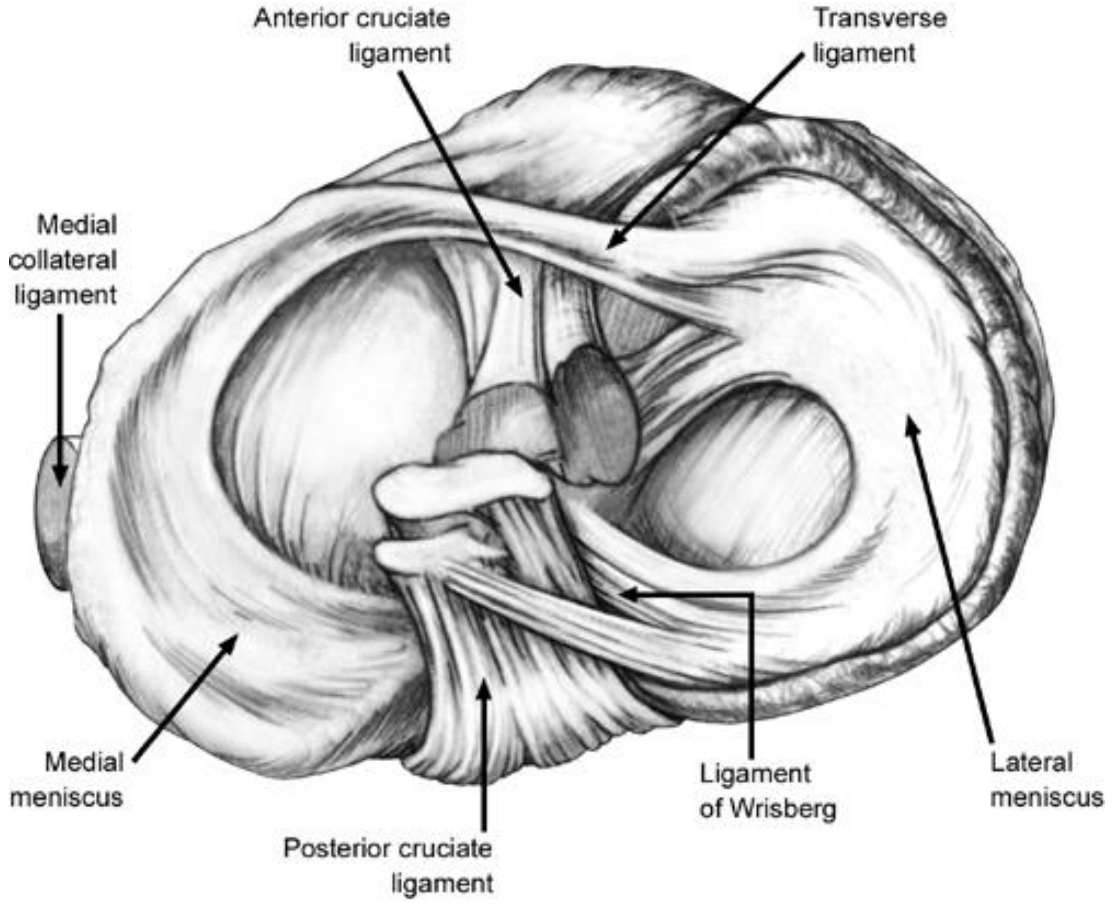
Ön arka çapı yaklaşık 35 mm olan medial menisküsün arka bölümü ön bölümlerinden daha geniştir. Anterior horn, lig. cruciatum anteriusun önünde tibia platosuna sabitlenmiştir, posterior horn ise meniscus lateralis ile lig. cruciatum posterius'un arasında yerleşiktir. Kapsüle yapışan tibial bölümüne koroner ligament denir. Meniscus medialis eklem yüzeyinin yaklaşık %60'ını kaplar (Fox ve Bedi, 2012). Periferik kısmı lig. collaterale tibiale'ye sıkıca tutunmuştur (Arıncı, 2014).

Meniscus lateralis

Dış ve iç kenarları arasındaki genişlik hemen her yerinde aynıdır. Meniscus medialis'e göre ağzı kapalı C harfi şeklindedir (Arıncı, 2014). Neredeyse daireseldir. Eklem yüzeyinin yaklaşık %80'ini kaplar. Meniscus lateralis, meniscus medialis'ten daha hareketlidir. Anterior horn interkondiler eminensin önünde yer alır ve geniş bir kısmı ön çapraz bağa yapışır. Posterior horn ise meniscus medialis'in arka

boynuzuna göre önde ve tibia platosunun arkasında platoya sabitlenir. Meniscus lateralis kapsüle gevşek olarak bağlıdır ve kollateral ligamentle bağlantısı yoktur (Fox ve Bedi, 2012). Meniscus lateralis'in posterior sınırından femurun medial kondilinin lateral yüzeyine uzanan iki grup lif demeti vardır. Bunlara lig. meniscofemorale anterior ve posterior denir (Arıncı, 2014).

Şekil 3: Meniscus medialis ve meniscus lateralis ile eklem içi ligamentler (Fox ve Bedi, 2012).



1.1.2 Menisküs embriyolojisi

Bir zamanlar fonksiyonsuz embriyonik bir atık olarak tariflenmiş menisküsün diz eklemindeki fonksiyonel önemi artık anlaşılmıştır (Fox ve Bedi, 2012). Menisküsün gövdesi, periferde bulunan 1/3'lük kısım kırmızı-kırmızı bölge, ortada bulunan 1/3'lük kısım kırmızı-beyaz bölge, merkezde bulunan 1/3'lük kısım beyaz-beyaz bölge olarak isimlendirilir (Musumeci ve ark, 2013).

İlk olarak gestasyonun 4. haftasında alt ekstremitte tomurcuğu görülmeye başlar. 7. haftada ekstremitte ventrale doğru uzamaya başlar (Dalcık ve Yıldırım, 2009). Gestasyonun 8. haftasında embriyonik dönemin sonunda menisküsler açıkça görülebilmektedirler. Alt ekstremitte blastomu önce devamlı bir yapıdır. Zamanla diz eklemi seviyesinde eklemi oluşturmak için değişiklikler meydana gelir. Oluşan eklem seviyesinde bir çift kondrojenik tabaka ile bir ara tabaka gelişir. Eklem içi yapılar ara tabaka içinde daha fazla yoğunlaşırlar (Gardner ve Orahilly, 1968; Clarc ve Ogden, 1983). Gestasyonun 8.-10. haftalarında karakteristik şeklini almaya başlar (Fox ve Bedi, 2012). Doğuma kadar karakteristik şekillerini kazanan menisküslerin fetal hayat boyunca tamamında kan damarı bulunur. Doğum sonrası ise damarlanma azalır ve femur ile tibianın büyümesine paralel bir şekilde gelişimini tamamlar. Damarlanma menisküsün periferinde olacak şekilde menisküsde bulunmaya devam eder. Doğum öncesi dönemde hücre açısından zengin olan menisküslerin, doğum sonrasında hücre sayısında azalma gözlenir. Menisküsler bu süreçte şekillenir ve kollajen miktarında artma görülür. Yük taşımaya adapte olurlar (Cameron ve Macnab, 1972; Clarc ve Ogden, 1983). Doğum sonrasında menisküslerin periferik %10-30'luk kısmı vaskülerizedir (Fox ve Bedi, 2012).

1.1.3 Menisküs histolojisi ve biyokimyası

Menisküslerin %72'si su ve %22'si kollajen ile hücrelerden oluşur. Proteoglikanlar, nonkollagenöz proteinler ve glikoproteinler kalan kuru ağırlıkta hesaplanır. Menisküs hücreleri dokunun özelliklerini belirleyen ekstrasellüler matriksi sentezler ve destekler. Bu hücrelere fibrosit ve kondrosit özelliği gösterdiğinden fibrokondrosit denilir. Menisküsün derin bölgelerindeki hücreler daha çok kondrosite benzer şekilde oval ve poligonal iken yüzeyel olanlar ise fibrosite benzer şekilde daha fusiform veya iğ şeklindedir. Suyun çoğunluğu proteoglikanlar sayesinde menisküs dokusu içinde tutulur. Menisküs dokusundaki su içeriği ön ve orta kısımlara göre arka bölgelerde daha fazladır, yüzeyel ile derin dokular su içeriği açısından benzerdir. Sürtünme direncinin üstesinden gelebilmek için sıvı basıncına gerek vardır. Bu durum su ve matriks makromolekülleri arasındaki ilişki açısından dokunun viskoelastik özelliğini düzenlemesi için önemlidir. Ekstrasellüler matriksin kuru ağırlığının %75'ini oluşturan kollajenler menisküsteki gerim mukavemetinden öncelikli sorumludur. Ekstrasellüler matriks esas olarak tip 1 kollajenden (kuru ağırlığın %90'ı) ve değişken miktarlarda tip 2, tip 3, tip 5 ve tip 6 kollajenden oluşur. Tip 1 kollajen üstünlüğü menisküs fibrokartilajını eklem kıkırdağından ayırır. Kollajenler, büyük ölçüde çapraz bağlanmış hydroxylpyridinium aldehydler cinsindedir. Kollajen lif düzenlemesi çevresel "Hoop" streslerin dikey bir şekilde basınç yükü aktarımı için idealdir. Tip 1 kollajen lifleri menisküsün derin tabakalarında daireseldir, perferinde ise paralel seyredir. En yüzeyel tabakada tip 1 kollajen radial yönde seyredir. Radial yönde seyreden bağlantı fibrilleri derin zonlarda ve dairesel lifler arasında da bulunur. Menisküste yağ debrisleri ve kalsifiye alanlar bulunur. Elektron mikroskopik incelemelerde bu bölgelerde fosfor, kalsiyum ve magnezyum, ince kristaller görülmüştür (Fox ve Bedi, 2012; Kwok ve ark, 2014). Hidrate edilen menisküs ekstrasellüler matriks iç zonda çoğunlukla tip 2 kollajenden ve dış zonda tip1 kollajenden oluşur. Menisküsün eşsiz özellikleri geometrisine ve içeriğine bağlıdır (McNulty ve Guilak, 2015).

Fibronektin gibi nonkollajenaz matriks proteini kuru ağırlığın %8-13'ünü oluşturur. Fibronektin doku onarımı, embriyojenez, kan pıhtılaşması, hücre göçü ve adezyon gibi pek çok hücrenel süreçte yer almaktadır. Elastin menisküsün kuru ağırlığının %0.6'sından daha azını oluşturmaktadır. Büyük bir olasılıkla, dokuya dayanıklılığını sağlamak için kollajen ile doğrudan karşılıklı olarak etkileşmektedir. Proteoglikanlar kuru ağırlığın %1-2'sini oluşturur ve kollajen ağının içerisinde yer alan hidrofilik moleküllerdir. Glikozaminoglikan zincirlerine bir veya daha fazla kovalent bağ ile bağlanmış core proteinlerinden oluşurlar. Menisküsteki proteoglikanların miktarı eklem kıkırdağının sekizde biri kadardır ve yaşla beraber ciddi değişiklik gösterir. Kendi özel yapısı sayesinde ekstrasellüler matriks proteoglikanları, hidrasyon ve yüklenme kuvvetlerine karşı menisküs dokusunu korurlar. Normal yetişkin insan menisküsünde glikozaminoglikanların % 40'ı kondroitin-6-sülfat, % 10-20'si kondroitin-4-sülfat, % 20-30'si dermatan sülfat ve % 15'i keratin sülfattan oluşur. En yüksek glikozaminoglikan konsantrasyonları menisküs boynuzlarında ve menisküsün primer yük taşıyan iç yarısındadır. İnsan menisküsünde bulunan başlıca proteoglikan agrekan büyük ölçüde menisküslerin viskoelastik kompresif özelliklerinden sorumludur. Dekorin, biglikan ve fibromodulin gibi küçük proteoglikanlar, düşük miktarlarda bulunur. Heksozamin ekstrasellüler matriksin kuru ağırlığına % 1 katkıda bulunur. Bu proteoglikanların kesin görevleri tam olarak anlaşılamamıştır (Fox ve Bedi, 2012; Kwok ve ark, 2014).

Menisküs kıkırdağı, görevi ve fonksiyonu tam olarak bilinmemekte olan matriks proteinlerini de içerir. Bu proteinler, yüksek moleküler ağırlığa sahip olan disülfid-bağlı kompleks şeklinde matriks içinde bulunur. İmmüno lokalizasyon çalışmalarında matriks içindeki kollajen lifleri etrafında yer aldığı gösterilmiştir. Adeziv glikoproteinler matriks glikoproteinlerinin alt grubunu oluşturur. Bu moleküller diğer matriks molekülleri ile hücrelerin birbirine bağlanmasından kısmen sorumludur. Bu gibi adezyon molekülleri menisküs dokusunda ekstrasellüler moleküllerin supramoleküler organizasyonu için önemlidir. Menisküste 3 tip matriks glikoproteini tarfilemiştir; tip IV kollajen, fibronektin, trombospondin (Fox ve Bedi, 2012).

1.1.4 Menisküsün beslenmesi

Doğumda menisküsün neredeyse tamamının vaskülerizedir. Yaşamın ikinci dekadında sadece kırmızı-kırmızı bölgede damarlanma olduğu bildirilmektedir. 50 yaş sonrası ise menisküsün tabanında lateral %25'lik alanın vaskülerize olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca tüm alanlarda lenfatik damarlar kan damarlarına eşlik etmektedir (Petersen ve Tillmann, 1995). Menisküsler arterlerden ve sinovyal sıvıdan difüzyon ile beslenir. Sinovyal sıvı ile difüzyon sayesinde beslenme aralıklı olarak eklem yük binmesi ile oluşmaktadır (Fox ve Bedi, 2012).

Menisküsler arteria (a) genus descendens, a. poplita'nın r. genicularis dalları, a. tibialis anterior'un a. recurrens tibialis anterior dalı, a. circumflexa femoris lateralis'in r. descendens'i ile beslenir (Arıncı, 2014). Menisküsün tamamı için düşünüldüğünde, menisküs dokusunda kısmi bir kanlanma vardır. Periferik (kırmızı-kırmızı bölge) bölgenin beslenmesi vasküler olduğundan dolayı direkt kanla olmakta iken menisküsün geri kalan bölgelerinin (kırmızı-beyaz ve beyaz-beyaz bölgeler) beslenmesi ise sinovyal sıvıdan ve eklem hareketleri esnasında mekanik pompalama ile olur (Fox ve Bedi, 2012).

1.1.5 Menisküsün İnnervasyonu

Menisküs innervasyonu nervus (n) obturatorius, n. femoralis, n. tibialis ve n. fibularis communisten gelen dallar tarafından sağlanır (Arıncı, 2014).

1.1.6 Menisküs biyomekaniği

Menisküs makaslama, stres, kuvvet ve yük altındaki kuvvetlere geometrisi ve histolojik-biyokimyasal yapısı sayesinde karşı koyan eklem içi bir organdır. Özellikle menisektomi uygulanan hastalarda artroz görülmesi ile önemleri

anlaşılmıştır (Loeser, 2013). Menisküslerin geometrik şekilleri ve histolojik yapıları sayesinde yük aktarımı, şok absorpsiyonu, eklem beslenmesi, eklem hareket açıklığının artması, eklemde kayganlaşma, propriosepsiyon, eklem stabilitesi, kapsül ve sinoviyanın diz hareketleri sırasında eklem aralığına sıkışmasının engellenmesi gibi işlevleri vardır (Tandoğan, 1997; Fox ve Bedi, 2012). Total menisektomi yapılmış diz eklemlerinde toplam eklem yüzeyi % 75 azalır (Tandoğan, 1997).

Menisküste radial uzanan kollajen lifleri dairesel lifleri birbirine bağlar ve periferik tutunmayı sağlar. Yük verme esnasında menisküsler üçgen yapıları nedeni ile periferite itilirken menisküsteki sirküferensiyel liflerde gerilim oluşur ve aynı zamanda bu lifler menisküsü bir arada tutarlar (Tandoğan, 1997).

Hidrofilik olan proteoglikanlar kendi ağırlığının yaklaşık 50 katını taşıyabilirler. Ambulasyonda yük verme esnasında menisküslerde bulunan porlar sayesinde bu sıvının yaklaşık 1/5'ini eklem içine verilir, yük verme bittikten sonra ise tekrar aynı miktarda su menisküs içine dolar. Böylece menisküsün beslenmesi de sağlanmış olur. Menisküsün yük verme esnasında şekil değiştirebilmesi nedeniyle eklem uyumu korunarak dize gelen yükler dağıtılır. Bu ise eklem kırıkdağı hasarını engeller. Dize gelen yüklerin yaklaşık olarak yarısına yakını menisküsler femurdan tibiaya aktarır. Ligamentum cruciatum anterius'u olmayan dizlerde menisküs anteroposterior stabiliteye katkı sağlamaktadır (Tandoğan, 1997; Fox ve Bedi, 2012).

Diz ekleminde meniscus medialis yükün yaklaşık yarısını, meniscus lateralis ise lateral kompartmanda binen yükün yaklaşık %70'ini aktarır (Shrive, 1974). Total medial menisektomi sonrası eklem kırıkdağında yüklenme % 235 artmaktadır (Cox ve ark, 1975).

1.1.7 Yaşlanma ile menisküsde meydana gelen değişiklikler

Artan yaş ile beraber dejeneratif menisküs yaralanmaları daha sık gözlenmektedir. Dejeneratif menisküs yırtıklarının moleküler patolojisi tam olarak bilinmemektedir (Rai ve ark, 2013).

Yaşlanmayla menisküste bazı anatomik değişiklikler tariflenmiştir. Menisküs ilerleyen yaşla beraber makroskopik olarak sertleşir, elastikliğini kaybeder ve rengi sararmaya başlar. Mikroskopik olarak ise hücreleri azalır ve boş alanlar oluşur. Elastik dokuda azalma ile beraber fibröz doku artışı gözlenir. Menisküsün yüzeysel tabakası ile derin tabakası arasında bulunan boş alanların oluşturduğu kistik yapı dize gelen torsiyonel yükler sonrası horizontal yırtık oluşturabilir (Fox ve Bedi, 2012).

1.1.8 Menisküs yırtılma mekanizması

Fleksiyon esnasında meniscus medialis yaklaşık olarak 9-10 mm, meniscus lateralis ise 2-3 mm posteriora deplase olurlar. Meniscus medialis'in arka boynuzunda harekette azalma femoral kondil ve tibial plato arasına sıkışma sonucu yırtık ile sonuçlanabilir. Medial meniscus ön ve arka boynuzları hareketleri arasındaki fark menisküs yaralanması için en büyük risk olabilir. Menisküsteki bu hareketlilik ayrıca fleksiyon ve ekstensiyonun tüm derecelerinde femur kondilleri ile tibia platosu arasında maksimum uyumu sağlar (Fox ve Bedi, 2012). Medial meniscus ligamentum collaterale tibiale'nin derin bölümüne yapıştığından lateral menisküse göre daha hareketsizdir. (Ozan, 2014). Ancak bu stabilite travma esnasında (özellikle valgus zorlamalarında) menisküs yırtılmalarının sebebi de olabilir (Dere, 1994).

1.2 AQUAPORİNLER

Su, biyolojik sistemlerin en yaygın molekülüdür. Uzun yıllar boyunca suyun membranlardan serbest bir şekilde geçtiğine inanılmıştır (Verkman, 2011). Ancak aquaporinlerin keşfi ile hücre membranında su transportunun enerji gerektirdiği ortaya konmuştur (Borgnia ve ark, 1999).

Su transferiyle ilgili olduğu düşünülen 28-kDa ağırlığında bir protein 1986'da Benga ve ark. tarafından tanımlanmış ancak bu proteinin izolasyonu ya da çoğaltılması gerçekleştirilememiştir (Benga ve ark, 1986; Benga, 2006; Kuchel, 2006). Bu proteinler 1991 yılında eritrosit membranında "Channel-forming Integral Protein" (kanal bağımlı integral protein) (CHIP28) ismi ile belirlenmiş ve membran geçiş proteinleri olarak tanımlanmıştır (Smith ve Agre, 1991). 1993 yılında Agre ve arkadaşları, su kanal proteinlerine aquaporin (AQP) adını verdiler ve CHIP28'in adı AQP1 olarak değiştirildi (Fushimi ve ark, 1993).

AQP sadece su ya da gliserol gibi nötr molekülün geçişine izin verirken kation, anyon ve proton gibi + ve - yüklü moleküllerin geçişine müsaade etmez. Genelde AQP'lerde asparajin-prolin-alanin (NPA) şeklinde yüksek düzeyde korunmuş üç aminoasit dizisi bulunmaktadır. Bazı AQP'lerin gazların ve ağır metal iyonlarının da transferini gerçekleştirdiği iddia edilmiştir ancak henüz ispatlanamamıştır (Wu ve Beitz, 2007; Boron, 2010).

Çoğu AQP çift yönlü su transportunu sağlar. Plazma membranında AQP eksprese eden hücreler, AQP eksprese etmeyen hücrelerden 5-50 kat daha fazla su geçirgenliği sağlayabilirler ve suyun konsantrasyonunu artırmak için plazma membranlarında AQP'e ihtiyaç vardır (Yang ve Verkman, 1997; Verkman ve Mitra, 2000).

Plazma membranının μm^2 sinde binlerce AQP kanalı bulunmasına rağmen aynı büyüklükteki alanda 10 civarında iyon kanalı bulunmaktadır (Verkman, 2011). AQP'ler su ve gliserolden başka diğer küçük molekülleri ve gazları (karbon dioksit, amonyum, nitrik oksit, hidrojen peroksit) da membranda taşırlar (Musa-Aziz ve ark, 2009; Miller ve ark, 2010; Wang ve Tajkhorshid, 2010). Bazı gazların teorik olarak AQP kanalından geçecek kadar küçük olmasına rağmen, lipid aracılı membran geçirgenliğinin çoğu gaz için yüksek olması nedeniyle AQP kanalından geçemediği düşünülmektedir (Yang ve ark, 2000; Missner ve ark, 2008; Tornroth-Horsefield ve ark, 2010).

AQP kanallarından geçen su molekülleri çok hızlı hareket ederler. AQP kanalından bir saniyede yaklaşık olarak 10^9 su molekülü geçmektedir. AQP kanalından su geçişinin hızı, metabolik olarak en hızlı olarak bilinen katalaz enzminden (saniyede 4×10^7 substratı ürüne çevirir) dahi daha fazladır. Bu hız metabolik olaylar için oldukça yüksek bir hızdır (Ebrashy ve ark, 2005).

AQP kanalında 3 hidrofilik nodül, bir de hidrofobik por bulunur. Bu hidrofobik por sayesinde hücre membranından çift yönlü hızlı su ve madde transferi gerçekleşir (Musumeci, 2013). AQP'de hücre dışı sitoplazmik açıklık ve suyu filtre eden dar bir por bulunur (Musumeci, 2013). AQP'ler hücre göçü, nöron sinyalizasyonu, böbreklerde üre ve suyun emilmesi ile ıtrahında da görev alır (Saadoun ve ark, 2005; Verkman, 2011).

AQP'lerin (*Aqua*: su, *Poros*: geçit, gözenek) memelilerde şimdiye kadar 13 tane izoformu tanımlanmıştır. Bunlar yaklaşık 320 aminoasit uzunluğa sahiptir ve moleküler ağırlığı 28 kDa civarındadır. Membranlar üzerinde bulunan tetramerler şeklinde organize olmuştur ve her monomerin kendine ait su kanalı bulunmaktadır (Ishibashi, 2009; Rutkovskiy ve ark, 2013). Aquagliseroporinler zar boyunca aktif sıvı emme/salgılama, nöronal sinyal iletimi, hücre metabolizması ve çoğalmasında önemli bir rol gösterirler (Verkman, 2009).

Transfer ettikleri moleküle göre AQP'ler 3 grupta sınıflandırılabilirler: Su taşıyan aquaporinler (AQP0, AQP1, AQP2, AQP4, AQP5, AQP6 ve AQP8); su, gliserol, üre ve bazı diğer solütleri geçirebilen aquagliseroprinler (AQP3, AQP7, AQP9 ve AQP10). Subselüler aquaporin veya süper-aquaporinler (AQP11 ve AQP12) diğer aquaporinlerle benzerliği azdır (Murai-Hatano ve ark, 2008; Benga, 2012). Major integral protein olarak da bilinen ve lenste bulunan AQP0 hariç, AQP1'in diğer AQP'lere küçük benzerlikleri vardır (Verkman, 2011).

1.2.1 AQUAPORİN TİPLERİ

AQP0, lens dokusunda bulunur ve daha önce ana intrinsik protein olarak (MIP) olarak isimlendirilmekte idi. AQP0'ın su taşınması görevinden başka, lens fibril bileşkelerindeki boşluklarda görülen hücre adhezyonunda da yapısal rolü bulunmaktadır (Harries ve ark, 2004). AQP0'ın su geçirgenliği diğer aquaporinlerle kıyaslandığında oldukça düşüktür. Lensteki AQP1'e göre AQP0'ın su geçirgenliği 40 kez daha düşüktür (Liu ve ark, 2010).

AQP1; bu proteinlerin ilkidir ve insan eritrositlerinde tanımlanmıştır (Preston ve ark, 1993). Esas olarak kırmızı kan hücreleri, beyin, akciğerler ve böbreklerde eksprese edilen AQP1 su reabsorpsiyonu ve sıvı sekresyonu ile ilişkilidir. Böbrekte tanımlanmış aquaporinler (AQP1, AQP2, AQP3, AQP4) içerisinde en fazla eksprese edilen AQP1 özellikle su resorpsiyonun en fazla yapıldığı proksimal tübül ve henlenin inen ince kolunda bulunur (Tradtrantip ve ark, 2009). Bu proteinin aynı zamanda kapiller endotelde de eksprese edilmesi insanlarda su transportundaki önemini göstermektedir. Henle kulpunda yüksek miktarda eksprese edilen AQP1 üre konsantrasyonunda rol oynar (Chou ve ark, 1999).

AQP1'in hücre migrasyonunda görev yaptığı ve eklemde su birikmesinde ve ödemde rol oynayabileceği iddia edilmiştir (Saadoun ve ark, 2005; Musumeci ve ark, 2013). BOS salgılayan plexus choroideus'ta AQP varlığı gösterilmiştir (Oshio ve

ark, 2005) AQP1 ile ilgili bir başka görüş de apopitozda rol oynayabileceğidir (Gao ve ark, 2011). AQP1-yoksun farelerde intrakranial basınçta düşme ve beyin omurlik sıvısında (BOS) azalma olmaktadır (Oshio ve ark, 2005).

AQP2: Kulak ve böbrekte bulunmaktadır. Eksikliği diabetes insipitus ile ilişkilendirilmiştir ve kulakta ise endolemfa dengesinin sağlar (Deen ve ark, 1994; Ishibashi, 2009). AQP2'nin üre konsantrasyon mekanizmasında önemli bir yeri vardır (Nedvetsky ve ark, 2009; Noda ve ark, 2010). İnsanlarda nadir görülen poliüri ve üriner hiposmolalite ile karakterize nefrojenik diabetes insipidus ile AQP2 mutasyonu arasında da ilişki vardır (Deen ve ark, 1994).

AQP3; Aquagliserol grubu içinde yer alır. Ürogenital sistem, böbrek, sindirim sistemi, solunum sistemi, deri ve göz gibi çok sayıda organda gösterilmiştir (Ishibashi ve ark, 1994; Hamann ve ark, 1998; King ve ark, 2001). Ayrıca akciğerde AQP3 varlığı gösterilmiş ve akciğer adenokarsinomunda erken prognostik marker olabileceği de belirtilmiştir (Liu ve ark, 2007).

AQP4; kalp ve beyin dokusunda bulunur (King ve ark, 2001; Rutkovskiy ve ark, 2013). AQP4'ün beyin travması ve enflamasyonu gibi çeşitli streslere upregülasyon ile cevap verdiği bilinmektedir (Aoki-Yoshino ve ark, 2005; Tomura ve ark, 2011).

AQP4 su kanalları merkezi sinir sisteminde astrositlerde özellikle de kan-beyin bariyeri ile ependim BOS bariyerinde ekprese edilmektedir (Verkman, 2011). Hücrel beyin ödeminde, ozmotik itici güçlere cevap olarak sağlam kan-beyin bariyerinde su beyne doğru hareket eder. Su intoksikasyonu esnasındaki akut serum hiponatremisinde beyin ödemi görülür (Verkman, 2011). Çift yönlü su kanalı olarak AQP4 sitotoksik beyin ödeminde su birikimini kolaylaştırır ve vazojenik ödemde aşırı suyun klerensini kolaylaştırır (Verkman, 2011). AQP4 medulla spinalis'te benzer rol oynar ve medulla spinalis kompresyon hasarı sonrası sitotoksik ödemi

azaltır (Saadoun ve ark, 2008). Ancak medulla spinalis kontüzyon yaralanmaları sonrasında ise vazojenik ödem artırır (Kimura ve ark, 2010).

AQP5 solunum sisteminde bulunur ve akciğerlerdeki su dengesinde önemli fonksiyon görür (Verkman, 2005; Gomes ve ark, 2009). Tükrük ve gözyaşı salgılanması ile ilişkilidir (Tsubota ve ark, 2001; Steinfeld ve ark, 2001). Tükrük bezlerinde ve havayolu submukozal bezlerinde AQP5 olmayan farelerde tükrük sekresyon ve havayolu mukus defekti gözlenmiştir (Ma ve ark, 1999; Song ve Verkman, 2001). Akciğer alveollerinde ise AQP5 olmayan farelerde sıvı absorpsiyonunun bozulmadığı gözlenmiştir (Ma ve ark, 2000a).

AQP6; hücre içi veziküllerde bulunur. Böbrekte nitrat ve klorid transferinde rol oynar (Gomes ve ark, 2009). Hücre içi klorid kanalı olarak fonksiyon gördüğü bildirilmiştir (Yasui ve ark, 1999).

AQP7 birçok organda eksprese edilmektedir. Yağ dokuda gliserol sekresyonunun AQP7 ile bağlantısı gösterilmiştir (Rodriguez ve ark, 2006). Obezitede AQP7'nin rolü ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (Lebeck, 2014). AQP7 adiposit hücre membranında eksprese edilir ve AQP7 null farelerde yaşlanma ile yağ kitlesinde artış, adiposit hipertrofisi ve adiposit içi trigliserit birikimi gözlenir Hara-Chikuma ve ark, 2005; Hibuse ve ark, 2005).

AQP8; Çok sayıda organda bulunur. Asit-baz dengesinde fizyolojik etkisi olduğu düşünülmektedir (Liu ve ark, 2006).

AQP9; Bazı küçük maddelerin geçişiyle ilişkili proteinler olup, laktat ve gliserole olan geçirgenliği nedeniyle enerji metabolizmasında yer alabileceği iddia edilmiştir (Tait ve ark, 2008; Gomes ve ark, 2009). AQP9'un karaciğerde gliserol uptakeinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Carbrey ve ark, 2003). AQP9 küçük polar maddeleri, aminoasit, şeker ve arseniti de taşıyabilir (Tsukaguchi ve ark, 1998; Wu ve Beitz, 2007; Carbrey ve ark, 2009).

AQP10; insanlarda gastrointestinal sistemde bulunmaktadır (Ishibashi ve ark, 2002).

AQP11 ve AQP12 süper-aquaporinler olarak isimlendirilen yeni bir alt sınıf aquaporin ailesini oluştururlar (Ishibashi, 2009; Ishibashi ve ark, 2014).

1.2.2 Aquaporinopatiler

İnsanlarda AQP'lerin fonksiyon kaybı ve mutasyonlarına nadiren rastlanır (Verkman, 2011). Nefrojenik diabetes insipidus, sjögren sendromu, multipl skleroz ve beyin ödemi gibi oldukça farklı bir dizi hastalıkta AQP'lerin yokluğu ya da fonksiyon bozukluğu olduğu tanımlanmıştır (Rutishauser ve Kopp, 1999; Peter ve Kozono, 2003; Tanaka ve ark, 2008; Min ve ark, 2008).

AQP0 (major integral protein) mutasyonunda su transportundaki bozukluktan ziyade hücrelerin birbiriyle defektif adezyonu nedeniyle konjenital katarakt gözlenir (Berry ve ark, 2000; Engel ve ark, 2008; Chepelinsky, 2009).

AQP1 eksikliğinde üre konsantrasyon fonksiyonunun bozulduğu gözlenmiştir (King ve ark, 2001). Böbrek proksimal tübülünde AQP1 olmayan farelerde sıvı absorpsiyon defekti gözlenmiştir (Schnermann ve ark, 1998).

AQP2 mutasyonu nefrojenik diabetes insipidusa yol açar (Deen ve ark, 1994). AQP2 mutasyonu sonucu gelişen nefrojenik diabetes insipidus da nadir görülmektedir (Verkman, 2011).

Bir başka nadir aquaporinopati ise nöroinflamatuvar bir hastalık olan nöromyelitis optikadır. Multiple sklerozun nadir bir varyantı olup öncelikle nervus opticus'u ve medulla spinalis'i etkiler ve körlük, paralizi ile ölüme neden olur. AQP4'lere karşı otoantikör oluşumu ile karakterize bir hastalıktır (Lennon ve ark,

2005). Nöromyelitis optika otoantikörlerinin astrositlerdeki AQP4'leri bağlayarak etki ettikleri düşünülmektedir (Wingerchuk ve ark, 2007).

AQP1, AQP2, AQP3, AQP4 olmayan farelerde üre konsantrasyonunda bozulma gözlenmiştir (Ma ve ark, 1997; Ma ve ark, 1998; Ma ve ark, 2000b; Yang ve ark, 2009). AQP7 ve AQP9'un diabet ve obezitede rol oynadığı düşünülmektedir (Maeda ve ark, 2009). Mekanizması tam olarak bilinmese de AQP11 olmayan farelerde polikistik böbrek hastalığı görülmüştür (Morishita ve ark, 2005).

AQP temelli tedavi modalitelerinin hastalıkların tedavisinde faydalı olabileceği düşünülmektedir (Verkman, 2011). AQP inhibitörleri ya da aquaretiklerin kalp yetmezliği gibi durumlarda faydalı olacağı öngörülmektedir (Verkman, 2011). Topikal AQP3 inhibitörleri cilt kanserini azaltabilir ve AQP7 ekspresyonu ile adiposit gliserol geçirgenliği artabilir, AQP'ler obezite tedavisinde yeni bir yöntem olabilir (Verkman, 2011).

AQP4 inhibitörlerinin hücrel beyin ödemi azalttığı öngörülmektedir ve beyin hasarı ile felçte nöroprotektif olabileceği, menenjit ile çeşitli ensefalitlerde ise mortaliteyi azaltabileceği düşünülmektedir (Verkman, 2011). AQP4 olmayan farelerde su intoksikasyonu, iskemik stroke ve bakteriyel menenjit gibi sitotoksik (hücrel) beyin ödeminde beyinde daha az su birikimi ve daha iyi sonuçlar gözlenmiş (Manley ve ark, 2000; Papadopoulos ve Verkman, 2005). AQP4 olmayan farelerde vazojenik ödemde ise daha kötü sonuçlar ve beyin parankiminde daha fazla su birikimi gözlenmiş (Papadopoulos ve ark, 2004; Bloch ve ark, 2005).

Ayrıca AQP4'ün kolaylaştırdığı glial hücre migrasyonunun inhibisyonu ile beyin ve medulla spinalis yaralanmalarında glial skar oluşumunun azalabileceği, aksonal rejenerasyonu artırarak uzun dönem nörolojik sonuçların daha iyi olmasını sağlayabileceği öngörülmektedir (Verkman, 2011).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Hayvanların Temini

Bu çalışma yerel etik kurul izni (2014-HADYEK-49) alındıktan sonra Gaziosmanpaşa üniversitesi deneysel araştırma biriminde gerçekleştirildi. Çalışmada 14 adet Wistar Albino cinsi dişi sıçan (180-400g) kullanıldı. Hayvanlar genç ve yaşlı ratlar arasından rastgele yedişer tanesi seçilerek iki eşit grup oluşturuldu. Grup I iki aylık genç hayvanlar grubu (n=7), Grup II 18 aylık yaşlı hayvanlar grubu (n=7) olarak düzenlendi. Uygulama öncesinde fareler oda sıcaklığında (22 ± 1 °C) ve %40-50 nem oranında tutuldu. Işık sistemi 12 saat gündüz, 12 saat gece olacak şekilde düzenlendi. Yeme ve içmeleri serbest bırakıldı. 1 hafta gözlem altında tutulan sıçanların günlük fizik muayeneleri yapıldı.

2.2 Örneklerin Alınması

Herhangi bir sağlık problemi olmayan sıçanlar sodyum pentobarbital (100 mg/kg) anestezisi altında eksanguinasyon yolu ile öldürüldü. Menisküs dokusu çıkarılarak immünohistokimyasal ve histopatolojik değerlendirmelerde kullanılmak üzere % 10'luk formalin solüsyonuna alındı.

2.3 Histopatolojik İnceleme

Menisküs dokuları rutin histolojik takipler (tablo 1) yapıldıktan sonra parafine gömüldü. Parafine gömülen dokulardan 4-5 µm kalınlığında kesitler alınarak hematoxylin-eosin (H&E) yöntemi ile boyandı. Boyanmış kesitler Zeiss Axio Lab A1 ışık mikroskobu altında incelendi.

Tablo 1: Histolojik takip serileri

Sıra No	Kullanılan Madde	Kimyasal Bekletilme Süresi
1	%10 EDTA	1 ay
2	%70 Alkol	2 saat
3	%80 Alkol	1.5 saat
4	%96 Alkol I	30 dakika
5	%96 Alkol II	30 dakika
6	%100 Alkol I	30 dakika
7	%100 Alkol II	30 dakika
8	Alkol + Xylol	15 dakika
9	Xylol I	30 dakika
10	Xylol II	30 dakika
11	Yumusak Parafin + Xylol	45 dakika
12	Yumusak Parafin	1 saat
13	Y. Parafin + Sert Parafin	1.5 saat
14	Sert Parafin	3 saat

2.4 İmmünohistokimyasal İnceleme

Parafin bloklardan 4-5 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Distile suya alınan dokular antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH:6'da mikrodalga fırında (600W) 5 dakika kaynatıldı. Endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için H₂O₂ ile muamele edildi. Zemin boyasını engellemek için Ultra V Block (Ultra V Block, TA-125-UB, Thermo Fisher Scientific Inc., USA) solüsyonu ile muameleden sonra primer antikor (Aquaporin 1 rabbit polyclonal IgG, Abcam, ab-15080, California, USA; Aquaporin 3 mouse monoclonal IgG, Abcam, ab-125219, Cambridge, UK) ile 60 dakika inkübe edildi. Primer antikor uygulanmasından sonra sekonder antikor 30 dakika (biotinli anti-mouse IgG, Diagnostic BioSystems, KP 50A, Pleasanton, USA), streptavidin horseradish peroksidaz 30 dakika ve 3-Amino-9-ethyl carbazole kromojeni uygulandıktan sonra Mayer's hematoksilenle zıt boyama yapıldı. Negatif kontrol için hazırlanan dokularda primer antikor yerine phosphate buffered saline (PBS) kullanıldı, diğer basamaklar aynı şekilde uygulandı.

PBS ve distile sudan geçirilen dokular uygun kapatma solusyonu ile kapatıldı (tablo 2). Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Zeiss Axio Lab A1) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı.

AQP1 ve AQP3 immünoaktivitesinin değerlendirilmesinde Taş ve arkadaşlarının tariflediği gibi H-skor analizi kullanıldı (Taş ve ark, 2012). H-skor analizi sırasında AQP1 ve AQP3'ün immünohistokimyasal olarak boyanma yoğunlukları dört kategoriye ayrılarak değerlendirildi. Buna göre 0 (boyanma yok), 1+ (zayıf fakat saptanabilir düzeyde boyanma), 2+ (orta düzeyde boyanma) ve 3+ (yoğun boyanma) olarak kabul edildi. X40'lık objektif altında her bir boyanma yoğunluğuna ait hücre sayıları ortaya kondu ve daha sonra bu hücre sayıları toplam hücre sayısına oranlanarak yüzdelik değerler elde edildi. Bu yüzdelik değerler ise kendi boyanma yoğunluk dereceleri ile çarpılarak toplam skor değerleri elde edildi. Bu işlem $H\text{-SCORE} = \sum P_i(i+1)$ şeklinde formüleleştirildiğinde; 'i' boyanma yoğunluğunu ve 'Pi' ise bu boyanma yoğunluğunda yer alan hücrelerin yüzdesini ifade etmektedir. Skor değerlendirilmesi her bir doku kesiti için beş farklı alanda tekrarlandı ve sonrasında ortalama bir skor değeri ortaya kondu.

Tip 1 kollajen boyaması yapıldı (Anti-collagen I antibody, Abcam, ab6308, California, USA). Tip1 kollajen ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesinde ise Kanter'in belirlemiş olduğu yöntem kullanıldı (Kanter ve ark, 2013). Bu yöntemde X40 objektif büyütmedeki her bir doku kesiti için immünreaktivite yoğunluğu; 0 (boyanma yok), 1+ (az boyanma), 2+ (orta düzeyde boyanma), 3+ (yüksek düzeyde boyanma) ve 4+++ (çok yüksek düzeyde boyanma) şekilde değerlendirildi.

Tablo 2: İmmunohistokimya boyama serileri

Sıra	İşlem	Süresi
1	Deparafinizasyon	1 saat
2	Distile su	5 dakika
3	Fosfat tamponlu tuzlu su (PBS)'de (pH: 7.6)	5 dakika
4	%3'lük H ₂ O ₂ 'de	5 dakika
5	PBS'de (pH: 7.6)	5 dakika
6	Primer antikor oda ısısında	1 saat
7	PBS'de (pH: 7.6)	5 dakika
8	Sekonder antikor	30 dakika
9	PBS'de (pH: 7.6)	5 dakika
10	Streptavidin peroksidaz	30 dakika
11	PBS'de (pH: 7.6)	5 dakika
12	AEC Kromojen	1-10 dakika
13	Distile su	5 dakika
14	Zıt boya olarak Mayer's hematoksilen	1 dakika
15	Akarsuda	1 dakika
16	Kurulama	
17	Özel kapatma maddesi ile kapatma	

2.5 İstatistiksel analiz

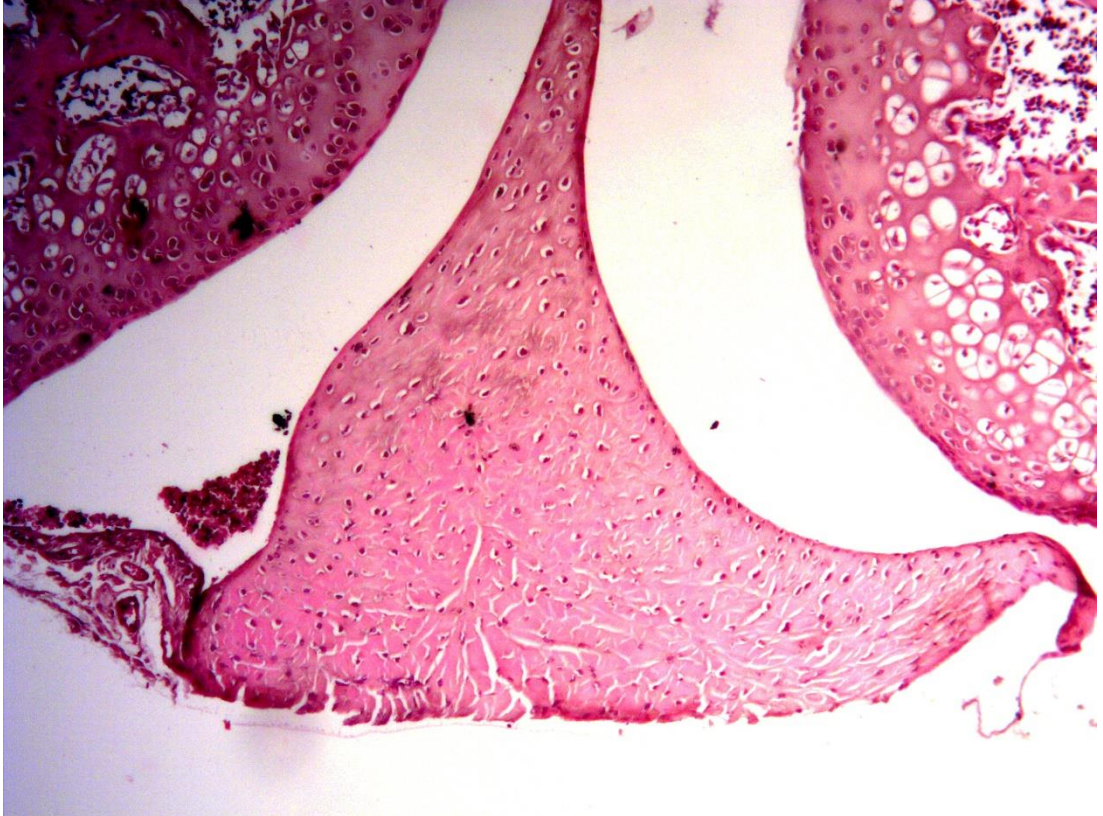
İstatistiksel analizler IBM-SPSS 20 programıyla yapıldı. H-skor değerleri açısından gruplar arası karşılaştırma yapılırken independent-sample t testi kullanıldı. Değerlerin homojen olarak dağılıp dağılmadığının belirlenmesinde ise Levene testi tercih edildi. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

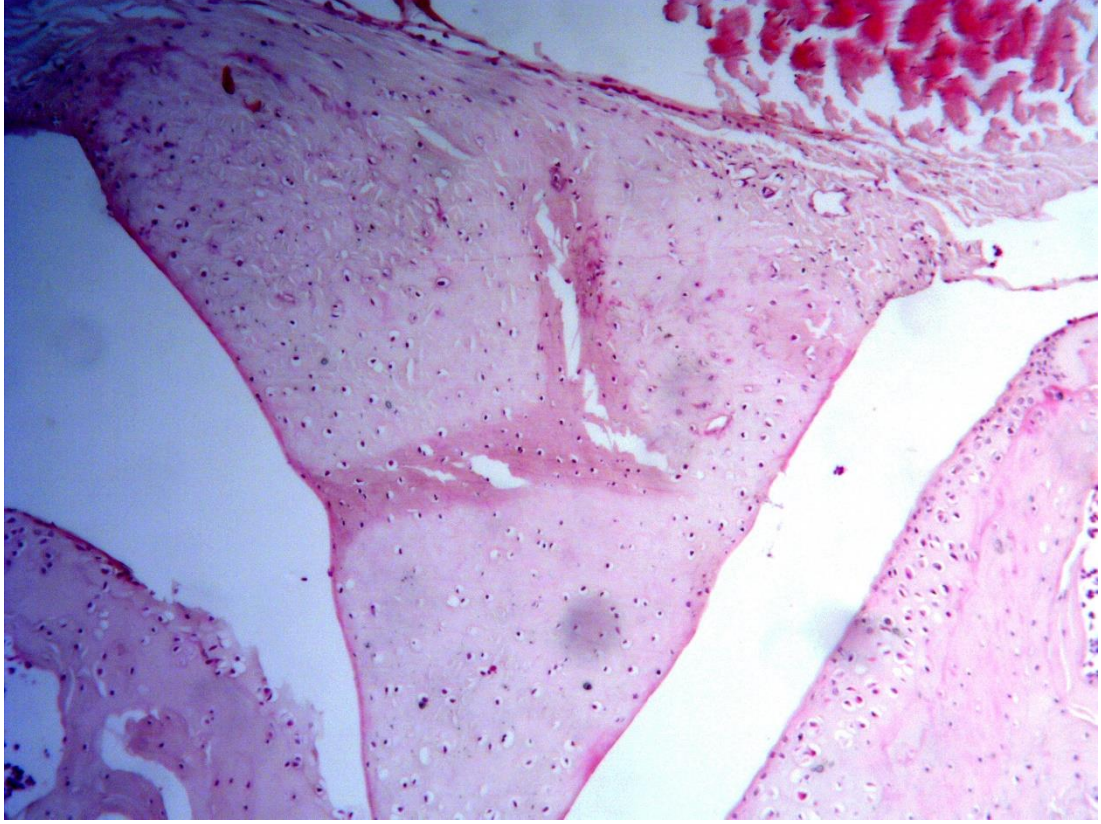
3.1 Histolojik bulgular

Genç ve yaşlı hayvanlarda menisküslerin normal histolojik yapısı Zeiss Axio Lab A1 ışık mikroskobu ile fotoğraflanarak Şekil 4 ve 5 de gösterildi. Genç sıçanlarda normal menisküs dokusu yapısı izlenerek herhangi bir patolojiye rastlanılmadı. Yaşlı sıçanlarda ise makro düzeyde yırtıkların bulunduğu ve kondrosit sayısının azalmış olduğu görüldü.

Şekil 4. Genç sıçanlarda hematoksilin-eozin yöntemi ile boyanmış x10'luk büyütmedeki menisküs dokusu kesiti.



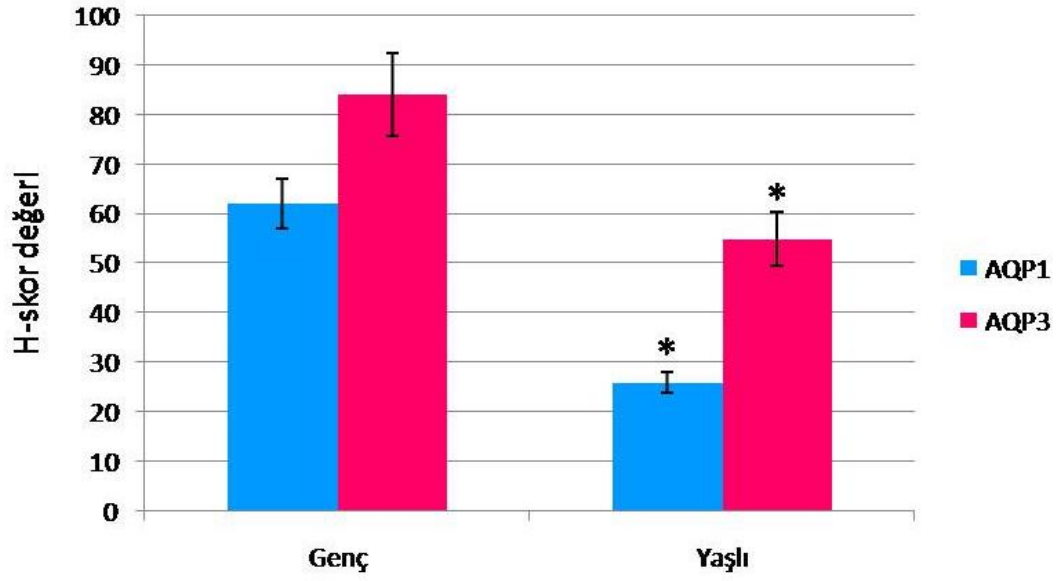
Şekil 5. Yaşlı sıçanlarda hematoksilin-eozin yöntemi ile boyanmış x10'lık büyütmedeki menisküs dokusu kesiti.



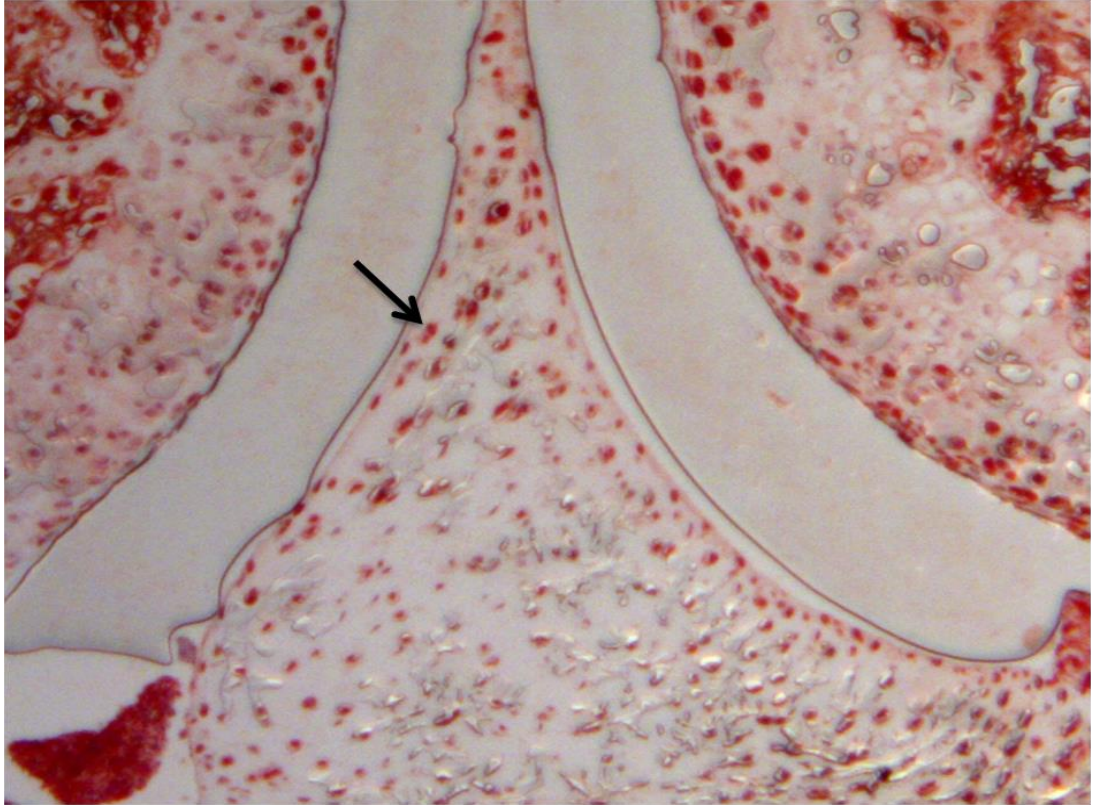
3.2 İmmünohistokimyasal bulgular

Yaşlı ve genç sıçanların menisküs dokusu kesitlerinde AQP1 ve AQP3 proteinleri immünohistokimyasal olarak boyanarak gösterildi. H skor değerleri hesaplanarak tablo 3'de gösterildi. Genç sıçanlara kıyasla yaşlı sıçanların menisküs dokularında hem AQP1 hem de AQP3 immünoaktivitesinin anlamlı bir şekilde azalmış olduğu görüldü ($p < 0.001$) (tablo 3) (Şekil 6-9). Pozitif kontrol boyamaları yapılarak böbrek tübüllerindeki AQP1 ve AQP3 ekspresyonunun varlığı ortaya kondu (Şekil 10, 11). Yaşlı sıçanların menisküslerinde tip1 kollajen immünoaktivitesinin anlamlı bir şekilde azalmış (+) olduğu görülürken ($p < 0.001$) (Şekil 13), genç sıçanların menisküslerinde yüksek düzeyde (+++) bir boyanmanın olduğu izlendi (Şekil 12).

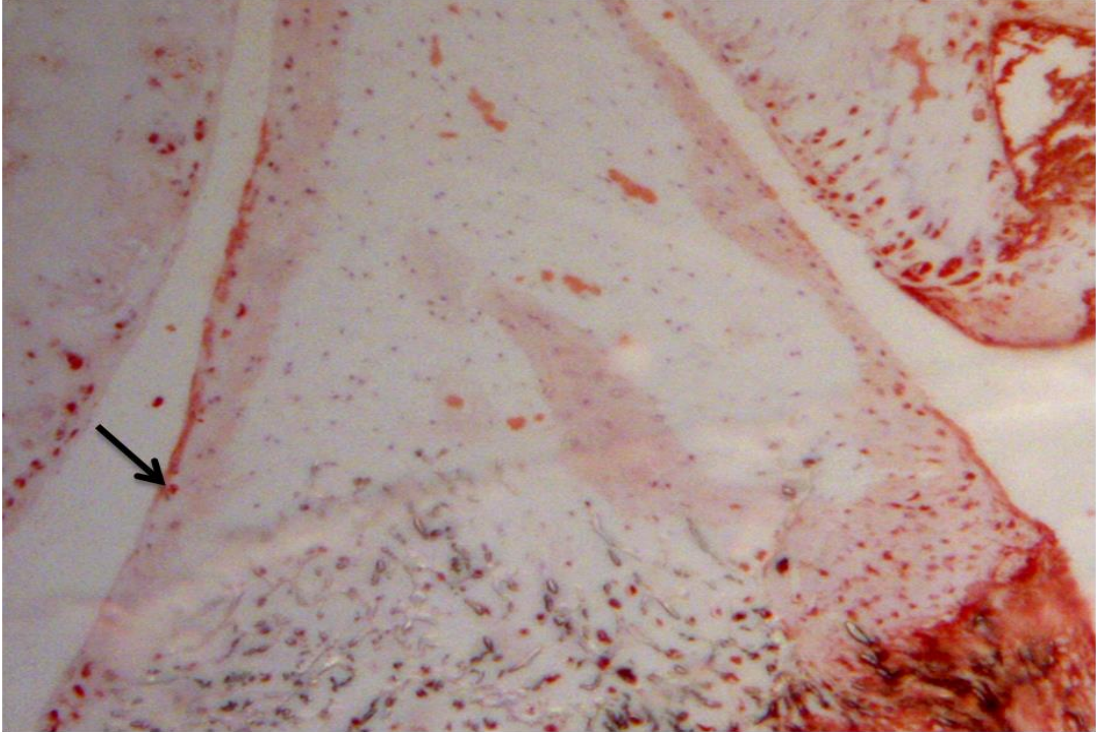
Tablo 3. Genç ve yaşlı gruplar arasında H skor değerlerinin karşılaştırılması. * $p < 0.01$, genç grup ile karşılaştırıldığında.



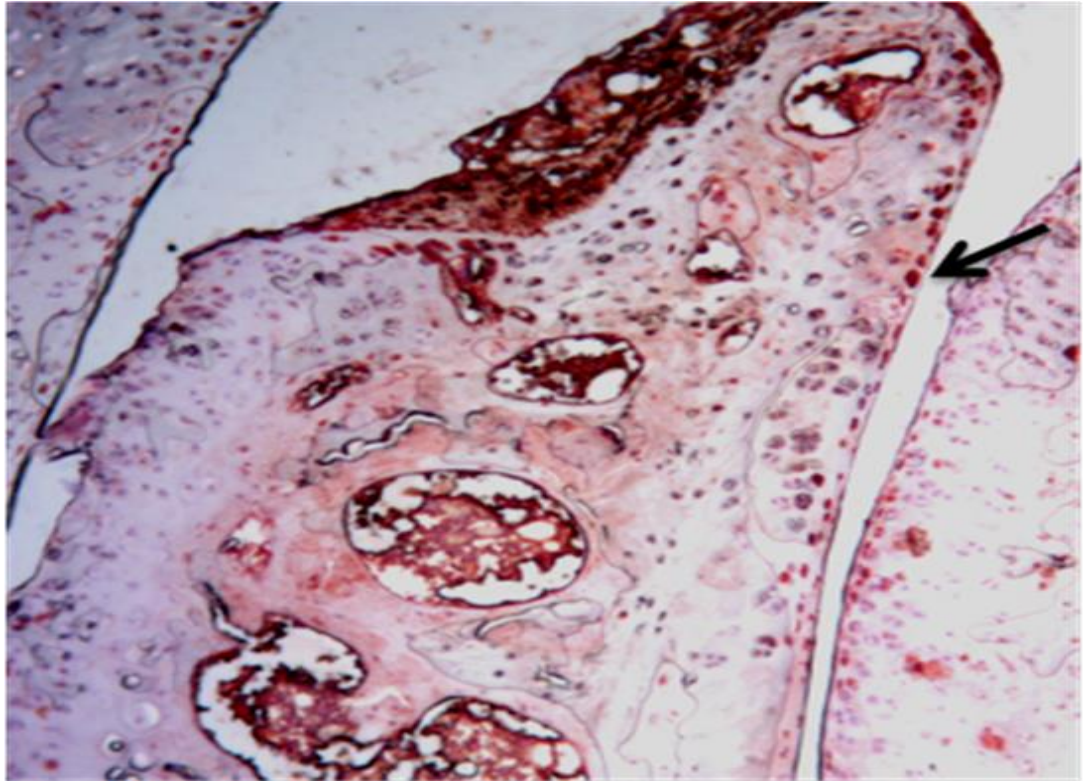
Şekil 6. Genç sıçanda AQP1 immünohistokimya yöntemiyle boyanmış $\times 10$ 'lık büyütmedeki menisküs dokusu kesiti. Okun ucu AQP1 antikoruyla pozitif boyanmış fibrokondrositi göstermektedir.



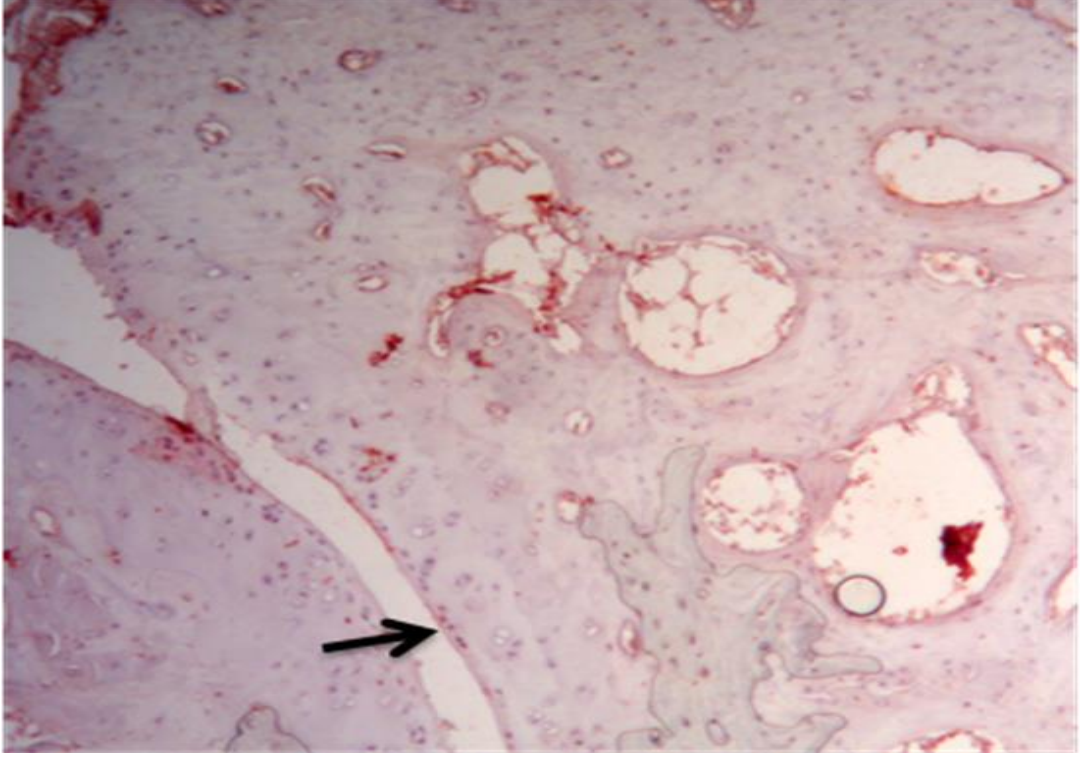
Şekil 7. Yaşlı sıçanda AQP1 immünohistokimya yöntemi ile boyanmış x10'lık büyütmedeki menisküs dokusu kesiti. Okun ucu AQP1 antikoruyla pozitif boyanmış fibrokondrositi göstermektedir.



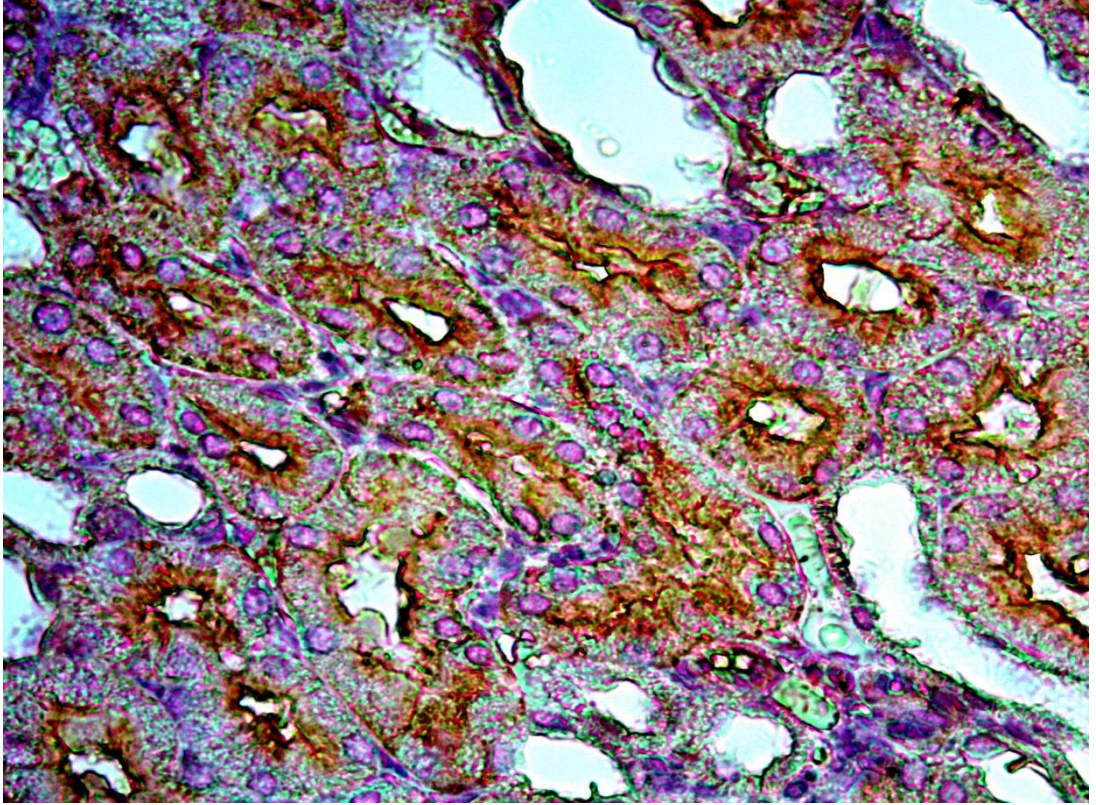
Şekil 8. Genç sıçanda AQP3 immünohistokimya yöntemi ile boyanmış x10'lık büyütmedeki menisküs dokusu kesiti. Okun ucu AQP3 antikoruyla pozitif boyanmış olan fibrokondrositi işaret etmektedir.



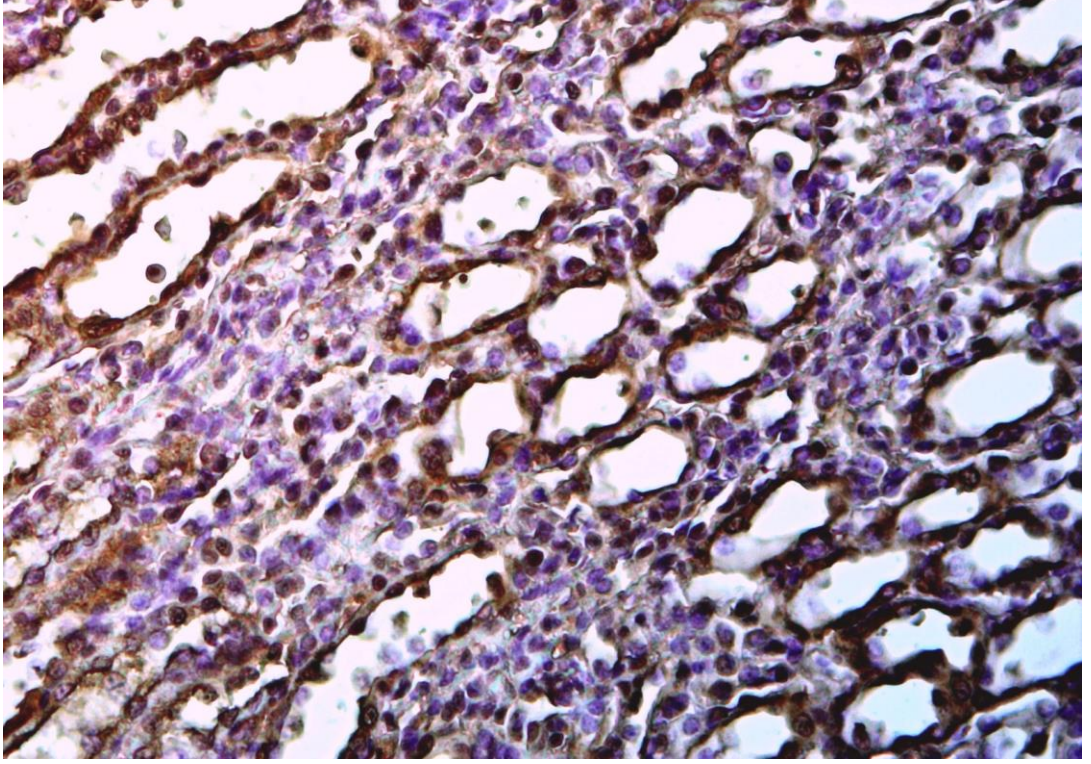
Şekil 9. Yaşlı sıçanda AQP3 immünohistokimya yöntemi ile boyanmış x10'lık büyütmadaki menisküs dokusu kesiti. Okun ucu AQP3 antikoruyla pozitif boyanmış olan fibrokondrositi işaret etmektedir.



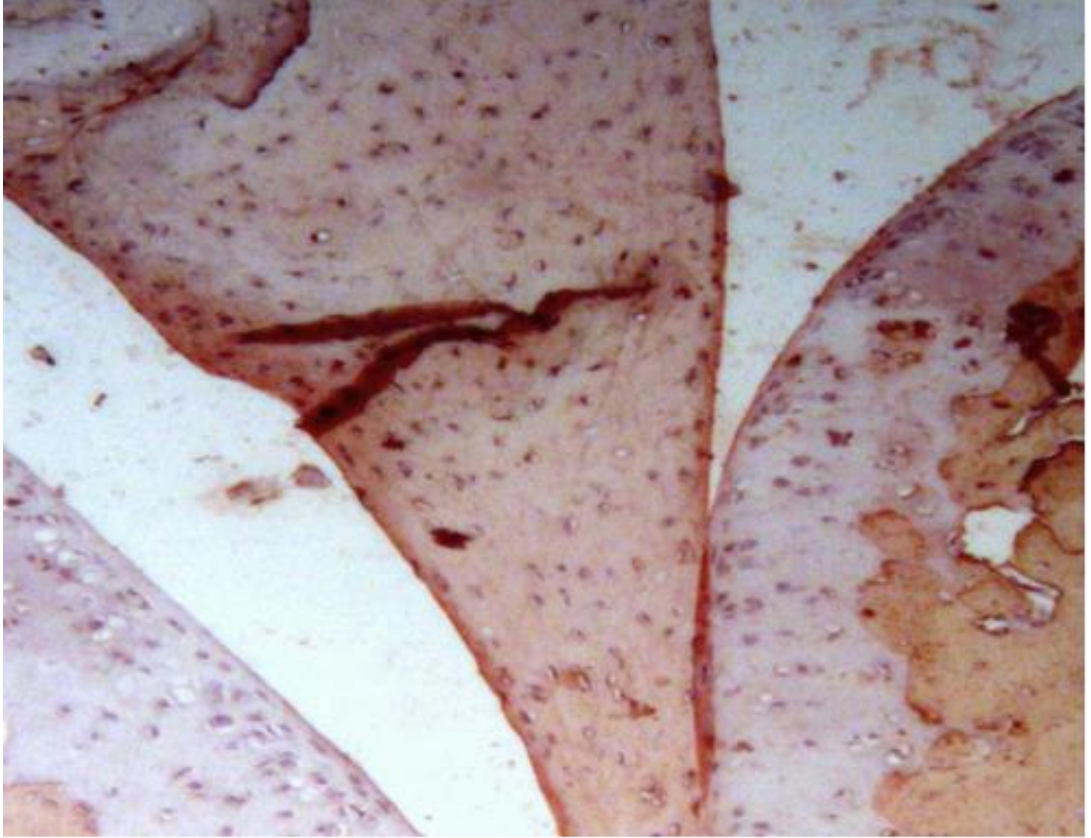
Şekil 10. Sıçanda AQP1 pozitif kontrol böbrek dokusu kesiti.



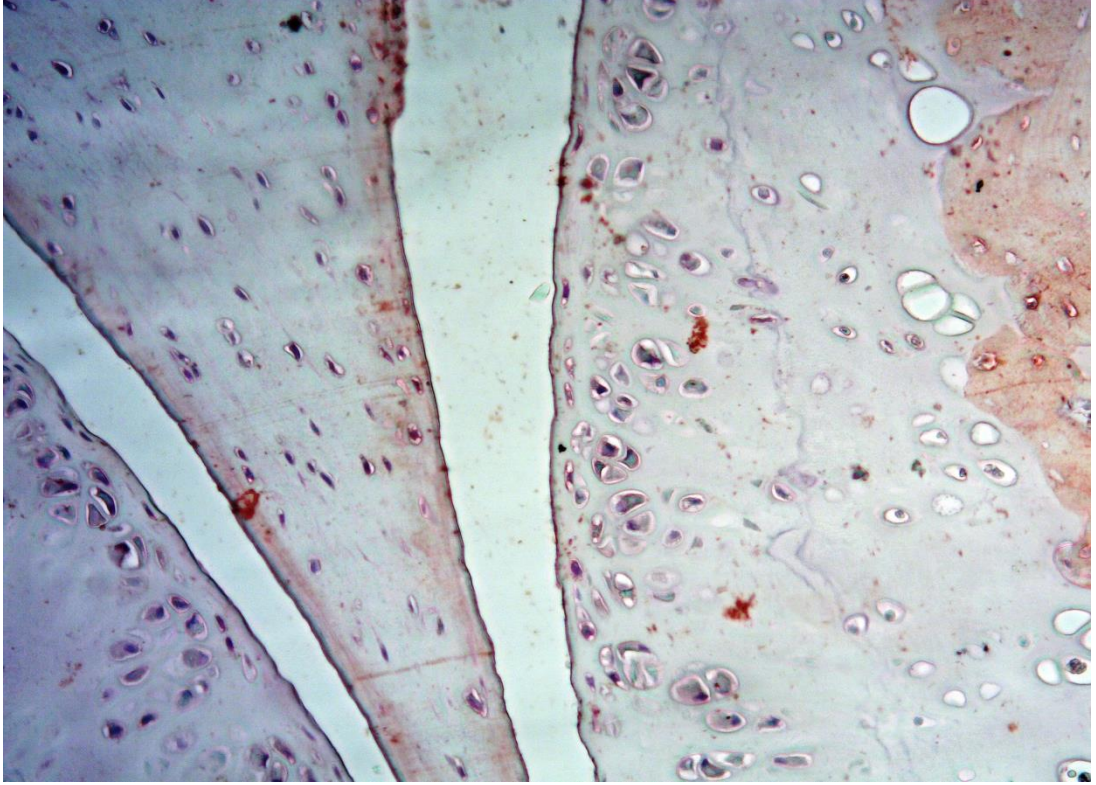
Şekil 11. Sıçanda AQP3 pozitif kontrol böbrek dokusu kesiti



Şekil 12. Genç sıçanda Tip I kollajen immünohistokimya yöntemi ile boyanmış x10'lık büyütmadaki menisküs dokusu kesiti.



Şekil 13. Yaşlı sıçanda Tip I kollajen immünohistokimya yöntemi ile boyanmış x10'lık büyütmedeki menisküs dokusu kesiti.



4. TARTIŞMA

İnsan vücudunda en sık osteoartrit gözlenen eklem olan diz eklemi içerisinde yer alan menisküs 19. yüzyılda fonksiyonsuz embriyonik bir atık olarak değerlendirilmekte idi (Fox ve Bedi, 2012). Ağrıyı geçirmek, fonksiyonu düzeltmek amacı ile menisektomi uygulanmış hastalarda ve menisküs dejenerasyonunda diz ekleminde osteoartrit gelişimi gösterilmiştir (Fairbank, 1948; Musumeci ve ark, 2013). Önemi anlaşıldıktan sonra menisküsleri korumaya yönelik tedavi protokollerine öncelik verilmiş ve menisküs dokusu daha ayrıntılı incelenmeye başlanmıştır.

Menisküslerin beslenmesi arterler ve aralıklı olarak eklem yük binmesi sonucu sinovyal sıvıdan difüzyon yolu ile gerçekleşir (Fox ve Bedi, 2012). Fonksiyon olarak aksiyel, rotasyonel, makaslama kuvvetlerine karşı koyan, yük dağıtımında görev alan diz eklemine uyumlu çalışabilmesi için hareketli bir yapıya sahip olan fibrokartilaginöz yapıdaki menisküslerin işlevlerini yerine getirebilmesi gerekir. Bu da menisküslerin elastik yapısına, elastik yapı ise su içeriğine bağlıdır (Tandoğan, 1997; Jones ve Doherty, 2005; Fox ve Bedi, 2012; McNulty ve Guilak, 2015). Ayrıca yaşlanma sürecinde menisküsün vaskülarizasyonunda azalma olduğu bilinmektedir (Roughley, 1986; Petersen ve Tillmann, 1999). Petersen ve Tillmann fetüs ve yetişkin menisküslerinde yaptıkları araştırmada, doğumda neredeyse tüm menisküsün vaskülarize olduğunu, 2 yaşında ise iç 1/3'lük kısımda avasküler alan görülmeye başladığını, 10 yaşından sonra sadece 1/3 periferik kısmın vaskülarize olduğunu, 50 yaştan sonra ise periferde %25'lik bir alanda vaskülarizasyonun gözlemlendiğini belirtmişlerdir (Petersen ve Tillmann, 1999). Vaskülarizasyonda azalma menisküsün beslenmesini eklem içi sıvıya daha bağımlı hale getirmektedir. Suyun menisküslerin beslenmesi ve fonksiyon görebilmesi üzerine önemli etkisi vardır (Petersen ve Tillmann, 1999; Musumeci, 2013). 70 kg ağırlığında sağlıklı bir insan vücudunun %60'sının su olduğu göz önüne alındığında menisküs dokusunda suyun daha hayati bir fonksiyon gördüğü aşıkardır (Sawka ve ark, 2005).

Önceleri su transportunun sadece basit difüzyon ile olduğu kabul edilirken, günümüzde bu transportun aynı zamanda AQP'ler aracılığı ile de olduğu bilinmektedir (Agré ve ark, 2002). AQP'ler, su ile küçük solüt maddeler için geçit görevi gören çeşitli hücre ve dokularda eksprese edilen su kanal proteinleridir (Peter ve Kozono, 2003). Aquaporinlerin (AQP'lerin) keşfi ile suyun taşınmasında farklı bir yaklaşım ortaya çıkmıştır (Smith ve Agré, 1991). Kıkırdak dokusunda özellikle AQP1 ve AQP3 çalışılıp dokudaki varlığı gösterilmiştir (Mobasheri ve ark, 2004; Mobasheri ve ark, 2005; Taş ve ark, 2012; Loreto ve ark, 2012).

Fizyolojik bir süreç olan yaşlanmada insanların menisküsünün makroskopik olarak daha sert, elastikiyetinin az, daha opak sarı renkli olduğu, menisküs yüzeylerinin pürüzlü olduğu gözlenmiştir. Mikroskopik olarak ise hücre yoğunluğunda azalma, boş alanlarda artma, mukoid dejenerasyon, fibröz doku artışı bulunmuştur. Kollajen fibril organizasyonunda bozulma gözlenmiştir. Hücrelerin osteoartritteki tipik hücre kümelenmelerine benzemediği ancak lokal yabancı bir fibrokondrosit proliferasyonu olarak bir arada kümelenmiş olduğu tespit edilmiştir (Fisseler-Eckhoff ve Muller, 2009; Pauli ve ark, 2011; Fox ve Bedi, 2012).

Pauli ve arkadaşlarının yaptığı kadavra çalışmasında osteoartriti olmayan ya da minimal olan dizlerdeki menisküslerde en erken değişikliklerin iç (beyaz-beyaz bölge) bölgelerde olduğu gözlenmiştir. Osteoartrozlu diz menisküslerinde matriksde ciddi fibrokartilaginöz ayrışma, yaygın yıpranma, yırtık ve kalsifikasyon gözlenmiştir. Osteoartrozlu diz menisküslerinde hücrelerde azalma ile beraber mevcut hücrelerde hipertrofi ve anormal hücre kümeleri gözlenmiştir. Çalışmalarında genel olarak medial ve lateral menisküs ön boynuzlarının yaş ve osteoartritten en az etkilenen bölgeler olduğunu tespit etmişlerdir (Pauli ve ark, 2011).

Yaşla birlikte eklem kıkırdağındaki değişikliği ele alan başka bir çalışmada eklem hastalıklarının patogenezinde kıkırdak homeostazında sirkadyen ritmin rol alabileceğinden bahsedilmiştir (Gossan ve ark, 2013).

Eklem kıkırdağı hasarında suçlanan diğer bir konu ise apoptozdur. Daha önce yaşlı kıkırdaktaki hücre kaybının nekroz nedeni ile olduğu düşünülmekte iken artık apoptoz suçlanmaya başlanmıştır. Aynı şekilde yapılan çalışmalarda yaşlı menisküslerde apoptotik body gözlenmiştir. İnsan menisküs dokusunda anormal yüklenmenin apoptoza neden olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada travmatik ya da dejeneratif menisküs yırtığı olan hastalardan alınan menisküs dokularında gözlenen apoptozun benzer olduğu ve bunun kesin sebebinin bilinmediği belirtilmiştir (Uysal ve ark, 2008).

Yaş ilişkili gen ekspresyonunun ileri yaşlarda menisküs hücrelerinin form ve fonksiyon olarak özelliklerini kaybetmesine sebep olacağı ve proliferatif fenotipi başlatabileceği gösterilmiştir. Genç hasta menisküs hücrelerinin ise tam tersine hasara cevap verdiği ve farklılaşan fenotipini koruduğu gözlenmiştir (Rai ve ark, 2013).

Yaşlanma sürecinde ve diz eklem osteoartritinde ekstraselüler matriksde kayıp olduğu bilinmektedir (Pauli ve ark, 2011). Ancak menisküs matriks komponentlerinin sentez ve yıkımının kesin mekanizması tam olarak anlaşılammıştır (McNulty ve Guilak, 2015). Menisküs dokusunun hidrate olma özelliği, menisküsün kompleks fizikokimyasal, elektiriksel, tensil, kompresif kuvvetleri ile makaslama kuvvetlerinin stres ve gerilimini sağlamada önemli bir yer oluşturmaktadır (McNulty ve Guilak, 2015). Menisküs dokusunun, katabolik aktivitenin daha fazla arttığı yaşlanma gibi fizyolojik bir süreçteki değişikliklerinin anlaşılabilmesi için doku hidrasyonun anlaşılması oldukça önemlidir. Eklem kıkırdağının yaşlanma süreci, ana olarak membrandan su transferine bağlı olan beslenmesi ile ilişkilidir (Musumeci, 2013). Gözlenen değişikliklerin hızı ve şiddeti olayın yaşlılığa bağlı fizyolojik bir süreç mi yoksa bir hastalık mı olduğuna işaret etmektedir (Pehlivan ve Karadakovan, 2013). Eklem kıkırdağını korumak amaçlı yük aktarımında önemli görevi olan, makaslama, aksiyel ve rotasyonel kuvvetlere karşı koyan, uyumsuz diz eklemine uyumlu hale getiren, elastik ve hareketli olan menisküs dokusunun dejenere olması osteoartrit gelişimine yol açmaktadır (Gepstein ve ark, 2002; Pauli ve ark, 2011). Görüldüğü gibi menisküs dokusunun hasarı ile gonartroz

arasında doğru orantı vardır. Menisküsün yaralanması ve dejenerasyonu, ağrı ve eklem fonksiyon bozukluğu ile sonuçlanır (Fairbank, 1948). Thompson ve arkadaşları çalışmalarında menisküsün en az hareketli alanının posterior oblik ligamentin meniskotibial bölümü ile hareketi sınırlandırılmış, tibia platosuna yapışan posteromedial köşenin yaralanmalara en eğilimli bölge olduğunu bildirmişlerdir (Thompson ve ark, 1991). Parsiyel menisektomi menisküs yırtıklarının tedavisinde kullanılır, ancak ağrıyı ve fonksiyonları düzeltmesine rağmen bu cerrahi tedavi yöntemi osteoartrit gelişimine engel olmamaktadır (Fairbank, 1948; Hoser ve ark, 2001; Andersson-Molina ve ark, 2002; Hall ve ark, 2015).

Gonartroz ekstraselüler matriksin azalması ile karakterize anabolik ve katabolik süreçlerin arasındaki dengesizlik sonucu oluşur (Musumeci ve ark, 2011). Osteoartritte erken dönemde ödem olduğu (su biriktiği) bilinmektedir (Dijkgraaf ve ark, 1995). Kollajen ağında artan tansiyona yardım eden proteoglikanların varlığı nedeniyle biriken su doku ödemeine sebep olur (Meng ve ark, 2007; Musumeci ve ark, 2013). Bu ödem, dokunun tensil ve makaslama kuvvetlerine ECM'nin direnç göstermesini sağlayarak, mekanik yüklere karşı koymasına katkıda bulunur (Gepstein ve ark, 2002; Loreto ve ark, 2011). Dolayısı ile ödem kompensatuar mekanizma olarak düşünülebilir. Osteoartrit ilerledikçe kıkırdak doku proteoglikanları azalır ve bu da doku içinde su tutma kapasitesinde azalmaya neden olur. Bu azalma viskoelastikiyette azalmayla sonuçlanabilir (Musumeci, 2013).

Fibro kondrositler menisküsteki toplam doku hacminin %10'unu oluşturmaktadır (Aktaş, 2012). Bu hücreler ECM'nin sentezi, devamlılığı ve bozulmasında önemli rol oynar (Musumeci, 2013). Dize binen yüklere karşı koyan, diz eklemine binen yükün daha dengeli dağılmasını sağlayan menisküslerin dayanıklılığını ve esnekliğini sağlayan ekstrasellüler matriks, fibrokondrosit tarafından üretilmektedir (Musumeci ve ark, 2013). Fibrokondrositlerin ürettiği proteoglikanlar sayesinde suyun çoğunluğu menisküs dokusu içinde tutulur (Fox ve Bedi, 2012). Menisküs hücrelerinin biyolojik aktivitesi genetik ve biyokimyasal faktörlerle kontrol edilmesinin yanında ekleme yük binmesi gibi fiziksel faktörlerle

de ilişkilidir. Mekanik yüklenmenin diz ekleminde menisküs hücrelerinin mekanik aktivitesi üzerine güçlü bir etkisi olduğu bilinmektedir (McNulty ve Guilak, 2015).

Ghosh ve Taylor insanlarda kollajen konsantrasyonunun 30 yaşa kadar arttığını, 80 yaşa kadar sabit kaldığını ve 80 yaş sonrasında ise azaldığını göstermişler (Ghosh ve Taylor, 1987). Kollajen olmayan proteinlerin 30-70 yaş arasında azaldığı gösterilmiş (Ingman ve ark, 1974). Keratin sülfatın yaşla arttığı gösterilmiştir (Roughley, 1986). Yaşlanma ile menisküste kollajen dokuda ve fibrokondrositlerde azalma olduğu bilinmektedir (Ghosh ve Taylor, 1987; Fox ve Bedi, 2012). Çalışmamızda fibrokondrosit sayısındaki ve kollajen miktarındaki azalma literatür ile uyumlu tespit edilmiştir.

Yaşlanmanın bir sonucu olarak bütün dokularda su oranında azalma görülmekle birlikte bu azalma menisküs, intervertebral disk ve yük binen eklem kıkırdaklarında ayrı bir önem teşkil etmektedir (Wang ve Zhu, 2011; Taş ve ark, 2012; Fox ve Bedi, 2012). Yapılan bazı çalışmalarda yaşlanma ile birlikte meydana gelen değişiklikler ve bu dokulardaki AQP izoformlarının ekspresyonundaki farklılıklar ortaya konulmaya çalışılmıştır. Deneysel hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda yaşlanma ile birlikte retinada AQP1, 3, 4, 6 ve 9, intervertebral disklerde AQP1 ve 3, kemikte AQP1 ve 3 ve ayrıca tükürük bezlerinde AQP1 ve 5 düzeylerinde değişiklikler olduğu bildirilmiştir (Ortak ve ark, 2013, Taş ve ark, 2012, Sapmaz HI ve ark, 2016, Sapmaz E ve ark 2016) . Bizim çalışmamızda da menisküs dokusunda AQP1 ve AQP3 ekspresyonunun yaşlanma ile birlikte azaldığı gösterildi.

Musumeci osteoartritteki ödem için, hücrelerin su içeriğinin AQP kanallarının yoğunluğundan önemli miktarda etkilenebildiğini belirtmiştir (Musumeci, 2013). Deneysel olarak ratlarla yapılan diz osteoartritte menisküslerdeki fibrokondrositte AQP1 ekspresyonunda artış gözlenmiştir. Kollajen ağ içerisindeki proteoglikanların varlığına bağlı olarak doku içerisinde su birikimi, şişlik ve ödem gözlenir. Bu şişlik ekstrasellüler matriksin tensil ve makaslama kuvvetlerine karşı koymasını sağlar. Osteoartritte kıkırdak doku proteoglikan kaybeder ve su tutma kapasitesi azalır. Bu

çalışmada AQP1'in, hücrenin kendisinin ve ekstrasellüler matriksin homeostazisinde etkili olabileceğinden bahsedilmiştir (Musumeci ve ark, 2013).

Ratlarla yapılan deneysel TME osteoartritinde, normal ve osteoartritli kıkırdak dokular arasında AQP1 ekspresyonları arasında fark gözlenmezken, AQP3 ekspresyonunun osteoartritli kıkırdakta daha fazla olduğu gözlenmiştir. Araştırmacılar AQP3'ün osteoartrit mekanizmasında rol oynayabileceğinden bahsedilmiştir (Meng ve ark, 2007).

Gao ve arkadaşları osteoartritli kıkırdakta AQP1 ekspresyonundaki artışın apoptoz ile ilişkili olabileceğinden ve AQP1 ekspresyonundaki değişikliğin osteoartrit patogenezinde rol alabileceğinden bahsetmiştir (Gao ve ark, 2011).

AQP'ler hücre migrasyonu fonksiyonu sayesinde yara iyileşmesinde de rol oynar (Verkman, 2011). AQP3 deride yara iyileşmesini artırır (Hara-Chikuma ve Verkman, 2008). AQP3'ün kolaylaştırdığı gliserol transportu derinin hidrasyonunda önemli bir belirleyicidir (Ma ve ark, 2002). AQP3 null farelerde cilt elastikiyetinde azalma gözlenmiştir ve bunun sebebinin azalmış gliserol geçirgenliği olduğu rapor edilmiştir (Verkman, 2011). Yapılan başka bir AQP3 null fare çalışmasında cilt ve cilt altında gliserol içeriğinin azaldığı ve ciltte hidrasyonun bozulduğu, elastiklikte azalmada cilt kuruluğunun oluşumunda AQP3'ün fonksiyonun önemi vurgulanmıştır. Aynı çalışmada AQP3 null farelerde ciltte su içeriğinin azaldığı, elastikiyette azalma gözlenmiştir (Hara ve ark, 2002).

AQP3 üretimin genetik olarak inhibe edildiği farelerle yapılan yara iyileşme çalışmasında; AQP3 üretimi engellenen farelerde yara iyileşmesinde gecikme, bozulmuş yara iyileşmesi, bozulmuş hücre proliferasyonu, azalmış hücre migrasyonu ve cilt elastikiyetinde azalma gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada oral gliserol verilen farelerde yara iyileşmesi ve hücre proliferasyonunun büyük oranda düzeldiği gözlenmiştir (Hara-Chikuma ve Verkman, 2008).

İnsan temporomandibular eklem (TME) diskinde de AQP1 gösterilmiş ve TME disk homeostazında rol oynadığı belirtilmiştir (Loreto ve ark, 2012). Yapılan çalışmalarda gonartrozda AQP1 ekspresyonunda artış gösterilmiştir (Musumeci ve ark, 2013).

İnsan diz eklemi kıkırdağında yapılan bir çalışmada normal kıkırdakta ve dejenere kıkırdakta hem AQP1 hem de AQP3 incelenmiştir. Bu çalışmada AQP'lerin yük taşıyan eklemlerde osteoartrit gelişimine cevapta rol oynayabileceğinden bahsedilmiştir (Hagiwara ve ark, 2013). Taş ve ark. intervertebral diskler üzerinde yaşlanma ile beraber görülebilen değişiklikleri araştırdıkları deneysel çalışmalarında aquaporin 1 ve 3 ekspresyonunu incelemişlerdir. AQP1 ve AQP3 ekspresyonunun yaşlılıkla azaldığını belirtmişlerdir. Bu azalmanın yaşlanma ile meydana gelen dejenerasyonla ilişkili olabileceğini vurgulamışlardır. İntervertebral disk dejenerasyonunun patolojik mekanizmasının altında yatan sebeplerden birinin AQP'lerin kaybı olabileceğini rapor etmişlerdir (Taş ve ark, 2012).

Yaşlılık ile artrozda görülen dejenere menisküs dokusunun elastikiyetindeki ve su içeriğindeki azalma düşünüldüğünde, AQP3 null farelerle yapılan çalışmalarda elastikiyetin azalması, sıçan intervertebral diskinde yaşlanma ile beraber AQP3 ekspresyonunda azalmanın gözlenmesi, ratlarda deneysel TME osteoartritinde mandibular kondil kıkırdağında iyileşme çabasının sonucu olduğu düşünülen AQP3 ekspresyonundaki artış bize menisküs dokusunda AQP3 ekspresyonunun osteoartrozu önlemede fonksiyon görebileceğini düşündürmüştür (Gepstein ve ark, 2002; Meng ve ark, 2007; Hara-Chikuma ve Verkman, 2008; Taş ve ark, 2012; Fox ve Bedi, 2012). Ayrıca Hara-Chikuma'nın AQP3 null farelerdeki yara iyileşmesi çalışmasında, gliserol verilen grupta iyileşmenin daha iyi olması AQP3'ün menisküste ekstraselüler matriks üzerindeki etkinliğinin daha detaylı araştırılması konusunda merak uyandırmaktadır (Hara-Chikuma ve Verkman, 2008).

Bu çalışmada fizyolojik bir süreç olan yaşlılıktaki değişiklikleri içermektedir. Literatür incelendiğinde genelde çeşitli eklemlerde osteoartroz gibi hastalıklardaki değişikliklerin rapor edildiğini görmekteyiz (Gepstein ve ark, 2002; Meng ve ark, 2007; Musumeci, 2013; Musumeci ve ark, 2013). Fonksiyon ve yapı olarak menisküse benzeyen intervertebral diskteki değişikliklerin rapor edildiği çalışmalarda AQP1 ve AQP3 ekspresyonlarında yaşlanma ile azalma olması bizim çalışmamız ile uyumludur (Taş ve ark, 2012). İntervertebral disk dejenerasyonunun olduğu disklerde de AQP1 ve AQP3 ekspresyonlarında azalma olduğu gösterilmiştir (Li ve ark, 2014). Wang ve Zhu nun tavşanların nükleus pulposusları üzerinde yaptıkları çalışmalarında ise genç tavşanlara oranla erişkinlerde AQP1 düzeylerinde azalma olduğu ancak yaşlı hayvanlarda tekrar bir artışın olduğu gösterilmiştir. Üç grup arasında en yoğun AQP1 miktarının yine genç tavşanlarda olduğu görülmüştür (Wang ve Zhu, 2014). Ancak bu bulguların tersine artrozun değerlendirildiği yukarıda belirtilen çalışmalarda AQP'in arttığına dair farklı sonuçlar gözlenmektedir.

Çalışmamız buguları göz önünde bulundurulduğunda bulgularımız arasında yer alan fibrokondrosit ve kollajen azalması literatür ile uyumludur ve AQP1 ve AQP3 ile paralel olan bu azalma AQP'lerin ekstraselüler matriks sentezi üzerine etkili olabileceğini ve menisküs homeostazında etkin rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Öte yandan yaşlanma ile görülme sıklığı artan bir rahat sızlık olan osteoartritte ödemin altında yatan nedenlerden birinin AQP'lerin miktarındaki artış olduğunu vurgulayan çalışmalar da bulunmaktadır. Bu açıdan bu fizyolojik ve patolojik süreçlerin her ikisinin bir arada değerlendirildiği çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bununla birlikte osteoartritte ödemi ve ağrıyı azaltmada aquaretikler ve yaşlılıkla görülen ekstraselüler matrikste azalmayı engelleyebilmek amaçlı aquaporin promotor gen aktivatörlerinin araştırılması gibi daha ileri araştırmalara gereksinim vardır.

5. ÖZET

AMAÇ: Menisküsde yaşlanma sürecinde histolojik, biyokimyasal, morfolojik ve biyomekanik değişiklikler meydana gelmektedir. Aquaporinler su ve küçük solüt maddeleri taşıyabilen, hücrenin ve ekstraselüler maddenin üretimi ve idamesinde katkısı olduğu düşünülen membran proteinleridir. Yaşlanma sürecinde menisküsde dejenerasyon meydana gelmekte ve doku esnekliği ve dayanıklılığı azalmaktadır. Bu çalışma genç ve yaşlı rat menisküslerinde yaşlılık sürecindeki aquaporin 1 ve aquaporin 3 ekspresyonlarındaki değişimi ortaya koymayı hedeflemiştir.

YÖNTEM ve GEREÇ: Çalışmada 14 adet Wistar Albino cinsi dişi sıçan (180-400g) kullanıldı. Hayvanlar yedişerli iki eşit gruba bölündü. Grup I iki aylık genç hayvanlar grubu (n=7), Grup II 18 aylık yaşlı hayvanlar grubu (n=7) olarak düzenlendi. Menisküslerin immünohistokimyasal olarak aquaporin 1 ve aquaporin 3 ekspresyonlarının incelenebilmesi için ratların diz eklemleri kullanıldı.

SONUÇLAR: Çalışma sonunda wistar albino tür ratlarda yaşlanma süreci ile menisküs dokusunda aquaporin1 ve aquaporin 3 ekspresyonlarının önemli derecede azaldığı gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: menisküs, yaşlanma, aquaporin 1, aquaporin 3, immünohistokimya

6. SUMMARRY

At the aging process histological, biochemical, morphological and biomechanical changes occurs in meniscus structure. Aquaporin proteins are the membrane proteins those are considered to produce and maintain the cell and extracellular matrix by carrying water and small solutes across the membrane. At the aging process degeneration occurs in meniscus and the flexibility and durability decreases. This study intended to establish the channging at the aquaporin 1 and aquaporin 3 expression levels between young and old rat menisci.

MATERIAL AND METHODS: In this study, 14 Wistar albino rats (180-400g) were used. Animals were divided into two equal groups. Group I two months young animals (n = 7), Group II 18 month old animals (n = 7) was held. Knee joints were used to examine the aquaporin 1 and aquaporin 3 expressions in the menisci by immunohistochemistry.

RESULTS: At the end of the study we experienced the significantly decreasing of aquaporin 1 and aquaporin 3 expressions by aging.

Key words: Meniscus, aging, aquaporin 1, aquaporin 3, immunohistochemistry

6. KAYNAKLAR

- AGRE, P., KING, L.S., YASUI, M., GUGGINO, W.B., OTTERSEN, O.P., FUJIIYOSHİ, Y., ENGEL, A., NIELSEN, S. (2002). Aquaporin water channels--from atomic structure to clinical medicine. *J Physiol.* Jul 1;542(Pt 1):3-16
- AKTAŞ, S. (2012). Menisküsün Histolojik Değerlendirme Metodları. *Mersin Üniversitesi sağlık bilimleri dergisi*, 5(1); p:1-8
- ANDERSSON-MOLİNA, H., KARLSSON, H., ROCKBORN, P. (2002). Arthroscopic partial and total meniscectomy: along-term follow-up study with matched controls. *Arthroscopy*18,183–189.
- AOKI-YOSHİNO, K., UCHİHARA, T., DUYCKAERTS, C., NAKAMURA, A., HAUW, J. J., WAKAYAMA, Y. (2005). Enhanced expression of aquaporin 4 in human brain within inflammatory diseases. *Acta Neuropathol.* 110, 281-288
- ARINCI, K. (2014). *Anatomi cilt 1 5. Baskı. Güneş tıp kitabevi, İstanbul.*
- BENGA, G., POPESCU, O., POP, V.I., HOLMES, R.P. (1986). p-(Chloromercuri) benzenesulfonate binding by membrane proteins and the inhibition of water transport in human erythrocytes. *Biochemistry* 25(7): 1535-8
- BENGA, G. (2006). Water channel proteins: from their discovery in Cluj-Napoca, Romania in 1985, to the 2003 Nobel Prize in chemistry and their implications in molecular medicine. *Keio J Med* 55(2): 64-9
- BENGA, G. (2012). On the definition, nomenclature and classification of water channel proteins (aquaporins and relatives). *Mol. Aspects Med.* 33 514–517
- BERRY, V., FRANCİS, P., KAUSHAL, S., MOORE, A., BHATTACHARYA, S. (2000). Missense mutations in MIP underlie autosomal dominant ‘polymorphic’ and lamellar cataracts linked to 12q. *Nat. Genet.* 25, 15-17.

- BİLGİN, Ö.F., BİLGİN, S., ERMUTLU, C. (2011). Total diz protezlerinde materyal ve tasarım. *TOTBİD Dergisi*;10(2):158-167
- BLOCH, O., PAPADOPOULOS, M.C., MANLEY, G.T., VERKMAN, A.S. (2005). Aquaporin-4 gene deletion in mice increases focal edema associated with brain abscess. *J. Neurochem.* 95, 254-262
- BORON, W.F. (2010). Sharpey-Schafer lecture: gas channels. *Exp Physiol* 95(12): 1107-30
- BORGNIA M., NIELSEN S., ENGEL A., AGRE P. (1999). Cellular and molecular biology of the aquaporin water channels. *Annu. Rev. Biochem.* 68:425–458
- CAMERON, H.U., MACNAB, I. (1972). The structure of the meniscus of the human knee joint. *Clin Orthop*; 89: 215-219
- CARBREY, J.M., GORELICK-FELDMAN, D.A., KOZONO, D., PRAETORIUS, J., NIELSEN, S., AGRE, P. (2003). Aquaglyceroporin AQP9: solute permeation and metabolic control of expression in liver. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Mar 4;100(5):2945-50
- CARBREY, J. M., SONG, L., ZHOU, Y., YOSHINAGA, M., ROJEK, A., WANG, Y., LIU, Y., LUJAN, H. L., DICARLO, S. E., NIELSEN, S., ROSEN, B.P., AGRE, P., MUKHOPADHYAY, R. (2009). Reduced arsenic clearance and increased toxicity in aquaglyceroporin-9-null mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 15956-15960.
- CHOU, C.L., KNEPPER, M.A., HOEK, A.N., BROWN, D., YANG, B., MA, T., VERKMAN, A. S. (1999). Reduced water permeability and altered ultrastructure in hindlimb of Henle in aquaporin-1 null mice. *J. Clin. Invest.* 103, 491-496
- CLARC, C.R., OGDEN, J.A. (1983). Development of the menisci of the human knee joint. *J Bone Joint Surg*; 65(A):538-547
- CHEPELINSKY, A.B. (2009). Structural function of MIP/aquaporin 0 in the eye lens; genetic defects lead to congenital inherited cataracts. *Handb. Exp. Pharmacol.* 190, 265-297

- COX, J.S., NYE, C.E., SCHAEFER, W.W., WOODSTEIN, I.J. (1975). The degenerative effects of partial and total resection of the medial meniscus in dog's knee. *Clin Orthop Relat Res.*109:178-83
- DALCIK, H., YILDIRIM, M. (2009). Klinik yönleri ile insan embriyolojisi. Nobel tıp kitabevi, İstanbul. s:368
- DEEN, P.M., VERDIJK, M.A., KNOERS, N.V., WIERINGA, B., MONNENS, L.A., VAN OS, C.H., VAN OOST, B.A. (1994). Requirement of human renal water channel aquaporin-2 for vasopressin-dependent concentration of urine. *Science* 264(5155): 92-5
- DERE, F. (1994). Anatomi. 3. Baskı, Okullar pazarı kitabevi, Adana.
- DİJKGRAAF, L.C., DE BONT, L.G., BOERING, G., LIEM, R.S. (1995). The structure, biochemistry, and metabolism of osteoarthritic cartilage: A review of the literature. *J Oral Maxillofac Surg.* Oct;53(10):1182–92
- EBRASHY, A., İBRAHİM, M., MARZOOK, A., YOUSEF, D. (2005). Usefulness of aspirin therapy in high-risk pregnant women with abnormal uterine artery Doppler ultrasound at 14-16 weeks pregnancy: randomized controlled clinical trial. *Croat Med J.* 46(5):826-31
- ENGEL, A., FUJİYOSHİ, Y., GONEN, T., WALZ, T. (2008). Junction-forming aquaporins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 18, 229-235.
- FADİLOĞLU, Ç. (2006), .Yaşlılığın Toplumsal Boyutu: İleri Geriatri Hemşireliği. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir.
- FAIRBANK, T.J. (1948). Knee joint changes after meniscectomy. *J Bone Joint Surg Br.* Nov;30B(4):664-70
- FISSELER-ECKHOFF, A., MULLER, K.M. (2009). Histopathological meniscus diagnostic. *Orthopade.* 38:539–545.

- FOX, A.J.S., BEDI, A. (2012). The Basic Science of Human Knee Menisci: Structure, Composition, and Function. *Scott A. Rodeo Sports Health*. July; 4(4): 340–351
- FUSHIMI, K., UCHIDA, S., HARA, Y. (1993). Cloning and expression of apical membrane water channel of rat kidney collecting tubule. *Nature*, 361 549-552
- GAO, H., REN, G., XU, Y., JIN, C., JIANG, Y., LIN L., WANG, L., SHEN, H., GUI, L. (2011). Correlation between expression of aquaporins 1 and chondrocyte apoptosis in articular chondrocyte of osteoarthritis. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. Mar;25(3):279–84
- GARDNER, E., ORAHILLY, R. (1968). The early development of the knee joint in the knee joint in the staged human embryos. *J Anat*; 102: 289-299
- GEPSTEIN, A., SHAPIRO, S., ARBEL, G., LAHAT, N., LIVNE, E. (2002). Expression of matrix metalloproteinases in articular cartilage of temporomandibular and knee joints of mice during growth, maturation, and aging. *Arthritis Rheum*. Dec;46(12):3240–50
- GHOSH, P., TAYLOR, T.K.F. (1987). The knee joint meniscus: a fibrocartilage of some distinction. *Clin Orthop Relat Res*.;224:52-63
- GOMES, D., AGASSE, A., THIÉBAUD, P., DELROT, S., GERÓS, H., CHAUMONT, F. (2009). Aquaporins are multifunctional water and solute transporters highly divergent in living organisms. *Biochim Biophys Acta*, 1788(6): 1213-28.
- GOSSAN, N., ZEEF, L., HENSMAN, J., HUGHES, A., BATEMAN, J.F., ROWLEY, L., LITTLE, C.B., PIGGINS, H.D., RATTRAY, M., BOOTHANFORD, R.P., MENG, Q. (2013). The Circadian Clock in Murine Chondrocytes Regulates Genes Controlling Key Aspects of Cartilage Homeostasis. *arthritis & rheumatism* Vol. 65, No. 9, September, pp 2334–2345
- HAGIWARA, K., SHINOZAKI, T., MATSUZAKI, T., TAKATA, K., TAKAGISHI, K. (2013). Immunolocalization of water channel aquaporins in human knee articular cartilage with intact and early degenerative regions *Med Mol Morphol* 46:104–108

- HALL, M., WRIGLEY, T.V., METCALF, B.R., CICCUTINI, F.M., WANG, Y., HINMAN, R.S., DEMPSEY, A.R., MILLS, P.M., LLOYD, D.G., BENNELL, K.L. (2015). Do moments and strength predict cartilage changes following partial meniscectomy? *Med. Sci. Sports Exerc.* Aug;47(8):1549-56
- HAMANN, S., ZEUTHEN, T., LA COUR, M., NAGELHUS, E.A., OTTERSEN, O.P., AGRE, P., NIELSEN, S. (1998). Aquaporins in complex tissues: distribution of aquaporins 1-5 in human and rat eye." *Am J Physiol* 274(5 Pt 1): C1332-45.).
- HARA-CHIKUMA, M., SOHARA, E., RAI, T., IKAWA, M., OKABE, M., SASAKI, S., UCHIDA, S., VERKMAN, A.S. (2005). Progressive adipocyte hypertrophy in aquaporin-7 deficient mice: Adipocyte glycerol permeability as a novel regulator of fat accumulation. *J. Biol. Chem.* 280, 15493- 15496
- HARA-CHIKUMA, M., VERKMAN, A. S. (2008). Aquaporin-3 facilitates epidermal cell migration and proliferation during wound healing. *J. Mol. Med.* 96, 523- 529
- HARA, M., MA, T., VERKMAN, A.S. (2002). Selectively reduced glycerol in skin of aquaporin-3-deficient mice may account for impaired skin hydration, elasticity, and barrier recovery. *J Biol Chem.* Nov 29;277(48):46616-21
- HARRIES, W.E., AKHAVAN, D., MIERCKE, L.J., KHADEMI, S., STROUD R.M. (2004). The channel architecture of aquaporin 0 at a 2.2-A resolution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(39): 14045-50.
- HIBUSE, T., MAEDA, N., FUNAHASHI, T., YAMAMOTO, K., NAGASAWA, A., MIZUNOYA, W., KISHIDA, K., INOUE, K., KURIYAMA, H., NAKAMURA, T., FUSHIKI, T., KIHARA, S., SHIMOMURA, I. (2005). Aquaporin 7 deficiency is associated with development of obesity through activation of adipose glycerol kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 10993-10998
- HOSER, C., FINK, C., BROWN, C., REICHKENDLER, M., HACKL, W., BARTLETT, J. (2001). Long- term results of arthroscopic partial lateral meniscectomy in knees without associated damage. *J. Bone Joint Surg. Br.* 83-B, 513-516

- HÜREL, C., ÇELEBİ, G. (1999). ÖÇB'nin anatomik ve biyomekanik özellikleri ve diz kinematikiindeki rolü. *acta orthopaedica et traumatologica turcica*, pp: 33-35
- INGMAN, A.M., GHOSH, P., TAYLOR, T.K.F. (1974). Variation of collagenous and noncollagenous proteins of human knee joint menisci with age and degeneration. *Gerontologia*.;20:212-233
- INOUE N., İIDA H., YUAN Z., İSHİKAWA Y., İSHİDA H. (2003). Age-related Decreases in the Response of Aquaporin-5 to Acetylcholine in Rat Parotid Glands. *J Dent Res. Jun*;82(6):476-80.
- İSHİBASHİ, K., SASAKİ, S., FUSHİMİ, K., UCHİDA, S., KUWAHARA, M., SAİTO, H., FURUKAWA, T., NAKAJİMA, K., YAMAGUCHİ, Y., GOJOBORİ, T. (1994). Molecular cloning and expression of a member of the aquaporin family with permeability to glycerol and urea in addition to water expressed at the basolateral membrane of kidney collecting duct cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91(14): 6269-73.
- İSHİBASHİ, K. (2009). New members of mammalian aquaporins: AQP10-AQP12. *Handb Exp Pharmacol.* 190:251-62
- İSHİBASHİ, K., MORİNAGA, T., KUWAHARA, M., SASAKİ, S., İMAİ, M. (2002). Cloning and identification of a new member of water channel (AQP10) as an aquaglyceroporin. *Biochim Biophys Acta* 1576(3): 335-40
- İSHİBASHİ, K., TANAKA, Y., MORİSHİTA, Y. (2014). The role of mammalian superaquaporins inside the cell. *Biochim Biophys Acta.* May;1840(5):1507-12
- JONES, A., DOHERTY, M. (2005). *An Atlas of Investigation and Diagnosis osteoarthritis.* Atlas Medical Publishing Ltd, Barcelona.
- KAFER, W., FRAİTZL, C.R., KİNKEL, S., CLESSİENNEC, B., PUHL, W. (2005). Outcome assessment in total knee arthroplasty: is the clinical measurement of range of motion a reliable measurable outcome variable? *Z. Orthop. Ihre Grenzgeb.*143, 25-29.

- KANTER, M., AKTAS, C., ERBOGA, M. (2013). Heat stress decreases testicular germ cell proliferation and increases apoptosis in short term: an immunohistochemical and ultrastructural study. *Toxicol Ind Health*. 29: 99-113
- KARAN M.A., TUFAN F. (2010). Yaşlanma Mekanizmaları. *Ege Tıp Dergisi*. 49(3) Ek 11-17
- KENNEDY, J.C., ALEXANDER, I.J., HAYES, K.C. (1982). Nerve supply of the human knee and its functional importance., *Am J Sports Med*. Nov-Dec;10(6):329-35
- KİMURA, A., HSU, M., SELDİN, M., VERKMAN, A.S., SCHARFMAN, H. E., BİNDER, D.K. (2010). Protective role of aquaporin-4 water channels after contusion spinal cord injury. *Ann. Neurol*. 67, 794-801
- KİNG, L. S., CHOİ, M., FERNANDEZ, P.C., CARTRON, J.P., AGRE, P. (2001). Defective urinary-concentrating ability due to a complete deficiency of aquaporin-1. *N Engl J Med* 345(3): 175-9
- KUCHEL, P. W. (2006). The story of the discovery of aquaporins: convergent evolution of ideas--but who got there first? *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 52(7): 2-5
- KWOK, J., GROGAN, S., MECKES, B., ARCE, F., LAL, R., D'LİMA, D. (2014). Atomic force microscopy reveals age-dependent changes in nanomechanical properties of the extracellular matrix of native human menisci: implications for joint degeneration and osteoarthritis. *Nanomedicine*. Nov;10(8):1777-85
- LEBECK ,J. (2014). Metabolic impact of the glycerol channels AQP7 and AQP9 in adipose tissue and liver., *J Mol Endocrinol*. Mar 14;52(2):R165-78
- LENNON, V.A., KRYZER, T.J., PİTTOCK, S.J., VERKMAN, A.S., HİNSON, S. R. (2005). IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *J. Exp. Med*. 202, 473-477
- Lİ S.B., YANG K.S., ZHANG Y.T. (2014). Expression of aquaporins 1 and 3 in degenerative tissue of the lumbar intervertebral disc. *Genet Mol Res*. 2014 Oct 8;13(4):8225-33.

- LÌU, J., XU, J., GU, S., NICHOLSON, B.J., JIANG, J.X. (2010). Aquaporin 0 enhances gap junction coupling via its cell adhesion function and interaction with connexin 50. *J Cell Sci* 124(Pt 2): 198-206
- LÌU, K., NAGASE, H., HUANG, C.G., CALAMITA, G., AGRE, P. (2006). Purification and functional characterization of aquaporin-8. *Biol Cell* 98(3): 153-61
- LÌU, Y.L., MATSUZAKI, T., NAKAZAWA, T., MURATA, S., NAKAMURA, N., KONDO, T., IWASHINA, M., MOCHIZUKI, K., YAMANE, T., TAKATA, K., KATOH, R. (2007). Expression of aquaporin 3 (AQP3) in normal and neoplastic lung tissues. *Hum Pathol.* Jan;38(1):171-8
- LOESER, R.F. (2013). Aging Processes and the Development of Osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol.* January ; 25(1): 108–113
- LORETO, C., MUSUMECÌ, G., CASTORINA, A., LORETO, C., MARTÌNEZ, G. (2011). Degenerative disc disease of herniated intervertebral discs is associated with extracellular matrix remodeling, vimentin-positive cells and cell death. *Ann Anat.* Mar;193(2):156–62
- LORETO, C., LO CASTRO, E., MUSUMECÌ, G., LORETO, F., RAPISARDA, G., REZZANI, R., CASTORINA, S., LEONARDI, R., RUSU, M.C. (2012). Aquaporin 1 expression in human temporomandibular disc. *Acta Histochem.* Nov;114(7):744-8
- LOSÌNA, E., THORNHILL, T.S., ROME, B.N., WRIGHT, J., KATZ, J.N. (2012). The Dramatic Increase in Total Knee Replacement Utilization Rates in the United States Cannot Be Fully Explained by Growth in Population Size and the Obesity Epidemic. *J Bone Joint Surg Am.* 94:201-7).
- MA, T., YANG, B., GILLESPIE, A., CARLSON, E. J., EPSTEIN, C. J., VERKMAN, A. S. (1997). Generation and phenotype of a transgenic knockout mouse lacking the mercurialinsensitive water channel aquaporin-4. *J. Clin. Invest.* 100, 957-962.

- MA, T., YANG, B., GILLESPIE, A., CARLSON, E. J., EPSTEIN, C. J., VERKMAN, A. S. (1998). Severely impaired urinary concentrating ability in transgenic mice lacking aquaporin-1 water channels. *J. Biol. Chem.* 273, 4296-4299
- MA, T., SONG, Y., GILLESPIE, A., CARLSON, E. J., EPSTEIN, C. J., VERKMAN, A. S. (1999). Defective secretion of salivary transgenic mice lacking aquaporin-5 water channels. *J. Biol. Chem.* 274, 20071-20074
- MA, T., FUKUDA, N., SONG, Y., MATTHAY, M. A., VERKMAN, A. S. (2000). Lung fluid transport in aquaporin-5 knockout mice. *J. Clin. Invest.* 105, 93-100
- MA, T., SONG, Y., YANG, B., GILLESPIE, A., CARLSON, E. J., EPSTEIN, C. J., VERKMAN, A. S. (2000). Nephrogenic diabetes insipidus in mice lacking aquaporin-3 water channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 4386-4391
- MA, T., HARA, M., SOUGRAT, R., VERBAVATZ, J. M., VERKMAN, A. S. (2002). Impaired stratum corneum hydration in mice lacking epidermal water channel aquaporin-3. *J. Biol. Chem.* 277, 17147-17153
- MAEDA, N., HIBUSE, T., FUNAHASHI, T. (2009). Role of aquaporin-7 and aquaporin-9 in glycerol metabolism; involvement in obesity. *Handb. Exp. Pharmacol.* 190, 233-249
- MANLEY, G. T., FUJIMURA, M., MA, T., NOSHITA, N., FİLİZ, F., BOLLEN, A. W., CHAN, P., VERKMAN, A. S. (2000). Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nat. Med.* 6, 159-163.
- MCNULTY, A. L., GUİLAK, F. (2015). Mechanobiology of the meniscus. *Journal of Biomechanics* 48 1469–1478
- MENG, J., MA, X., LI, Z., WU, D. (2007). Aquaporin-1 and aquaporin-3 expressions in the temporo-mandibular joint condylar cartilage after an experimentally induced osteoarthritis. *Chin Med J. Dec*;120(24):2191–4. 14.

- MILLER, E.W., DICKINSON, B.C., CHANG, C.J. (2010). Aquaporin-3 mediates hydrogen peroxide uptake to regulate downstream intracellular signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 15681-15686
- MIN, J.H., KIM, S.H., PARK, S.M., LEE, K.H. (2008). Anti-aquaporin-4 antibody positive Sjogren syndrome presenting with recurrent brain involvement. *Neurology Asia*; 13 : 207 – 208.).
- MISSNER, A., KUGLER, P., SAPAROV, S. M., SOMMER, K., MATHAI, J. C., ZEIDEL, M. L., POHL, P. (2008). Carbon dioxide transport through membranes. *J. Biol. Chem.* 283, 25340-5347.
- MOBASHERI, A., MARPLES, D. (2004) Expression of AQP-1 water channel in normal human tissues: a semiquantitative study using tissue microarray technology. *Am J Physiol Cell Physiol* 286:C529–C537
- MOBASHERI, A., WRAY, S., MARPLES, D. (2005). Distribution of AQP2 and AQP3 water channels in human tissue microarrays. *J Mol Histol* 36:1–14
- MORISHITA, Y., MATSUZAKI, T., HARA-CHIKUMA, M., ANDOO, A., SHIMONO, M., MATSUKI, A., KOBAYASHI, K., IKEDA, M., YAMAMOTO, T., VERKMAN, A. S., KUSANO, E., OOKAWARA, S., TAKATA, K., SASAKI, S., ISHIBASHI, K. (2005). Disruption of aquaporin-11 produces polycystic kidneys following vacuolization of the proximal tubule. *Mol. Cell. Biol.* 25, 7770-7779
- MURAI-HATANO, M., KUWAGATA, T., SAKURAI, J., NONAMI, H., AHAMED, A., NAGASUGA, K., MATSUNAMI, T., FUKUSHI, K., MAESHIMA, M., OKADA, M. (2008). "Effect of low root temperature on hydraulic conductivity of rice plants and the possible role of aquaporins." *Plant Cell Physiol* 49(9): 1294-305.
- MUSA-AZIZ, R., CHEN, L.M., PELLETIER, M.F., BORON, W.F. (2009). Relative CO₂/NH₃ selectivities of AQP1, AQP4, AQP5, AmtB, and RhAG. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 5406-5411.
- MUSUMECI, G., LORETO, C., CARNAZZA, M.L., COPPOLINO, F., CARDILE, V., LEONARDI, R. (2011). Lubricin is expressed in chondrocytes derived from osteoarthritic cartilage encapsulated in poly (ethylene glycol) diacrylate scaffold. *Eur J Histochem.*;55(3):e31 . 19.

- MUSUMECI, G. (2013) The role of aquaporin 1 in knee osteoarthritis: a contemporary review. *OA Arthritis* Feb 02;1(1):2
- MUSUMECI, G., LEONARDI, R., CARNAZZA, M.L., CARDILEA, V., PICHLER, K., WEINBERG, A.M., LORETO, C. (2013). Aquaporin 1 (AQP1) expression in experimentally induced osteoarthritic knee menisci: An in vivo and in vitro study. *Tissue and Cell* 45 145– 152
- NEDVETSKY, P.I., TAMMA, G., BEULSHAUSEN, S., VALENTI, G., ROSENTHAL, W., KLUSSMAN, E. (2009). Regulation of aquaporin-2 trafficking. *Handb. Exp. Pharmacol.* 190, 133-157
- NODA, Y., SOHARA, E., OHTA, E., SASAKI, S. (2010). Aquaporins in kidney pathophysiology. *Nat. Rev. Nephrol.* 6, 168-178
- ORTAK H, CAYLI S, OCAKLI S, SÖĞÜT E, EKİCİ F, TAS U, DEMİR S. (2013). Age-related changes of aquaporin expression patterns in the postnatal rat retina. *Acta Histochemica* 115, 382–388
- OSHIO, K., WATANABE, H., SONG, Y, VERKMAN, A.S., MANLEY, G.T. (2005). Reduced cerebrospinal fluid production and intracranial pressure in mice lacking choroid plexus water channel Aquaporin-1. *FASEB J*, 19(1),76-8.
- OZAN, H. (2014). *Anatomi. 3.baskı, Klinisyen Tıp itabevleri, İstanbul.*
- PAN, Y., ZOMAYA, A.Y. (2011). *Mathematical and computational methods in biomechanics of human skeletal systems. JohnWiley & Sons. New Jersey, pp:26-27*
- PAPADOPOULOS, M.C., MANLEY, G.T., KRISHNA, S., VERKMAN, A. S. (2004). Aquaporin-4 facilitates reabsorption of excess fluid in vasogenic brain edema. *FASEB J*. 18, 1291-1293
- PAPADOPOULOS, M.C., VERKMAN, A. S. (2005). Aquaporin-4 gene disruption in mice reduces brain swelling and mortality in pneumococcal meningitis. *J. Biol. Chem.* 280, 13906-13912

- PAULÌ, C., GROGAN, S.P., PATİL, S., OTSUKİ, S., HASEGAWA, A., KOZİOL, J., LOTZ, M.K, D'LİMA, D.D. (2011). Macroscopic and histopathologic analysis of human knee menisci in aging and osteoarthritis, *Osteoarthritis Cartilage*. September ; 19(9): 1132–1141
- PEHLİVAN, S., KARADAKOVAN, A. (2013). Yaşlı bireylerde fizyolojik değişiklikler ve hemşirelik tanılması, , *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi /Gümüşhane University Journal of Health Sciences*: 2 (3)
- PETER, A., KOZONO, D. (2003). Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases. *FEBS Letters* 555 72-78.
- PETERSEN, W., TİLLMANN, B. (1995). Age-related blood and lymph supply of the knee menisci A cadaver study. *Acfa Orthop Scand*; 66 (4): 30-1 2
- PETERSEN, W., TİLLMANN, B. (1999). Structure and vascularization of the knee joint menisci. *Z Orthop Ihre Grenzgeb*. Jan-Feb;137(1):31-7
- PİNSKEROVA, V., JOHAL, P., NAKAGAWA, S., SOSNA, A., WILLİAMS, A., GEDROYC, W., FREEMAN, M.A.R. (2004). Does the femur roll-back with flexion? *J Bone Joint Surg Br*. Aug;86(6):925-31
- PİNSKEROVA, V., SAMUELSON, K.M., STAMMERS, J., MARUTHAİNAR, K., SOSNA, A., FREEMAN, M.A. (2009). The knee in full flexion: an anatomical study. *J Bone Joint Surg Br*. Jun;91(6):830-4
- PRESTON, G.M., JUNG, J.S., GUGGİNO, W.B., AGRE, P. (1993). The mercury-sensitive residue at cysteine 189 in the CHIP28 water channel. *J Biol Chem* 268(1): 17-20
- RAİ, M.F., PATRA, D., SANDELL, L.J. BROPHY, R.H. (2013). Transcriptome Analysis of Injured Human Meniscus Reveals a Distinct Phenotype of Meniscus Degeneration With Aging. *Arthritis & rheumatism*, Vol. 65, No. 8, August, pp 2090–2101
- RODRİGUEZ, A., CATALÁN, V., GÓMEZ-AMBROSİ, J., FRÜHBECK, G. (2006). Role of aquaporin-7 in the pathophysiological control of fat accumulation in mice. *FEBS Lett* 580(20): 4771-6

- ROUGHLEY, P.J. (1986). Changes in cartilage proteoglycan structure during aging: origin and effects: a review. *Agents Actions*;518-19
- RUTISHAUSER, J., KOPP, P. (1999). Aquaporin-2 water channel mutations and nephrogenic diabetes insipidus: new variations on a theme. *European Journal of Endocrinology* 140 137–139.
- RUTKOVSKIY, A., VALEN, G., VAAGE, J. (2013). "Cardiac aquaporins." *Basic Res Cardiol* 108(6): 393
- SAADOUN, S., BELL, B.A., VERKMAN, A.S., PAPADOPOULOS, M.C. (2008). Greatly improved neurological outcome after spinal cord compression injury in AQP4-deficient mice. *Brain* 131, 1087-1098
- SAADOUN, S., PAPADOPOULOS, M.C., HARA-CHIKUMA, M., VERKMAN, A.S. (2005). Impairment of angiogenesis and cell migration by targeted of aquaporin-1 gene disruption. *Nature* 434, 786-792.
- SAPMAZ E, UYSAL M, TUMER MK, SAPMAZ HI, SOMUK BT, ARICI A, TAS U. (2016). Investigation of age-related changes in the expression of aquaporin-1 and aquaporin-5 in the salivary glands of mice. *Acta Otolaryngol.* Apr 12:1-7. [Epub ahead of print]. DOI: 10.3109/00016489.2016.1165353
- SAPMAZ H.I, ZÜMRÜT M., OCAKLI S., UYSAL M, AYTEKİN K, ALICI S.K., TAŞ U., ASLAN H., (2016). Investigation of Age-Related Changes in Expression of Aquaporin-1 and Aquaporin-3 in Rat Bone. *JCAM*. DOI: 10.4328/JCAM.4519 Received: 30.03.2016 Accepted: 18.04.2016 Published Online: 18.04.2016
- SAWKA M.N., CHEUVRONT S.N., CARTER R. (2005). Human Water Needs. *Nutrition Reviews*, Vol. 63, No. 6 June (II)S30 –S39

- SCHNERMANN, J., CHOU, C. L., MA, T., TRAYNOR, T., KNEPPER, M.A., VERKMAN, A.S. (1998). Defective proximal tubular fluid reabsorption in transgenic aquaporin-1 null mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 9660-9664
- SHRIVE, N. (1974). The weight-bearing role of the menisci of the knee. *J Bone Joint Surg.*; 56B:381
- SMITH, B. L., AGRE, P. (1991). Erythrocyte Mr 28,000 transmembrane protein exists as a multisubunit oligomer similar to channel proteins. *J Biol Chem* 266(10): 6407-15
- SONG, Y., VERKMAN, A.S. (2001). Aquaporin-5 dependent fluid secretion in airway submucosal glands. *J. Biol. Chem.* 276, 41288-41292.
- STEINFELD, S., COGAN, E., KING, L.S., AGRE, P., KISS, R., DELPORTE, C. (2001). Abnormal distribution of aquaporin-5 water channel protein in salivary glands from Sjogren's syndrome patients. *Lab Invest* 81(2): 143-8
- TAIT, M. J., SAADOUN, S., BELL, B.A., PAPADOPOULOS, M.C. (2008). Water movements in the brain: role of aquaporins. *Trends Neurosci* 31(1): 37-43
- TAKAHASHI, M., SUZUKI M., KUSHIDA, K., HOSHINO, H., INOUE, T. (1998). The Effect of Aging and Osteoarthritis on the Mature and Senescent Cross-Links of Collagen in Human Meniscus. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery*, Vol 14, No 4, pp 366-372
- TANAKA, K., TANI, T., TANAKA, M., NISHIZAWA, M., SAKIMURA, K., MATSUI, M. (2008). Anti-aquaporin 4 antibody test in a large series of Japanese optic-spinal multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *Neurology Asia*; 13 : 203 – 204
- TANDOĞAN, N.R. (1997). Menisküs: işlevi, biyomekaniği ve kinematiği. *Acta Orthop Traumatol Turc* 31: 397-401
- TANDOĞAN, N.R. (1999). KLİNİK DİZ BİYOMEKANIĞI DİZ CERRAHİSİ KİTABI. Haberal eğitim vakfı, Ankara.

- TAŞ, U., ÇAYLI, S., İNANIR, A., ÖZYURT, B., OCAKLI, S., KARACA, Z.İ., SARSILMAZ, M. (2012). Aquaporin-1 and Aquaporin-3 Expressions in the Intervertebral Disc of Rats with Aging. *Balkan Med J.* December; 29(4): 349–353
- THOMPSON WO, THAETE FL, FU FH, DYE SF. (1991). Tibial meniscal dynamics using three-dimensional reconstruction of magnetic resonance imaging. *Am J Sports Med.*;19:210-216
- TOMURA, S., AWASHIRO, H., OTANI, N., UOZUMI, Y., TOYOOKA, T., OHSUMI, A., SHIMA, K. (2011). Effect of decompressive craniectomy on aquaporin-4 expression after lateral fluid percussion injury in rats. *J. Neurotrauma* 28,237-243
- TORNROTH-HORSEFIELD, S., HEDFALK, K., FISCHER, G., LINDKVIST-PETERSSON, K., NEUTZE, R. (2010). Structural insights into eukaryotic aquaporin regulation. *FEBS Lett.* 584, 2580-2588.
- TRADTRANTIP, L., TAJIMA, M., LI, L., VERKMAN, A.S. (2009). Aquaporin water channels in transepithelial fluid transport. *J Med Invest* 56 Suppl: 179-84
- TSUBOTA, K., HIRAI, S., KING, L.S., AGRE, P., ISHIDA, N. (2001). Defective cellular trafficking of lacrimal gland aquaporin-5 in Sjogren's syndrome. *Lancet* 357(9257): 688-9.
- TSUKAGUCHI, H., SHAYAKUL, C., BERGER, U.V., MACKEINZIE, B., DEVIDAS, S., GUGGINO, W.B., VAN HOEK, A.N., HEDIGER, M.A. (1998). Molecular characterization of a broad selectivity neutral solute channel. *J. Biol. Chem.* 273, 24737-24743
- UYSAL, M., AKPINAR, S., BOLAT, F., CEKIN, N., CINAR, M., CESUR, N. (2008). Apoptosis in the traumatic and degenerative tears of human Meniscus. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 16:666–669
- VEDI, V., WILLIAMS, A., TENNANT, S.J., SPOUSE, E., HUNT, D. M., GEDROYC, W. M. W. (1999). Meniscal movement an in-vivo study using dynamic mri. *JBJS BR.* Vol. Jan; 81-B, NO. 1

- VERKMAN, A. S., MITRA, A. K. (2000). Structure and function of aquaporin water channels. *Am. J. Physiol.* 278,F13-F28.
- VERKMAN, A. S. (2005). More than just water channels: unexpected cellular roles of aquaporins. *J Cell Sci* 118(Pt 15): 3225-32
- VERKMAN, A.S. (2009). Knock-out models reveal new aquaporin functions. *Handb Exp Pharmacol.* 190: 359–81
- VERKMAN, A.S. (2011). Aquaporins at a glance. *Journal of Cell Science* 124, 2107-2112
- WANG, Y., TAJKHORSHID, E. (2010). Nitric oxide conduction by the brain aquaporin AQP4. *Proteins* 78, 661- 670
- WANG F., ZHU Y. (2011). Aquaporin-1: a potential membrane channel for facilitating the adaptability of rabbit nucleus pulposus cells to an extracellular matrix environment. *J Orthop Sci*;16:304-12.
- WEINSTEIN, A.M., ROME, B.N, REICHMANN, W.M., COLLINS, J.E., BURBINE, S.A., THORNHILL, T.S., WRIGHT, J., KATZ, J.N., LOSINA, E. (2013). Estimating the Burden of Total Knee Replacement in the United States. *J Bone Joint Surg Am.* 95:385-92.
- WINGERCHUK, D. M., LENNON, V. A., LUCCHINETTI, C. F., PITTOCK, S. J., WEINSHENKER, B. G. (2007). The spectrum of neuromyelitis optica. *Lancet Neurol.* 6, 805- 815
- WU, B., BEITZ, E. (2007). Aquaporins with selectivity for unconventional permeants. *Cell Mol Life Sci* 64(18): 2413-21
- YANG, B., VERKMAN, A. S. (1997). Water and glycerol permeabilities of aquaporins 1-5 and MIP determined quantitatively by expression of epitope-tagged constructs in *Xenopus* oocytes. *J. Biol. Chem.* 272, 16140-16146
- YANG, B., FUKUDA, N., VAN HOEK, A. N., MATTHAY, M. A., MA, T., VERKMAN, A. S. (2000). Carbon dioxide permeability of aquaporin-1 measured in erythrocytes and lung of aquaporin-1 null mice and in reconstituted proteoliposomes. *J. Biol. Chem.* 275, 2686-2692.

YANG, B., ZHAO, D., VERKMAN, A.S. (2009). Hsp90 inhibitor partially corrects nephrogenic diabetes insipidus in a conditional knock-in mouse model of human aquaporin-2 mutation. *FASEB J.* 23, 503-512

YASUI, M., HAZAMA, A., KWON, T.H., NIELSEN, S., GUGGINO, W. B., AGRE, P. (1999). Rapid gating and anion permeability of an intracellular aquaporin. *Nature* 402, 184-187

8. ÖZGEÇMİŞ

Eğitim durumu:

Derece			Yıl
İlkokul		Malatya Atatürk İlkokulu	1988
Ortaokul-lise		Malatya Anadolu Lisesi	1995
Lisans	Tıp Fakültesi	Fırat Üniversitesi	2003
Tıpta Uzmanlık	Ortopedi ve Travmatoloji	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2012

Görevler:

Dr.	Malatya 112 Acil Ambulans Servisi	2003-2007
Dr. (Uzmanlık Öğrencisi)	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi	2007-2012
Uz. Dr.	Tokat Devlet Hastanesi	2012-2014
Yrd. Doç. Dr.	Giresun Üniversitesi Ömer Hekim Tıp Fakültesi	2014-

Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler :

- 1- Ulusal Anatomi Derneği
- 2- TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği)
- 3- TOTEK (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Eğitim Konseyi)
- 4- TUSYAD (Türkiye Spor Yaralanmaları Artroskopisi ve Diz Cerrahisi Derneği)