

T.C  
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Kardiyoloji Anabilim Dalı

**DİYABETES MELLİTUS OLUŞTURULMUŞ  
RATLARDA İZOPREtenol İLE  
İNDÜKLENEN KALP YETMEZLİĞİ  
MODELİNDE RAT  
KARDİYOMİYOSİTLERİNDEKİ  
AQUAPORİN-1 VE AQUAPORİN-4  
EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ**

Dr. Ferih ÖZCANLI

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Hüseyin ŞENOCAK

ERZURUM-2024



## ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

### I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİ ve TEZİ İLE İLGİLİ BİLGİLER

Adı, Soyadı : Ferih ÖZCANLI	Sınav tarihi: 16/ 07 / 2024
Anabilim Dalı : Kardiyoloji	
Tez Danışmanı ve Atanma Tarihi: Prof.Dr.Hüseyin ŞENOCAK	
Tezin Konusu ve Başlığı : Diyabetes Mellitus Oluşturulmuş Ratlarda İzopretenol İle İndüklenen Kalp Yetmezliğinde Rat Kadiyomiyositlerdeki Aquaporin 1 ve Aquaporin 4 Ekspresyonunun İncelenmesi	
Belirlenme Tarihi :23.11.2023	
Tezin Niteliği : <input checked="" type="checkbox"/> Tıpta Uzmanlık Tezi <input checked="" type="checkbox"/> Klinik Çalışmalar () Prospektif () Retrospektif () Kesitsel <input type="checkbox"/> Laboratuvar Çalışmaları () Invitro (Cansız) Çalışmaları (x) Hayvan Çalışmaları	
Tez Sınavının Nasıl Yapıldığı: <input checked="" type="checkbox"/> Yüz yüze katılım sağlanarak <input type="checkbox"/> Online (Jürinin teşkil edilmesinde kurum dışından belirlenecek olan jüri üyesi, aynı il sınırları içerisinde bulunmadığından, tez sınavı dijital ortamda yapılmıştır.)	

### II. KARAR

Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunma sınavının tamamlanması sonucunda adı geçen tez, jüri üyelerince "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak;

Kabulüne

1.Tez Sınavı  Reddine (Eksikliklerin tamamlanması ve gerekli düzeltmelerin yapılması için uzmanlık öğrencisine, TUEY'nin 19. Maddesinin 6. fıkrası gereğince altı aylık ek bir süre verilmesine)

2.Tez Sınavı  Reddine (TUEY'nin 19. Maddesinin 7. fıkrası gereğince, uzmanlık öğrencisinin uzmanlık öğrenciliği ile ilişkisinin kesilmesine)

Oy birliği  Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

### III. AÇIKLAMALAR

Lütfen, tezin reddi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

### IV. JÜRİ ÜYELERİ

	Unvanı Adı Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurum Bilgisi	İmza
Jüri Başkanı	Prof.Dr.Muhammed Hakan TAŞ	Kardiyoloji	Atatürk Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Prof.Dr.Hüseyin ŞENOCAK	Kardiyoloji	Atatürk Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Dr.Öğr.Üyesi Oğuzhan BİRDAL	Kardiyoloji	Atatürk Üniversitesi	

## İÇİNDEKİLER

<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>i</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>ii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>iii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>iv</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>vi</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ix</b>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Kalp Yetersizliği (KY) .....	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.1.2. Etiyolojisi .....	4
2.1.3. Epidemiyoloji .....	5
2.1.4. Patofizyoloji .....	6
2.2. Diyabetes Mellitus.....	7
2.2.1. Tanım.....	7
2.2.2. DM-KY İlişkisi .....	8
2.3. Miyokardiyal Sıvı Hemostazı.....	9
2.4. İzoproterenol .....	12
2.5. Aquaporinler.....	13
2.5.1. AQP'lerin Yapısı.....	13
2.5.3. AQP tipleri ve fonksiyonları .....	18
2.5.4. Kalpte Aquaporin .....	24
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	<b>28</b>
3.2. Transtorasik Ekokardiyografi (TTE).....	28
3.3. Örneklerin Alınması .....	30
3.4. Yöntem .....	30
3.5. İstatistik .....	31
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>32</b>
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>37</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>45</b>

## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Deney ratlarının 1.gün ve 30.gün verilerinin karşılaştırılması.....	32
<b>Tablo 2.</b> Deney grubunun 30.gün TTE ölçümleri ve disseksiyon sonrası alınan biyokimyasal belirteçlerin sonucu .....	34



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Miyokardiyal ödem kontraktilite ilişkisi .....	10
Şekil 2. Miyokardiyal sıvı dengesini etkileyen fonksiyonel bileşenler .....	11
Şekil 3. Aquaporin yapısı.....	14
Şekil 4. Aquaporin kum saati işleyişi. ....	15
Şekil 5. Aquaporinler ve gliseroproteinler.....	16
Şekil 6. İnsan vücudundaki AQP dağılımı.....	17
Şekil 8. Kardiyomiyositlerde AQP1 yerleşimi .....	25
Şekil 9. İnterkale aralıklarında bulunan AQP4 lokalizasyonu.....	25
Şekil 10. AQP4, AQP7 ve AQP9 I/R hasarı, Mİ ve septisemiye bağlı kardiyak hasarı gösteren yolaklar .....	27
Şekil 11. Kalpte AQP1 ve AQP4 yerleşimi .....	27
Şekil 12. Rat miyosit SVEF>40% TTE M mode görüntüsü.....	29
Şekil 13. Rat miyosit SVEF<40% TTE M mode görüntüsü.....	30
Şekil 14. Kalp dokularındaki AQP1 mRNA ekspresyonları. ....	35
Şekil 15. Kalp dokularındaki AQP4 mRNA ekspresyonları. ....	36

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADA	: Amerika diyabet birliği
AHA	: Amerika kalp cemiyeti
ALA	: Alanin
ANP	: A tipi natriüretik peptid
APA	: Asparajin-Prolin-Alanin
AQP	: Aquaporin
ARJ	: Arjinin
ARVD	: Aritmojenik sağ ventrikül displazisi
ASN	: Asparagin
BNP	: Brain natriüretik peptid
CAMP	: Siklik adenzin monofosfat
CHIP	: İntegral kanal proteini
COX-2	: Siklooksijenaz yolu-2
DDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
DEFKY	: Düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetersizliği
DİKMP	: Dilate kardiyomiyopati
DKMP	: Diyabetik kardiyomiyopati
DM	: Diyabetes mellitus
FEN	: Fenlalanin
HEFKY	: Hafif derecede azalmış ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetersizliği
HIF	: Hipoksi ilişkili faktör
HİS	: Histidin
HKMP	: Hipertrofik kardiyomiyopati
HT	: Hipertansiyon
I/R	: İskemi reperfüzyon
İ.P.	: İntaperitoneal
İVS	: İnter ventriküler septum
JVD	: Juguler venöz dolgunluk
KA	: Kalp ağırlığı
KABG	: Koroner arter bypass grefti

KAH	: Koroner arter hastalığı
KDA	: Kilodalton
KEFKY	: Korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetersizliği
KH	: Kalp hızı
KOAH	: Kronik obsraktif akciğer hastalığı
KPB	: Kardiyopulmoner bypass
KVS	: Kardiyovasküler sistem
KY	: Kalp yetersizliği
Mİ	: Miyokart infarktüsü
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NYHA	: New York kalp kerneği
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
PAH	: Periferik arter hastalığı
PEDF	: Endotel ilişkili pigment faktörü
PKA	: Protein kinaz A
PKC	: Protein kinaz C
PND	: Paroksizmal nokturnal dispne
RAAS	: Renin anjiyotensin aldosteron sistemi
SGLTİ-2	: Sodyum glukoz taşıma proteini -2 inhibitörü
SİS	: Sistein
SOR	: Serbest oskijen radikalleri
STZ	: Streptozisin
SV	: Sol ventrikül
SVAD	: Sol ventrikül arka duvar
SVDÇ	: Sol ventriküller diastolik çap
SVEF	: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu
SVSÇ	: Sol ventriküller sistolik çap
TnI	:Troponin I
TnT	: Troponin T
TTE	: Transtorasik ekokardiyografi
TUİK	: Türkiye istatistik kurumu
VA	: Vücut ağırlığı

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimi süresi boyunca yolumuzu aydınlatan, bu yolda ışığını esirgemeyen hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Hüseyin ŞENOCAK'a, yoğun iş akışına rağmen desteğini esirgemeyen hocamız Dr. Oğuzhan BİRDAL'a teşekkür eder ve hürmetlerimi sunarım.

Asistanlık sürecinde bilgisi, deneyimi ve tecrübelerini aktaran başta kardiyoloji anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Muhammed Hakan TAŞ olmak üzere, Prof. Dr. Şule KARAKELLEOĞLU, Prof. Dr. Serdar SEVİMLİ, Doç. Dr. Yavuzer KOZA, Doç. Dr. Gökhan CEYHUN, Doç. Dr. Oktay GÜLCÜ, Dr. İbrahim SARAÇ ve hayatımın her dönemine yön veren Dr. Sidar Şiyar AYDIN'A;

Bu değerli zamanlarda çalıştığım tüm asistan arkadaşlarım Dr Noorullah HAMDART, Dr Rauf MACİT, Dr M.Cüneyt ŞEKER, Dr. Yunus GEYİK, Dr. Abuzer OCAK, Dr Yunus ATAE, Dr. Kadir CANTAŞ, Dr. Birkan BEDİR, Dr. Onur AKGÜN, Dr.Erhan KILIÇ, Dr.Gökhan ATALAY, Dr.Yasin GÜZEL, Dr. Türker DURGUN, Dr. Kamuran AKIN, Dr. İlker ADIGÜZEL, Dr.Fatma CEBECİ, Dr. Emrah VARINCA. Dr. Baran AKTÜRK, Dr. Nurgül TOPLU, Dr. İbragim PASHAEVI, Dr. Hasan DURSUN, Dr. Duygu BAKIRCI, Dr. Züleyha BİNGÖL, Dr. Sena AL, Dr. Mesut GÜLER, Dr M.İkbal ÖZEN; kardiyoloji yoğun bakım, kardiyoloji servisler, kardiyak kataterizasyon laboratuvarı, poliklinik, ekokardiyografi ve Atatürk Üniversitesi kalp merkezi personellerine;

Deney çalışmalarında tezin zorlu basamaklarında; her zaman önümüzü aydınlatan değerli bilim insanı Prof. Dr. Zekai HALICI hocamıza ve değerli asistanlarına, farmakoloji anabilim dalı ailesine nazarımda teşekkürü borç biliyor kendilerine çalışma alanlarının her basamağında olmak istediğimi gururla ifade ediyorum.

Hayatın incilerini, güzelliklerini ve çilesini benimle paylaşan sevgili eşim Yüstra ÖZCANLI, ailemizin ve evimizin neşesi çocuklarımız Menessa Akça, Sidar Aziz ve Osman Arif ile kahramanımız annem Sevim ÖZCANLI'ya, Her şeyin sonunun düşünen kıymetli babamız M.Sıddık ÖZCANLI'ya, anadolunun eşsiz yiğit abisi Derih ÖZCANLI ve kıymetli ailesine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Dr. Ferih ÖZCANLI**

## ÖZET

### **Diyabetes Mellitus Oluşturulmuş Ratlarda İzopretenol İle İndüklenen Kalp Yetmezliği Modelinde Rat Kardiyomiyositlerindeki Aquaporin-1 ve Aquaporin-4 Ekspresyonlarının İncelenmesi**

**Giriş:** Vücutta sıvı dengesinin sağlanması, kardiyak fonksiyonlar açısından gereklidir. Sıvının hücreler arası boşlukta veya miyositlerde birikimi miyokardiyal kontraktilitede azalmaya sebep olabilir. Kalp yetersizliği (KY) ve Diyabetes Mellitus (DM) bütün dokularda sıvı artışı meydana getirebilir. Bu sıvı artışı, dokuda suyun ve suda eriyik moleküllerin geçişini sağlayan su kanal proteinleri olan aquaporinler (AQP) aracılığıyla olur. Bu fonksiyondan sorumlu tutulan AQP1 ve AQP4 insan kalbinde gösterilmiştir. Çalışmalar bu iki aquaporin üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu amaçla çalışmamızda DM'si olan, KY'si olan ve DM ile KY birlikteliği olan ratların kalp dokularındaki AQP 1 ve AQP4 ekspresyonlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

**Metot:** Dört gruptan oluşan deney çalışmamızda her grup için 6 adet Albino Wistar cinsi fare belirlendi. 1.grubun kontrol grubu olarak sağlıklı ratlardan oluşturulması planlandı. 2.gruba ise DM oluşturulması planlanan ratların dahil edilmesi planlandı. 21 gün boyunca sağlıklı olan rat grubuna 2 gün izopretenol (İZO) 85mg/kg uygulandıktan sonra 30.günde yapılan transtorasik ekokardiyografi (TTE) kontrolü sonrası sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (SVEF) <40% olması durumunda KY olarak kabul edilen ratların 3.gruba alınması planlandı. 21 gün DM protokolu uygulanan ve 2 gün 85mg/kg İZO verilen ratlarda 30.gün yapılan TTE'de SVEF<40% ve DM mevcut ise bu ratlarında 4.gruba alınması planlandı. Alınan kalp doku örneklerinde AQP1 ve AQP4 ekspresyonları incelendi p değerinin<0,001 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

**Bulgular:** Kontrol grubuna göre, DM, KY, DM ile KY birlikteliği olan gruplardaki kalp dokularındaki AQP1 mRNA ekspresyonlarının anlamlı düzeyde arttığı (p<0,001) tespit edildi. DM grubunda, KY grubuna kıyasla AQP1 mRNA ekspresyonlarının anlamlı bir şekilde arttığı, DM ve KY birlikteliği olan gruba göre de az olduğu tespit edildi. KY grubuna göre, DM grubundaki AQP1 mRNA

ekspresyonlarının anlamlı bir şekilde arttığı, kontrol grubunda ise az olduğu tespit edildi. Kontrol grubuna göre, DM, KY ve DM ve KY birlikteliği olan grup kalp dokularındaki AQP4 mRNA ekspresyonlarının anlamlı düzeyde arttığı ( $p<0,001$ ), tespit edildi. KY grubuna göre, DM gruplarındaki AQP4 mRNA ekspresyonlarının anlamlı bir şekilde arttığı, DM ve KY birlikteliği olan gruba göre de az olduğu tespit edildi.

**Sonuç:** DM, KY ve DM ve KY birlikteliği olan gruplarda AQP1 ve AQP4 ekspresyonlarında artış saptanmıştır. Bunun yanında DM grubunda KY grubuna göre her iki AQP ailesinde artışın daha fazla olduğu görüldü. DM'ye bağlı AQP ekspresyonu KY bağlı kardiyak ekspresyondan daha fazla ve şiddetli olduğu gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Aquaporin, Diyabetes Mellitus, İzoproterenol, Kalp Yetersizliği

## ABSTRACT

### **Investigation of Aquaporin-1 and Aquaporin-4 Expressions in Rat Cardiomyoctyes in the Isoproterenol-Induced Heart Failure Model in Rats with Diabetes Mellitus**

**Introduction:** Maintaining fluid balance in the body is necessary for cardiac function. Accumulation of fluid in the intercellular space or myocytes may cause decreases in myocardial contraction. Heart failure (HF) and Diabetes mellitus (DM) can cause fluid increases in all tissues. This fluid increase occurs through aquaporins(AQP), which are water channel proteins that allow the passage of water and water soluble molecules in tissues. AQP1 and AQP4 have been demonstrated in human heart. Investigations have focused on these two AQP's. Our study aimed to examine the expression of AQP1 and AQP4 in the heart tissues of rats with DM, HF, and coexistence of DM and HF

**Method:** Our study have four groups. 6 Albino Wistar mice were seperated for each group. The first group was planned control group which have healthy rat. The second group was planned from rats to created DM. After applying isoproterenol (ISO) 85 mg/kg for 2 days to healthy group for 21 days, it was planned to include the rats, considered to have HF if the left ventricular ejection fraction (LVEF) was <40% after the echocardiography control on the 30th day, to be included in the 3rd group. If the rats underwent a 21 day DM protocol and were given 85 mg/kg Isoproterenol (ISO) for 2 days and had LVEF<40% and DM in ecocardiography performed on the 30th day, these rats were planned to be included in the 4th group. AQP1 and AQP4 expressions were examined in the heart samples taken p value of <0,001 was considered statistically significant.

**Results:** Compared to the control group, it was determined that AQP1 mRNA expressions in the heart tissues of DM, HF, DM and HF together group were significantly increased ( $p<0,001$ ). It was determined that AQP1 mRNA expressions increased significantly in the DM group compared to the HF group and were lower than those in the group with coexistende of DM and HF. Compared HF group, AQP1

mRNA expressions were found to be significantly increased in the DM group and lower in the control group. Compared control group, it was determined that AQP4 mRNA expressions in the heart tissues of the DM, HF, DM and HF coexistence groups were significantly increased ( $p < 0,001$ ). It was determined that AQP4 mRNA expressions in the DM group increased significantly compared to the HF group and were lower than those in the group with coexistence of DM and HF.

**Conclusion:** An increase in the expression of AQP1 and AQP4 was detected in groups with DM, HF, coexistence of DM and HF. In addition, it was observed that increase in both AQP families was greater in the DM group than in the HF group. It has been shown that AQP expression associated with DM is higher and more severe than myocardial expression due to HF.

**Keywords:** Aquaporin, Diabetes Mellitus, Isoproterenol, Heart Failure

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kalp yetersizliği (KY), çeşitli nedenlerle ortaya çıkabilen, nefes darlığı, çarpıntı, senkop gibi belirtilerinin yanında periferik ödem, akciğer konjesyonu ve hipoperfüzyon bulgularının birlikte olabildiği klinik bir tablodur [1]. KY'nin en sık sebebi kardiyovasküler hastalıklardır (KVS). KVS iskemi ve hipoksiye en duyarlı sistemdir [2]. En önemli mekanizma miyokard infarktüsü (Mİ) ile oluşan miyokard nekrozudur. Mİ sonrası remodelling ile gelişen iskeminin komplikasyonları olarak; papiller kasın kısmi ya da tam rüptürü, SV psödoanevrizma, miyokardiyal fibrozis, ventriküller aritmiler ve kapak yetmezlikleri KY'ye neden olabilirler [3, 4].

Diyabetes mellitus (DM), kan glukoz düzeyinin insülin eksikliği ya da reseptör düzeyinde direnci ile karakterize metabolik bir hastalıktır [5]. DM'ye bağlı kronik hiperglisemi ve hiperinsülinemi, uzun dönemde çeşitli organlarda özellikle kalp, böbrek, damar endoteli ve periferik arteriyel sistemde fonksiyon bozukluklarına neden olabilmektedir [6]. Diyabetik kardiyomiyopati (DKMP), hipertansiyon (HT) ve koroner arter hastalığından (KAH) bağımsız olarak miyokardiyal hasar yapabilir. Metabolik bozukluklar, miyokardiyal fibrozis, miyokardiyal hücre apoptozisi, küçük damar hastalığı, oksidatif stres, inflamasyon dahil olmak üzere kardiyomiyopatinin gelişmesine katkı sağlarlar [7]. DKMP'de suçlanan mekanizmalar birden fazladır. Otonomik disregülasyon, mikrovasküler yatakta gelişen patolojiler, endotel disfonksiyon ve artmış kalp hızı (KH) kalbin iş yükünü artırır. Ayrıca kalsiyum dengesinden sorumlu proteinlerin endoplazmik retikulum üzerindeki stresin ve protein kinaz üzerinden fosforilasyonu artırarak fibrozis ve miyosit hipertrofisi gelişmesi için zemin oluşturduğunu düşündüren başka bir hipotez daha mevcuttur [8].

Aquaporinler (AQP) vücut dokularında yaygın olarak eksprese edilen ve hücrelere su giriş ve çıkışını kontrol edebilen bir membran kanalı proteinidir. Suya ilave olarak AQP'ler iyon, üre, gliserol geçişine aracılık edebilirler [9]. Birçok hastalık AQP'ler ile ilişkili patolojilere öncülük edebilir. İskemi/reperfüzyon (I/R) hasarı, DM ve KY kardiyak dokudaki sıvı artışı ile birlikte görülebilir [4]. AQP'lerin anormal ekspresyonu iskemik kalp hastalıklarında miyokard hasarıyla ve KY başlangıcı ile yüksek düzeyde ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda insan kalbinde AQP1, AQP3, AQP4,

AQP5, AQP7, AQP9 varlığı gösterilmiştir [10]. İnsan kalbinde sıvı dengesinden AQP 1 ve AQP4 sorumlu olduğu görülmüş çalışmalar bu AQP'ler üzerinden devam etmektedir. Bunlardan kardiyak AQP1 en fazla mikrovasküler yatakta bulunurken AQP4'ün ise daha çok kas hücrelerinde bulunduğu bildirilmiştir [11].

Vücutta sıvı dengesinin sağlanması, kardiyak fonksiyonlar açısından gereklidir. Sıvının hücreler arası boşlukta veya miyositlerde birikimi miyokardiyal kontraktilitede azalmaya sebep olabilir. KY ve DM bütün dokularda sıvı artışı meydana getirebilirler. Bu sıvı artışı, dokuda suyun ve suda eriyik moleküllerin geçişini sağlayan su kanal proteinleri olan AQP'ler aracılığıyla olur. Çalışmamızda DM'si olan, KY'si olan ve DM ile KY birlikteliği olan ratların kalp dokularındaki AQP 1 ve AQP4 ekspresyonlarının incelenmesini amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kalp Yetersizliği (KY)

#### 2.1.1. Tanım

KY sadece bir hastalık tanımı değildir. Kardiyak dokuda oluşan yapısal ve/veya fonksiyonel hasar sonrası gelişen pompa fonksiyonunun azalması sonucu meydana gelen hipoperfüzyon sendromlarının tamamını kapsayan klinik bir tanıdır. Hastalar çabuk yorulma, halsizlik, dispne, paroksizmal nokturnal dispne (PND), juguler venöz dolgunluk (JVD), periferik ödem, akciğer ödemi gibi bulgularla karşımıza çıkabilirken; hipoperfüzyon sonrası oluşan böbrek yetmezliği, demans, periferik arter hastalığı gibi klinik tablolarla da karşımıza çıkabilir [12]. KY, miyokardiyal fonksiyon bozukluğu sonrası azalmış kardiyak debiden kaynaklanır. Bu durum sistolik ve diyastolik fonksiyonların ayrı ayrı bozukluklarında veya her ikisinin birden bozulmasından kaynaklanabilir. Ek olarak kapakçık, perikard, miyokard ve endokardiyum patolojileri ile kalp ritmi ve iletim anormallikleri de KY'ye neden olabilir. KY patolojisindeki en önemli mekanizmalar aşırı yük, remodelling, nörohormonal stres, miyosit kalsiyum döngüsü, artmış ekstrasellüler matriks artışı ve yetersiz proliferasyondur [13].

Geleneksel olarak KY, sol ventriküler ejeksiyon fraksiyonuna (SVEF) göre üç farklı fenotipe ayrılmıştır [14]. Azalan SVEF,  $\leq 40\%$ , yani SV sistolik fonksiyonunda anlamlı düzeyde azalma olan kişiler düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetersizliği (DEFKY), SVEF 'si 41% ila 49% arasında olan hastalar SV sistolik fonksiyonunda hafif derecede azalmış ejeksiyon fraksiyonu olan kalp yetersizliği (HDEFKY), KY semptom ve bulguları olan, yapısal ve/veya fonksiyonel kardiyak anormallikler ve/veya artmış B tipi natriüretik peptid (BNP) kanıtı olan ve SVEF değeri  $\geq 50\%$  olan kişiler ise korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetersizliği KEFKY olarak tanımlanmıştır [15]. Ayrıca son yayınlanan Amerikan Kalp Cemiyeti (AHA) kalp yetersizliği kılavuzunda iyileşmiş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetersizliği (İEFKY) olarak yeni bir KY alt tipi tanımlanmıştır. İEFKY tanımı, daha önce SVEF  $< 40\%$  olan hasta grubunun medikal tedavi ile ya da spontan olarak SVEF'in  $> 40\%$  olmasıdır [16].

Ayrıca hastalar fonksiyonel kapasitelerine göre de sınıflandırılabilir. Bu amaçla en sık New York Kalp Derneği'nin (NYHA) sınıflaması kullanılmaktadır. Bu sınıflamaya göre hastalarda şu şekilde sınıflandırılır:

- **Sınıf 1:** Günlük olağan fiziksel aktivitelerinde kısıtlanma olmayan kalp hastaları
- **Sınıf 2:** Fiziksel aktivitelerinde hafif kısıtlanma olan kalp hastaları (örn. yol yürümekle nefes darlığı olması)
- **Sınıf 3:** Fiziksel aktivitede belirgin kısıtlanma olması, ev içinde yürümek gibi çok hafif aktivitelerle bile semptomların ortaya çıkması
- **Sınıf 4:** İstirahatte bile nefes darlığı olması

### **2.1.2. Etiyolojisi**

KY etiyojisinde rol oynayan birçok majör etken, kalpte hasar oluşturarak miyokart hücrelerinin işlevinde veya yapısında değişikliğe ya da miyokart hücrelerinin kaybına yol açarak, KY kliniğinin ortaya çıkmasına neden olur. Tüm dünya genelinde KAH ve HT, KY'nin en sık sebepleri olmakla birlikte az gelişmiş ülkelerde romatizmal kapak hastalığı ve enfeksiyon gibi durumlar da sık rastlanılan nedenler arasında sayılabilirler [17]. Genel olarak KY'nin en sık görülen nedeni KAH'tır. Hastaların akut Mİ öyküsünün olması da KY'nin gelişme riskini önemli oranda arttıran nedenlerden bir diğeridir. Ayrıca HT, kapak hastalıkları, DM, obezite, KMP, hiperlipidemi, aile öyküsünde KY olan bireylerin varlığı ile alkol ve sigara kullanımı da önemli risk faktörleri arasında bulunmaktadır [18].

Genel olarak KY'ye neden olacak sebepler aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir:

- 1- İnterinsik miyokard hastalıkları
  - a. İskemik kalp hastalığı
  - b. Miyokarditler

- c. Kardiyomyopatiler: Hipertrofik kardiyomyopati (HKMP), aritmojenik sağ ventrikül displazisi (ASVD), Dilate Kardiyomyopati (DİKMP)
- d. İnfiltratif hastalıklar (amiloidoz, sarkoidoz, hemokromatozis vb.)

## 2- Kalbin iş yükü artışı

- a. Basınç yükü artışı; Sistemik HT, Pulmoner HT, Kapak darlıkları, Aort Koarktasyonu, HKMP
- b. Hacim yükü artışı; Kapak yetersizlikleri, Konjenital sol-sağ şant, Eisenmerger, Atriyal septal defekt, Ventriküller septal defekt, Patent duktus arteriyozus
- c. Yüksek debili kalp yetersizliği; Anemi, Tirotoksikoz, Gebelik, Arteriovenöz Fistül, Beriberi, Paget hastalığı

## 3- Ventrikül doluşunun engellenmesi

- a. Kapak akımının engellenmesi: Mitral darlığı, Triküspit darlığı
- b. Miyokard ve perikard kompliyansının azalması: Konstrüktif perikardit, Restriktif kardiyomyopati, Kalp tamponadı

## 4- İatrojenik miyokart hasarının gelişmesi

## 5- İlaçlar: Adriamisin, Disopiramid, transtuzumab vb.

## 6- Mediastinal radyoterapi

## 7- Aritmiler

### 2.1.3. Epidemiyoloji

Epidemiyolojik açıdan bakıldığında KY dünya çapında 64 milyon hastayı etkilemektedir [19]. Artan yaşlı nüfus, kronik hastalıklar, Mİ sonrası hayatta kalma süresinin artması prevalansı artırmaktadır. Türkiye’de KY prevalansını belirleyen en önemli çalışma, Değertekin ve arkadaşları tarafından yapılan Türkiye’deki Kalp Yetersizliği Prevalansı ve Ön gördürücüleri (HAPPY) çalışmasıdır. Bu çalışmada Türkiye’de %6,9’luk bir prevalans ile yaklaşık 2 milyon 424 yetişkin bireyde KY bulunduğu tespit edilmiştir [20].

2030 yılına kadar 8 milyondan fazla kişide KY gelişeceği tahmin edilmektedir. 65 yaş üzeri KY insidansı incelendiğinde ise, yaklaşık her 1000 kişiden 21'inde KY geliştiği görülmektedir [21]. Türkiye'de <65 yaş kişilerde görülme sıklığı %1 iken, 75-84 yaş arasında görülme sıklığı %7'ye, >85 yaşta ise %15'e kadar çıkmaktadır [20].

#### **2.1.4. Patofizyoloji**

KY'de en sık rastlanılan patofizyolojik mekanizma miyokard dokusunun kasılma bozukluğu veya yetersizliği nedeni ile meydana gelen pompa yetersizliğidir. Kardiyak adaptasyon mekanizmalarının tamamı SV atım hacmini normal sınırlar içinde tutmaya yöneliktir. Kalp debisini, KH ile atım hacmi belirlemektedir. Atım hacmini belirleyenler ise önyük, miyokard kontraktilitesi ve ardyüktür. Önyük, miyokardın diyastolik gerilmesi sonrası oluşan diyastol sonu basınç olarak bilinir. Ardyük, ejeksiyon sırasında kanın ventrikülden atılabilmesi için kalbin aşması gereken basınç olarak bilinir. Ardyüğü belirleyen faktörler SV sistol sonu basıncı, SV çapı ve arteriyollerin direncidir. Artan önyük ve ardyüğe miyokart, oksijen tüketimini artırma pahasına da olsa kontraktilite artışına giderek yanıt verir [22]. Kontraktilitenin artması geçici bir çözüm (Frank-Starling yasası) sağlar. Fakat uzun dönemde sarkomerlerin genişlik ve uzunluklarının artmasıyla miyokardiyal hipertrofi oluşur, gittikçe uzayan sarkomer boyları gerilir ve uzamaya başlar. Dilatasyonla sonuçlanan bu durumda kalp fonksiyonları olumsuz etkilenir [23].

Akut miyokard hasarı ve kronik KY dönemi boyunca oluşan atım hacmi düşüklüğünü artırmaya çalışan mekanizmaların tamamı Frank-Starling yasasına dayanır. SV'nin oluşturduğu kardiyak debinin akut olarak azalması, SV'nin diyastol sonu hacminin ve basıncının artmasına neden olur. Frank Starling mekanizması ile kasılma gücü artar ve kardiyak debinin artışına katkı sağlanır. Kronik süreçte nörohormonal sistem devreye girerek su, sodyum tutulumunu artırır. Her iki mekanizma önyük ve SV dolum basıncını dengelemeye çalışır. Bu adaptasyon mekanizmaları, pulmoner kapiller uç basıncında artışa sebep olur, bu da KY hastalarının sık yaşadığı semptom olan nefes darlığına sebep olur [24].

Nörohormonal aktivite artışı, günümüzde KY kliniğinin ve hastalığının gidişatına etki eden en önemli patofizyolojik bileşenlerden biridir [25]. Kardiyak debinin azalması arteriyel sistemdeki hacmin azalmasına bağlı olarak afferent arteriyol duvarındaki baroresptörler ve makula densa tarafından algılanır [26]. Prorenin sentezi artar. Renin anjiyotensinojen-anjiyotensin I ayrımını gerçekleştirdikten sonra anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) tarafından anjiyotensin I anjiyotensin II'ye dönüşür. Anjiyotensin II AT1 reseptörü aracılığıyla sistemik arteriyel vazokstriksiyona neden olur. Bu etkiye ek olarak miyokart ve fibroblastlar üzerine hipertrofik etki gösterir [27]. Ayrıca Anjiyotensin II, aldosteron salınımını sürrenal bezler üzerinden artırarak sodyum Emilimini artırır. Hipofiz bezi arka lobunda da anti diüretik hormon (ADH) salınımını artırır. Anjiyotensin II ve aldosteron, NADPH oksidaz aktivitesini artırarak doğrudan oksidatif strese neden olarak miyosit hasarı da yaparlar [28]. Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi (RAAS) KH'ını ve kontraktileti artırarak kalbin iş yükünü artırır, var olan belirti ve bulguların ortaya çıkmasına neden olur. Artan sempatik yanıt natriüretik etkiyi azaltarak kliniğin daha da kötüleşmesine neden olur. Nörohormonal yanıt zamanla miyokard perfüzyonu azaldıkça debinin düşmesine ve kalbin enerji ihtiyacının artmasına sebep olur. İş yükü arttıkça miyofibrillerin kontraktilesini azalır ve miyokardiyal remodelling gelişir [29].

## **2.2. Diyabetes Mellitus**

### **2.2.1. Tanım**

DM, insülin salınımında ya da insülin etkisinde, bazen de her ikisinde birden eksiklik olması sonucu meydana gelen, yüksek glukoz seviyelerinin eşlik ettiği metabolik bir hastalıktır [30].

Amerikan diyabet birliğine (ADA) göre DM Tanı Kriterleri:

1. Açlık plazma glukoz düzeyinin an az 8 saat açlık sonrası iki ardışık ölçümde 126 mg/dl ve üstü olması
2. Diyabet semptomları (polidipsi, nokturi, poliüri, açıklanamayan kilo kaybı) ile herhangi bir zamanda ölçülen plazma glukoz düzeyinin 200 mg/dl'nin

- üzerinde olması; semptomsuz olgularda iki ayrı zamanda rastlantısal olarak ölçülen plazma glukozunun 200 mg/dl ve üzerinde bulunması
3. Oral glukoz tolerans testi (OGTT) (75 gram glukoz) 2. saat plazma glukoz düzeyi 200 mg/dl ve üstü olması
  4. HbA1C>6.5 (standardize metotlarla ölçülmüş) olması

Dört kriterden herhangi biri ile tanı koyulabilir [31].

Diyabetin vasküler komplikasyonları iki büyük grupta değerlendirilir.

1. Mikrovasküler komplikasyonlar (retinopati, nefropati, nöropati vb.)
2. Makrovasküler komplikasyonlar (KAH, periferik arter hastalığı ve serebrovasküler hastalık vb)

KAH prevalansı DM'li erişkinlerde %55 iken genel popülasyonda %2-4'tür. Bu nedenlerle DM, bir kardiyovasküler hastalık öncüsü olarak nitelendirilebilir [32].

### **2.2.2. DM-KY İlişkisi**

DM hastalarda KY insidansı yüksektir. Prevalans 25%-40% arasında değişmektedir [33]. KY hastalarının prognozu DM'li hastalarda olmayanlara göre daha kötüdür [34]. DM'li hastalarda prognozu iyileştirmek ve medikal tedaviye erken başlamak için KY'nin erken tanınması zorunludur [35].

DM'de meydana gelen kardiyak disfonksiyon tek mekanizma ile açıklanamaz. DKMP, KAH ve HT olmadan da gelişebilir. Patogenezi tam olarak bilinmemekle beraber otonomik fonksiyon bozukluğu, metabolik bozukluklar ve elektrolit düzensizlikleri, insülin direnci, artmış büyüme faktörleri, miyosit fibrozisi gibi nedenlerin de KMP gelişimine katkısı olabileceği gösterilmiştir [5, 36].

DM'de düz kas hücreleri proliferasyonu ve trombosit adhezyonu artar. Bu durum ateroskleroz oluşumu ve progresyonunu artırır [37]. DM'li hastalarda artan ateroskleroz süreci koroner arter yatağında plak formasyonuna neden olur. Bu plağın

oluşmasında en büyük katkı DM sürecinde düşük dansiteli lipoprotein (DDL) glikozile edilmesidir. Glikozile edilen DDL daha uzun ömürlü ve aterosjenik olur. DM hastalarında mikrovasküler yatakta nitrik oksit salınımı azalır ayrıca otonomik nöropatiye bağlı olarak mikrovasküler dolaşım bozulur [38]. Koroner arter tıkanıklıklarına ve bunun getirdiği mikrovasküler yataktaki otonomik disfonksiyona bağlı olarak KY için zemin hazırlar [5].

Glikasyon son ürünlerinin serum seviyeleri yükselen glukoz seviyeleri ile beraber artar ve miyosit enerji metabolizması glikojenin bitmesi sonrası yağ asidi oksidasyonuna döner [39, 40]. Hücre içi lipit birikimi lipit oksidasyonun artmasına neden olur. Glikasyon son ürünleri ve lipit birikimi, serbest oksijen radikallerinin (SOR) aşırı artmasına neden olur. SOR birikimi IL-1, IL 6, TNF alfa, NADPH oksidaz enziminin artışına sebebiyet vererek proinflamatuvar etkiye sebep olur [41].

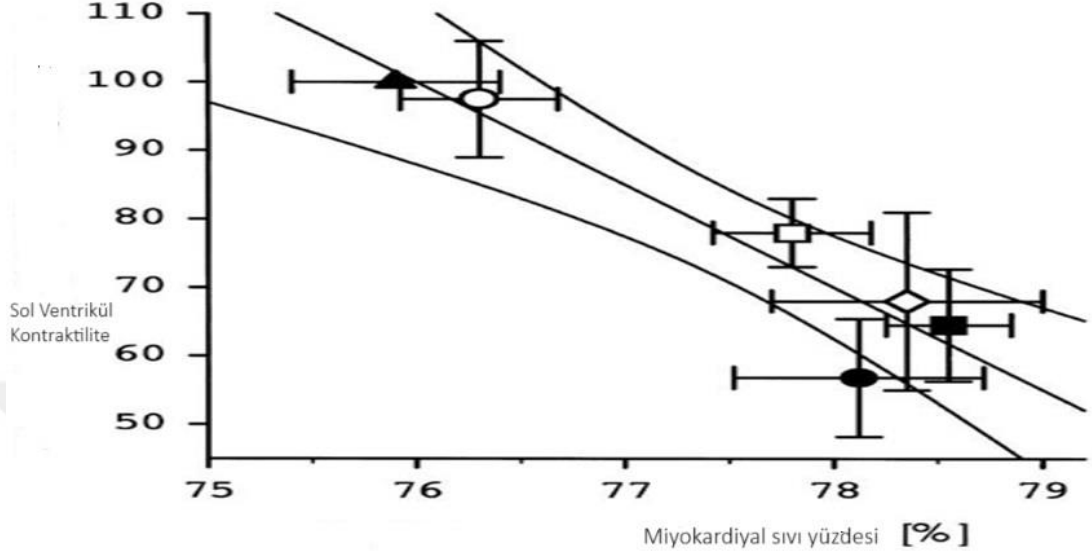
KAH, otonomik disfonksiyonu, artmış ateroskleroz ve kronik inflamasyon DMKP riskini artırır [42]. İnsülin direnci, mikrovasküler disfonksiyon, otonomik disregülasyon, uyarılan RAAS sistemi, uyumsuz immün sistem uyarımı, kronik inflamatuvar değişiklikler KY kliniğinin oluşmasına sebep olur [43].

### **2.3. Miyokardiyal Sıvı Hemostazi**

Ödem olarak da adlandırılan interstisyel su birikimi, transkapiller su taşınımı lenfatik sistem akışını aştığında dokuda fazlasıyla meydana gelir ve sonuç olarak azalmış kardiyak lenfatik akış sıklıkla miyokardiyal ödeme neden olur [4, 44]. Miyokardiyal su içeriğindeki küçük bir artış bile kalp fonksiyonlarında azalmaya neden olur [45]. Miyokardda su birikmesi, kontraktilite değişiklikleri ve miyokardiyal fonksiyon bozukluğuna bağlı ölümle direkt ilişkilidir. Miyokardiyal ödem, Mİ'ı takiben kardiyak iskemik hasar sonucu, koroner arter bypass greft (KABG) cerrahisi sonrası veya ciddi yanık gibi durumlarda sık görülür [46-48].

SV kontraktilitesi, doğrudan miyokardiyal su içeriğiyle ilişkilidir. Miyokardiyal su içeriği %3,5 arttığında, belirli bir önyük için kalp debisinde 40%'lık bir azalma olduğu çalışmalarda gösterilmiştir [49]. Koroner iskemi, beta blokaj,

pulmoner hipertansiyon ve koroner by-pass sürecinin miyokardiyal ödem ile olan ilişki Şekil 1’de gösterilmiştir [50, 51].

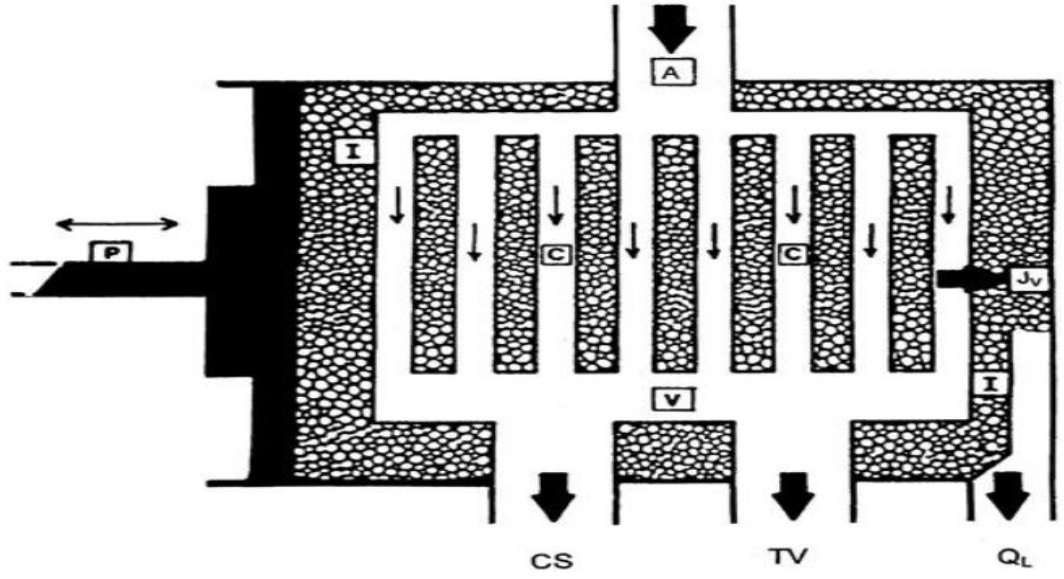


Şekil 1. Miyokardiyal ödem kontraktilite ilişkisi

- ▲ Ödemsiz kalpte kontrol değeri
- Esmolol ile beta blokaj
- KABG (sıcak sürekli infüzyon) kardiyopleji
- KABG (soğuk kristaloit) kardiyopleji
- ◇ Yüksek koroner sinüs basıncı
- Pulmoner arteriyel hipertansiyon [51].

Miyokard ödeminin diyastolik kalp fonksiyonunu da bozduğu gösterilmiştir. Diyastolik fonksiyon iki fazdan oluşur: Enerji tüketen izovolümetrik gevşeme ile oluşan aktif ve esas olarak ventriküller kompliyans tarafından belirlenen pasif gevşemedir. Birçok araştırmacı, miyokardiyal ödemin, izovolümetrik gevşemeyi bozduğunu göstermiştir [52]. Ek olarak ödemin varlığı miyokardiyal interstisyumu genişletir, muhtemelen koroner perfüzyonu engelleyerek ve oksijenin difüzyon mesafesini artırarak miyosit iskemisine yol açar [53].

Miyokardiyal sıvı hemostazı; sıvının mikrovasküler değişimi, damarlardan kardiyak interstisyuma filtrasyonu ve burada miyokardiyal lenfatikler yolu ile hücreler arası boşluktan drenajı ile düzenlenir. Normal koşullar altında sıvının kardiyak interstisyuma girme hızı (JV); miyokardiyal lenf akış hızı (QL) eşittir (şekil-2) ve dolayısıyla miyokardiyal su içeriği sabit kalır [54].



Şekil 2. Miyokardiyal sıvı dengesini etkileyen fonksiyonel bileşenler

A, koroner arterler; V, koroner damarlar; CS, koroner sinüs; TV, Tebesyan damarları; I, interstisyum; C, mikrovasküler değişim damarları (kılcal damarlar); P, kalp kasılmasına bağlı olarak ventriküller duvardaki basınç kuvveti;  $J_v$ , *trans mikrovasküler sıvı akışı*;  $Q_L$ , lenf akış hızı [51].

Miyokardiyal interstisyel sıvıyı subendokardiyumdan subepikardiyuma intramiyokardiyal kanallar yoluyla boşaltan lenfatik kılcal damarlar mevcuttur. Bu kılcal damarlar çok sayıda dönüşe ve miyositlerin arasından çıkıntı yapan küçük parmak benzeri dallara sahiptir. Sahip olduğu subepikardiyal pleksus ile lenfatik sıvı, sol ve sağ koroner lenfatikleri oluşturan subepikardiyal toplayıcı gövdelere boşalır ve bunlar en sonunda ana kardiyak lenfatikte sonlanır. Ana kardiyak lenfatik kanal, innominate arter ile superior vena kava arasındaki bağ dokusunda bulunan kardiyak lenf düğümüne ulaşır [55].

Miyokardiyal lenf akışının ana belirleyicisi kalbin ritmik kasılması ve gevşemesidir. Koroner perfüzyona rağmen ventriküller fibrilasyon ve kardiyopleji sonrası gelişen arrestin miyokardiyal lenf akışını neredeyse durduğu gösterilmiştir [50]. Yakın zamanda dobutamin infüzyonu ile kontraktilitenin artırılmasının miyokardiyal lenfatik fonksiyonu arttırdığı, dolayısıyla kardiyopulmoner bypass (KPB) sonrası ödemin atılımını hızlandırdığı gösterilmiştir [56]. KPB veya sepsis gibi

patolojik olarak artan mikrovasküler geçirgenlik nedeniyle interstisyel sıvı hacimlerinin arttığı ve hücrel olayların bir sonucu olarak içeriye doğru yönlendirilmiş bir ozmotik gradiyentin olduğu durumlar klinik olarak önemli olabilir. Mİ sonrası artmış laktat birikimi reperfüzyon sırasında hücre içine suyun yönlendirildiği patolojiler arasındadır [57]. Kalp iskemiye maruz kaldığında, hücre içi laktat birikimine yanıt olarak hücre şişmesi sitotoksik tiptedir. KPB'yi içeren kalp cerrahisi sırasında olduğu gibi iskemi planlı olduğunda, başka faktörler de söz konusudur. Operasyon sırasında sıvı resüsitasyonun sonucu olarak ortaya çıkan bir vazojenik ödem de meydana gelecektir. Bu bir endotelioyopati olarak tanımlanmış olup kanın KPB devresinin yabancı yüzeylerine maruz kalmasıyla başlayan, sistemik bir inflamatuvar süreç tarafından indüklenen ve damar geçirgenliğindeki bir artışla sonuçlanan durumlara atfedilmiştir [58].

#### **2.4. İzoproterenol**

İzoproterenol (İZO) nörepinerfinin izopril türevidir. Alfa adrenerjik reseptörler açısından düşük afiniteye sahip selektif olmayan beta adrenerjik sentetik bir agonistdir. Zayıf vazopressör özelliğinin yanında inotropik ve kronotropik etkileri olan bir ajandır. Beta-1 adrenerjik reseptörleri uyararak KH'ını ve miyokardiyal kontraktileti artırır. İZO ratlarda deneysel Mİ, akut ve kronik KY oluşturmak için kullanılabilir. Rat miyokardında SOR ve lipid peroksidasyonunu arttırarak geri dönüşümsüz miyokart membran hasarına yol açar [59].

Kardiyak hipertrofi kardiyovasküler morbidite ve mortalitenin güçlü belirleyicilerindedir. Hem in vitro hem de in vivo çalışmalar beta adrenerjik agonistlerin kardiyak hipertrofiyi arttırdığını göstermiştir. İZO hipertrofik etkilerinin mekanik temelleri kesin olarak bilinmemektedir[60].

KY oluşturma modellerinde farklı konsantrasyonlarda kullanılmakta olan İZO'nun, iki gün, günde iki kez 85mg/kg veya yedi gün, günde iki kez 5 mg/kg dozunda verilmesi KY'yi indükler [61, 62].

## 2.5. Aquaporinler

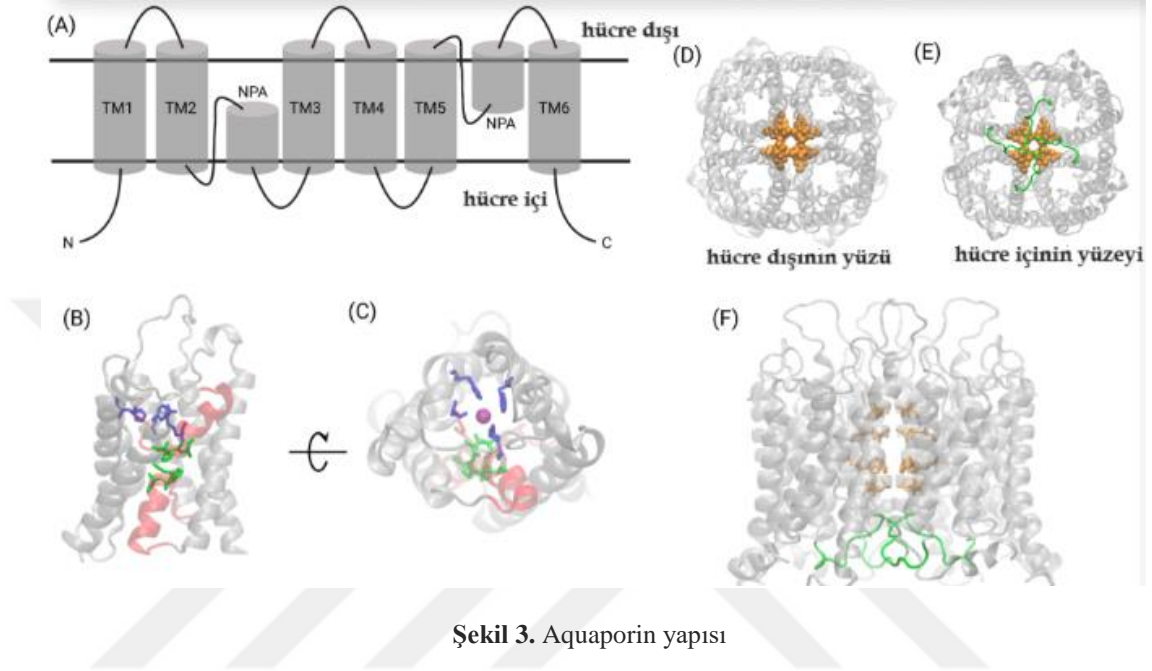
AQP'ler suyun, suda eriyik maddelerin, küçük moleküllerin (gliserol, üre, amonyak, karbondioksit) ve nötr yüklü iyonların biyomembranlar boyunca pasif taşınmasını kolaylaştıran transmembran proteinlerdir [63]. AQP'ler osmotik hemostazın düzenlenmesine, sinyal yollarının dinamik değişimine, hücre çoğalmasına aracılık ederler [64]. Başlangıçta channel-forming integral protein (CHIP) 28 olarak adlandırılan şimdi ise AQP1 olarak bilinen ilk su kanalının keşfi, Agre ve arkadaşlarının eritrosit zarlarında tesadüfen bol miktarda 28 kilodalton (kDa) boyutunda protein tespit etmesiyle gerçekleşmiştir [65]. *Xenopus laevis* oositlerinde yapılan deneyler sonucunda her bir kanalın çok yüksek su geçirgenliğine sahip olduğu gösterilmiştir [66].

AQP'ler, çoğu canlı organizmada önemli fonksiyonları olan transmembran kanal protein ailesini oluşturur [67]. Suyun ozmotik eğilimler boyunca hareketini kolaylaştırırlar ve orijinal olarak su kanalları olarak adlandırılmışlardır [68]. AQP'ler hidrofobik çift tabaka boyunca basit su difüzyonu yapmalarının yanında birçok farklı patofizyolojik süreç için önemlidir [69].

### 2.5.1. AQP'lerin Yapısı

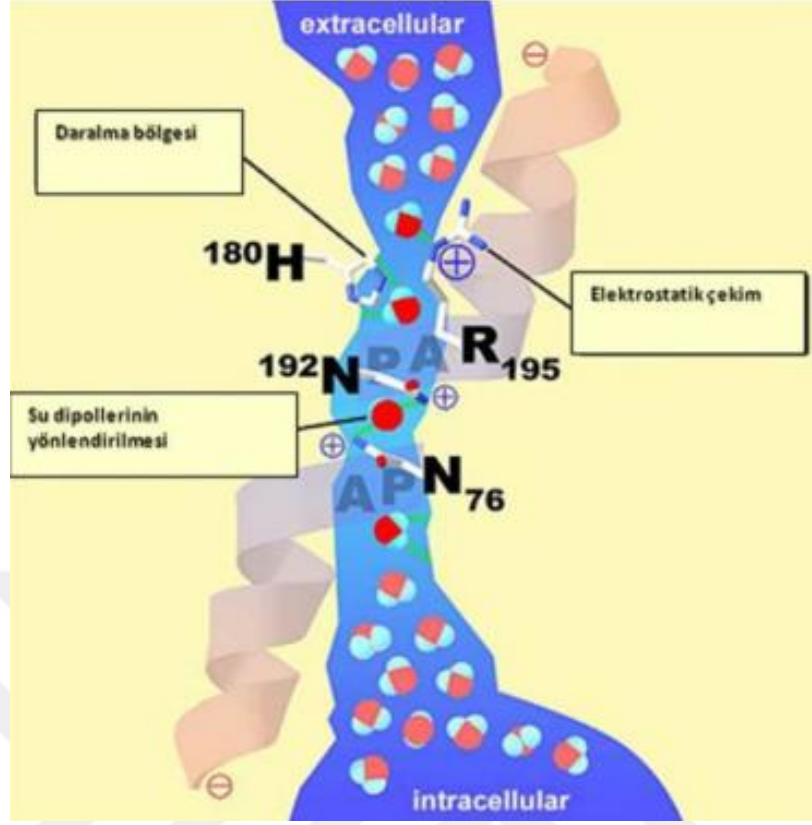
AQP'ler hücre membranlarında her biri yaklaşık 28 kDa büyüklüğündeki monomerlerden oluşan ve 7 nanometre (nm) yan uzunluğundaki "tetramer" yapılarından oluşur. Amin (-NH<sub>2</sub>) ve karboksil (-COOH) uçlarına sahip olan her monomer her iki yöne su transportu sağlayabilen su porlarını çevreleyen sekiz adet transmembran segmentten oluşur. Bunlardan altı tanesi uzun heliks yapıda diğer ikisi de kısa segmenttedir (Şekil 3). Kısa segmentlerin biri 2-3 diğeri 5-6 helikal segmentten oluşur. Kısa segmentler asparajin (Asn), prolin (Pro), alanin (Ala) içermektedir. Bunlara kısaca; Asparajin-Prolin-Alanin (APA) sekansları denilmektedir. Bu segmentlerin döngüsel yapısı su geçirgenliğine izin veren hourglass denilen kum saati yapısını (Şekil 4) oluşturmaktadır [66]. APA içeren kısa heliksler porun ortasına doğru karşılıklı yerleşirler ve böylece yalnızca su geçişine izin veren spesifik bir filtre görevi görürler. Monomerler arası boşluklar por görevi üstlenmiştir. Tek başına su

moleküllerinin geçişine izin veren her monomer, bir tane transmembran poruna sahiptir. Kanal altında, su gibi küçük moleküllerin geçişine izin veren, özellikli bir boğaz bölgesi mevcuttur. Boğazı meydana getiren yan zincirler fenilalanin (FEN), histidin (HİS), sistein (SİS) ve arjininden (ARJ) meydana gelmektedir.



- A) 6 transmembrandan oluşan sarmal ve APA içeren iki sarmal giriş halkası  
 B,C) su taşınması için aromatik/Arj seçicilik filtresi D,E) AQP iç ve dış yüzeyi F) 3 boyutlu görüntü suyun akış geometrisini gösterir [66].

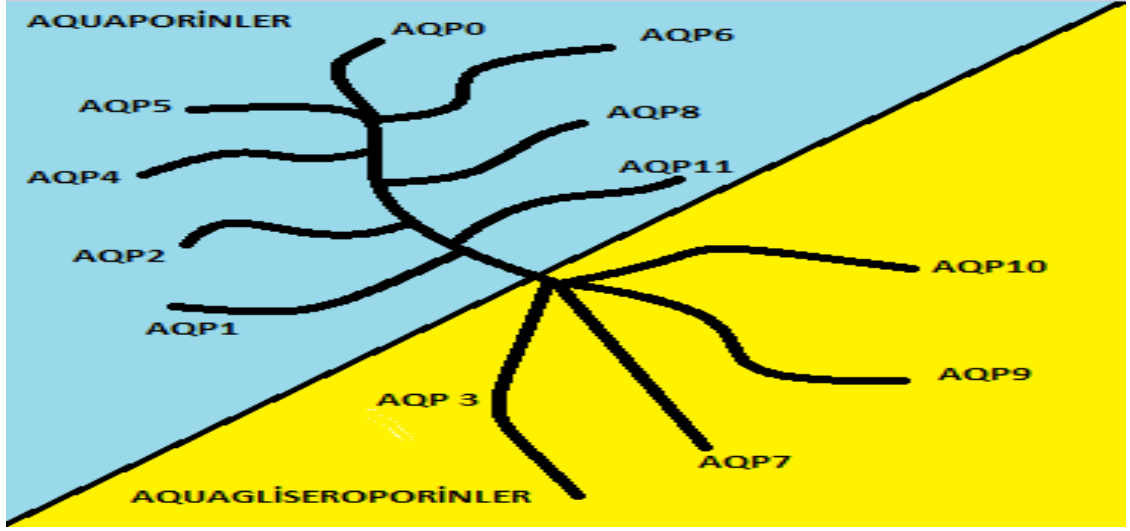
APA halkasındaki iki Asn rezidüsü su ile hidrojen bağı meydana getirir. APA sekansındaki Arj ve His pozitif yük oluşturarak su için itici kuvvet oluştururlar [70]. Bazı AQP'lerin merkezi tetramerik gözeneginin aynı zamanda küçük gözenekli çözünen maddeleri, sitrat, anyon ve katyonların bir kısmını, gliserol, ağır metal iyonlarını ve gazları (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>) ilettiği öne sürülmüştür [65].



Şekil 4. Aquaporin kum saati işleyişi [66]

### 1.5.2 AQP ailesi

Bugüne kadar memelilerde 13 AQP türü tespit edilmiş olup, AQP'ler por seçiciliğine göre de 3 ayrı aileye ayrılmıştır. AQP 0,1,2,4,5,6 klasik su seçicidirler, AQP 3,7,9,10 ise daha az su geçirgen olup gliseroaquaporin olarak adlandırılırlar (Şekil 5) ve gliserol, üre gibi nötr çözünen maddeleri de geçirirler [71]. Genel olarak, böbrekte suyun geri emilmesinde, kan-beyin bariyerindeki su değişiminde, tümörlerin büyümesinde ve vaskülarite artışında önemli patofizyolojik rollere sahip oldukları kabul edilir [72].



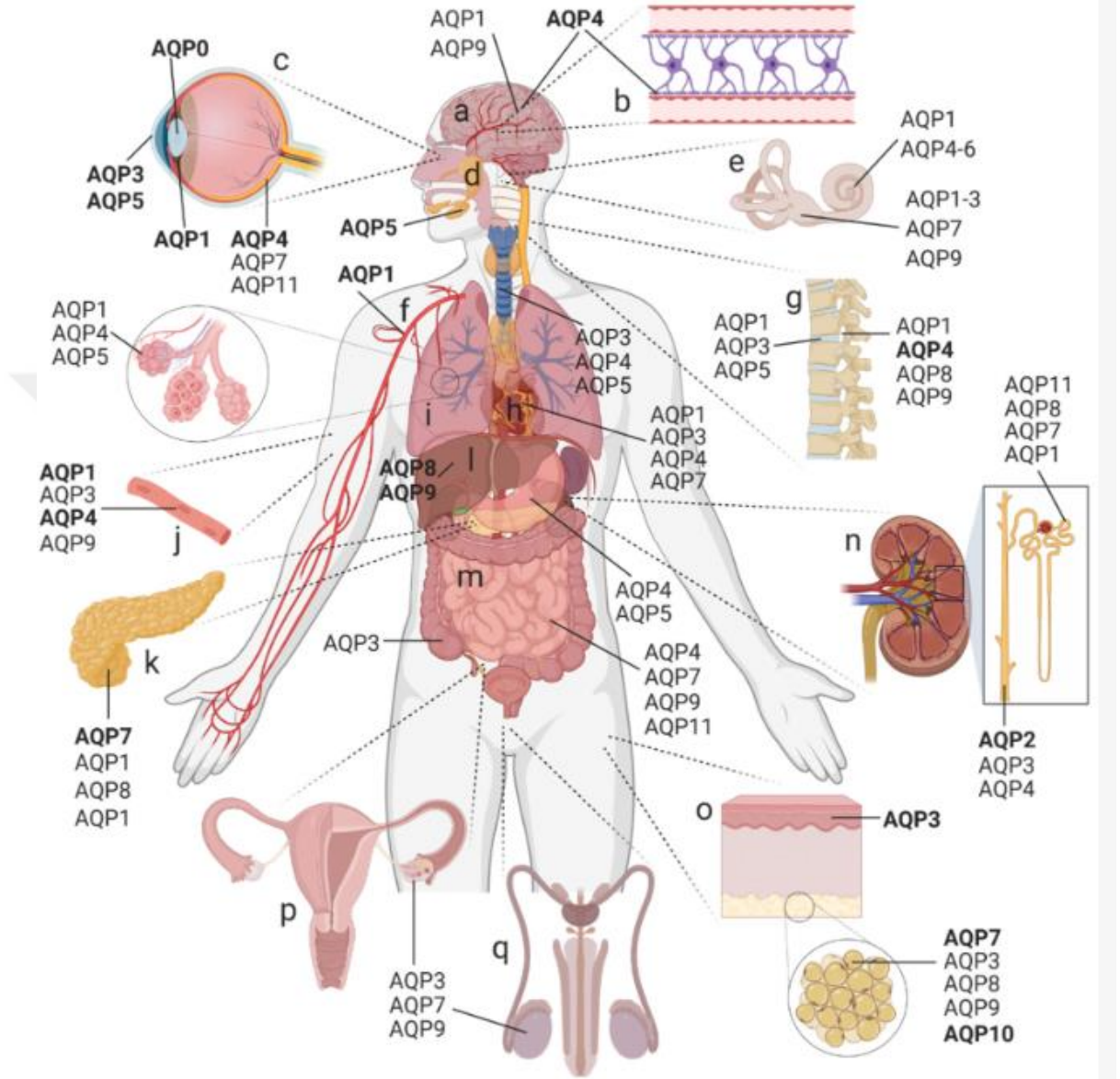
Şekil 5. Aquaporinler ve gliseroporinler

AQP'ler yalnızca suyu değil aynı zamanda küçük molekülleri ve çözünen maddeleri de taşıdığından, su homeostazisi, ekzokrin bez sekresyonu, idrar konsantrasyonu, cildin nemlendirilmesi, yağ metabolizmasından hücre çoğalmasına, göçüne ve yapışmasına kadar bir dizi işlevi düzenlerler (şekil 6) [73].

AQP'ler böbrek, akciğer, ekzokrin bezler, göz, mide ve bağırsak organlarındaki epitel ve endotel dahil olmak üzere sıvı taşımının kritik rol oynadığı birçok hücre tarafından eksprese edilirler. Bununla birlikte AQP'ler, eritrositler, lökositler, adipositler ve iskelet kası gibi sıvı taşınmasında belirgin bir rolü olmayan hücrelerde de bulunurlar. Ayrıca AQP'lere merkezi sinir sistemi (MSS) boyunca astrositlerde ve retinal müller hücreleri gibi duyu organlarındaki destekleyici hücrelerde de rastlanılmıştır. AQP'lerin kornea, lens ve siliyer epitelde ekspresyonu görme açısından hayati önem taşımaktadır [74].

Akuagliseroporinleri AQP3, AQP7 ve AQP9'u içerir. AQP3 epidermiste çoğalan keratinositlerin bazal tabakasından eksprese edilir [75]. AQP7 eksikliğinden kaynaklanan azalmış plazma membranı gliserol geçirgenliği, hücre içi gliserol ve trigliserit birikimine yol açar. Yapılan bir çalışmada, AQP7'nin gliserol transportunun bozulmasının sonucu gibi görünen adiposit hipertrofisiyle birlikte ilerleyen obezitede rol aldığı AQP7'den yoksun farelerde gösterilmiştir [76]. Hepatositlerde AQP9

ekspresyonunun hepatic gliserol alımını kolaylaştırdığı ileri sürülmüştür, ancak hepatic gliserol alımının insan metabolizmasındaki önemi net değildir [77].



**Şekil 6.** İnsan vücudundaki AQP dağılımı ( a ) beyinde, ( b ) kan-beyin bariyerinde, ( c ) gözde, ( d ) ekzokrin bezlerinde, ( e ) iç kulakta, ( f ) kardiyovasküler sistemde, ( g ) omurgada, ( h ) kalp ( i ) solunum yolu (trakea ve akciğer; alveol), ( j ) iskelet kası, ( k ) pankreas, ( l ) karaciğer, ( m ) gastrointestinal sistem, ( n ) böbrek, ( o ) deri yağ dokusu ( p ) dişi ve ( q ) erkek üreme yolları [78].

### **1.5.3. AQP tipleri ve fonksiyonları**

#### **AQP0**

Öncüleri 26 kDa iken işlevini kazanabilmesi için 22 kDa halini alır. AQP0 sığır, fareler, tavşanlar gibi farklı türlerde ve insanlarda lens dokusunda bulunur. Gözde lens akomodasyonu, önemli hacim değişiklikleri ile ilişkili saptanmış olup bu da hücre membran porlarıyla sağlanan hızlı su akışını yardımcı olmaktadır. Ayrıca difüzyon ile perfüze olan lensin mikro sirkülasyonunda muhtemel etkisi primer olarak kabul edilmiştir. Bulgular; AQP0'ın lens fibrillerinin oluşumunda, hücre adhezyonunda, migrasyonunda ya da yapısal bir rolü olduğunu göstermektedir [79].

#### **AQP1**

AQP1 1988 yılında eritrosit membranından ilk tespit edilen su kanal proteindir. AQP1 kardiyomiyositlerde, t-tübül sisteminde, böbrek parankiminde, proksimal tübülde, henlenin inen kolunda, akciğer dokusunda, endotelial hücrelerde, pnömositlerde, koroid pleksusta ve siliyer hücrelerde bulunmaktadır [80].

AQP1'in eritrosit membranında osmotik su geçirgenliğinin %85'inden fazlasına dolaylı olarak katıldığı gösterilmiştir [81]. Kan ve lenf damarlarında yer alan AQP1, suyun endotelial transferinde görev alır ve suyun plazmadan lenf sıvısına transfüzyonunu sağlar [82]. AQP 1 vasküler geçirgenliğin kontrolünde [83], anjiyogeneziste [78], endotel hücre göçünde [84], yara iyileşmesinde rol oynamaktadır [85]. Yokluğu endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz ile ilişkilendirilmiştir [86]. Düşük AQP1 seviyesi olan inflamasyonlu dokularda nitrik oksit seviyeleri düşer ve relaksasyon bozulur [87].

Solunum sisteminde alveoler, kapiller ve venlerin endotel hücrelerinde bulunmakta olan AQP1'in asıl görevi endotelden sıvı geçişinde, damar dışına sıvı akışının sağlanmasında yardımcı olmaktır. Akciğerlerde damar geçirgenliğinde belirleyici rol aldığı düşünülmektedir [77]. Akciğer alveol ve kan damarı sınırlarını oluşturan endotel hücrelerinin apikal ve bazolateral membranlarında bulunur.

Pulmoner endotelde bolca eksprese edilen AQP1, plazma zarı boyunca su akışı için ana yol olarak hizmet eder [88]. Ekspresyonu akciğer fibrozisi ve hasarı ile beraberken; azalışı su geçirgenliğinin azalmasına sebep olur [89].

Erkek üreme sisteminde ise, efferent kanallarda bulunmaktadır ve üreme kanallarında luminal sıvının su absorpsiyonuna aracılık etmektedir [90].

MSS'de AQP1 apikal koroid pleksustan eksprese edilir. Beyin omurilik sıvısı (BOS) sekresyonu için yüksek sıvı taşıma oranlarını kolaylaştırır [91]. AQP dissens olan farelerde BOS üretiminin %25 azaldığı, kafa içi basınçla doğru orantılı olduğu gösterilmiş ve bu sağkalımla ilişkilendirilmiştir [92]. Nöral krest hücrelerinin göçünde rol alır ve diferansiyel göç hızını, yönünü ve uzunluğunu tayin eder [93].

Memelilerin işitme sisteminde çeşitli AQP'ler ile beraber işitmede önemli rol üstlendikleri düşünülmektedir [94]. AQP1, 7, 9 iç kulaktan eksprese edilir. Vestibüler hücrelerde, endolenfatik kese epitel hücrelerinde, duyuusal hücrelerde ve gangliyon hücrelerinde, duyuusal sinyal iletimine katkıda bulunurlar [95].

Hipoksi ve inflamasyona yanıt olarak AQP1'in endotel hücre ekspresyonu, sinyalizasyon, transkripsiyon faktörleri ve epigenetik modifikasyonlar tarafından belirlenir. Nitrik oksit akışı, endotele bağlı gevşeme, vasküler tonusun ayarlanması, damar duvarının trombozdan korunmasında katkısı vardır [96]. AQP1'in hipoksiye bağlı yukarı regülasyonu P53 seviyelerini düşürür ve proliferasyonu artırır [97].

AQP 1, 3, 5, 7, 9 ve 10 insan derisinde beraber bulunurlar [98]. Eritropoetin ekstraselüler kalsiyum varlığında AQP1 ekspresyonunu artırır [83]. Östrojen ekspresyonunu arttırarak vasküler tubogenezisi artırır [99].

AQP 1, 4, 5, 9'un hücre tipine bağlı olarak göç eden hücrelerin kenarında polarize olduğu bulunmuştur [100, 101]. Artmış AQP ekspresyonu hareket için gerekli hücre iskeleti ve ekstraselüler matriks modifikasyonunu kolaylaştırmak için yerel hacim değişikliklerini hızlandırabilir [102]. Kemik iliğinden alınan mezenkimal kök

hücrelerinde yüksek AQP1 düzeyinin, hücre göçünde anahtar rolü üstlenen  $\beta$ -katenin yüksekliği ve fokal adezyon kinaz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [103].

Hiperosmolaritenin MAPK yolaklarının aktivasyonunun aracılık ettiği AQP1 ekspresyonunu indüklediği ortaya koyulmuştur [104]. Oosit membranında ADH, siklik adenozin mono fosfat (cAMP) yolağının etkili olduğu ve AQP1 ekspresyonu artırdığı, hücrenin şişmesine aracılık ettiği görülmüştür [105]. Başka bir deneyde osmolaritesi yüksek solüsyonda tutulan oositte ADH'nin sitozolik AQP1'in bazale translokasyonunu arttırdığı gösterilmiştir [106]. AQP1'in su kanalı aktivitesinin, cAMP ve forskolin gibi protein kinaz A (PKA) aktivatörleri tarafından arttırıldığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [105].

## **AQP2**

AQP2 hareketli tek AQP alt türüdür. Toplayıcı kanal bazal hücrelerinin elektron mikroskopunda apikal yüzeyde klatrin ile çevrili çukurcularda lokalize olduğu gösterilmiştir [76]. İnsanlarda hastalıkla ilişkilendirilebilen tek AQP'dir [107]. İnaktif halde intraselüler yerleşimli iken aktif olduklarında hücre membranına doğru hareket ederler. AQP2, ADH ile uyarının olmadığı şartlarda hücre içi veziküllerde muhafaza edilen tek AQP'dir. AQP2 vasopresin etkisi sonrası artan cAMP'ye yanıt olarak PKA fosforilasyonundan sonra böbrek toplama kanalındaki apikal plazma zarına taşınır [108].

KY, gebelik, anemi AQP2 ekspresyonunu arttırırken, siroz, potasyum ve sodyum düşüklüğü, renal yetmezlik AQP2 ekspresyonunu azaltmaktadır [76]. AQP2'nin işlevsiz hale gelmesi nefrojenik diyabetes insipitusa neden olmaktadır. [109].

## **AQP3**

Aquagliseroaquapoin ailesindedir. Üre ve gliserol geçirgendir. AQP3, en çok deride bulunmakla beraber respiratuar, görme ve gastrointestinal sistemlerde de bulunmaktadır. Derinin dış epitel tabakası olan epidermiste en çok bulunan AQP'dir

[110]. Gliserol önemli bir nemlendirici olduğundan, azalan gliserol cildin nemini ve elastikiyetini azaltabilir. Gliserol, ATP oluşumunda ve membran lipid biyosentezinde yer alan önemli bir epidermal hücre metaboliti olduğundan, azalmış gliserol aynı zamanda epidermal proliferasyonu da bozar. AQP3'ten yoksun farelerde, kandan epidermise gliserol taşınması bozulmuştur. Epidermis ve stratum korneumdaki gliserol içeriğinin azalması ve proliferasyonu bozduğunda cilt nemi ve elastikiyeti azalmıştır. [111].

### **AQP4**

AQP4, en yüksek su geçirgenliğine sahip AQP olup sinir sisteminde baskın AQP'dir [112]. AQP4 ayrıca retina, kalp, iskelet kas grubu, intestinal sistem, respiratuar sistemde de bulunur. Beyinde, BOS üretimi ve absorpsiyonu, kan-beyin bariyeri arasındaki su transportu ve beyin ödemi fizyopatolojisinde aktif rol alır [113]. AQP4 kan beyin bariyerinin en önemli yapılarından biridir ve sitotoksik hasarı takiben serebral ödemin gelişmesinden hemen hemen tek başına sorumludur [114]. Bu nedenle, AQP4'den yoksun bırakılmış farelerde, felç ve travmatik beyin hasarını takiben hayatta kalma açısından önemli faydalar gösterilmiş olup, AQP 4'ün menenjit ve su intoksikasyonunda da faydalı olduğu gösterilmiştir [115].

Retinada AQP4 kalsiyum kanalları ile beraberlik gösterir. İç kulakta fonksiyon kaybı olması durumunda işitme kaybı ile de ilgili bulunmuştur [116]

Fare kalplerinde kardiyak ekspresyonu gösterilirken, insan kardiyomiyositlerinde düşük miktarda olduğu gösterilmiştir [117]. Kardiyomiyositlerde interkale disklere bakan sarkolemmalarda bulunduğu gösterilmiştir. Bu diskler arasında aksiyon potansiyeli transferini sağlayan konneksonlar içerir. Bu nedenle aksiyon potansiyelinin yayılması ve hücreler arası iletinin sağlanmasında ciddi rolü olduğu düşünülüyor [118].

## **AQP 5**

İmmünohistokimyasal çalışmalarda AQP5'in tükürük bezlerinde lokalize olmakla birlikte dildeki küçük submukozal tükürük bezlerine ek olarak submandibular ve parotis bezlerinde de bulunduğu gösterilmiştir [119]. AQP5 rat akciğerinde tip 1 alveolleri döşeyen epitel hücrelerinin apikal membranlarında lokalizedir [76]. Bazı astım formlarının, içinde AQP5 ekspresyonunun da yer aldığı kromozom 12q ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [120].

## **AQP6**

AQP6, AQP2 gibi intraselüler yerleşimlidir. Esas olarak böbrek toplama kanallarının asit salgılayan a-interkale hücrelerinde eksprese edilen bir su kanalıdır. Fonksiyonu H-K ATPaz kanalları üzerinden asit – baz dengesine yardımcı olmaktır. Kronik asidozda düzeyi değişmezken alkaloz ve aşırı sıvı yüklenmesi sonrası ekspresyonunda artış görülmüştür [76].

## **AQP7**

Aquagliseraquaporin ailesindedir. Üre ve gliserol geçirgendir. Yağ dokusu, böbrek proksimal kısımları ve spermatozoidlerde lokalizedir. Fonksiyonundaki değişimler obezite ile ilişkili olup hücre enerji metabolizmasının dengeleyici öğelerinden biridir [76]. Yapılan bir çalışmada AQP7 inaktif ratlarda bozulmuş açlık gliserol salınımı ve hipoglisemi atakları meydana gelmiş olup farelerin 12 hafta sonra obez hale geldiği görülmüştür [121].

## **AQP8**

AQP 8 su ve katalaz taşıyan transmembran proteindir. Kalp, böbrek proksimal kısımları, kolonik epitel hücreleri, böbrek medullası ve adipositlerde bulunur [122]. Ayrıca gliomaların büyümesinde ve çoğalmasında etkili olabileceği belirtilmiştir [123]. Glukagon uyarımı sonrası hepatositlerde sıvı geçirgenliğini artırdığı ve karaciğerde intraselüler veziküllerden kanalikül membranlarına AQP8'in aktarıldığı

görülmüştür. Bu fonksiyonun safra sekresyonunun oluşumunda majör rol oynadığı ileri sürülmüştür [124].

AQP8 ekspresyonunun bağırsak su dengesinde etkili olduğu, eksikliğinde konstipasyon görülebildiği gösterilmiştir [125]. Mitokondri iç zarından salınımı SOR ve glutayon taşınımında hayati bir rol aldığını gösteren çalışmalar mevcuttur [126].

### **AQP9**

AQP9 genelde nötral kanal olarak da tanımlanır. Gliseraquaporin ailesindedir. Su, gliserol, üre, nükleik asit gibi moleküllere geçirgendir [127]. Karaciğer, lökosit, leyding hücrelerinde, epididimiste, spinal kortta, astrositlerde, plasentada, fallop tüplerinde ve birçok dokuda eksprese olurlar. Dişi üreme sisteminde oositlerin maturasyonuna, plasental bariyerden su ve eriyik moleküllerin geçişine aracılık eder [82]. Hepatositlerde gliserol yolağında etkin rol alırlar. Trigliserit sentezi, lipid metabolizması ve safra oluşumunda görev alırlar [128]. Gliserol kana salındığında glukoneogeneze kullanılmak üzere AQP 9 yardımı ile transsellüler geçiş gösterir [129].

Astrositlerde iskemi sonrası ödem gerilemesinde yardımcı olur. Sindirim sisteminde mukus salgılayan hücrelerde ve goblet hücrelerinde mukusun sentezi ile sekresyonunda aktif rol alırlar [130].

### **AQP10**

Aquagileseroquaporin ailesindedir. Enterosit villuslarında oldukça yaygın olup insan yağ dokusunda gliserol transportunda görev alırlar. Kas, gingiva ve diş gelişiminde AQP3 ve AQP9 ile kolektif etki göstermektedir [131].

### **AQP11 ve AQP12**

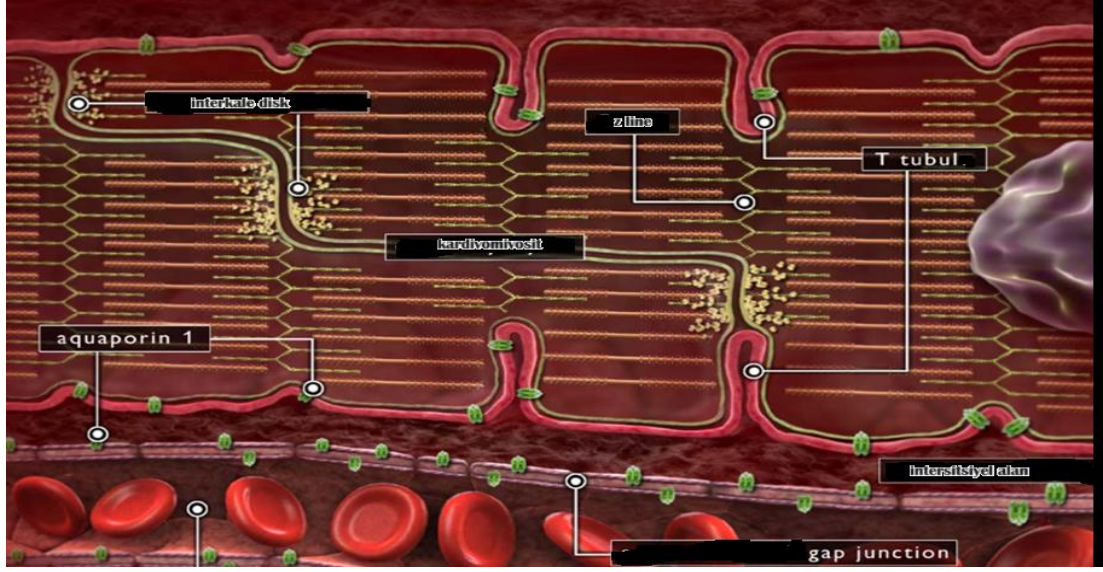
AQP11 testis, timüs ve en çok böbrekte eksprese edilir. Polikistin-1 geni ile ilişkisi saptanmış olup polikistik böbrek hastalığından sorumlu tutulmuştur [132].

AQP12 pankreasta mevcuttur. Kalsiyum ile uyarıldıklarında ekzositoz ile hücre dışına madde transferini sağlar [133].

#### **2.5.4. Kalpte Aquaporin**

İlk AQP (AQP1) sıçan kalbinden izole edilmiştir [134]. AQP1 koyun fetal kalp endokardında çok eski zamanlarda saptanmıştır [135]. Rat kalbinde PCR yöntemi ile AQP1, AQP4, AQP7, AQP8 transkriptleri elde edilmiştir. Bununla birlikte plazma membran fonksiyonlarında yalnızca AQP1, AQP4, AQP7 proteinlerinin etkisinin bulunduğu, AQP8'in ise endoplazmik retikulumda olduğu tespit edilmiştir [136]. Ayrıca yaşlanmayla beraber AQP1 ve AQP4 seviyeleri değişkenlik göstermektedir [137]. İmmünohistokimyasal çalışmalar, AQP 1, 4 ve 7'nin esas olarak kapiller endotel ve endokardiyumda lokalize olduğunu göstermiştir [138]. AQP1 sıçanlarda, izole edilmiş atriyal ve ventriküler miyositlerin membranında, primer atriyal miyosit kültürlerinde, donmuş atriyal ve ventriküler dokudaki in situ miyositlerde bulunmuştur [139]. İnsan kalbinde, AQP1, T tübüllerindeki lokalizasyonundan dolayı Z çizgileri için boyama ile örtüşen çizgili bir boyama modeline sahiptir (Şekil 8). Bu özel lokalizasyonun, T-tübüllerinin kendisinde su taşınmasından ziyade karbondioksit taşıma mekanizmaları yoluyla miyokardiyal kasılmanın koordinasyonu için önemli olabileceği öne sürülmüştür [140].

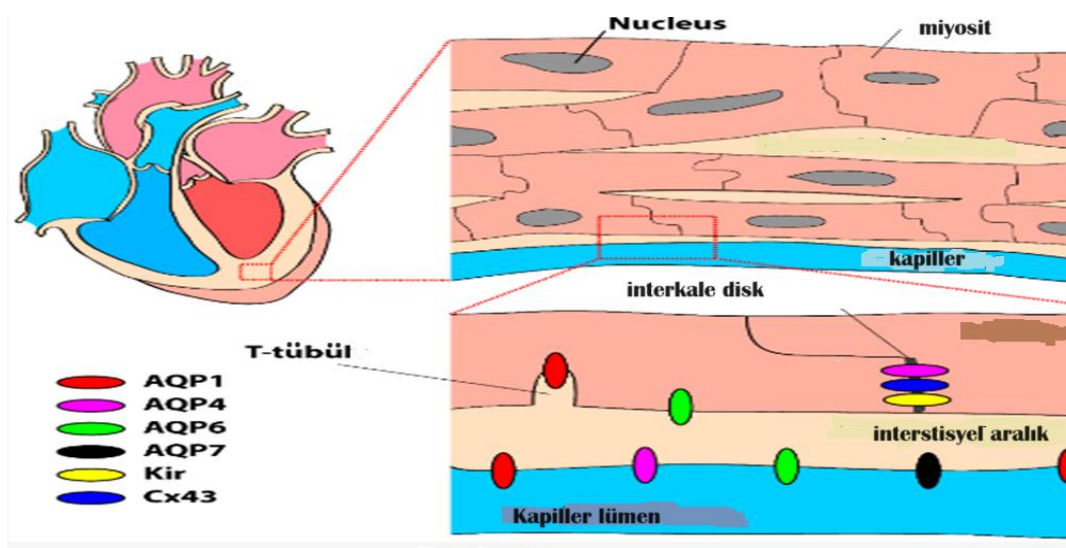
Miyokardiyal dokuda hipoksii inflamatuvar aracı mediatörlerin etkileri ve iskemi hücre homeostazını dengesizleştirir. Bu durum miyokardiyal membran geçirgenliği artırır ve hücre şişmesine aracılık eder [141]. Kardiyak iskemi geliştiğinde hücre içi osmolarite artar. Sıvı interstisyel aralıktan AQP1 ve endotel aracılığı ile hücre içine taşınır [142].



Şekil 8. Kardiyomiyositlerde AQP1 yerleşimi [140]

Li ve arkadaşları AQP1 nakavtının Mİ durumunda kardiyoprotektif özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. SV fonksiyonlarının kateter ölçümleri ile takip edilen bir çalışmada, AQP1 nakavt farelerde miyokard ödeminde azalma ve kalp infarkt boyutunda azalma olduğu saptanmıştır. Bunun yanı sıra kalp fonksiyonunda görülen bu iyileşme, AQP'lerin miyokard ödemindeki rolünü göstermektedir [143].

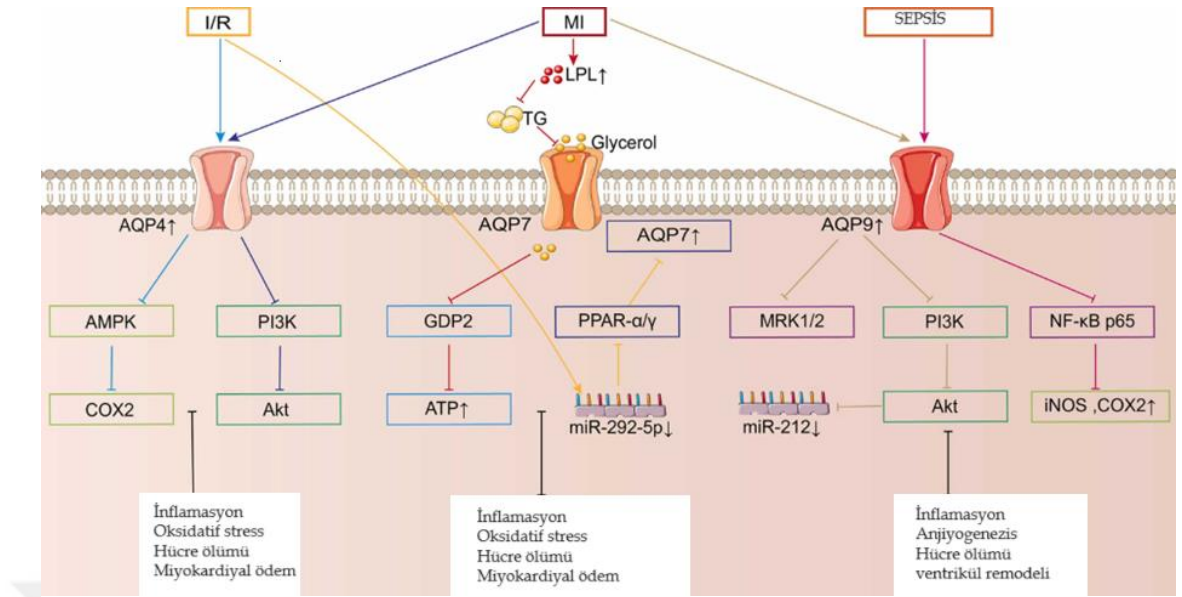
Diğer çalışmalarda da insan kardiyomiyositlerinde AQP4 ekspresyonunun olduğu gösterilmiştir.



Şekil 9. İnterkale aralıklarında bulunan AQP4 lokalizasyonu. (Kir kanalları = içe doğrultucu K<sup>+</sup> kanalları, Cx43 = connexin43) [144].

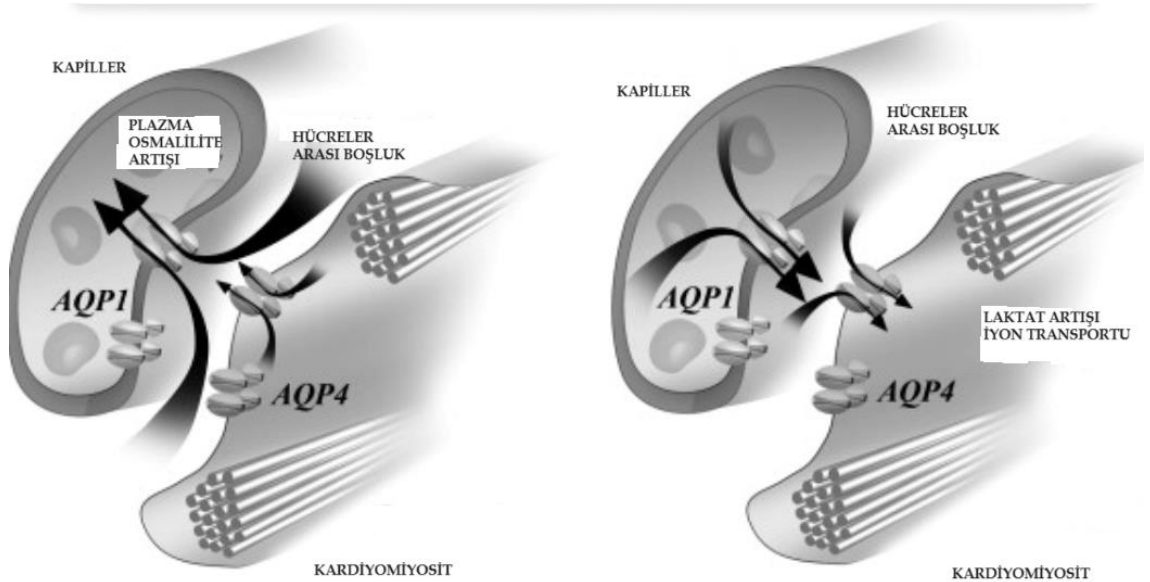
AQP4 en güçlü su taşıma kabiliyetine sahip olan AQP'dir [145]. Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada AQP4, yalnızca fare kardiyomiyositlerinin interkale disklerinde bulunmuştur (Şekil 9) [144]. Normal AQP4 ekspresyonu, kardiyovasküler homeostazın sürdürülmesi için gereklidir. AQP4 disregülasyonu ise fare kalbindeki koruyucu kinaz düzeylerini aşağı regüle ederek kardiyak metabolizmanın baskılanmasına yol açar [146]. Gen ekspresyonu, iskemiden bir hafta sonra farelerin hasarlı miyokard dokusunda zirveye ulaşır ve dört haftada yavaş yavaş normal seviyelere döner [46]. Ayrıca, AQP4 nakavt farelerde kardiyak kalmodülünün düzensizliği, kardiyak proinflamatuvar faktörleri yükselen KY ve aritmi riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [147]. AQP4'ün genetik olarak silinmesi, hipotonik stres altında kardiyomiyositlerin aşırı kasılmasını sınırlayabilir ve iskeminin meydana getirdiği I/R hasarı üzerinde koruyucu etkisi olabilir [148]. KEFKY modelinde sol ve sağ ventriküllerde AQP4'ün artan ekspresyonu, KY'nin ciddiyeti ile son derece ilişkili bulunmuştur. Miyokard ödeminin azaltılması için AQP4 ekspresyonunun inhibisyonunun, KY'nin yol açtığı dekompanzasyonu önleyebildiği gösterilmiştir [149].

AQP1 ve AQP4' e bağlı miyokardiyal ödemin miyosit ve koroner arteriyel beslenme arasındaki süreyi uzatarak iskemiye artırdığı ve hücrel apoptozun ağırlaşmasına yol açtığı hipotezi ortaya atılmıştır [51] . AQP4, AQP7 ve AQP9 I/R hasarı, Mİ ve septisemiye bağlı kalp hasarının mekanizmalarında rol oynarlar. AQP4, AQP7 ve AQP9'un hepsinin Mİ ile korelasyonu vardır (Şekil 10) [149]. Mİ ve kronik iskemiye yanıt olarak AQP1, 4 ve 6'da artış olduğu ve ekspresyonların dört haftaya kadar sürekli olarak arttığı gösterilmiştir [150].



Şekil 10. AQP4, AQP7 ve AQP9 I/R hasarı, Mİ ve sepsise bağlı kardiyak hasarı gösteren yollar [149].

Plazma hiperosmolalite artışı dokudan lümene sıvı geçişinde AQP'lerin rollerini gösterirken (Şekil 11) iskemiyi hücre içi boşluğa geçmesine ve kalbin şişmesine sebep olur [139]. AQP1 trans endotelial su akışına aracılık ederken, AQP4 muhtemelen suyu kardiyomiyosit membranı boyunca taşır [151].



Şekil 11. Kalpte AQP1 ve AQP4 yerleşimi [139]

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Çalışma Metodu ve Hayvanların Temini

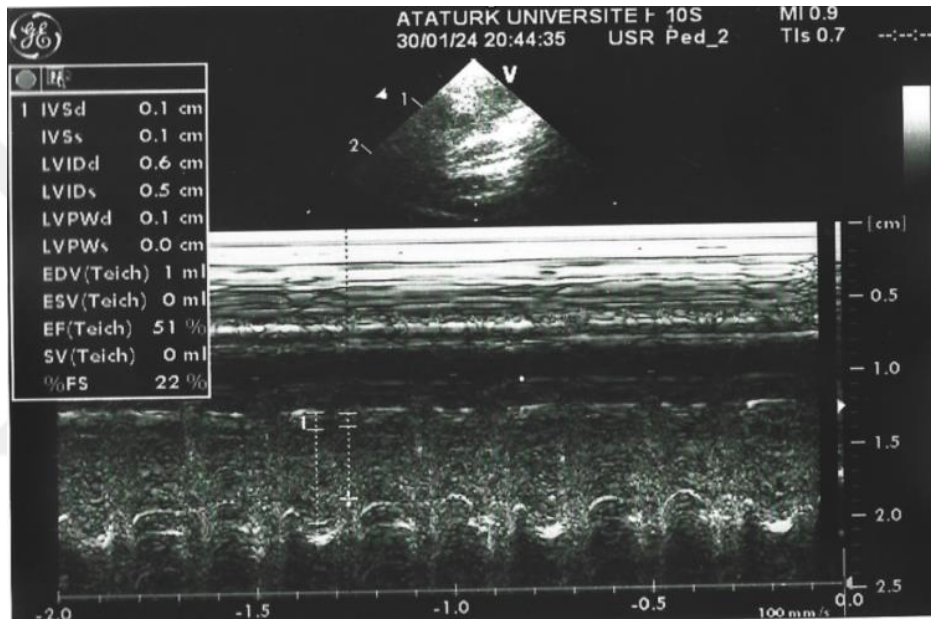
Bu çalışma prospektif ve deneysel bir çalışma olarak dizayn edilmiştir. Araştırmada Atatürk Üniversitesi deney hayvanları laboratuvarından sağlanan toplam 24 adet sağlıklı yetişkin erkek Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Standart diyet ile beslenen sıçanlar, 50% nem oranına sahip, 30 gün  $20\pm 5$  C oda ısısında ve 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ritminde barındırıldı.

Deneyin 30 gün sürmesi planlandı. 4 gruptan oluşan deney çalışmamızda her grup için 6 Albino Wistar cinsi fareler belirlendi. 1.grup kontrol grubu olarak sağlıklı ratlardan oluşturuldu. 2.gruba ise DM oluşturulması planlanan ratlar dahil edildi ve bu amaçla ratlara 100 mg/kg Streptozisin (STZ) intraperitoneal (İP) enjekte edildi. 21. Günde alınan kuyruk ven örneklerinde glukoz konsantrasyonları  $>300$  mg/dL üstünde olması DM olarak kabul edildi. Grup 3'e, 21 gün boyunca sağlıklı olan rat ve 2 gün İZO 85mg/kg uygulandıktan sonra 30.günde yapılan transtorasik TTE sonrası SVEF  $<40\%$  olan ratlar dahil edildi ve bu durum KY olarak kabul edildi. Grup 4'e ise 21 gün sonunda DM oluşturulan ve SVEF  $>40\%$  olan ratlardan 6 tanesi dahil edildi. Bu ratlara 2 gün 85mg/kg İZO verilerek takiplerinde SVEF  $<40\%$  olana kadar takip edildi. Alınan serum örneklerinden Nt-proBNP, troponin I (TnI) ölçümleri Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Çalışma Atatürk Üniversitesi Etik Kurulu tarafından 09.11.2023 tarihli ve E-42190979-945-2300361457 sayılı belge ile onaylandı (Ek 1).

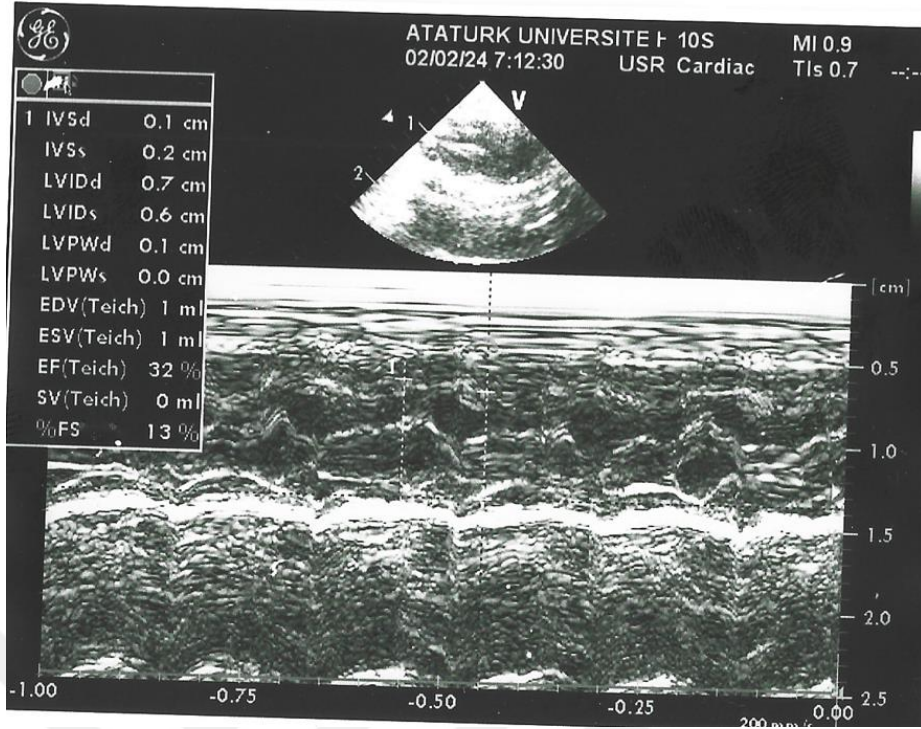
#### 3.2. Transtorasik Ekokardiyografi (TTE)

Çeşitli deney gruplarından toplam 24 fare, SV kavite boyutları ve fonksiyonuna ilişkin TTE ölçümlerle ilişkili değişkenliği değerlendirmek amacıyla rastgele seçildi. Tek bir gözlemci tarafından toplamda 3 ölçüm yapıldı. İlk TTE rutin olarak tüm ratlara yapıldı. 21.günde gruplar ayrılırken SVEF  $<40\%$  'ın altında olan fare seçimi için tekrar edildi. Deneyin son günü tüm hayatta kalan ratlara TTE yapıldı.

Ratlar 5% izofluran ile 2% oksijen ile anestezi ile uyutuldu. Supin pozisyonunda 30 derece sağ taraflarında dönük ve göğüsleri traş edilerek EKO yapıldı. 10 MHz spektral ultrason probu (Vivid 7 PRO, GE Medical SYSTEMS, ABD) kullanılarak M modda ve iki boyutlu parasternal kısa eksen kesitten alınan görüntülerden kaydedildi. Ölçümler yüksek kalp hızları nedeniyle M mode kullanılarak yapıldı. Sonuçlarımız SVEF, KH, Sol ventrikül diyastol (SVDC) ve sistol çapları (SVSC), arka duvar kalınlığı (SVAD), interventriküler septum (İVS) ölçümlerini içermektedir.



Şekil 12. Rat miyosit SVEF>40% TTE M-mode görüntüsü



Şekil 13. Rat miyosit SVEF<40% TTE M-mode görüntüsü

### 3.3. Örneklerin Alınması

Ratların İP fenobarbitürat (30 mg/kg) anestezisi altında ağırlı uyarana cevapsız bırakıldıktan sonra göğüs duvarı açıldı. İntraventriküler kan örnekleri alındı. Eksanguinasyon yolu ile öldürüldü. Kalp dokusu çıkarılarak filtrede kurutuldu, tartı ağırlığına alındı. Sonrasında yarısı sıvı azot tankında hızlı bir şekilde soğutulmuş olarak PCR uygulaması için -80 °C’ de saklandı.

### 3.4. Yöntem

#### Moleküler Analizler

Deney sonlandırıldıktan sonra her gruptaki sıçanlardan alınan kalp doku örneklerinde AQP1 ve AQP4 genlerinin mRNA ekspresyon seviyeleri üretici firmaların önerileri doğrultusunda kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) yöntemi kullanılarak analiz edildi [152].

## **mRNA İfadesinin Belirlenmesi**

Doku örneklerinden 20 mg alınarak RNA stabilizasyon reaktifinden stabilize edildikten sonra Tissulyser II kullanılarak homojenizasyon işlemi yapıldı. RNeasy Mini kiti kullanılarak dokulardaki RNA elde edildi [152].

## **Revers Transkriptaz Reaksiyonu ve cDNA Sentezi**

Elde edilen RNA örneklerinden bir yüksek kapasiteli cDNA ters transkripsiyon kiti kullanılarak tamamlayıcı DNA'ya ters kopyalanması planlandı. Epoch spektrofotometre sistemi ve Take 3 Plate kullanılarak cDNA konsantrasyonu ve kalitesi değerlendirildi [152].

## **Gen Ekspresyonunun Relatif Ölçümü (Real-Time PCR)**

AQP1 ve AQP4 genlerinin mRNA ekspresyon seviyeleri analizi pankreas dokularının RNA'sından sentezlenen cDNA kullanılarak StepOne Plus Real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) sistemi ile yapıldı. Kontrol geni olarak  $\beta$ -actin kullanarak elde edilen tüm cDNA örnekleri üç tekerrür yapıldı ve sonuçlar  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  metoduna göre hesaplandı [153].

## **3.5. İstatistik**

Analizler IBM SPSS 20 istatistik analiz programı ile yapıldı. Veriler ortalama, standart sapma, medyan, minimum, maksimum, yüzde ve sayı olarak sunuldu. Sürekli değişkenlerin normal dağılımı Shapiro Wilk testi, Kolmogorov Simirnov testi, Q-Q plot, skewness ve kurtosis ile bakıldı. İki bağımsız grup arasındaki kıyaslamalarda normal dağılım şartı sağlandığı durumda Paired Samples t test, sağlanmadığı durumda Wilcoxon testi kullanıldı. İki'den fazla bağımlı grup değişkenlerin kıyaslanmasında normal dağılım şartı sağlandığından Repeated Measures ANOVA testi, sağlanmadığında Friedman testi kullanıldı. Friedman test sonrası post-hoc testler için Friedman 2-way ANOVA by ranks( k samples) testi kullanılarak yapıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,005$  olarak alındı.

#### 4. BULGULAR

24 rat dört gruba ayrılarak izlendi. Kontrol grubu Grup 1, DM grubu Grup 2, İZO ile oluşturulan KY grubu Grup 3, DM ile KY birlikteliği olan grup ise Grup 4 olarak belirlendi. Fare popülasyonunun ilk gün alınan vücut tartıları Grup 1’de 226±10gr, Grup 2’de 226±10 gr, Grup 3’te 222±5gr, Grup 4’te 219±8gr olarak ölçüldü. KH Grup 1’de 383±37, Grup 2’de 343±23, Grup 3’te 356±32, Grup 4’te 360±20 atım/dk olarak tespit edildi. SVEF Grup 1’de 77±6 Grup 2’de 62±13, Grup 3’te 77±8, Grup 4’te 72±11 olarak ölçüldü. SVDC Grup 1’de 0,56±0,13cm, Grup 2’de 0,53±0,12cm, Grup 3’te 0,46±0,12cm, Grup 4’te 0,51±0,12cm olarak ölçüldü. SVSÇ Grup 1’de 0,31±0,98cm, Grup 2’de 0,44±0,12cm, Grup 3’te 0,28±0,09cm, Grup 4’te 0,36±0,12cm olarak ölçüldü. İVS Grup 1’de 0,1±0cm, Grup 2’de 0,11±0,04cm, Grup 3’te 0,15±0,54cm, Grup 4’te 0,11±0,04cm olarak ölçüldü. SVAD Grup 1’de 0,15±0,54cm, Grup 2’de 0,1±0cm, Grup 3’te 0,11±0,04cm, Grup 4’te 0,11±0,04cm olarak ölçüldü (Tablo 1).

**Tablo 1.** Deney ratlarının 1.gün ve 30.gün verilerinin karşılaştırılması

	SAĞLIKLI (I)	DM (II)	KY (III)	DM+KY (IV)	P	HOC
SVDC1	0,56±0,13	0,53±0,12	0,46±0,12	0,51±0,12	0,574	
SVDC2	0,56±0,13	0,66±0,18	0,6±0,07	0,63±0,17	0,794	
SVSÇ1	0,31±0,98	0,44±0,12	0,28±0,09	0,36±0,12	0,162	
SVSÇ2	0,31±0,98	0,5±0,14	0,33±0,12	0,45±0,12	0,073	
İVS 1	0,1±0	0,11±0,04	0,15±0,54	0,11±0,04	0,204	
İVS 2	0,12±0,17	0,13±0,28	0,20±0,72	0,14±0,03	0,179	
SVAD1	0,15±0,54	0,1±0	0,11±0,04	0,08±0,35	0,017	
SVAD2	0,15±0,54	0,12±0,18	0,14±0,42	0,13±0,02	0,992	
SVEF 1	77±6	62±13	77±8	72±11	0,125	
SVEF 2	69±9	37±0,9	34±3	34±3	0,001	II-1 II-III, II-IV
KH 1	383±37	343±23	356±32	360±20	0,186	
KH 2	393±20	381±25	416±45	411±52	0,385	
VT 1	226±10	226±10	222±5	219±8	0,483	
VT 2	236±16	230±22	233±7	219±9	0,186	

DM: Diyabetes Mellitus, KY: Kalp yetersizliği, SVEF: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu, BNP: Brain natriüretik peptid, SVSÇ: Sol ventrikül sistolik çap, SVDC: Sol ventrikül diyastolik çap, İVS: İnterventriküler septum. VT: Vücut tartısı KH: Kalp Hızı SVAD: Sol ventrikül Arka Duvar  
1: Deneyin 1.gün ölçümleri  
2: Deneyin 30. Gün ölçümleri

Fare popülasyonunun deneyin son günü yapılan ölçümleri şu şekildedir:

Son vucüt tartıları Grup 1  $236\pm 16$ gr, Grup 2  $230\pm 22$ gr, Grup 3  $233\pm 7$ gr, Grup 4  $219\pm 9$ gr,

SVEF Grup 1'de  $69.6\pm 8.9$ , Grup 2'de  $32.5\pm 7.7$ , Grup 3'te  $34\pm 3$ , Grup 4'te  $34.8\pm 33$ ,

SVDC Grup 1'de  $0.56\pm 0.13$ cm, Grup 2'de  $0.66\pm 0.18$ cm, Grup 3'te  $0.6\pm 0.07$ cm, Grup 4'te  $0.63\pm 0.17$ cm,

SVSC Grup 1'de  $0.31\pm 0.98$ cm, Grup 2'de  $0.5\pm 0.14$ cm, Grup 3'te  $0.33\pm 0.12$ cm, Grup 4'te  $0.45\pm 0.12$ cm,

İVS Grup 1'de  $0.12\pm 0.17$ cm, Grup 2'de  $0.13\pm 0.28$ cm, Grup 3'te  $0.20\pm 0.72$ cm, Grup 4'te  $0.14\pm 0.03$ cm,

SVAD Grup 1'de  $0.15\pm 0.54$ cm, Grup 2'de  $0.12\pm 0.18$ cm, Grup 3'te  $0.14\pm 0.42$ cm, Grup 4'te  $0.13\pm 0.02$ cm olarak ölçüldü.

Diseksiyon sonrası alınan kalp örnekleri filtrede tartılarak yaş kalp ağırlığı (KA) tespit edildi. Grup 1'de  $1.028\pm 0.083$ gr, Grup 2'de  $0.661\pm 0.59$ gr, Grup 3'te  $1.053\pm 0.107$ gr, Grup 4'te  $0.907\pm 0.1$ gr ölçümler elde edildi.

BNP ölçümleri sonrası Grup 1'de  $357\pm 62$  pg/ml, Grup 2'de  $486\pm 42$  pg/ml, Grup 3'te  $399\pm 54$  pg/ml, Grup 4'te  $367\pm 42$  pg/ml olarak elde edildi.

TnI ölçümlerinde Grup 1'de  $35\pm 6$  pg/ml, Grup 2'de  $64\pm 13$  pg/ml, Grup 3'te  $142\pm 30$  pg/ml, Grup 4'te  $174\pm 74$ pg/ml olarak ölçüldü (Tablo 2).

**Tablo 2.** Deney grubunun 30.gün TTE ölçümleri ve disseksiyon sonrası alınan biyokimyasal belirteçlerin sonucu

Değişkenler	SAĞLIKLI (I)	DM (II)	KY (III)	DM+KY (IV)	P değeri	Post Hoc
<b>KH (bpm/dk)</b>	411±39	411±39	386±43	388±46	0.385	
<b>SVEF (%)</b>	69.6±8.9	32.5±7.7	44.8±3.92	34.6±3.5	<b>&lt;0.001</b>	I-II, I-III, I-IV, II-III
<b>VUCUT AĞIRLIĞI (gr)</b>	226±10	226±10	222±5	219±8	0.186	
<b>KALP AĞIRLIĞI (mg)</b>	1.028±0.083	0.661±0.59	1.053±0.107	0.907±0.154	<b>&lt;0.001</b>	I-II,II-III, II-IV
<b>BNP (pg/ml)</b>	378±55	486±42	399±54	336±24	<b>0.001</b>	I-II,II-III, II-IV
<b>TROPONİN (pg/ml)</b>	35±6	64±13	142±30	174±74	<b>&lt;0,001</b>	I-II, I-III, I-IV, II-III
<b>SVSÇ (mm)</b>	0.32±0.1	0.44±0.13	0.33±0.12	0.46±0.12	0.073	
<b>SVDC (mm)</b>	0.57±0.14	0.67±0.19	0.60±0.07	0.63±0.18	0.794	
<b>İVS (mm)</b>	0.13±0.02	0.13±0.03	0.20±0.07	0.14±0.03	0.179	

DM: Diyabetes Mellitus, KY: Kalp yetersizliği, SVEF: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu, BNP: Brain natriüretik peptit, SVSÇ: Sol ventrikül sistolik çap, SVDC: Sol ventrikül diyastolik çap, İVS: İnterventriküler septum. KH:Kalp Hızı

KH, VT, İVS, SVDC, SVSÇ, İVS, SVAD arasında gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p>0,001$ )

SVEF Grup 3 ve Grup 4'te Grup 1'e göre anlamlı olarak düşük görüldü ( $p<0,001$ ).

TnI Grup 3 ve Grup 4'te Grup 1 ve Grup 2'ye göre yüksek olduğu görüldü ( $p<0,001$ ). Grup 3'te Grup 2'ye göre TnI anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p<0,001$ ).

BNP Grup 2’de diğer gruplara göre yüksek çıkmış olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur( $p<0,001$ ). Post-hoc analizinde anlamlı farkın Grup 2 ile diğer tüm gruplar arasındaki farkı ortaya koymuştur.

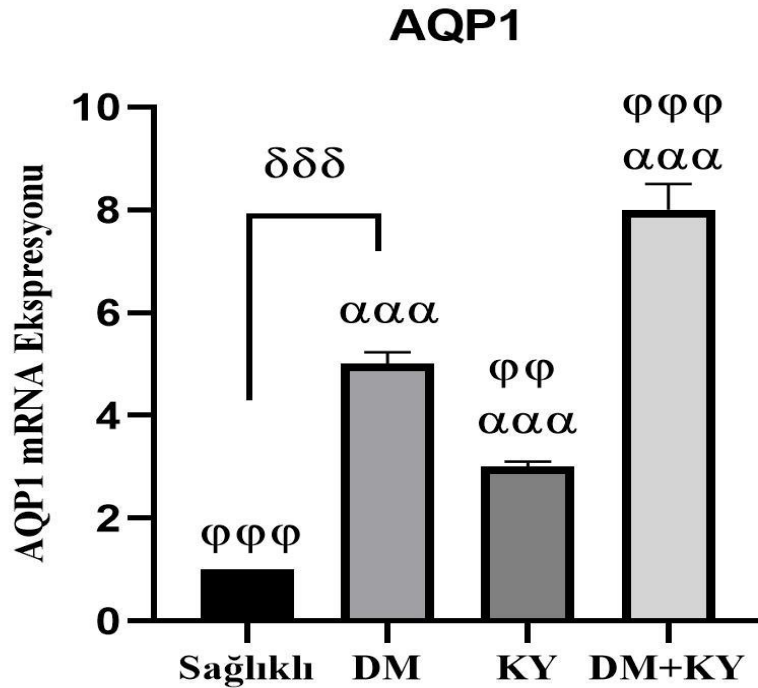
Kalbin diseksiyon sonrası kalp kütlesi Grup 2’de, diğer gruplara göre anlamlı düzeyde daha düşük çıktı ( $p<0,001$ ).

Kontrol grubuna göre, Grup 2, 3, 4 kalp dokularındaki AQP1 mRNA ekspresyonlarının anlamlı düzeyde arttığı görüldü ( $p<0,001$ ).

En yüksek AQP1 mRNA ekspresyonu Grup 4’te izlendi ( $p<0,001$ )

Grup 2’ye göre, Grup 4’te AQP1 mRNA ekspresyonlarının anlamlı bir şekilde arttığı, kontrol grubunda ise az olduğu görüldü ( $p<0,001$ ).

Grup 3’e göre, Grup 2’deki AQP1 mRNA ekspresyonlarının anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ( $p<0,001$ ) (Şekil 14).



Şekil 14. Kalp dokularındaki AQP1 mRNA ekspresyonları. DM: Diyabete Mellitus; KY: Kalp

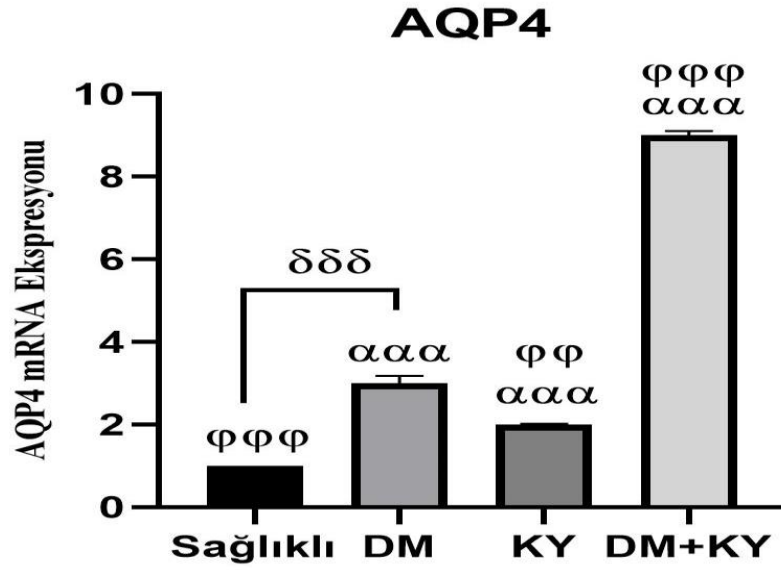
Yetersizliği. ( $\alpha$ : kontrol grubuna göre,  $\varphi$ : diyabet grubuna göre,  $\delta$ : kalp yetersizliği grubuna göre)

Kontrol grubuna göre, Grup 2, 3, 4 kalp dokularındaki AQP4 mRNA ekspresyonlarının anlamlı düzeyde arttığı ( $p<0,001$ ) görüldü.

En yüksek AQP4 mRNA ekspresyonu Grup 4 'te görüldü ( $p<0,001$ ).

Grup 2'ye göre, Grup 3'teki AQP4 mRNA ekspresyonlarının anlamlı bir Şekilde az görüldü ( $p<0,001$ ).

Grup 3'e göre, Grup 2'deki AQP4 mRNA ekspresyonlarının anlamlı bir Şekilde arttığı görüldü ( $p<0,001$ ) (Şekil 15).



Şekil 15. Kalp dokularındaki AQP4 mRNA ekspresyonları. DM: Diyabetes Mellitus; KY: Kalp Yetersizliği. ( $\alpha$ : kontrol grubuna göre,  $\varphi$ : diyabet grubuna göre,  $\delta$ : kalp yetersizliği grubuna göre)

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda AQP1 ve AQP4 ekspresyonunun sağlıklı ratlara oranla DM, KY, DM ve KY birlikteliği olan gruplarda daha fazla olduğunu saptadık. AQP1 ve AQP4 ekspresyonunun DM ve KY birlikteliği olan grupta en yüksek düzeyde olduğu görüldü. Sağlıklı, DM ve KY grubu ratlar kıyaslandığında AQP1 ve AQP4 ekspresyonu DM grubunda en yüksek düzeydeydi. Ek olarak DM grubunda AQP1 ekspresyonu AQP4 ekspresyonuna göre daha fazlaydı ama istatistiksel olarak anlamlı değildi.

AQP'ler osmotik basınç gradientlerine yanıt olarak suyun biyolojik membran boyunca taşınmasını kolaylaştıran ve bununla beraber taşıdığı moleküllerin transmembran geçişini sağlayan integral membran proteinleridir. Çalışmalar AQP'lerin işlevlerinin, biyolojik membranlar boyunca pasif su akışına aracılık etmek dışında karmaşık görevlerinin olduğunu ortaya koymuştur [154]. AQP'lerin işlevini, AQP ilişkili çeşitli hastalıkların temel fizyolojisini ortaya koymak günümüzün en önemli araştırma konularından biridir [45]. DM ile ilgili birçok çalışma osmotik diürez sürecinin yönetildiği renal AQP'ler üzerinden değerlendirirken çok az çalışmada DM ve KY'nin beraber eşlik ettiği hastalıklarda kardiyak AQP ilişkisi değerlendirilmiştir [155].

AQP4 en yüksek su geçirgenliğine sahip AQP'dir [46]. AQP4 MSS'de en çok bulunan AQP olmasının yanında, fare kardiyomiyositlerindeki mRNA kopya sayısı; iskelet kaslarındaki AQP4'ün %11'ine ve serebellumun %3'üne karşılık gelir [151]. Ratlarda yapılan deneysel çalışmalarda solunum, böbrek, beyin, kolon, göz, kalp gibi dokularda AQP4 ekspresyonu varlığı görülmüştür. AQP4'ün işlevi tam olarak ortaya konmamakla beraber hem beyin hem de kalp dokusunda ödem ile yakından ilişkilendirilmiştir. PCR ile yapılan incelemelerde rat kalbinde I/R ile oluşan hasarda AQP4 mRNA seviyesinde düşüş gözlemlenirken protein düzeyinde değişiklik görülmemiştir. Ek olarak AQP4 geni yoksun bırakılmış farelerde I/R sonrası infarkt alanında normal farelere göre bariz bir azalma olduğu bildirilmiştir [148]. Arne Warth ve arkadaşlarına göre AQP4'ün miyosit şişmesinde önemli bir faktör olduğu, interstisyel ve hücrel ödem arasındaki boşluğu doldurduğu belirlenmişti.

Miyokardiyal ödem olduğunda AQP4 ekspresyonunun varlığı gösterildi [46]. Bunun yanında çalışmamızda da benzer sonuçlar gözlenirken yapılan bir in vivo çalışmada uzun süreli hipoksi sonrası AQP4 ekspresyonunun azaldığı sonucuna varılmıştır [156]. Yapılan başka bir çalışmada İZO'nun AQP4 ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir [157]. Başka bir çalışmada İZO'nun NADPH oksidazı aktiflediği, sonrasında SOR üretimini arttırdığı ve NADPH oksidaz L tipi kalsiyum kanallarını aktive ederek protein kinaz c (PKC) yolu ile miyokard hasarını artırdığı gösterilmiştir [158]. AQP4'ün su geçirgenliğinin PKC tarafından düzenlendiği ve diyabetik hücrelerde PKC aktivasyonunun hücrel hasarını arttırdığı gösterilmiştir [159] [160]. Yapılan bir çalışmada tikagrelorun iskemik miyokarddaki AMPK/COX2 sinyalinin adenozeine bağımlı aktivasyonu yoluyla AQP4 ekspresyonunun azalttığı, Mİ kaynaklı miyokardiyal ödemi ve nekrotik hasarı iyileştirebileceği gösterilmiştir [161]. Korunmuş ejeksiyon fraksiyonuna sahip fare KY modelinde sol ve sağ ventriküllerde AQP4'ün artan ekspresyonu, KY'nin ciddiyeti ile ilişkili bulunmuştur. Miyokard ödeminin azaltılması ve AQP4 ekspresyonunun inhibisyonu, KY'nin yol açtığı ödem ve dekompanseasyonu önleyebildiği sonucuna varılmıştır [149]. Bizim yaptığımız benzer bir çalışmada DM grubu ratlarda kalp dokusunda PCR sonucunda artmış AQP1 ve AQP4 ekspresyonuna rastlanılmış olup, empagliflozin tedavisi ile de bu ekspresyonun azaldığı gösterilmiştir [162]. Kalpte SGLTİ-2 inhibitörü olmamasına rağmen bu etkinin böbrekler üzerindeki artmış natriürezin etkisi ile oluşmuş olabileceği düşünülmüştür. Katalaz ve SOR ölçümlerinin kontrol grubuna göre düşük çıkması medikal tedavinin enerji metabolizmasının indüklediği AQP ekspresyonunun azaltılmasının bir sonucu olarak görülüyor [162]. Bu çalışmada elektrokardiyografide iskemik değişiklikler kaydı, ilaç yanıtının görülmüş olmasına rağmen SV fonksiyonları açısından net bilgi verilememiştir. Çalışmamızda kullanılan TTE, SV fonksiyonlarını gösterme açısından avantaj sağlarken sağlıklı ve diğer gruplarda AQP ekspresyonu gruplar arası net olarak karşılaştırılmıştır. Planlanacak olan bir çalışmada, çalışmamıza benzer gruplardan oluşması ve Empagliflozinin gruplara eklenerek hem DM hem de KY gruplarında AQP ekspresyonları karşılaştırılabilir. Çalışmamızla benzer yanı DM grubu ratlarda AQP1 ve AQP4 ekspresyonu sağlık ratlara göre daha yüksek bulunması olmuştur. Ayrıca çalışmamızda DM grubunda KY grubuna göre daha fazla artan AQP1 ve AQP4 ekspresyonuna da rastlanıldı. Çalışmamızda KY grubunda DM grubuna göre daha az

AQP 4 eksprese olmakla beraber her iki grupta sağlıklı gruba göre anlamlı artışı mevcuttu. Çalışmamızda DM ve KY birlikteliği olan grupta AQP4 ekspresyonu tüm grupların toplamından daha fazlaydı. DM ve İZO'ya sekonder gelişen hipertrofi AQP ekspresyonu PKC yoluna ek olarak DM'ye bağlı hipertonsitenin varlığına bağlı olarak gerçekleştirmiş olabilir.

AQP4 özellikle santral sinir sisteminde baskın ve tedavide potansiyel hedef olması itibari ile değerli bir mekanizmaya sahiptir. Çalışmamız AQP4'ün DM, KY, DM ve KY birlikteliğindeki davranışları önemini ve konjesyonu azaltmak için uygulanabilecek potansiyel mekanizmayı vurgulamıştır. Birçok çalışma sağlıklı ve KY olan ratlarda AQP4 ekspresyonu gösterilmişken, çalışmamız ek olarak DM'li hasta grubunda ve DM grubuna eklenen KY'de AQP4 ekspresyonun ciddi derecede arttığını gösterdi [45]. AQP1'in ekspresyon paterninden farklı olarak AQP4 ekspresyonu, işlemde bir hafta sonra farelerin hasarlı miyokardında zirveye ulaşır ve dört haftada yavaş yavaş normal seviyelere düşer [46]. Deney takibimizin işlemde 4 hafta sonra yapıldığı göz önünde bulundurulursa önceki çalışmalar ile bu durum uyumlu bulunmuştur.

Miyokardiyal su dengesi ozmotik basınçla dengelenir. Kan hiperozmolaritesi; santral diyabetes insipitus, renal yetmezlik, poliüri, hipodipsi, artmış su kaybı durumlarında yaşanır [163]. Diyabetik ketoasidozda kan ozmolaritesi 450 mOsm/kg'ı geçebilir. Böyle bir durumda sıvı geçişi ekstravasküler dolaşımdan hacmin artırılmasına yönelik vasküler yatağa doğru yönelir. Hiperozmolariteye cevap kardiyak açıdan kompleks ve ozmolar yükün şiddetine bağlı gelişir. İzoosmotik ve hafifi hiperosmotik gastrintestinal enjeksiyonlarda AQP ekspresyonu önemli bir değişiklik görülmemişken hiperosmotik enjeksiyonlar sonrasında toplam protein düzeyi değişmemiş fakat kalpte AQP mRNA'sının indüklediği tespit edilmiştir. Hafif hipertonsite kalpte pozitif inotropik etki gösterirken, 400 mOsm üzeri değerlerde yüksek konsantrasyona bağlı olarak kasılma gücünde azalma meydana gelebilir [9].

İskemi ve hipoksinin neden olduğu miyokardiyal dokularda AQP1 ekspresyonunun up regülasyonu, miyokard ödemi ve yaralanmasına neden olurken, pigment epitelinden türetilen faktör (PEDF), kardiomyositlerde laktat birikimini

azaltır ve oksijen ve glukoz yoksunluğunun neden olduğu kardiyomiyosit ödemi ve apoptozu hafifletir. PEDF AQP1'i aşağı regüle eder, böylece hücre sağkalımını uzatır [164]. İntravenöz idame yüksek glikoz ve yüksek mannitol ile takipli çalışmada hiperosmolariteye bağlı AQP1 aktivasyonunun COX-2 ekspresyonu indüklediği gösterilmiştir [165]. COX-2 ekspresyonunun arttığı ve hipoksi ile beraber artan anjiyogenezis varlığı gösterilmiştir. DM'de aşırı anjiyogenezis meydana gelmesi diyabete bağlı oluşan kardiyomiyopatinin nedenlerinden biridir [166]. Artan anjiyogenez miyokardiyal iskemide AQP1'in artan ekspresyonu, kardiyak miyosit apoptozuna, miyokarda anjiyogeneze ve miyokard ödemine yol açarak enfarktüs gelişimini hızlandırır. AQP1'in inhibisyonu ise apoptozu ve anjiyogenezi azaltabilir, miyokard ödemi hafifletebilir ve miyokardiyal koşullar altında kalp fonksiyonunu koruyabilir [167]. AQP1 ekspresyonunun artışı KPB sonrası miyokard ödeminden sorumludur [168]. KPB miyokard ödemi indükleyerek postoperatif miyokard disfonksiyonuna neden olabilir [169]. Ding ve arkadaşlarının koyunlar üzerinde gerçekleştirdiği çalışmada, KPB sonrası AQP1 ekspresyonunda mRNA ve protein düzeyinde artış gerçekleştiği ve miyokardiyal ödem seviyesinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada KPB sonrası cGMP inhibisyonu yapılan grupta miyokardiyal ödemin azaldığı ve kardiyak fonksiyonların iyileştiği gösterilmiştir [140]. Suleymanian ve Bamgartenin çalışmasında tavşan ventriküler miyositlerinin net su hareketinin hidrolitik iletkenlik ile ölçüldüğü ve alınan sonuçların tek başına AQP1 için atfedilen değerlerden çok daha fazla olduğu ileri sürülmüştür [170]. Kellen ve Bassingthwaighe çalışmalarında trans kapiller su akışının sadece %28'ine yakınının AQP yolu ile olduğunun ve gerisinin endotelial porlardan meydana geldiği gösterilmiştir [171]. Sadece osmotik değişkenliklerin olduğu yerde tamamına yakınının AQP'ler tarafından düzenlendiği gösterilmiştir [170] [171]. Her iki çalışmada osmolar değişikliğinde sıvı transportunun AQP'ler tarafından düzenlendiğini göstermektedir. Çalışmamızda ise DM, KY, DM ve KY birlikteliği olan grupta AQP1 ekspresyonunda artış olduğu gösterildi. Bunlar diğer yapılan çalışmalarla korelasyon göstermiş olup DM grubunda KY grubuna göre artışı belirgin olmuştur [172]. Bu durum osmolarite artışı, kronik iskemiğe bağlı doku perfüzyonu düşüklüğü sonrası meydana gelen hücre hasarına sekonder gelişmiş olabilir. DM ve KY birlikteliği olan grupta KY ve DM gruplarına göre daha fazla AQP ekspresyonu

görüldü. Bu durum DM ve KY'nin birlikteliğindeki sinerjik etkiden kaynaklanıyor olabilir.

Kalp performansını vücudun ihtiyacına göre ayarlar. Mekanik kuvvetlerin değişimi, kontraktilitenin artması, hipertrofi Frank Starling yasası ile düzenlenir. Aynı zamanda inflamatuvar süreç, sarkomer proteinlerinin turnoverı, kalsiyum metabolizması da katkıda bulunur [173]. Kalp ağırlığının artması ister hipertrofiye ister dilatasyona bağlı olsun ani kalp ölümü için risk faktörüdür. Kalp ağırlığı çoğu zaman kalp patolojilerinin bir göstergesi olabilir ve çeşitli sebepler ile değişiklik gösterebilmektedir [174]. Beta reseptör sayısının artırılması kalp ağırlığı ile doğru orantılı bir şekilde artmakla birlikte İZO kalp ağırlığı ve kalp ağırlığı/vücut ağırlığını oranını arttırdığı gösterildi [175-177]. Yapılan bir çalışmada Anti natriüretik peptidlerin inhibisyonu sonrası kardiyak hipertrofi ve kalp ağırlığının arttığı gösterilmiştir [178]. Kardiyak kütle kaybı kardiyomiyosit ölümünden ve/veya atrofisinden kaynaklanır. Doksorubusunin kalpte kütle kaybına neden olduğu gösterilmiş olup aynı zamanda bu çalışmada KA/VA oranının düşük olduğu görülmüştür [179]. Aposinin ile yapılan çalışmada DM grubunda final tartılarının düşük olduğu görülmüştür [180]. İrbesartan ile DM'li ratlarda yapılan çalışmada DM hastalığının ilerlemesi kalp ağırlığı ve vücut ağırlığını azalttığı gösterilmiştir [181]. DM'de ise kardiyak yapı, dejeneratif ve inflamatuvar sürecin meydana getirdiği miyosit hasarı ve RAAS aktivasyonu ile değişiklik gösteren kalp ağırlıklarına sahiptir [182]. Çalışmamızda da benzer şekilde KA ve VA DM'li ratlarda diğer gruplara oranla anlamlı şekilde daha azdı. Ancak bu çalışmalarının birçoğunda rat kalplerinin kuru ağırlığı değerlendirilirken bizim çalışmamızda bu değerlendirme yaş kalp ağırlığı yapıldı. ANP ile yapılmış başka bir çalışma natriüretik düzeylerinin kalp ağırlığını değiştirebileceğini gösterilmiştir [178]. Bu çalışmanın sonucu da bizim çalışmamızla köreleydi. KA ve VA azalması literatür ile uyumlu iken KA/VA oranının çalışmamızda farklı olarak düşük çıkmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ek olarak çalışmamızda BNP düzeyi DM'li rat grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti. Literatürde yapılan benzer çalışmalarda BNP'nin kalp ağırlığını azalttığına dair araştırmalarla korelasyon göstermiştir [178]. DM

grubumuzdaki KA/VA düşüklüğünü düşük olmasını natriüretik peptidlerin diürezisi artırması ve hipertrofiyi azaltmasının etkisi olduğunu düşünüyoruz.

DM olgularında yapılan çalışmalarda SVSC,SVDC, SVAD, diyastol ve sistolde İVS artışı görülmüştür [183][184] [185]. İZO yapılan çalışmalarda SVAD, LVDC, LVSC, İVS artışı saptanmıştır [177]. Çalışmamızda hem DM hem de KY modelinde anlamlı artışı tespit edilememiştir.

BNP kardiyak miyosit stresi sonrası salınan bir hormondur. Biyolojik etkileri arasında vazodilatasyon, renin ve aldosteron inhibisyonu, kardiyak ve vasküler miyosit büyümesi yer alır [186]. DM'li hastalarda BNP kardiyak mortalitenin güçlü bir göstergesidir [187]. BNP tek başına tüm nedenlere bağlı mortalite artışı gösterir [187, 188]. Araştırmalar DKMP'nin artmış BNP düzeyleri ile ilişkisini göstermiştir [189] [190]. Bununla beraber BNP seviyelerinin ne zaman artmaya başladığı belirsizliğini korumaktadır. BNP ile ilgili yapılan çalışmada farelerde oluşturulan diyabetten 8 hafta sonra ciddi artış gösterdiği serumda 0-4 hafta arasında yükselmeye başladığını gösterilmiştir [191]. Çalışmamızda BNP ölçümleri deneyin 4. haftasında yapılmasına rağmen DM grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur. KY grubunda BNP değerinin düşük çıkmasının deneyden 2 hafta sonra oluşan SV disfonksiyonun BNP sentezi için yeterli zamanın olmamasından kaynaklı olduğunu düşünüyoruz.

Kardiyak TnT ve TnI izoformları kalp kası dokusunda eksprese edilir. Geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz miyokart hasarı sonrası kan dolaşımına salınır. İskelet kasında da bir miktar bulunur [192]. Çalışmalarda İZO sonrası ve DM sonrası TnI artışı gösterilmiştir [193] [194] [195]. Çalışmamızda bütün gruplarda kontrol grubuna göre artmış TnI düzeyleri mevcuttu. Bu sonuç literatür ile uyumluydu.

KY tedavisi ve transplantasyona gidiş sürecinde tedavinin yeri maalesef çok kısıtlı olmakla beraber konjesyon bulguları hastaneye yatışları artırmaktadır [196, 197]. Özellikle KY etyolojileri mortalite ve morbidite açısından değişkenlik göstermektedir. KY'de meydana gelen hücreler arası boşluklarda sıvı birikimi iskemi ve hipoperfüzyonu artırmaktadır. Sıvı hemostazını sağlamakta mevcut araştırmalar

sorumlu proteinlerin AQP'ler olduğu göstermiştir. AQP'leri taşıdığı gliserol ile enerji metabolizmasında, katalaz ve iyonlar ile de immün sistem, inflamatuvar süreçte değerli kılmaktadır. Aynı çalışmalar bize AQP'lerin fizyolojisinin tam anlaşılacakla beraber yardımcı ya da tetikleyici mekanizmaların da varlığını işaret etmektedir. Bu yolların bir kısmının cGMP, cAMP, COX-2 yolağı kullandığı bir kısmının ise hala aydınlatılmadığı ortadadır. AQP ya da beraber fonksiyonel olan yolların işlev bozukluğu çeşitli organ bozuklukları ile ilişkilidir. Bunun yanında AQP'ler kalpte sıvı hemostazından ve enerji metabolizmasından sorumludur. Fonksiyonlarının bozulması ya da inhibitörlerinin kullanılması kardiyak hemodinamiği değiştirme gücüne sahiptir. En sık görülen iki klinik antite olan KY, DM ve bu hastalıkların olası patolojilerinde suçlanan iki AQP'i (AQP1, AQP4) çalışmamızda değerlendirdik. Çalışmamızda DM grubuna özgü aldığımız sonuçlar (BNP artışı, Düşük KA, KY grubuna göre artmış AQP1 ve AQP4 ekspresyonu) kıymetli ve bir o kadar ümit vericiydi. KY prevalansının yarısına yakını DM ve komplikasyonları sonrası oluştuğunu göz önünde bulundurursak, DKMP'nin engellenmesi AQP'lerin inhibisyonu ya da ekspresyon yolu ile olabilir. Son dönem var olan SGLTi-2 inhibitörlerinin KY tedavisine olumlu etkisi ortadadır. Hem DM hemde KY tedavisinde başarılı bulunan bu moleküle ek tedavi deneysel çalışmalarla desteklenebilir. Bu sebeple çalışmamız bu alanda yapılmış tek çalışma olarak KY eklenen DM grubunda AQP1 ve AQP 4 ekspresyonu artışı miyokardiyal ödem ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. DM de erken ve optimal başlanan tedavi ile konjesyon bulgularını azaltılarak morbidite azaltılabilir. Elimizde sayılı olan KY tedavi seçenekleri bu sayede genişletilebilir. Bu fizyolojinin anlaşılabilmesi için AQP agonist ve inhibitörlerinin keşfi, geliştirilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışma süreci boyunca kısıtlılıklarımız şunlardır: Rat verilerinin insanlara aktarımı sınırlı olması en büyük kısıtlılığımızdı. İnotrop kullanmamız, yüksek glukoz düzeyleri sebebiyle yüksek mortalite oranlarından dolayı deney süresi 4 hafta ile sınırlı kaldı. Hayvanların KH için elektrokardiyografi ve kan basıncı gibi parametreleri deneye yansıtamadık. TTE tek kişi ve 10 MHz prob sadece parasternal kısa aks M-mode değerlendirilerek yapıldı. KH'nin yüksek olması bazı kardiyak parametrelerin değerlendirmesinde kısıtlılık oluşturmuş olabilir. Kardiyak ağırlıklar ölçülürken

kurutma yapılamadığı için yaş ağırlık olarak hesaplandı. İnceleme en sık AQP 1 ve AQP 4 üzerinden gerçekleştiğinden, diğer AQP türlerini çalışmaya dahil edemedik, geniş kapsamlı AQP ailesinin fonksiyonları da değerlendirilebilirdi.

### **Sonuçlar**

1. Kontrol grubuna göre tüm gruplarda TnI artışı istatistiksel olarak anlamlı çıktı.
2. BNP değerlerinin diyabetes mellitus grubunda diğer gruplara göre daha yüksek olduğunu gösterdik.
3. AQP 1 ve AQP 4 ekspresyon şiddetini diyabet mellitus grubunda kalp yetersizliği olan gruptan daha fazla olduğunu gördük.
4. Diyabetes mellitus ile kalp yetersizliği birlikteliği olan grupta AQP1 ve AQP4 ekspresyonu diğer tüm gruplara göre en fazlaydı.
5. Kalp Ağırlığı, diyabetes mellitus grubunda diğer gruplara göre daha düşüktü.

## KAYNAKLAR

1. Doehner, W., et al., *Interaction of heart failure and stroke: A clinical consensus statement of the ESC Council on Stroke, the Heart Failure Association (HFA) and the ESC Working Group on Thrombosis*. European journal of heart failure, 2023. **25**(12): p. 2107-2129.
2. Rahimtoola, S.H., *Importance of diagnosing hibernating myocardium: how and in whom?* 1997. p. 1701-1706.
3. Baig, M.K., et al., *The pathophysiology of advanced heart failure*. American Heart Journal, 1998. **135**(6): p. S216-S230.
4. Mehlhorn, U., et al., *Myocardial fluid balance*. European journal of cardiothoracic surgery, 2001. **20**(6): p. 1220-1230.
5. ÇAYIR, A. and M. Turan, *Diabetes mellitusla ilişkili kardiyak bozukluklar*. Ankara Medical Journal, 2015. **15**(4).
6. Singh, S., et al., *Risk factors preceding type 2 diabetes and cardiomyopathy*. Journal of cardiovascular translational research, 2010. **3**: p. 580-596.
7. Zhang, N., et al., *Nobiletin attenuates cardiac dysfunction, oxidative stress, and inflammatory in streptozotocin: induced diabetic cardiomyopathy*. Molecular and cellular biochemistry, 2016. **417**: p. 87-96.
8. Yang, L., et al., *Endoplasmic reticulum stress and protein quality control in diabetic cardiomyopathy*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease, 2015. **1852**(2): p. 209-218.
9. Rutkovskiy, A., G. Valen, and J. Vaage, *Cardiac aquaporins*. Basic research in cardiology, 2013. **108**: p. 1-19.
10. Biçakçi, H., *Yaşlanmanın kalp dokusunda aquaporin 1 ile aquaporin 4 yoğunluğu üzerine etkisinin araştırılması*.
11. Rutkovskiy, A., et al., *Aquaporin-1 in cardiac endothelial cells is downregulated in ischemia, hypoxia and cardioplegia*. Journal of molecular and cellular cardiology, 2013. **56**: p. 22-33.
12. McDonagh, T.A., et al., *2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the*

*diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. European heart journal, 2021. 42(36): p. 3599-3726.*

13. Dassanayaka, S. and S.P. Jones, *Recent developments in heart failure. Circulation research, 2015. 117(7): p. e58-e63.*
14. McDonagh, T.A., et al., *2023 Focused Update of the 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. Eur Heart J, 2023. 44(37): p. 3627-3639.*
15. Lund, L.H., et al., *Heart failure with mid-range ejection fraction in CHARM: characteristics, outcomes and effect of candesartan across the entire ejection fraction spectrum. European journal of heart failure, 2018. 20(8): p. 1230-1239.*
16. Heidenreich, P.A., et al., *2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. J Am Coll Cardiol, 2022. 79(17): p. e263-e421.*
17. Yılmaz, M.B., *[Not Available]. Turk Kardiyol Dern Ars, 2012. 40(5): p. 397-9.*
18. Kınıcı, E., *Kalp yetersizliği hastalarının umutsuzluk düzeyi, sağlık davranışları ve yaşam kalitesi arasındaki ilişki ve etkileyen faktörler. 2019, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.*
19. Castiglione, V., et al., *Biomarkers for the diagnosis and management of heart failure. Heart Fail Rev, 2022. 27(2): p. 625-643.*
20. Değertekin, M., et al., *Türkiye'deki kalp yetersizliği prevalansı ve öngördürücüleri: HAPPY çalışması. Türk Kardiyol Dern Arş, 2012. 40(4): p. 298-308.*
21. Benjamin, E.J., et al., *Heart disease and stroke statistics—2017 update: a report from the American Heart Association. circulation, 2017. 135(10): p. e146-e603.*
22. *Braunwald's heart disease. Pathophysiology of Heart Failure, ed. M.R.O.B. PETER LIBBY, MD. 2022. 913.*

23. Konstam MA, Kramer DG, Patel AR, Maron MS, Udelson JE. Left ventricular remodeling in heart failure: current concepts in clinical significance and assessment. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2011 Jan;4(1):98-108. doi: 10.1016/j.jcmg.2010.10.008. PMID: 21232712.
24. SANDLER H, DODGE HT. LEFT VENTRICULAR TENSION AND STRESS IN MAN. *Circ Res*. 1963 Aug;13:91-104. doi: 10.1161/01.res.13.2.91. PMID: 14047642.
25. Stevenson, L.W., *Inotropic Therapy for Heart Failure*. *New England Journal of Medicine*, 1998. **339**(25): p. 1848-1850.
26. Bock, H.A., et al., *Pressure dependent modulation of renin release in isolated perfused glomeruli*. *Kidney Int*, 1992. **41**(2): p. 275-80.
27. Salomonsson, M., O. Skøtt, and A. Persson, *Influence of intraluminal arterial pressure on renin release*. *Acta physiologica scandinavica*, 1991. **141**(2): p. 285-286.
28. Wang, J., et al., *Causes and characteristics of diabetic cardiomyopathy*. *The Review of Diabetic Studies*, 2006. **3**(3): p. 108.
29. Demir Barutcu, C., *Kalp yetersizliği olan hastalarda sosyal destek ve yaşam kalitesi arasındaki ilişkinin incelenmesi*. 2011, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
30. Aranaz, P., et al., *American Diabetes Association 2010. Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. *Diabetes Care*, 33 (1): S62-69. Declaration of originality, 2023. **33**(1): p. 189.
31. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2010 Jan;33 Suppl 1(Suppl 1):S62-9. doi: 10.2337/dc10-S062. Erratum in: *Diabetes Care*. 2010 Apr;33(4):e57. PMID: 20042775; PMCID: PMC2797383.
32. Schnell O, O.W., Standl E. The Munich Myocardial Infarction Registry: translating the European Society of Cardiology (ESC) and European Association for the Study of Diabetes (EASD) guidelines on diabetes, prediabetes, and cardiovascular disease into clinical practice. *Diabetes Care* 2009;32:326-

30.

33. Lehrke, M. and N. Marx, *Diabetes Mellitus and Heart Failure*. Am J Cardiol, 2017. **120**(1s): p. S37-s47.
34. Greenberg, B.H., et al., *Influence of diabetes on characteristics and outcomes in patients hospitalized with heart failure: a report from the Organized Program to Initiate Lifesaving Treatment in Hospitalized Patients with Heart Failure (OPTIMIZE-HF)*. American heart journal, 2007. **154**(2): p. 277. e1-277. e8.
35. Ledwidge, M., et al., *Natriuretic peptide–based screening and collaborative care for heart failure: the STOP-HF randomized trial*. Jama, 2013. **310**(1): p. 66-74.
36. Suys, B.E., et al., *Female children and adolescents with type 1 diabetes have more pronounced early echocardiographic signs of diabetic cardiomyopathy*. Diabetes care, 2004. **27**(8): p. 1947-1953.
37. ÇAKIR, M.O., *DİYABETİK VE DİYABETİK OLMAYAN HASTALARDA ATEROSKLEROTİK PLAK KOMPOZİSYONLARININ KARŞILAŞTIRILMASI*.
38. Kannel, W.B. and D.L. McGee, *Diabetes and Cardiovascular Disease: The Framingham Study*. JAMA, 1979. **241**(19): p. 2035-2038.
39. Brunvand, L., et al., *Advanced glycation end products in children with type 1 diabetes and early reduced diastolic heart function*. BMC cardiovascular disorders, 2017. **17**: p. 1-6.
40. Avagimyan, A., S. Popov, and S. Shalnova, *The pathophysiological basis of diabetic cardiomyopathy development*. Current Problems in Cardiology, 2022. **47**(9): p. 101156.
41. Wilson, A.J., et al., *Reactive oxygen species signalling in the diabetic heart: emerging prospect for therapeutic targeting*. Heart, 2018. **104**(4): p. 293-299.
42. Pappachan, J.M., et al., *Diabetic cardiomyopathy: Pathophysiology, diagnostic evaluation and management*. World J Diabetes, 2013. **4**(5): p. 177-89.
43. Fang, Z.Y., J.B. Prins, and T.H. Marwick, *Diabetic cardiomyopathy: evidence, mechanisms, and therapeutic implications*. Endocr Rev, 2004. **25**(4): p. 543-67.

44. Henri, O., et al., *Selective stimulation of cardiac lymphangiogenesis reduces myocardial edema and fibrosis leading to improved cardiac function following myocardial infarction*. *Circulation*, 2016. **133**(15): p. 1484-1497.
45. Rutkovskiy, A., et al., *Transient hyperosmolality modulates expression of cardiac aquaporins*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012. **425**(1): p. 70-5.
46. Warth, A., et al., *Upregulation of the water channel aquaporin-4 as a potential cause of postischemic cell swelling in a murine model of myocardial infarction*. *Cardiology*, 2007. **107**(4): p. 402-410.
47. Li, W., et al., *The expression profile of aquaporin 1 in rat myocardium after severe burns*. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 2015. **45**(3): p. 481-488.
48. Egan, J.R., et al., *Myocardial water handling and the role of aquaporins*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2006. **1758**(8): p. 1043-1052.
49. Laine, G. and S. Allen, *Left ventricular myocardial edema. Lymph flow, interstitial fibrosis, and cardiac function*. *Circulation research*, 1991. **68**(6): p. 1713-1721.
50. Mehlhorn, U., et al., *Impact of cardiopulmonary bypass and cardioplegic arrest on myocardial lymphatic function*. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 1995. **268**(1): p. H178-H183.
51. Mehlhorn, U., et al., *Cardiac surgical conditions induced by  $\beta$ -blockade: effect on myocardial fluid balance*. *The Annals of thoracic surgery*, 1996. **62**(1): p. 143-150.
52. Davis, K.L., et al., *Myocardial edema, left ventricular function, and pulmonary hypertension*. *Journal of Applied Physiology*, 1995. **78**(1): p. 132-137.
53. Ziegler, W.H. and C.A. Goresky, *Transcapillary Exchange En the Working Left Ventricle of the Dog*. *Circulation Research*, 1971. **29**(2): p. 181-207.
54. Laine, G.A. and H.J. Granger, *Microvascular, interstitial, and lymphatic interactions in normal heart*. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 1985. **249**(4): p. H834-H842.
55. Adair, T.H., et al., *Quantitation of changes in lymph protein concentration during lymph node transit*. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 1982. **243**(3): p. H351-H359.

56. Allen, S.J., et al., *Augmenting cardiac contractility hastens myocardial edema resolution after cardiopulmonary bypass and cardioplegic arrest*. *Anesthesia & Analgesia*, 1997. **85**(5): p. 987-992.
57. Garcia-Dorado, D. and J. Oliveras, *Myocardial oedema: a preventable cause of reperfusion injury?* *Cardiovascular research*, 1993. **27**(9): p. 1555-1563.
58. Edmunds Jr, L.H., *Inflammatory response to cardiopulmonary bypass*. *The Annals of thoracic surgery*, 1998. **66**(5): p. S12-S16.
59. Stanton, H.C., G. Brenner, and E.D. Mayfield, *Studies on isoproterenol-induced cardiomegaly in rats*. *American Heart Journal*, 1969. **77**(1): p. 72-80.
60. Zierhut, W. and H. Zimmer, *Significance of myocardial alpha-and beta-adrenoceptors in catecholamine-induced cardiac hypertrophy*. *Circulation research*, 1989. **65**(5): p. 1417-1425.
61. Teerlink, J.R., J.M. Pfeffer, and M.A. Pfeffer, *Progressive ventricular remodeling in response to diffuse isoproterenol-induced myocardial necrosis in rats*. *Circulation research*, 1994. **75**(1): p. 105-113.
62. Suzuki, M., et al., *Altered inotropic response of endothelin-1 in cardiomyocytes from rats with isoproterenol-induced cardiomyopathy*. *Cardiovascular Research*, 1998. **39**(3): p. 589-599.
63. Jung, H.J., H.J. Jang, and T.H. Kwon, *Aquaporins implicated in the cell proliferation and the signaling pathways of cell stemness*. *Biochimie*, 2021. **188**: p. 52-60.
64. De Ieso, M.L. and A.J. Yool, *Mechanisms of aquaporin-facilitated cancer invasion and metastasis*. *Frontiers in chemistry*, 2018. **6**: p. 135.
65. Agre, P. and D. Kozono, *Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases*. *FEBS letters*, 2003. **555**(1): p. 72-78.
66. Agre, P., S. Sasaki, and M. Chrispeels, *Aquaporins: a family of water channel proteins*. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 1993. **265**(3): p. F461-F461.
67. Gomes, D., et al., *Aquaporins are multifunctional water and solute transporters highly divergent in living organisms*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2009. **1788**(6): p. 1213-1228.

68. Wang, Y. and E. Tajkhorshid, *Molecular mechanisms of conduction and selectivity in aquaporin water channels*. The Journal of nutrition, 2007. **137**(6): p. 1509S-1515S.
69. Sutka, M., G. Amodeo, and M. Ozu, *Plant and animal aquaporins crosstalk: what can be revealed from distinct perspectives*. Biophysical Reviews, 2017. **9**(5): p. 545-562.
70. Nelson D L, Cox M M. *Principles of Biochemistry*. 4th ed. New York: W H Freeman Company, 2005: 406-409. .
71. Heymann, J.B. and A. Engel, *Aquaporins: phylogeny, structure, and physiology of water channels*. Physiology, 1999. **14**(5): p. 187-193.
72. Wang, J., et al., *Aquaporins as diagnostic and therapeutic targets in cancer: how far we are?* Journal of translational medicine, 2015. **13**: p. 1-11.
73. Verkman, A.S., *Aquaporins at a glance*. Journal of cell science, 2011. **124**(13): p. 2107-2112.
74. Salman, M.M., et al., *Recent breakthroughs and future directions in drugging aquaporins*. Trends Pharmacol Sci, 2022. **43**(1): p. 30-42.
75. Poveda, M., et al., *Expression and localization of aqua-glyceroporins AQP3 and AQP9 in rat oral epithelia*. Bull Tokyo Dent Coll, 2014. **55**(1): p. 1-10.
76. Nielsen S, F.J., Marples D, Kwon T, Agre P, Knepper MA, *Aquaporins in the Kidney: From Molecules to Medicine*. *Physiol Rev*. 2001; **82**:205-244. .
77. Nielsen, S., et al., *Aquaporins in complex tissues. II. Subcellular distribution in respiratory and glandular tissues of rat*. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 1997. **273**(5): p. C1549-C1561.
78. Verkman, A., *Aquaporin water channels and endothelial cell function*. Journal of anatomy, 2002. **200**(6): p. 617-627.
79. Zampighi, G., et al., *On the structural organization of isolated bovine lens fiber junctions*. The Journal of cell biology, 1982. **93**(1): p. 175-189.
80. Engel, A., Y. Fujiyoshi, and P. Agre, *The importance of aquaporin water channel protein structures*. The EMBO journal, 2000. **19**(5): p. 800-806.

81. SANAL, F., *Akuaforinler*. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 2008(1): p. 33-45.
82. Takata, K., T. Matsuzaki, and Y. Tajika, *Aquaporins: water channel proteins of the cell membrane*. Progress in histochemistry and cytochemistry, 2004. **39**(1): p. 1-83.
83. Maltaner, R.E., et al., *Aquaporin-1 plays a key role in erythropoietin-induced endothelial cell migration*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research, 2020. **1867**(1): p. 118569.
84. Mun, G.I., S. Im Jang, and Y.C. Boo, *Laminar shear stress induces the expression of aquaporin 1 in endothelial cells involved in wound healing*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2013. **430**(2): p. 554-559.
85. Da Silva, I.V., et al., *Endothelial aquaporins and hypomethylation: Potential implications for atherosclerosis and cardiovascular disease*. International journal of molecular sciences, 2018. **19**(1): p. 130.
86. Wintmo, P., et al., *The water channel AQP 1 is expressed in human atherosclerotic vascular lesions and AQP 1 deficiency augments angiotensin II-induced atherosclerosis in mice*. Acta Physiologica, 2017. **220**(4): p. 446-460.
87. Fontijn, R.D., et al., *Expression of nitric oxide-transporting aquaporin-1 is controlled by KLF2 and marks non-activated endothelium in vivo*. PLoS One, 2015. **10**(12): p. e0145777.
88. Song, Y., et al., *Role of aquaporin water channels in airway fluid transport, humidification, and surface liquid hydration*. The Journal of general physiology, 2001. **117**(6): p. 573-582.
89. Gao, X., et al., *Expression of pulmonary aquaporin 1 is dramatically upregulated in mice with pulmonary fibrosis induced by bleomycin*. Archives of Medical Science: AMS, 2013. **9**(5): p. 916.
90. Da Silva, N., et al., *Segmental and cellular expression of aquaporins in the male excurrent duct*. Biochimica et biophysica acta, 2006. **1758**(8): p. 1025-1033.
91. Boassa, D. and A.J. Yool, *Physiological roles of aquaporins in the choroid plexus*. Curr Top Dev Biol, 2005. **67**: p. 181-206.

92. Oshio, K., et al., *Reduced cerebrospinal fluid production and intracranial pressure in mice lacking choroid plexus water channel Aquaporin-1*. The FASEB journal, 2005. **19**(1): p. 76-78.
93. Zhang, H. and A. Verkman, *Aquaporin-1 tunes pain perception by interaction with Nav1.8 Na<sup>+</sup> channels in dorsal root ganglion neurons*. Journal of biological chemistry, 2010. **285**(8): p. 5896-5906.
94. Beitz, E., et al., *Expression pattern of aquaporin water channels in the inner ear of the rat: the molecular basis for a water regulation system in the endolymphatic sac*. Hearing research, 1999. **132**(1-2): p. 76-84.
95. Takumida, M., et al., *Localization of aquaporins in the mouse vestibular end organs*. Acta Oto-Laryngologica, 2013. **133**(8): p. 804-813.
96. Vallance, P., J. Collier, and S. Moncada, *Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man*. The Lancet, 1989. **334**(8670): p. 997-1000.
97. Schuoler, C., et al., *Aquaporin 1 controls the functional phenotype of pulmonary smooth muscle cells in hypoxia-induced pulmonary hypertension*. Basic research in cardiology, 2017. **112**: p. 1-16.
98. Boury-Jamot, M., et al., *Expression and function of aquaporins in human skin: Is aquaporin-3 just a glycerol transporter?* Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 2006. **1758**(8): p. 1034-1042.
99. Zou, L.B., et al., *Aquaporin-1 plays a crucial role in estrogen-induced tubulogenesis of vascular endothelial cells*. J Clin Endocrinol Metab, 2013. **98**(4): p. E672-82.
100. Saadoun, S., et al., *Involvement of aquaporin-4 in astroglial cell migration and glial scar formation*. Journal of cell science, 2005. **118**(24): p. 5691-5698.
101. Stroka, K.M., et al., *Water permeation drives tumor cell migration in confined microenvironments*. Cell, 2014. **157**(3): p. 611-623.
102. Hara-Chikuma, M. and A. Verkman, *Aquaporin-1 facilitates epithelial cell migration in kidney proximal tubule*. Journal of the American Society of Nephrology, 2006. **17**(1): p. 39-45.

103. Meng, F., et al., *Aqp1 enhances migration of bone marrow mesenchymal stem cells through regulation of FAK and  $\beta$ -catenin*. Stem cells and development, 2014. **23**(1): p. 66-75.
104. Umenishi, F. and R.W. Schrier, *Induction of human aquaporin-1 gene by retinoic acid in human erythroleukemia HEL cells*. Biochem Biophys Res Commun, 2002. **293**(3): p. 913-7.
105. Patil, R.V., et al., *Cloning of a novel cDNA homologous to CHIP28 water channel from ocular ciliary epithelium*. Biochem Biophys Res Commun, 1994. **204**(2): p. 861-6.
106. Jenq, W., et al., *Aquaporin-1: an osmoinducible water channel in cultured mIMCD-3 cells*. Biochem Biophys Res Commun, 1998. **245**(3): p. 804-9.
107. Deen, P.M., et al., *Requirement of human renal water channel aquaporin-2 for vasopressin-dependent concentration of urine*. Science, 1994. **264**(5155): p. 92-95.
108. Bogum, J., et al., *Small-molecule screening identifies modulators of aquaporin-2 trafficking*. Journal of the American Society of Nephrology, 2013. **24**(5): p. 744-758.
109. Radetti, G., et al., *Urinary aquaporin-2 excretion in nocturnal enuresis*. European journal of endocrinology, 2001. **145**(4): p. 435-438.
110. Patel, R., et al., *Aquaporins in the Skin*. Aquaporins, 2017: p. 173-191.
111. AS., V., *Aquaporins*. . Curr Biol. 2013 Jan 21;23(2):R52-5. doi: 10.1016/j.cub.2012.11.025. PMID: 23347934; PMCID: PMC3590904.
112. Warth, A., et al., *Upregulation of the water channel aquaporin-4 as a potential cause of postischemic cell swelling in a murine model of myocardial infarction*. Cardiology, 2007. **107**(4): p. 402-10.
113. Nagelhus, E.A. and O.P. Ottersen, *Physiological roles of aquaporin-4 in brain*. Physiol Rev, 2013. **93**(4): p. 1543-62.
114. Amiry-Moghaddam, M., D. Frydenlund, and O. Ottersen, *Anchoring of aquaporin-4 in brain: molecular mechanisms and implications for the physiology and pathophysiology of water transport*. Neuroscience, 2004. **129**(4): p. 997-1008.

115. Manley, G.T., et al., *Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke*. *Nature medicine*, 2000. **6**(2): p. 159-163.
116. Takumi, Y., et al., *Select types of supporting cell in the inner ear express aquaporin-4 water channel protein*. *European Journal of Neuroscience*, 1998. **10**(12): p. 3584-3595.
117. McNutt, N.S., *Ultrastructure of the myocardial sarcolemma*. *Circulation Research*, 1975. **37**(1): p. 1-13.
118. Nicchia, G.P., et al., *New possible roles for aquaporin-4 in astrocytes: cell cytoskeleton and functional relationship with connexin43*. *The FASEB journal*, 2005. **19**(12): p. 1674-1676.
119. Matsuzaki, T., et al., *Immunolocalization of the water channel, aquaporin-5 (AQP5), in the rat digestive system*. *Arch Histol Cytol*, 2003. **66**(4): p. 307-15.
120. Lee, M.D., et al., *The human Aquaporin-5 gene. Molecular characterization and chromosomal localization*. *J Biol Chem*, 1996. **271**(15): p. 8599-604.
121. Hibuse, T., et al., *Aquaporin 7 deficiency is associated with development of obesity through activation of adipose glycerol kinase*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005. **102**(31): p. 10993-10998.
122. Fischer, H., et al., *Differential expression of aquaporin 8 in human colonic epithelial cells and colorectal tumors*. *BMC physiology*, 2001. **1**: p. 1-5.
123. Zhu, S.-j., et al., *Expression of aquaporin8 in human astrocytomas: correlation with pathologic grade*. *Biochemical and biophysical research communications*, 2013. **440**(1): p. 168-172.
124. Huebert, R.C., et al., *Expression and localization of aquaporin water channels in rat hepatocytes: evidence for a role in canalicular bile secretion*. *Journal of Biological Chemistry*, 2002. **277**(25): p. 22710-22717.
125. Tang, N., et al., *Bifidobacterium bifidum CCFM1163 Alleviated Cathartic Colon by Regulating the Intestinal Barrier and Restoring Enteric Nerves*. *Nutrients*, 2023. **15**(5).
126. Marchissio, M.J., et al., *Mitochondrial aquaporin-8 knockdown in human hepatoma HepG2 cells causes ROS-induced mitochondrial depolarization and*

- loss of viability*. Toxicology and applied pharmacology, 2012. **264**(2): p. 246-254.
127. Zhang, B., et al., *Aquaporin-9 facilitates liver regeneration following hepatectomy*. Redox Biol, 2022. **50**: p. 102246.
  128. Calamita, G., et al., *Altered expression and distribution of aquaporin-9 in the liver of rat with obstructive extrahepatic cholestasis*. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 2008. **295**(4): p. G682-G690.
  129. Reshef, L., et al., *Glyceroneogenesis and the triglyceride/fatty acid cycle*. Journal of Biological Chemistry, 2003. **278**(33): p. 30413-30416.
  130. Okada, S., et al., *Aquaporin-9 is expressed in a mucus-secreting goblet cell subset in the small intestine*. FEBS Lett, 2003. **540**(1-3): p. 157-62.
  131. Wang, W., et al., *Aquaporin expression in developing human teeth and selected orofacial tissues*. Calcif Tissue Int, 2003. **72**(3): p. 222-7.
  132. Inoue, Y., et al., *Aberrant glycosylation and localization of polycystin-1 cause polycystic kidney in an AQP11 knockout model*. Journal of the American Society of Nephrology, 2014. **25**(12): p. 2789-2799.
  133. Tran, T.L., et al., *Aquaporins 6-12 in the human eye*. Acta Ophthalmol, 2013. **91**(6): p. 557-63.
  134. Bondy, C., et al., *Developmental gene expression and tissue distribution of the CHIP28 water-channel protein*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1993. **90**(10): p. 4500-4504.
  135. Rutkovskiy, A., G. Valen, and J. Vaage, *Cardiac aquaporins*. Basic Res Cardiol, 2013. **108**(6): p. 393.
  136. Montiel, V., et al., *Genetic deletion of aquaporin-1 results in microcardia and low blood pressure in mouse with intact nitric oxide-dependent relaxation, but enhanced prostanoids-dependent relaxation*. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology, 2014. **466**: p. 237-251.
  137. Bıçakçı, H., et al., *Investigation of the effects of aging on the expression of aquaporin 1 and aquaporin 4 protein in heart tissue*. Anatol J Cardiol, 2017. **17**(1): p. 18-23.

138. Butkus, A., et al., *Expression of aquaporin-1 (AQP1) in the adult and developing sheep kidney*. *Biology of the Cell*, 1997. **89**(5-6): p. 313-320.
139. Butler, T.L., et al., *Cardiac aquaporin expression in humans, rats, and mice*. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2006. **291**(2): p. H705-H713.
140. Au, C.G., et al., *Expression of aquaporin 1 in human cardiac and skeletal muscle*. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 2004. **36**(5): p. 655-662.
141. Wei, X.H., et al., *XinLi formula, a traditional Chinese decoction, alleviates chronic heart failure via regulating the interaction of AGTR1 and AQP1*. *Phytomedicine*, 2023. **113**: p. 154722.
142. Egan, J.R., et al., *Myocardial ischemia is more important than the effects of cardiopulmonary bypass on myocardial water handling and postoperative dysfunction: A pediatric animal model*. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2008. **136**(5): p. 1265-1273.e2.
143. Li, L., et al., *Aquaporin-1 deficiency protects against myocardial infarction by reducing both edema and apoptosis in mice*. *Scientific reports*, 2015. **5**(1): p. 13807.
144. Zhang, H.Z., et al., *Time-dependent expression patterns of cardiac aquaporins following myocardial infarction*. *Journal of Korean medical science*, 2013. **28**(3): p. 402.
145. Li, C. and W. Wang, *Molecular biology of aquaporins*. *Aquaporins*, 2017: p. 1-34.
146. Rutkovskiy, A., L.H. Mariero, and J. Vaage, *Deletion of the aquaporin-4 gene alters expression and phosphorylation of protective kinases in the mouse heart*. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 2014. **74**(6): p. 500-505.
147. Cheng, Y.-S., et al., *AQP4 knockout mice manifest abnormal expressions of calcium handling proteins possibly due to exacerbating pro-inflammatory factors in the heart*. *Biochemical pharmacology*, 2012. **83**(1): p. 97-105.
148. Rutkovskiy, A., et al., *Aquaporin-4 in the heart: expression, regulation and functional role in ischemia*. *Basic research in cardiology*, 2012. **107**: p. 1-13.

149. Villalba-Orero, M., et al., *Heart and lung aquaporins play a major role in severity of heart failure with preserved ejection fraction in mice and differs between comorbidities*. European Heart Journal, 2020. **41**(Supplement\_2): p. ehaa946. 0852.
150. Zhu, D.D., et al., *AQP4 Aggravates Cognitive Impairment in Sepsis-Associated Encephalopathy through Inhibiting Na(v) 1.6-Mediated Astrocyte Autophagy*. Adv Sci (Weinh), 2023. **10**(14): p. e2205862.
151. Shibuya, S., et al., *Aquaporin 4 mRNA levels in neuromuscular tissues of wild-type and dystrophin-deficient mice*. The Tohoku Journal of Experimental Medicine, 2008. **215**(4): p. 313-319.
152. Yan, B., Liu, S., Li, X., Zhong, Y., Tong, F., Yang, S. 2019. , ‘Preconditioning with endoplasmic reticulum stress alleviated heart ischemia/reperfusion injury via modulating IRE1/ATF6/RACK1/PERK and PGC-1 $\alpha$  in diabetes mellitus’, Biomedicine & Pharmacotherapy, 118, 109407.
153. Livak, KJ., Schmittgen, TD. 2001. ‘Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method’, Methods, 25(4), 402-408. doi:10.1006/meth.2001.1262.
154. Montiel, V. and J.L. Balligand, *Aquaporin in diabetes: more underwater enemies?* Cardiovasc Res, 2024.
155. Nejsum, L.N., et al., *Compensatory increase in AQP2, p-AQP2, and AQP3 expression in rats with diabetes mellitus*. Am J Physiol Renal Physiol, 2001. **280**(4): p. F715-26.
156. Rutkovskiy, A., et al., *Aquaporin-4 in the heart: expression, regulation and functional role in ischemia*. Basic Res Cardiol, 2012. **107**(5): p. 280.
157. Clark, W.A., et al., *Cell contact as an independent factor modulating cardiac myocyte hypertrophy and survival in long-term primary culture*. Journal of molecular and cellular cardiology, 1998. **30**(1): p. 139-155.
158. Cheng, Y.-s., D.-z. Dai, and Y. Dai, *Isoproterenol disperses distribution of NADPH oxidase, MMP-9, and pPKC $\epsilon$  in the heart, which are mitigated by endothelin receptor antagonist CPU0213*. Acta pharmacologica Sinica, 2009. **30**(8): p. 1099-1106.
159. McCoy, E.S., B.R. Haas, and H. Sontheimer, *Water permeability through aquaporin-4 is regulated by protein kinase C and becomes rate-limiting for glioma invasion*. Neuroscience, 2010. **168**(4): p. 971-981.

160. Tuttle, K.R., et al., *Oxidative stress mediates protein kinase C activation and advanced glycation end product formation in a mesangial cell model of diabetes and high protein diet*. American journal of nephrology, 2009. **29**(3): p. 171-180.
161. Vilahur, G., et al., *Protective effects of ticagrelor on myocardial injury after infarction*. Circulation, 2016. **134**(22): p. 1708-1719.
162. Eltobshy, S.A.G., et al., *Effect of SGLT2 Inhibitor on Cardiomyopathy in a Rat Model of T2DM: Possible involvement of Cardiac Aquaporins*. Tissue Cell, 2023. **85**: p. 102200.
163. Verbalis, J.G., *Disorders of body water homeostasis*. Best practice & research clinical endocrinology & metabolism, 2003. **17**(4): p. 471-503.
164. Huang, B., et al., *PEDF decreases cardiomyocyte edema during oxygen-glucose deprivation and recovery via inhibiting lactate accumulation and expression of AQP1*. International Journal of Molecular Medicine, 2019. **43**(5): p. 1979-1990.
165. Madonna, R., et al., *High glucose-induced hyperosmolarity contributes to COX-2 expression and angiogenesis: implications for diabetic retinopathy*. Cardiovasc Diabetol, 2016. **15**: p. 18.
166. Madonna, R., et al., *NA<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger 1-and aquaporin-1-dependent hyperosmolarity changes decrease nitric oxide production and induce VCAM-1 expression in endothelial cells exposed to high glucose*. International Journal of Immunopathology and Pharmacology, 2010. **23**(3): p. 755-765.
167. Ran, X., et al., *Aquaporin-1 expression and angiogenesis in rabbit chronic myocardial ischemia is decreased by acetazolamide*. Heart and vessels, 2010. **25**: p. 237-247.
168. Gao, C., et al., *Specific inhibition of AQP1 water channels in human pulmonary microvascular endothelial cells by small interfering RNAs*. Journal of Trauma and Acute Care Surgery, 2012. **72**(1): p. 150-161.
169. Politi, M.T., et al., *Changes in cardiac Aquaporin expression during aortic valve replacement surgery with cardiopulmonary bypass*. Eur J Cardiothorac Surg, 2020. **57**(3): p. 556-564.
170. Suleymanian, M.A. and C.M. Baumgarten, *Osmotic gradient-induced water permeation across the sarcolemma of rabbit ventricular myocytes*. The Journal of general physiology, 1996. **107**(4): p. 503-514.

171. Kellen, M.R. and J.B. Bassingthwaite, *Transient transcapillary exchange of water driven by osmotic forces in the heart*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003. **285**(3): p. H1317-31.
172. Das, M. and A. Dutta, *Expression patterns of different isoforms of aquaporins in isoproterenol-induced myocardial infarction model in rat treated with Terminalia arjuna Bark extract*. Medicinal Plants-International Journal of Phytomedicines and Related Industries, 2020. **12**(2): p. 265-274.
173. Cingolani, H.E., et al., *The Anrep effect: 100 years later*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 2013. **304**(2): p. H175-H182.
174. Molina, D.K. and V.J. DiMaio, *Normal organ weights in men: part I-the heart*. Am J Forensic Med Pathol, 2012. **33**(4): p. 362-7.
175. Kloth, B., et al., *Piezo2 is not an indispensable mechanosensor in murine cardiomyocytes*. Sci Rep, 2022. **12**(1): p. 8193.
176. Marian, A.J. and E. Braunwald, *Hypertrophic cardiomyopathy: genetics, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and therapy*. Circulation research, 2017. **121**(7): p. 749-770.
177. Gao, L., et al., *Schisandrin A protects against isoproterenol-induced chronic heart failure via miR-155*. Mol Med Rep, 2022. **25**(1).
178. Li, S., et al., *Salt-Sensitive Ileal Microbiota Plays a Role in Atrial Natriuretic Peptide Deficiency-Induced Cardiac Injury*. Nutrients, 2022. **14**(15).
179. Xia, P., et al., *Doxorubicin induces cardiomyocyte apoptosis and atrophy through cyclin-dependent kinase 2-mediated activation of forkhead box O1*. Journal of Biological Chemistry, 2020. **295**(13): p. 4265-4276.
180. Gimenes, R., et al., *Influence of apocynin on cardiac remodeling in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus*. Cardiovasc Diabetol, 2018. **17**(1): p. 15.
181. Rong, L., et al., *Effects of irbesartan on myocardial injury in diabetic rats: The role of NLRP3/ASC/Caspase-1 pathway*. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 2020. **21**(2): p. 1470320320926049.
182. Thomas, C.M., et al., *Cardiac-specific suppression of NF- $\kappa$ B signaling prevents diabetic cardiomyopathy via inhibition of the renin-angiotensin system*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2014. **307**(7): p. H1036-45.

183. Bezen, D., Y. Türkmenoğlu, and A. İrdem, *Ventricular depolarization and repolarization variability in children with type 1 diabetes mellitus*. *Pediatr Int*, 2022. **64**(1): p. e15290.
184. Ye, Y., et al., *Acupuncture Reduces Hypertrophy and Cardiac Fibrosis, and Improves Heart Function in Mice with Diabetic Cardiomyopathy*. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2020. **34**(6): p. 835-848.
185. Ye, Y., et al., *SGLT-2 Inhibition with Dapagliflozin Reduces the Activation of the Nlrp3/ASC Inflammasome and Attenuates the Development of Diabetic Cardiomyopathy in Mice with Type 2 Diabetes. Further Augmentation of the Effects with Saxagliptin, a DPP4 Inhibitor*. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2017. **31**(2): p. 119-132.
186. Cauliez, B., M.C. Berthe, and A. Lavoinne, *[Brain natriuretic peptide: physiological, biological and clinical aspects]*. *Ann Biol Clin (Paris)*, 2005. **63**(1): p. 15-25.
187. Tarnow, L., et al., *Plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and mortality in type 2 diabetes*. *Diabetologia*, 2006. **49**(10): p. 2256-62.
188. Doust, J.A., et al., *How well does B-type natriuretic peptide predict death and cardiac events in patients with heart failure: systematic review*. *Bmj*, 2005. **330**(7492): p. 625.
189. Fang, W.-j., et al., *Resveratrol alleviates diabetic cardiomyopathy in rats by improving mitochondrial function through PGC-1 $\alpha$  deacetylation*. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2018. **39**(1): p. 59-73.
190. Ritchie, R., et al., *Enhanced phosphoinositide 3-kinase (p110 $\alpha$ ) activity prevents diabetes-induced cardiomyopathy and superoxide generation in a mouse model of diabetes*. *Diabetologia*, 2012. **55**: p. 3369-3381.
191. Chang, P., et al., *BNP protects against diabetic cardiomyopathy by promoting Opal-mediated mitochondrial fusion via activating the PKG-STAT3 pathway*. *Redox Biol*, 2023. **62**: p. 102702.
192. Chauin, A., *The Main Causes and Mechanisms of Increase in Cardiac Troponin Concentrations Other Than Acute Myocardial Infarction (Part 1): Physical Exertion, Inflammatory Heart Disease, Pulmonary Embolism, Renal Failure, Sepsis*. *Vasc Health Risk Manag*, 2021. **17**: p. 601-617.

193. Thoonen, R., et al., *Functional brown adipose tissue limits cardiomyocyte injury and adverse remodeling in catecholamine-induced cardiomyopathy*. *J Mol Cell Cardiol*, 2015. **84**: p. 202-11.
194. Stultiens, J.M.G., et al., *Metformin and high-sensitivity cardiac troponin I and T trajectories in type 2 diabetes patients: a post-hoc analysis of a randomized controlled trial*. *Cardiovasc Diabetol*, 2022. **21**(1): p. 49.
195. Rodgers, J.L., et al., *Hyperoxia-induced cardiotoxicity and ventricular remodeling in type-II diabetes mice*. *Heart Vessels*, 2018. **33**(5): p. 561-572.
196. Hatchett R, Thompson D. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2002: 190-214.
197. Sabouret, P., et al., *Diagnosis and management of heart failure from hospital admission to discharge: A practical expert guidance*. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)*, 2022. **71**(1): p. 41-52.