

**ATP BAĞIMLI POTASYUM KANALI GENLERİNDE RASTLANAN  
VARYASYONLARIN KORONER ARTER HASTALIĞIYLA  
İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DİDEM SEÇER**

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ECZACILIK BİYOKİMYA  
ANABİLİM DALI**

**MERSİN  
AĞUSTOS-2019**

**ATP BAĞIMLI POTASYUM KANALI GENLERİNDE RASTLANAN  
VARYASYONLARIN KORONER ARTER HASTALIĞIYLA  
İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DİDEM SEÇER**

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**ECZACILIK BİYOKİMYA  
ANABİLİM DALI**

**Danışman  
Prof. Dr. A. ERDİNÇ YALIN**

**MERSİN  
AĞUSTOS-2019**

### ONAY

Didem SEÇER tarafından Prof. Dr. A. Erdinç YALIN danışmanlığında hazırlanan "ATP Bağımlı Potasyum Kanalı Genlerinde Rastlanan Varyasyonların Koroner Arter Hastalığıyla İlişkilerinin Araştırılması" başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği/çokluğu ile Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Görevi	Ünvanı, Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	Prof. Dr. A. Erdinç YALIN	
Üye	Prof. Dr. Serap YALIN	
Üye	Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ	

Yukarıdaki jüri kararı Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun 22.08.2019 tarih ve 384 sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Prof. Dr. Bahar TAŞDELEN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



*Bu tezde uygulanan özgün bilgiler, şekil, tablo ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri kanunu hükümlerine tabidir.*

## ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
  - Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlâk kurallarına uygun olarak sunduğumu,
  - Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
  - Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
  - Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
  - Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
  - Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'ne devrettiğimi
- beyan ederim.

## ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written informations and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific Works about the case of exploitation of others' Works.
- I used all of the referred Works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as an another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

9 Ağustos 2019/ 9 August 2019

İmza

Didem SEÇER

## ÖZET

### ATP BAĞIMLI POTASYUM KANALI GENLERİNDE RASTLANAN VARYASYONLARIN KORONER ARTER HASTALIĞIYLA İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Koronere kalp hastalığı, kalp kaslarına giden kan akışının azalması nedeniyle oluşan bir hastalıktır. Miyokard iskemisi, doku nekrozu ve miyokard enfarktüsü ile sonuçlanır. Koroner arter hastalığı günümüzde bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de mortalite ve morbidite sebeplerinin başında yer almaktadır. Çeşitli genetik faktörler ve çevresel etkiler koroner arter hastalığının gelişimine hız kazandırmaktadır. Bireylerin yaşam süresinin ve kalitesinin artırılması açısından koroner arter hastalığına yatkınlığının varlığını veya yokluğunu erken dönemde öğrenmek ve ona göre önlem alabilmek için hastalığın genetik alt yapısının belirlenmesi önem taşımaktadır. Mevcut bilgilerin ışığında çalışmamızda, risk faktörleri olduğu düşünülen KCNJ8 geninde S422L polimorfizminin koroner arter hastalığıyla ilişkili olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Bu kapsamda koroner anjiyografi ile koroner arterlerinde %50 ve daha fazla darlığı saptanan 100 hasta ve %50 ve daha az darlığı olan 100 birey kontrol grubunu oluşturdu. KCNJ8 geninde bulunan NG\_041794.1:g.14089C>T varyasyonunun belirlenmesi için Tetra-Primer ARMS (T-ARMS) yöntemi kullanılmıştır. KCNJ8 geninde S422L polimorfizminin koroner arter hastalığı ile ilişkisini araştırdığımız bu çalışmamızda kontrol ve hasta grubunda tüm bireylerin CC homozigot yabancıl genotipe sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışılan örneklerin sayısı itibarı ile bu varyasyonun koroner arter hastalığı ile ilişkisinin olmadığını söylemek yanıltıcı olabilir. Bu sebeple daha fazla örneklem üzerinden yapılacak çalışmalarla  $K_{ATP}$  genlerindeki varyasyonların koroner arter hastalığıyla ilişkisinin incelenmesi hastalığın sağaltımı açısından faydalı olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Koroner Arter Hastalığı,  $K_{ATP}$ , Gen, Polimorfizm

**Danışman:** Prof. Dr. A. Erdinç YALIN, Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin.

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF RELATIONSHIP BETWEEN VARIATIONS IN ATP DEPENDENT POTASSIUM CHANNEL GENES AND CORONARY ARTERY DISEASE

Coronary heart disease is a disease caused by decreased blood flow to the heart muscles. It results in myocardial ischemia, tissue necrosis, and myocardial infarction. Coronary artery disease is one of the leading causes of mortality and morbidity in our country as well as all over the world. Various genetic factors and environmental effects accelerate the development of coronary artery disease. In order to increase the survival and quality of individuals, it is important to determine the genetic background of the disease in order to learn the presence or absence of the predisposition to coronary artery disease in the early period and to take precautions accordingly. In the light of the available information, we aimed to investigate whether S422L polymorphism is associated with coronary artery disease in the KCNJ8 gene, which is thought to be risk factors. In this context, 100 individuals with 50% or more stenosis in coronary arteries by coronary angiography and 100 individuals with 50% and less stenosis constituted the patient and control groups, respectively. Tetra-Primer ARMS (T-ARMS) method was used to determine the NG\_041794.1: g.14089C> T variation in the KCNJ8 gene. In this study, we investigated the relationship between S422L polymorphism and KCNJ8 gene and coronary artery disease. All individuals in the control and patient groups were found to have CC homozygous wild genotype. It may be misleading to say that this variation is not related to coronary artery disease in terms of the number of samples studied. For this reason, it will be beneficial to examine the relationship between variations in KATP genes and coronary artery disease with studies to be conducted on more samples.

**Keywords:** Coronary, Artery Disease, K<sub>ATP</sub>, Gene, Polymorphism.

**Advisor:** Prof. Dr. A. Erdinç YALIN, Mersin University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Mersin.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana danışmanlık yapan başta değerli hocam Sayın Prof. Dr. A. Erdiñ YALIN'a,

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Serap YALIN'a, bilgi paylaşımları ve desteklerinden dolayı değerli bölüm hocalarım Prof. Dr. Necmiye CANACANKATAN'a ve Dr. Öğr. Üyesi Nil Zeynep ÜNAL'a, çalışma arkadaşım Merih AKKAPULU'ya, asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmamın gerçekleştirilmesi için örnek temin etmemi sağlayan Sayın Dr. Özden VEZİR'e, Prof. Dr. Nehir SUCU'ya, Dr. Mehmet BALLI'ya teşekkür ederim.

2016-1-TP2-1416 no'lu proje ile desteklerini sunan Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi'ne katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Hayatımda bu günlere gelmemde destekleri ile her zaman yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	ii
ONAY	iii
ETİK BEYAN	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR ve SİMGELER	xii
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI</b>	<b>3</b>
2.1. Koroner Arterlerin Yapısı ve Fizyolojik Özellikleri	3
2.2. Koroner Arter Hastalığının Tanımı ve Epidemiyolojisi	3
2.2.1. Ateroskleroz	4
2.3. Koroner Arter Hastalığı Etiyolojisi	6
2.4. Kardiyak İyon Kanalları ve İyon Kanal Hastalıkları	6
2.4.1. Potasyum Kanalları	7
2.4.1.1. Potasyum Kanalı İşlev Bozukluğu (Disfonksiyonu) ile İlişkili Hastalıklar	8
2.5. K ATP Kanal Yapısı ve Moleküler Düzenlenme	9
2.6. K + Kanal Fonksiyonunun Aritmilere Katkısı	13
2.6.1. K + Kanal Mutasyonlarının Aritmojenik Potansiyeli	13
2.7. K ATP Kanal Alt Birimlerinin Kardiyovasküler Doku Dağılımı	14
2.7.1. Kardiyak Miyositler	14
2.7.2. Düz Kas Miyositleri	14
2.7.3. Vasküler Endotelyum	15
2.7.4. Mitokondriyal KATP	15
2.8. K <sub>ATP</sub> Kanallarının Keşfedilmesi	17
2.8.1. Hücre İçi ATP- K <sub>ATP</sub> Kanalı İlişkisi	17
2.8.2. Kir6.X Alt Birimleri	18
2.8.3. Düzenleyici Alt Birim: Sülfonilüre Reseptörleri	18
2.8.4. Alt Birim Bileşiminin KATP Kanalının Biyofiziksel ve Farmakolojik Özelliklerine Etkisi	20
2.9. K <sub>ATP</sub> Kanal Fonksiyonu Düzenleyen Moleküler Mekanizmalar	21
2.9.1. Kir6 Alt Birimlerinin Sur Alt Birimleriyle Etkileşim	21
2.9.2. Kanal Gözeneği	22
2.10. K <sub>ATP</sub> Kanallarının Çalışması İçin Genetik Fare Modellerinin Kardiyovasküler Fenotipleri	22
2.10.1. Gözenek Oluşturan Alt Birimler	22
2.10.1.1. Kir1.1	22
2.10.1.2. Kir6.1	23
2.10.1.3. Kir6.2	23
2.10.2. Yardımcı Alt Birimleri	24
2.10.2.1. SUR1	24
2.10.2.2. SUR2	25
2.11. K <sub>ATP</sub> Kanallarının Patofizyolojik Rolü	26
2.11.1. Kardiyak KATP Kanallarının Strese Karşı Koruma Durumu	26
2.12. Koroner Damar Sisteminde KATP Kanalları	27
2.12.1. İskemi Sırasında Koroner Kan Akışı	27
2.12.2. Reaktif Hiperemi	27



	<b>Sayfa</b>
2.13. K <sub>ATP</sub> Kanal Genellerinde Genetik Varyasyon: Kardiyovasküler Hastalığa İlişkin Konu	27 29
2.14. KCNJ8 Geni (Potasyum Kanalı, Reaktifite Edici, J Altfamilya, 8. Üye)	30
2.14.1. p.Ser422Leu Varyasyon	
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b>	<b>31</b>
3.1. Çalışma Grubu ve Örnek Temini	31
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	31
3.2.1. Kullanılan Cihazlar	31
3.2.2. Kullanılan Kimyasallar	32
3.3. Genotiplendirme	32
3.3.1. Primerlerin Tasarımı	33
3.4. Elektroforez Çözeltileri	34
3.5. Kullanılan Yöntemler	34
3.5.1. DNA İzolasyonu	34
3.5.2. Polimeraz Zincir reaksiyonu (PCR)	35
3.5.3. Agaroz Jel Elektroforezi	36
3.5.3.1. Agaroz Jelin Hazırlanması ve Örneklerin Yüklenmesi	37
<b>4. BULGULAR</b>	<b>38</b>
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	<b>40</b>
<hr/>	
KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	57

## TABLolar DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 2.1.</b> K <sub>ATP</sub> Kanalı Alt Birim Genleri	13
<b>Tablo 2.2.</b> Kardiyovasküler Farklı Doku Tiplerinde ve Mitokondride Bulunan KATP Kanallarının Moleküler Bileşimi	16
<b>Tablo 2.3.</b> K <sub>ATP</sub> Kanalı Mutasyonlarının İlişkili Olduğu Hastalıklar	29
<b>Tablo 3.1.</b> KCNJ8, rs72554071 Varyasyonu: T-ARMS PCR Primerleri	33
<b>Tablo 3.2.</b> Kontrol Amplikonu	33
<b>Tablo 3.3.</b> Wild Type Amplikonu	33
<b>Tablo 3.4.</b> Mutant Amplikonu	34
<b>Tablo 3.5.</b> T-ARMS PCR Yönteminde Kullanılacak Bileşen Miktarları	36
<b>Tablo 3.6.</b> rs72554071 İçin PCR Koşulları	36
<b>Tablo 4.1.</b> Hasta ve kontrol gruplarında C ve T allellerinin frekansları	38
<b>Tablo 4.2.</b> Hasta ve kontrol gruplarında KCNJ8: c.1265C>T varyasyonu genotip dağılımları	39

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 2.1.</b> Kardiyovasküler $K_{ATP}$ Kanalları	11
<b>Şekil 2.2.</b> $K_{ATP}$ kanalının moleküler temeli	12
<b>Şekil 2.3.</b> ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı ailesi	20
<b>Şekil 2.4.</b> ATP Bağımlı Potasyum Kanallarında Çalışılacak Gen ve Varyasyon	30
<b>Şekil 4.1.</b> rs72554071 varyasyonunun agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü	38



## KISALTMALAR ve SİMGELER

Kısaltma/Simge	Tanım
KAH	Koroner Arter Hastalığı
AMI	Akut Miyokard İnfarktüs
MI	Miyokard Enfarktüs
KKH	Koroner Kalp Hastalığı
VF	Ventriküler Fibrilasyon
AF	Atriyal Fibrilasyon
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
K <sup>+</sup>	Potasyum İyonu
Ca <sup>2+</sup>	Kalsiyum İyonu
Mg <sup>2+</sup>	Magnezyum İyonu
K <sub>ATP</sub>	ATP'ye Duyarlı Potasyum
Kir	İçer Doğrultucu
SUR	Sülfonilüre Reseptörü
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
ABC	Proteinlerin ATP Bağlayıcı Kaset Ailesi
KCNJ	İçer Doğrultucu K kanalı Gen Ailesi
KCO	Potasyum Kanalı Açıcı
Kir1,Kir6	K <sub>ATP</sub> Kanallarının Gözenek Oluşturan Alt Birimleri
TdP	Torsades de Pointes Aritmileri
AP	Aksiyon Potansiyeli
LQTS	Kalıtsal Uzun-QT Sendromu
IKr	Hücre Dışına Yönlene Gecikmiş Düzeltici Potasyum Akımlarının Hızlı Komponenti
IKs	Hücre Dışına Yönlene Gecikmiş Düzeltici Potasyum Akımlarının Yavaş Komponenti
IKATP	ATP Duyarlı Potasyum Akımları
VSM	Vasküler Düz Kas
NBD	Nükleotid Bağlama Alanı
K <sub>v</sub>	Voltaja Duyarlı Potasyum Kanalı
ATP	AdenozinTrifosfat
ADP	AdenozinDifosfat
TMD1, TMD2	SUR Alt Birimlerinin Transmembran Bölgeleri
KCNJ	İçer Doğru Reaktifite Edici Potasyum Kanalı Gen Ailesi
ABCC	ATP' ye Bağlanan Protein Kasetleri Ailesi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
T-ARMS	Tetra-PrimerAmplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi
FWD	Forward
REV	Reverse
ROMK	KCNJ1 Geninin Protein Ürünü
GIRK	G Proteine Bağlı İçer Doğru Reaktifite Potasyum Kanalları
IRK	İçer Doğru Reaktifite Potasyum Kanalları
T-ARMS	Tetra-Primer ARMS

## 1. GİRİŞ

Koroner arter hastalığı (KAH) günümüzde bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de ölüm ve morbidite sebeplerinin başında yer almaktadır. Bu hastalığın her geçen gün gelişen tedavilerine karşın görülme sıklığı artmaktadır. Koroner kalp hastalığı, kalp kaslarına giden kan akışının azalması nedeniyle oluşan bir hastalıktır. Miyokard iskemisi, doku nekrozu ve miyokard enfarktüsü (MI) ile sonuçlanır. İskemi durumu genellikle ateroskleroz, tromboz, spazm veya emboli gibi nedenlerle kanın kalbe az ulaşması sonucu ya da anemi, hipertansiyon gibi nedenlerle kan akışının azalması durumunda gelişen patolojik bir durumdur [1].

Koroner arter hastalığının önemli sebeplerinden biri olan ateroskleroz, erken yaşlarda gelişmeye başlayan, damar çeperlerinde kolesterol birikimi ile belirgin komplike bir hastalıktır. Çeşitli genetik faktörler ve çevresel etkiler gelişimine hız kazandırmaktadır [2]. Hayatın erken evrelerinde başlayarak orta yaş ve sonrasında koroner arter hastalığı ile sonuçlanan aterosklerozun birçok nedeni vardır. Sigara kullanımı, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, diyabet, ileri yaş, ailesel yatkınlık aterosklerozun risk faktörlerindedir. Bireylerin yaşam süresinin ve kalitesinin artırılması açısından koroner arter hastalığına yatkınlığının varlığını veya yokluğunu erken dönemde öğrenebilmek ve ona göre önlem alabilmek için hastalığın genetik altyapısının belirlenmesi önem taşımaktadır [3].

Kardiyovasküler hastalıklar günümüzde sanayileşmiş toplumların en önemli sağlık problemidir. ABD’de ölüm nedenlerinin ilk sırasında kalp kökenli ölümler yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre gelişmekte olan Güneydoğu Asya, Batı Asya ve Afrika ülkelerinde kardiyovasküler mortalitenin gelişmiş ülkelere göre %70 daha fazla olduğu bildirilmektedir. Ülkemizde ise Türk Kardiyoloji Derneği’nin öncülüğünde yürütülen TEKHARF (Türk Erişkinlerde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri Çalışması) çalışmasında; 30 yaş ve üzeri yetişkinlerde koroner kalp hastalığı (KKH) prevalansının 1990 yılındaki % 5,4’ lük sıklıktan 10 yıl sonra % 8,1’e tırmandığı, nedeni bilinen ölümlerin % 42,5’lik sıklık ile ilk sırada yer aldığı bildirilmiştir [4]. TEKHARF çalışmasının 12 yıllık gözlem verilerine göre, Türkiye’de 2,0 milyon koroner kalp hastasının bulunduğu tahmin edilmektedir. Yılda 160 bin vatandaşımızın ise koroner kalp hastalığından hayatını kaybettiği tahmin edilmektedir. Ülkemizde toplam koroner hastası halen yılda 90-100 bin civarında artmaktadır [5]. Bu derece önemli bir sağlık probleminde yüksek maliyetlerle yürütülen tedavi çalışmalarından ziyade birincil ve ikincil korunma çalışmalarına ağırlık verilmelidir.

Mevcut bilgilerin ışığında çalışmamızda, risk faktörleri olduğu düşünülen KCNJ8 geninde S422L polimorfizminin koroner arter hastalığıyla ilişkili olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Bu kapsamda koroner anjiyografi ile koroner arterlerinde %50 ve daha fazla darlığı saptanan

100 hasta ve %50 ve daha az darlığı olan 100 birey kontrol grubunda KCNJ8 geninde S422L ve polimorfizminin saptanması amaçlanmıŐtır.



## 2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

### 2.1. Koroner Arterlerin Yapısı ve Fizyolojik zellikleri

Koroner arterler kalbi besleyen atar damarlara verilen genel isimdir. Koroner arterler, kalpten çıkan aort damarının ilk dallarıdır. Genellikle sol ve sağ koroner arter olmak üzere iki adet koroner arter bulunur. Sol ana koroner arter kalbin önüne ve arkasına giden iki önemli dal verir. Sonuç olarak üç ana koroner arter sisteminden bahsedilebilir [6].

Koroner arterler iyi geliŐim göstermiŐ üç tabakalı bir yapıya sahiptir. Arter duvarındaki bu temel yapıyı adventisya, media ve intima tabakaları oluşturur. Adventisya eksternal elastik laminanın dışında kalan tabakadır. Media; internal elastik lamina ile eksternal elastik lamina arasında bulunan tabakadır. İntima ise iç kısımda endotel, dıŐta ise internal elastik lamina tarafından sınırlanmıŐtır.

Endotel, damarsal yapıların i yüzeyini kaplayan, kan elemanları ile direkt temas halinde bulunan, yaşam süresince travmaya maruz kalan, vücudun en büyük parakrin organı olarak tanımlanabilecek hücre tabakasıdır. İte ekstraselüler matrikse gömülü tek sıra halindedir. İntimanın i yüzeyini kaplar ve metabolik olarak aktiftir. Endotel, damar içerisinde kanın akıŐkanlıėının sürekliliğini sağlar. Media; çoğunlukla düz kas hücrelerince oluşturulan, internal ve eksternal elastik laminalar arasında bulunan tabakadır. Düz kas hücrelerinin esas fonksiyonu damar tonusunu ayarlamak ve metabolik ihtiyaa yönelik kan akımını düzenlemektir. Adventisya; gevŐek bağ dokudan meydana gelir ve arterlerin en dış yüzeyini oluşturur. Fibroelastik doku, vasavasorum ve sinir dokusunu içerir [7].

### 2.2. Koroner Arter Hastalığının Tanımı ve Epidemiyolojisi

Koroner Arter Hastalığı kalp kasını besleyen ve koroner arterler olarak adlandırılan atar damarların daralma veya tıkanması ile kan akımının kısmen ya da tam kesilmesine bağlı olarak ortaya çıkan hastalıklara denir [6]. Koroner Arter Hastalığı miyokard iskemisi ile sonuçlanan bir hastalıktır. İskemi genellikle ateroskleroz, tromboz, spazm ya da emboli gibi nedenlerle kanın kalbin bir bölümüne yetersiz ulaşması ya da anemi, hipertansiyon veya karboksihemoglobinemi gibi nedenlerle kan akımının azalmasıyla gelişen doku nekrozuyla sonuçlanan patolojik bir durumdur. En sık görülen nedeni aterosklerozdur. Bu hastalığın en önemli özelliği ileri evrelerde hayatı tehdit edebilen kalp krizine yol açabilmesidir [1-6].

Kardiakiskemi; kanın etkili bir biçimde pompalanamaması ile görülen konjestif kalp yetmezliği, yetersiz perfüzyon nedeni ile gelişen ve göğüs ağrısı ile karakterize angina pectoris ve miyokarda kan akımının bir anda kesilmesi ile iskemive miyokardial doku nekrozu ile karakterize miyokardial enfarktüs durumları ile sonuçlanır.

Orta büyüklükteki ve daha büyük arterlerin kalınlaşması ve setleşmesiyle damar lümeninin aterosklerotik plaklarla daralması 'ateroskleroz' olarak tanımlanmaktadır. Terim olarak Yunanca 'athero' (bulamaç, yağlı) ve 'sclerosis' (setleşme) den köken almaktadır.

Amerikan Ulusal Kalp Enstitüsü, 1948 yılında bugün bilinen adıyla Framingham Kalp çalışmasını başlattı. Framingham alışması, KAH'nin klinik yelpazesi ve prognozunun anlaşılmasında oldukça fayda sağlamaktadır. Bunun nedeni veri toplanmasının 1949 yılında daha henüz KAH'de sınırlı yeterli tedavilerin olduğu ve olan tedavi seçeneklerinin ise etkin olarak kullanılmadığı bir dönemde başlamasıdır. KAH'nin önemli bir kısmı, hızlı bir şekilde açığa çıkmamış hastalıktan miyokard enfarktüsüne ve daha ilerisi ölümle sonuçlanabilmektedir. Toplumda ani ölümlerin çoğu önlenebilir risk faktörlerine bağlı gelişen hızlanmış ateroskleroza bağlıdır. ABD'de 2001 yılında KAH, tüm kardiovasküler ölümlerin % 54'n oluşturmuştur [8].

Koroner arter hastalığı bütün dünyada olduğu gibi bizim ülkemizde de en önemli ölüm nedenlerinin başında gelmektedir [1]. Dünya Sağlık rgt (WHO) verilerine göre, 2005 yılında 17,5 milyon insanın kalp ve damar hastalıkları sebebiyle ldğu ve bu rakamın küresel ölümlerin %30'unu teşkil ettiği, 2020 yılında ise tüm ölümlerin %36'sının kalp ve damar hastalıklarına bağlı gerçekleşeceği tahmin edilmektedir.

Ülkemizde ise Türk Kardiyoloji Derneği'nin liderliğinde yürütülen TEKHARF çalışmasında; yetişkin nüfusta KAH'nin %3,8 hastalığın klinik açıdan bulgu gösterdiği 60-69 yaş aralığında ise %14'n üzerinde sıklıkta grldğu belirlenmiştir. Bu konu ile ilgili Türk Kardiyoloji Derneği (TKD)'nin yayınladığı verilere göre; ateroskleroza bağlı lmler (KAH ve inme) lkemizdeki tüm ölümlerin %43'n kapsamaktadır [5].

### **2.2.1. Ateroskleroz**

Aterosklerozis ismi olgunlaşmış plakları ifade etmektedir. Athero; yağlı, sclerosis; sertleşme sözcüklerinden türemiştir. Bunlar tipik olarak lipidten zengin ve yumuşak ateromatöz "lapa" ve kollajenden zengin sert sklerotik doku olmak üzere iki komponent içermektedirler [9]. Lipidler, fibroblastlar, makrofajlar ile düz kas hücreleri ve hücre dışı maddeleri farklı miktarlarda bulunduran intimal plaklara bağlı olarak meydana gelen, ilerleyici eğilim gösteren arteriyal darlık ve tıkanmalara, arterlerin esneklik ve antitrombotik özelliklerinin bozulmasına sebebiyet veren hastalığa ateroskleroz denir [10]. Çok faktörlü bir hastalık olan ateroskleroz, birçok organda kan akışının bozulmasına neden olan, fetal yaşamda başlayan kompleks bir hastalıktır [11]. Endotel hücreleri, lökositler ve intimal düz kas hücreleri bu hastalığın oluşumunda majör rol oynamaktadır. Endotelyal disfonksiyonun yanında inflamasyonun da aterosklerozun her aşamasında eşlik ettiği görülmüştür. Endotelyal disfonksiyon; endotelin seçici geçirgenliğini, bariyer olma özelliği ve antitrombosit yapısını bozar. Bunun sonucunda gelişim gösteren inflamatuvar ve proliferatif süreç aterosklerotik plağın oluşmasına zemin



hazırlar. Endotelde gevşeme ile kasılma, protrombojenite-antitrombojenite, proliferasyon-antiproliferasyon arası denge bozulur [12]. Koroner arterler kısmı kısmı incelendiğinde aterosklerozun bölgesel niteliği daha net anlaşılmaktadır. Damarın bir kısmı anormal oluşum gösterirken başka bir bölümü normal olabilir. Ateroskleroz, arter yatağının içinde tipik olarak yatkın bölgelerde fokal olmaya meyillidir. Aterosklerotik lezyonlar genellikle arterlerin dallanma noktalarında, kan akışının yn verildiği bölgelerde meydana gelmektedir [13].

Birçok kardiyovasküler risk faktörünü arasından yükselmiş kolesterol düzeyi, diğer bilinen risk faktörlerinin yokluğuna rağmen aterosklerozun oluşumunun başlamasında yeterli olan olası tek risk faktörüdür. Yetişkin bireylerin plazma kolesterol düzeyinin <150 mg/dl olması durumunda semptomatik hastalık görülme sıklığı seyrek olacaktır. Hipertansiyon, diyabet, sigara kullanımı gibi diğer risk faktörleri, aterojenik lipoproteinler (LDL) ile başlatılan ve sürdürülen hastalığı hızlandırmaktadır [9].

Ateroskleroz; koroner arter hastalığı, karotis arter hastalığı ve periferik arter hastalığının altında yatan en sık rastlanan sebeptir. Ateroskleroz tek başına nadiren öldürücü olabilir. Yırtılmış (rüptür) veya aşınmış (erozyon) aterosklerotik plak üzerine oturmuş trombus fatal süreçleri (akut koroner sendromlar ve inme) presipite etmektedir.

Aterosklerozun en zararlı sonuçları; kalp krizi (AMI), inmedir. Bunlara aterosklerotik lezyon üzerine trombus oturması sebep olmaktadır. Ateroskleroz yıllarca süren yavaş ve sessiz gelişme sonrasında, aniden lümen içerisinde trombus gelişimi ile komplike olmaktadır. şayet trombozis eğilimli plaklar saptanın ve trombozisin yn değiştirilebilirse aterosklerozis daha benign bir hastalık olacaktır [9].

Aterosklerozun belirli bir genetik mirasa ve riske sahip kişilerde çevresel risk etmenlerinin de etkisiyle ortaya çıkan bir hastalık olduğu, düşünülenin aksine kaçınılmaz dejeneratif bir hastalık olmadığı anlaşılmıştır [14].

Ateroskleroz dolaşımın farklı bölgelerini etkileyebilmekte ve etkilenen dolaşım bölgesinin özelliğine göre de farklı klinik belirtiler vermektedir. Koroner arterlerin aterosklerozu, miyokard infarktüsüne ve anjina pektorisine neden olmaktadır. Santral sinir sisteminde bulunan arterlerin aterosklerozu ise genellikle inmelere ve geçici serebral iskemiye neden olmaktadır. Periferik dolaşımdaki ateroskleroz intermittan kladikasyona, kangrene ve ekstremitelere beslenmesinde zararlı sonuçlar doğurmaktadır. Splenik dolaşımın etkilenmesiyle mezenterik iskemi ortaya çıkmaktadır. Ateroskleroz böbrekleri ya doğrudan (renal arter stenozu) ya da sık olarak ateroembolik hastalığın bir parçası olarak etkilemektedir. Aterosklerozun tüm bulguları sadece darlıktan tııkayıcı hastalığa kadar uzanan bir süreç değildir. Aortta da ektazi ve anevrizma gelişimi bu hastalığın bulguları olarak gösterilebilir [15].

### 2.3. Koroner Arter Hastalığı Etiyolojisi

Son yirmi yılda yapılan geniş epidemiyolojik çalışmalar koroner arter hastalığına yol açan risk etmenlerini tanımlamada büyük önem taşıtmaktadır. Bu alışmalar neticesinde hastalığına neden olan majör risk faktörleri belirlenmiştir [16].

Aterosklerozun belirli bir genetik altyapıdaki ve belirli riske sahip kişilerde çevresel risk faktörlerinin etkisiyle ortaya çıkan bir hastalık olduğu saptanmış, düşünülenin aksine kaçınılmaz dejeneratif bir hastalık olmadığı anlaşılmıştır [14].

Multifaktöriyel kalıtmılı hastalıklar, kalıtsal faktörler ve çevresel faktörlerin etkileşimi ile ortaya çıkan hastalıklardır. Koroner arter hastalığı da, çevresel ve kalıtsal faktörlerin hastalığın oluşumuna her birey için değişen oranlarda rol oynadığı multifaktöriyel bir hastalıktır. Bu tip hastalıklarda hastalığın şiddeti arttıkça tekrarılma riskide artmaktadır [17].

Ani kardiyak ölümlerin yaklaşık olarak %60 ila 80'ininde koroner arter hastalığı rol oynamaktadır. Bu olgularda sıklıkla aterosklerotik değişiklikler söz konusudur. Aterosklerotik olmayan koroner arter hastalıkları ise sıklıkla, koroner arteritis, embolizm, koroner arterlerdeki konjenital malformasyonlar ve koroner arter diseksiyonu şeklinindedir. Koroner arter hastalıkları dört ayrı klinik tablo oluşturabilir. Bunlar; angina pektoris, miyokard infarktüsü, kronik iskemik kalp hastalıkları ve ani ölümdür. Ölümün en yaygın sebebi kardiyak aritmilerdir. En sık görülen aritmi ise ventriküler aritmilerdir. Yapılan bir çalışmada ani kardiyak ölüm vakalarının %50' sinden çoğunda otopside plak rüptürü ve tromboz gibi koroner arterde akut değişikliklerin varlığı gösterilmiştir [18-20]. Koroner arter anomalileri de ani lme sebebiyet verebilir. Koroner arterlerin normal anatomide olmadığı; sol ana koroner arterin sağ veya koroner olmayan valsalva sinusundan çıktığı olgularda ani ölüm riski yüksektir. Rutin otopsilerde koroner arter anomali görülme sıklığı %0,17-%0,3 arasında değişmekte iken koroner arter arteriografilerinde bu oran %0,6-%1,55'dir [21].

Yapılan bilimsel çalışmalar kalıtsal faktörlerden birçok genin bu konuyla ilgili olabileceğini göstermiştir. Koroner arter hastalığının gelişiminde sorumlu olabilecek gen polimorfizmlerinin ve üstlendikleri rollerin saptanması, hastalığı ortaya çıkmadan işaret edecek metabolik yolların ve patofizyolojisinin anlaşılmasında da önemli bir rol alacaktır. Son yıllardaki çalışmalarda gen polimorfizminin gösterildiği ve KAH ile ilişkisinin olabileceği düşünülen mutasyonlar tanımlanmıştır. KCNJ8 geninde S422L ve KCNJ11 geninde V337I polimorfizmleri bunlardan bazılarıdır.

### 2.4. Kardiyak İyon Kanalları ve İyon Kanal Hastalıkları

Kardiyak iyon kanallarını ve yapısal proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar ölümcül ve ölümcül olmayan aritmilerle ilişkilendirilmiştir ancak temel mekanizmaları henüz tam olarak açıklanamamıştır [22]. Bu nedenle genetik testler klinik kardiyolojide yeni bir

araç haline gelmiştir. Klinik teşhis açık olduğunda genetik test hastalığın doğrulanmasına ve ailede kalıtsal taşıyıcıların tespit edilmesine olanak sağlayabilir [23].

İyon kanalları, hücre zarı boyunca iyon iletiminden sorumlu olan entegre zar proteinleridir. İyon kanalı alt birimleri, genellikle ayrı genler tarafından kodlanan farklı alt birimler tarafından oluşturulan multimerik proteinlerdir. İyon kanalı alt birimleri, iyon akımlarına ve düzenleyici  $\beta$ -alt birimlerine aracılık eden gözenek oluşturucu  $\alpha$ -alt birimleri tarafından oluşturulur. Kalpteki diğer uyarılabilir dokularda olduğu gibi aksiyon potansiyelinin oluşumu birkaç iyon akımının karmaşık dengesinden kaynaklanır. Bu denge, hatalı bir iyon kanalı (mutasyonlara bağlı olarak) tarafından üretilen değiştirilmiş akımla bozulduğunda, elektriksel kararsızlık (kalpte aritmi veya beyindeki epilepsi) riski söz konusu olabilir. Bu nedenle, kanalopati, iyon kanalları, bunların alt birimleri veya ilişkili proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonların neden olduğu kalıtsal bir sendrom olarak tanımlanır [24, 25].

Kardiyak iyon kanallarının işlevlerindeki bozukluklar elektrokardiyografik anormalliklerle ve aritmilerle kendini gösterir. Kardiyak iyon kanallarındaki bu bozukluklar kardiyak kanalopatiler olarak tanımlanmaktadır. Yapısal olarak normal kalplerde ortaya çıkan bu kalıtsal aritmojenik bozukluklara, özelleşmiş iyon kanallarını kodlayan genlerdeki mutasyonların neden olduğu gösterilmiştir. Bu bozukluklar arasında uzun QT sendromları (LQTS), kısa QT sendromları (SQTS), Brugada sendromu, ilerleyici kardiyak ileti defekti, idiyopatik hasta sinus sendromu, katekolaminerjik polimorfik ventrikül taşikardisi ve ailesel atriyal fibrilasyon (AF) bulunmaktadır.

Sodyum ( $\text{Na}^+$ ), potasyum ( $\text{K}^+$ ) veya kalsiyum ( $\text{Ca}^{2+}$ ) iyon akımlarını etkileyen çeşitli mutasyona bağlı kalp hastalıkları ya aksiyon potansiyeli ya da kalsiyum homeostazının oluşumunu etkilemektedir. Kardiyak kanalopatiler klinik olarak sadece bazı karakteristik elektrokardiyografik (EKG) anormalliklerin varlığı ile tanımlanabilir [26-28]. Bu tip durumlar genetik taşıyıcılarda her zaman görülmezler çünkü düşük yoğunluğa sahiptirler. Bu durumlarda genetik çalışmalar açıklanamayan semptomlar için bir etiyolojik bilgi kaynağı olabilir [29].

#### **2.4.1. Potasyum Kanalları**

İyonlar, hidrofilik iyon kanalları yoluyla elektrokimyasal gradyan boyunca plazmalemmmanın lipit iki tabakası arasında çapraz geçiş yapar. Bu iyon kanalları gerilim ve zamana bağlı bir Şekilde (aktivasyon, inaktivasyon veya deaktivasyon) açılır ve kapanırlar ve sadece açık durumda geçebilirler. Repolarizasyon sonrası bazı kanallar yeniden açılmaya hazır hale gelmeden önce inaktivasyondan kurtulmalı ve bu süre zarfında miyokardiyal hücreler yeniden uyarma için dayanıklı kalır.

Potasyum kanalları en büyük iyon kanalı proteinleri ailesini oluşturur. Membran potansiyelinin belirlenmesi ve buna bağlı olarak, K<sup>+</sup> kanalları da ligand bağlanmasıyla aktive edilebilir ve dolayısıyla voltaj ve ligand kapılı kanallara bölünür. Bir K<sup>+</sup> kanalının iyon iletken gözenekleri, farklı biyofiziksel özelliklere sahip homo- veya hetero-tetramerler olarak bir araya getirilen dört  $\alpha$ -alt birimi tarafından oluşturulur. Onların geçit özellikleri yardımcı alt birimler tarafından daha da düzenlenerek uygun hale getirilir.

Kardiyak K<sup>+</sup> kanalları ayrıca işlevlerine göre de sınıflandırılır. (i) Geçici olarak dışarı doğru akım için erken yeniden polarizasyon safhası sırasında hızlı aktivasyonu sağlar ve daha sonra etkisiz hale geçer. (ii) Geciktirilmiş düzeltici kanallar en az üç farklı akım iletir. I<sub>Kur</sub> ultra hızlı gecikmiş doğrultucu akımını aktive eder, I<sub>Kr</sub> ve I<sub>Ks</sub> hızlı ve yavaş bir şekilde gecikmeli redresör akımını aktive eder. Her üç akım da, sırasıyla ultra hızlı, hızlı ve yavaş olmak üzere farklı zaman dilimlerinde pozitif potansiyellerde harekete geçer. I<sub>Kur</sub> ve I<sub>Ks</sub> inaktivasyonu yavaş iken, I<sub>Kr</sub> son derece hızlıdır. Bu akımların her birinin repolarizasyona katkısı, açık kanalların sayısına ve membran potansiyeli dinlenme seviyesine geri dönerken azaltan elektrokimyasal itici güce bağlıdır. Repolarizasyon sırasında I<sub>Kr</sub>, inaktivasyondan çok yavaş bir şekilde deaktive olan bir açık duruma dönüşür, böylece bu akım içe doğru düzeltmeyi gösterir. Bu nedenle, I<sub>Kr</sub> negatif potansiyellerde tekrar yükselir ve nihai repolarizasyonu güçlü bir şekilde hızlandırır. (iii) Majör klasik kardiyak içe düzeltici K<sup>+</sup> akımı I<sub>K1</sub> içe doğrultucu akımdır. Bu kanal her zaman açıktır. Atriyal miyositler ayrıca G protein bağlı muskarinik (M2) ve adenosin (A<sub>1</sub>) reseptörlerinin uyarılmasına yanıt olarak IK, ACh'yi ileten asetilkoline bağımlı bir kanalı eksprese eder. IK, ACh aktivasyonu membranı hiperpolarize eder ve aktif potansiyel süresini (APD) kısaltır. Kardiyomiyositlerdeki üçüncü içe doğru doğrultucu kanal fizyolojik metabolik koşullar altında kapatılır ve hücreler hücre içi adenosintrifosfattan yoksun olduğunda aktive edilir. IK, ACh, IK, ATP'ye benzer şekilde derin APD kısalmasına neden olur [30].

#### **2.4.1.1. Potasyum Kanalı İşlev Bozukluğu (Disfonksiyonu) ile İlişkili Hastalıklar**

Kalp hastalıkları ile en çok ilişkili olan potasyum kanalları yavaş yavaş harekete geçen geciktirilmiş redresör kardiyak K<sup>+</sup> kanalı ve voltaj kontrollü içten geçen K<sup>+</sup> kanalıdır. Bu iki potasyum kanalının kardiyak izoformlarının  $\alpha$ -altbirimleri, sırasıyla KvLQT1 ve KCNH2 olarak bilinmektedir. Potasyum kanalları, repolarizasyon akımlarının önceki depolarizasyon sürecine karşı durmasına izin verir [31,32]. K<sup>+</sup> kanallarını kodlayan genlerdeki mutasyonlar üç tip hastalığa neden olabilir. Bunlar uzun QT sendromu (LQTS), kısa QT sendromu (SQTS) ve atriyal fibrilasyon (AF) dur.

### **Uzun QT sendromu (LQTS);**

LQTS, esas olarak K<sup>+</sup> kanalları ile ilgili repolarizasyon anormalliklerinden kaynaklanan bir kardiyak kanalopatidir. K<sup>+</sup> kanallarında, her biri fonksiyon kaybıyla ilişkili birkaç mutasyon bildirilmiştir [33]. LQTS klinik vakalarının yüzde elli ilâ yüzde altısı, altı farklı K<sup>+</sup> kanal geninde bulunan mutasyonlarla ilişkilidir [34,35]. Tanımlanan on adet konjenital uzun QT sendromu vardır. Bunlardan yedi tanesi otozomal dominant, ikisi otozomal resesif geçiş gösterir. Bir tanesinin kalıtım türü henüz bilinmemektedir. Görülme sıklığının 1/5000 olduğu düşünülmektedir. Ventriküler aritmiler ile ani ölüme neden olmaktadır [36-41].

### **Kısa QT Sendromu;**

Kısa QT sendromları, yapısal olarak normal kalplerde görülen, aritmojenik, otozomal dominant geçişli kalıtsal hastalıklardır. 2003 yılında tanımlanarak en son tanımlanan kanalopatilerdendir. Potasyum kanalını kodlayan üç adet gende mutasyon söz konusudur. Otozomal dominant kalıtım gösterir. Kadınlar ve erkekler arasındaki dağılımı eşittir. Doğumdan itibaren herhangi bir yaşta ani kardiyak ölüme sebebiyet verebilir. Ölüm nedeni yine sıklıkla ventriküler aritmilerdir [36-41]. Kısa QT sendromu, ventriküler aritmilere ve ani ölümlere yol açan uzun, simetrik ve pik T dalgalarına sahip kısa QT intervali (<330 milisaniye) ile karakterize klinik olarak malign bir tablodur [42]. Klinik belirtiler erken dönemde ortaya çıkabileceğinden yenidoğanlarda ani ölüme neden olabilir [43]. Hastaların çoğunda, otozomal dominant iletim paterni ve yüksek penetrasyona sahip bir aile öyküsü vardır. Üç K<sup>+</sup> kanalının mutasyonları, gelişmiş fonksiyona bağlı olarak SQTS ile ilişkilendirilmiştir ve bu nedenle repolarizasyonu kısaltmıştır. Tip 1 SQTS ile ilişkilendirilmiştir [44].

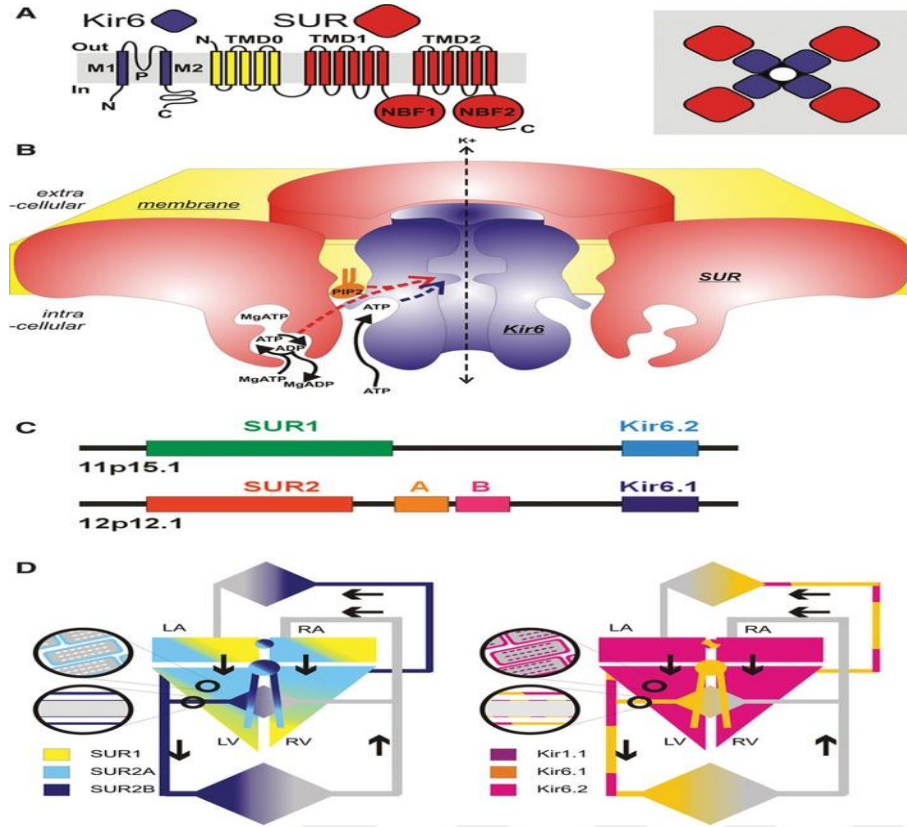
### **Ailesel Atriyal Fibrilasyon;**

Yapısal olarak normal kalplerde ortaya çıkan ve otozomal dominant geçiş gösteren ailesel atriyal fibrilasyonda iki gende mutasyonlar belirlenmiştir. Bunlar potasyum kanal proteinlerini kodlayan KCNQ1 ve KCNE2 adlı genlerdir [45].

## **2.5. K ATP Kanal Yapısı ve Moleküler Düzenlenme**

ATP'ye duyarlı potasyum kanalları, Kir 6.0 familyasının dört gözenek oluşturu alt biriminin ve dört sülfonilüre reseptörünün bir oktomerik kompleksidir. Kir 6.0 ailesi, farklı işlevsel özelliklere sahip iki bilinen üyeden Kir 6.1 ve Kir 6.2'den oluşur. Gözenek oluşturan alanın tetramerik yapısı, karışık heteromultimerlerin oluşması olasılığına yol açar [46].

ABCC protein alt ailesinin sülfonilüre reseptörleri (SUR1, *ABCC8* ve SUR2, *ABCC9*) ile gözenek oluşturucu içe doğru doğrultucu gen ailesinin (*Kir6.1*, *KCNJ8* ve *Kir6.2* *KCNJ11*) birlikte ekspresyonu ile  $K_{ATP}$  kanal aktivitesi yeniden oluşturulmuştur. Bu durum kanal geçit ve gözenek özelliklerinin birçok detayının aydınlatılmasını sağlamıştır. Ek olarak *Kir6.x* ve *SURx* alt birimlerinin, kardiyak ve vasküler  $K_{ATP}$  oluşturulmasındaki temel rolleri tanımlanmıştır. Ayrıca farelerde genetik silme veya mutasyonların olumsuz sonuçları fark edilmiştir. Bununla birlikte, tüm bu bilgi birikimine rağmen  $K_{ATP}$ 'nin henüz tanımlanmış rolleri yetersizliğini korumaktadır [47]. Kanonik ATP'ye duyarlı potasyum ( $K_{ATP}$ ) kanalları, düzenleyici SUR alt birimleri, membran proteinlerinin ATP bağlayıcı kaset ailesinin (ABC) yeleri ile ilişkili gözenek oluşturan *Kir6* kanal oluşturan alt birimlerin heterooktomerik kompleksleridir. Dört gözenek oluşturucu *Kir6* alt birimi kompleksin merkezinde düzenlenmiştir ve dört düzenleyici SUR alt birimi ile çevrelenmiştir ve yaklaşık 950 kDa'luk bir makromoleküler düzenek üretilmiştir. İki *Kir6* kodlayan gen, *KCNJ8* (*Kir6.1*) ve *KCNJ11* (*Kir6.2*) ve iki SUR genleri, *ABCC8* (SUR1) ve *ABCC9* (SUR2), memeli  $K_{ATP}$  alt birimlerini kodlar [48-51]. Aynı zamanda alternatif RNA ekleme, kanal kompleksinde farklı fizyolojik ve farmakolojik özellikler veren oklu SUR protein varyantlarına (rn., SUR2A ve SUR2B) yol açabilir [52-53]. *Kir6.2* ve SUR1 genleri insan kromozomu 11p15.1, üzerinde yanyana konumlandırılmıştır, bu da gen seviyesinde henüz tartışılmamış bir korelasyon olduğunu düşündürmektedir. Ek olarak, *Kir6.1* ve SUR2 için genler, aynı zamanda bir evrimsel çoğaltmayı kapsayan 12p12.1 kromozomu üzerinde birbirine bitişiktir. Heterolog ekspresyon sistemlerinde hem *Kir6.2* hem de SUR1 alt birimleri fonksiyonel  $K_{ATP}$  kanalını oluşturmak için 4:4 stokiyometride bulunur [54-56]. Benzer Şekilde biyokimyasal alışmalar SUR2 protein varyantlarının, SUR2A ve SUR2B'nin, muhtemelen benzer bir oktamerik düzenlemede *Kir6* alt birimleri ile birlikte kalıplanabileceğini göstermektedir (Şekil 2.1.) [57-59].



**Şekil 2.1.** Kardiyovasküler K ATP kanalları. A, Kir6 alt birimleri kanal gözenegini ve SUR alt ünitelerini düzenleyicidir. Her kanal 4 Kir6 alt ünitesi ve 4 SUR alt biriminin fonksiyonel bir oktameridir. B, Kanalın metabolik olarak kontrol edilen kapısı, iç boşluğun sitoplazmik ucunda bulunur. ATP, Kir6 alt ünitelerine bağlanır ve bu, kanal kapanmasına enerjik itmeyi sağlar. MgATP, SUR alt birimlerinde NBF1-NBF2 arayüzünde oluşturulan ATP-bağlama bölgelerine (ABS'ler) bağlanır. ATP hidrolizi, ATP inhibisyonunu geçersiz kılmak için iletilen konformasyonel bir aktif duruma yol açar. Aktive edilmiş durum, ADP ayrışması ile devam eder ve ADP'nin yeniden birleştirilmesiyle muhafaza edilebilir. Ek olarak, ATP önleyici alanın yakınındaki bir alanda PIP2 etkileşimi, kanalları açmak için enerjisel bir çekiş sağlar ve sırasıyla SUR alt birimi ile etkileşime giren sülfonilüreler (SUR) veya K kanal açıcılar (KCO), kanal kapanmasına veya açılışına olanak sağlarlar. C, İnsan K ATP gen yapısı. ABCC8 (SUR1) ve KCNJ11 (Kir6.2) kromozom 11p'ye hemen bitişiktir, ABCC9 (SUR2) ve KCNJ8 (Kir6.1) kromozom 12p'ye bitişiktir. D, Kardiyovasküler sistemde KATP kanalı alt ünite dağılımı [47].

Kir 6.1 ve Kir 6.2, fonksiyonel kanallar üretmek için kolayca bir araya getirilebilirler ve bu tür fenomenler, doğal dokularda görülen nükleotitle düzenlenmiş potasyum akımlarının çeşitliliğine katkıda bulunabilir.

K<sub>ATP</sub> kanalları, akut metabolik strese karşı korunmaya katkıda buldukları beyin, kalp, iskelet ve düz kaslar dahil olmak üzere diğer organ ve dokularda eksprese edilir [60,61].

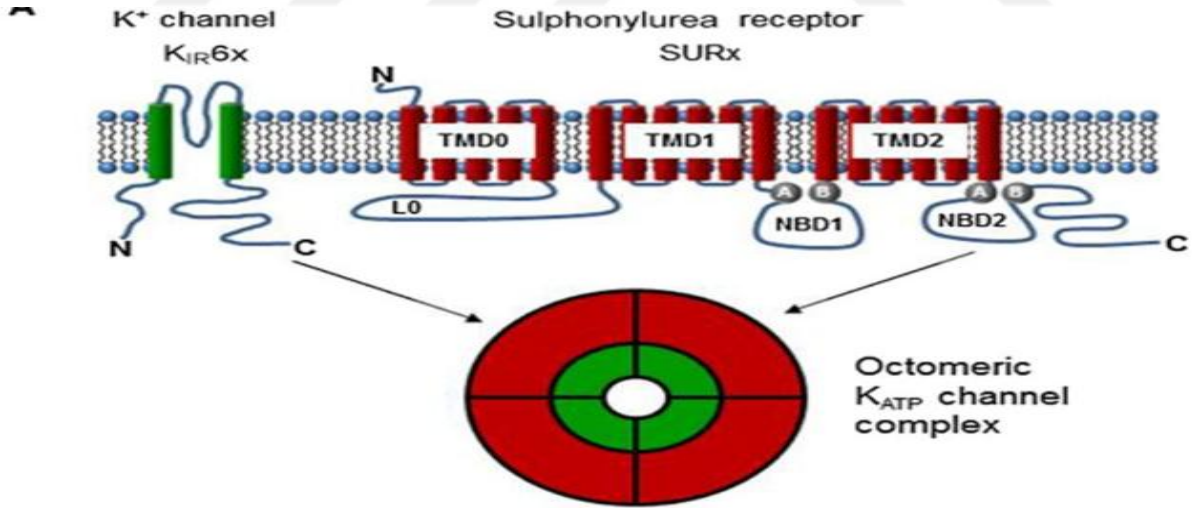
SUR, iki transmembran alanı (TMD1 ve TMD2) ve iki sitoplazmik nükleotid bağlama alanı (NBD1 ve NBD2) ve ilave bir N-terminali TMD0 ile ABC taşıyıcılarının tipik yapısını

muhafaza eder. TMD0'nın Kir6 nın izlediği yolun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. TMD0 ayrıca Kir6 alt birimi ile sıkı bir fiziksel etkileşim içinde yer alır [62,63].

Karakteristik olarak, SUR, sırasıyla beş (TMD0), altı (TMD1) ve altı (TMD2) sarmaldan oluşan üç bölgeye gruplanmış 17 transmembran segmentine sahiptir. N-terminali hücre dışıdır ve bu alanların her biri hücre içi bağlayıcılar ve son olarak bir hücre içi C-terminusu ile bağlanır. TMD1-TMD2 ve C-terminali, Walker A ve Walker B motifleri ve ATP bağlanması ve hidrolizi gösteren bağlayıcı bölgeleri olan nükleotid bağlayıcı bölgeleri (NBD'ler) içerir [64].

SUR1/KIR6.2 nöronal/pankreatik beta-hücre kanalını yeniden yapılandırırken, SUR2A/KIR6.2 ve SUR2B/KIR6.1 (veya KIR6.2) kardiyak ve vasküler düz kas tipi  $K_{ATP}$  kanallarını yeniden oluşturmak için önerilmiştir [65].

İnsan Kir6 proteininin iki izoformu mevcutken (Kir6.1 ve 6.2), SUR proteininin  izoformu bilinmektedir. SUR1 çoğunlukla pankreatik  $\beta$ -hücrelerde ve esas olarak Kir6.2 ile nöronlarda eksprese edilir. SUR2A esas olarak Kir6.2 ile kardiyak ve iskelet kaslarında bol miktarda bulunur ve SUR2B çoğunlukla Kir6.1 ile düz kasta bulunur. SUR izoformları çok yüksek bir homolojiye sahip olsa da,  $K_{ATP}$  komplekslerine spesifik özellikler kazandırırılar. rnek olarak, SUR1-Kir6.2 pankreas kanalları kısmen dinlenirken, SUR2A-Kir6.2 kanalları çoğunlukla kapalıdır ve SUR izoformlarının Kir6.2 ile eşleşmesi arasındaki farklılıklarla ilgili bir sapma vardır (şekil 2.2.) (Tablo 2.1.) [66].



**şekil 2.2.**  $K_{ATP}$  kanalının moleküler temeli.  $K_{ATP}$  kanalları KIR 6x (6.1 veya 6.2) ve SUR alt ünitelerinden oluşur. KIR 6x bir tetramerik düzeneği, alt birimleri, hücre içi, N- ve C-terminalinde ve  $K^+$  seçicilik dizisi ile bir kanal gözeneği oluşturur. SUR,  alana bölünmüş 17 transmembransegmentine sahiptir, Olgun  $K_{ATP}$ kanalı, KIR 6x ve SURx alt birimlerinin bir hetero-oktamerik yapısıdır [67].



**Tablo 2.1.** K<sub>ATP</sub> Kanalı Alt Birim Genleri [66]

PROTEİN	GEN		KOROMOZOM	EKZON
Kir6.1	KCNJ8	Potasyum içe doğru kanal rektifi, alt aile J, üye8	12p11.23	3
Kir6.2	KCNJ11	Potasyum içeriye doğru yönlendirme kanalı, alt aile J, üye 11	11p15.1	1
SUR1	ABCC8	ATP bağlayıcı kaset, alt aile C (CFTR / MRP), üye 8	11p15.1	40
SUR2	ABCC9	ATP bağlayıcı kaset, alt aile C (CFTR / MRP), üye 9	12p12.1	40

## 2.6. K<sup>+</sup> Kanal Fonksiyonunun Aritmilere Katkısı

Membran potansiyeli ve refrakterlik üzerindeki etkilerinden dolayı K<sup>+</sup> akımları aritmojenizde önemli bir rol oynar. K<sup>+</sup> akımlarındaki bir artış aktif potansiyel süresini (APD) kısaltmakta ve böylece yeniden giriş yapılmasını kolaylaştırmaktadır. Tersine, K<sup>+</sup> akım amplitüdüleri, kontrastlı bir sonuçla APD'yi uzatırken, ılımlı uzama, refrakter bir durumda miyokardı korur ve aslında anti-aritmik bir mekanizma (Vaughan Williams'ın sınıflandırmasına göre sınıf III anti-aritmik etki) olarak kabul edilir, aşırı uzama “torsades de pointes” aritmileri (TdP) tetikleyebilecek olan erken depolanmalardan sonra ortaya çıkar. Bu aritmi formu kendiliğinden düzelebilir veya ani kardiyak ölümle sonuçlanan ventriküler fibrilasyona dönüşebilir. Bu nedenle, K<sup>+</sup> kanal fonksiyonunun hem kazanımı hem de kaybı aritmiye yol açabilir. K<sup>+</sup> kanallarının arızalanması, alt birimlerden herhangi biri için kodlama genlerindeki mutasyonlar, ilaç eylemleri veya kalp hastalığına adaptasyonda yeniden yapılanma gibi çeşitli nedenlere bağlı olabilir [68].

### 2.6.1. K<sup>+</sup> Kanal Mutasyonlarının Aritmojenik Potansiyeli

Aritmilere bağlı K<sup>+</sup> kanal kodlama genlerinde tanımlanan mutasyonların sayısı hızla artmaktadır. Missense mutasyonlarının sonuçları arasında hatalı protein katlanması ve alt üniteler arasındaki ortak düzenlenmenin bozulması ve dolayısıyla erken bozulma, geçişte bozulma veya plazmormal entegrasyondaki bozulmalar, değiştirilmiş voltaj bağımlılığı veya kanalın bozulmuş iyon seçiciliği yer alır. Bu olumsuz etkiler K<sup>+</sup> akımlarını repolarize eder ve böylece repolarizasyon sürecini geciktirir. Elektrokardiyogramda ortaya çıkan uzun kardiyak APD veya uzun QT aralığı, bir hastayı TdP aritmilerine yönlendirir. Bu nedenle, kalıtsal uzun-QT sendromu (LQTS) olan hastalar ani kardiyak ölüm riskini artırmaktadır. KvLQT1 için genlerdeki mutasyonlar (IKs) ve hERG (IKr), tüm kalıtsal LQTS'lerin 80-90'ını oluşturur, ancak LQTS'e neden olan mutasyonlar, diğer iyon kanallarında, iyon idaresinde veya ilgili proteinlerde de

keşfedilmiştir. Belirtildiği üzere hERG ve KvLQT1'deki nadir fonksiyon kaybı mutasyonları kardiyak AP'leri kısaltır ve potansiyel olarak öldürücü aritmilere (kısa-QT sendromu) yol açar [68].

## 2.7. $K_{ATP}$ Kanal Alt Birimlerinin Kardiyovasküler Doku Dağılımı

### 2.7.1. Kardiyak Miyositler

SUR2A, SUR2B ve SUR1'in yanı sıra Kir6.1, Kir6.2 ve SUR1, SUR2'nin ek potansiyel ekleme varyantları da kalpte ifade edilir. SURx: Kir6.x tetramerlerinin herhangi biri parçalanabilir. Heterolog olarak ifade edildiğinde ve tek bir kanalda >1 SUR izoformu veya Kir6 izoformunun bile var olabileceği göz önüne alındığında, belirli hücre tiplerinde kanalın moleküler yapısını belirleyen bir sorundur [69-72]. SUR1 ve Kir6.2 fare kalplerinde SUR1 ve Kir6.2'nin atriyal miyosit sarkolemmal  $K_{ATP}$ 'nin ana bileşenleri olduğu, SUR2A ve Kir6.2'nin ise ventriküler  $K_{ATP}$ ' de olduğuna dair iyi kanıtlar vardır [73,74]. Ancak, insanlar da dahil olmak üzere daha büyük hayvanların kalplerinde, hem SUR1 hem de SUR2A alt birimleri muhtemelen hem atriyal hem de ventrikül miyositlerinde sarkoidmal kanallara katkıda bulunur. Düğüm ve iletim hücreleri de dahil olmak üzere kalbin kritik alt bölgelerinde durum daha da karmaşık olabilir. Kalp atışı ve iletim sistemleri boyunca  $K_{ATP}$  kanal akımları tespit edilmiştir ancak tavşan sino-atriyal düğüm hücreleri ve fare iletim hücrelerindeki  $K_{ATP}$  tek kanallı iletkenler, ventriküler miyositlerden daha küçük olabilir. Bu öneri Kir6.1'in kanal gözenegini oluşturmasında olası bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Kanal gözeneginin oluşturulmasında Kir6.1 gerekli iken Kir6.2/-sino-atriyal düğüm hücrelerinde Kir6.2 için gerekliliği gösteren sarcolemmal  $K_{ATP}$  kaldırılmıştır.  $K_{ATP}$ 'nin bu dokulardaki SUR bileşeninin kimliği bilinmemekle birlikte, bu hücre tiplerindeki  $K_{ATP}$  kanalları nispeten SUR2'ye özgü açıcılar olan kromakalim ve pinasidil'e yanıt verir, bu da  $K_{ATP}$  kanallarında SUR2 için önemli bir rol olduğunu gösterir [75-78].

### 2.7.2. Düz Kas Miyositleri

$K_{ATP}$  kanal yoğunluğu, vasküler düz kasta (VSM) kardiyak miyositler ile karşılaştırıldığında nispeten düşüktür [79,80]. Vasküler yataklarda  $K_{ATP}$  alt tiplerinin değişken ekspresyonunu yansıtan biyofiziksel ve farmakolojik özellikler oldukça değişkendir. Burada rapor edilen tek kanal iletkenliklerinde önemli değişiklikler vardır. Kanal iletkenleri, düşük iletkenlik kanallarına (20–50 pS arasında tekli iletkenlik) baskın  $K_{ATP}$  kanal alt tipini temsil etse de orta iletkenlik ve yüksek iletkenlikli  $K_{ATP}$  kanallarının daha sınırlı bir dağılımı vardır [79-88]. (sırasıyla 50–70 pS ve >200 pS) 55 Klasik  $K_{ATP}$  kanallarından farklı olarak veya pankreas, baskın VSM  $K_{ATP}$  iletkenleri izole membran yamalarında etkisizdir ve açmak için  $Mg^{2+}$  varlığında nükleotid difosfatlar (ADP, UDP, GSYİH) gerektirir [69]. Bu da nükleotid bağımlı  $K^+$ kanalları

veya KNDP kanalları olarak fonksiyonel olarak adlandırılmasına yol açar [86,87]. Heterolog olarak ifade edilen Kir6.1/SUR2B kanalları doğal VSM  $K_{ATP}$ /KNDP'nin biyofiziksel özelliklerinin çoğunu özetler. Bu biyofiziksel özelliklerinin çoğunu portal venindeki VSM  $K_{ATP}$ 'nin bir alt popülasyonu eksize edilmiş membran yamalarında kendiliğinden aktivite gösterir ve inhibitör ATP'ye yüksek hassasiyet gösterir ( $K_{1/2} \text{ ATP} = \approx 20 \mu\text{mol/L}$ ) ve daha yüksek üniter iletkenlik Kir6.2/SUR2A'ya bağlı bağımlı  $K_{ATP}$  kanallarını anımsatır. Böylece Kir6.1/SUR2B kanalı baskın VSM  $K_{ATP}$ 'yi temsil edebilir, ancak diğer alt tipler de muhtemelen özel vasküler yataklarda ayrı ayrı veya Kir6.1/SUR2B alt üniteleriyle birlikte ifade edilir [89-92].

### 2.7.3. Vasküler Endotelyum

$K_{ATP}$  kanalları vasküler endotelyumda da bulunurlar. Endotel elektrik aktivitesini düzenleyerek düz kas fonksiyonunu modüle eden vasoaktif ajanların salınımını etkileyebilirler. Potasyum kanal açıcılar (KCO) ile aktivasyon ve glibenklamid tarafından inhibisyon koroner endotelyum ve aort endotelyal hücrelerde gösterilmiştir. Endotelyal  $K_{ATP}$  kanallarının moleküler bileşimi büyük ölçüde bilinmemektedir, ancak kobay farelerinde ve insan koroner arter endotelyal hücrelerinde Kir6.1, Kir6.2 ve SUR2B mRNA'nın varlığı bu 3 hücrenin tümünün bu hücrelerde kanal oluşumunda rol oynayabileceğini düşündürmektedir [93-96].

### 2.7.4. Mitokondriyal $K_{ATP}$

Bir  $K^+$  seçici küçük iletken kanal ilk olarak sıçan karaciğeri mitokondrisinde tanımlanmıştır. ATP, glibenklamid ve 4-aminopiridin (4-AP) uygulanarak geri çevrilebilir şekilde inhibe edilebildiği gösterilmiştir. Bu mito $K_{ATP}$  kanalları acyl-coA tarafından inhibe edilip, GTP, GDP ve diazoksit tarafından aktive edilmiştir [97-99]. Heterolog olarak ifade edilen SUR1/Kir6.1 komplekslerinin farmakolojisi bu gibi özelliklere çok benzemektedir. Ancak mito $K_{ATP}$  işlevi, Kir6.1<sup>-/-</sup> ve Kir6.2<sup>-/-</sup> hayvanlarında açıkça görülmemektedir ve belirli SUR veya Kir6 alt birimlerinin normal olarak mitokondri içerisinde bulunup bulunmadığının belirlenmesi çabaları tutarsız sonuçlar vermiştir [100-105].

Chutkow ve ark., SUR2'nin (NBF1) SUR2'nin 12-16 ekzonlarının silinmesiyle bozulduğu bir SUR2 nakavt fare yaratmıştır [106]. Bu SUR2<sup>-/-</sup> fareleri kullanılarak yapılan deneyler, izole edilmiş sarkolemmal membran yamalarında yeni glibenklamid duyarsız kanallar ortaya çıkarmıştır ve SUR2 proteininin spesifik bölgelerine karşı geliştirilmiş antikolar, yeni kanalların NBF1'den yoksun olan kısa SUR2 yapılarından oluştuğunu göstermiştir. Aynı gruptan sonraki çalışmalar, bu proteinlerin mitokondride eksprese olabileceğini göstermektedir. SUR2<sup>-/-</sup> farelerinin global iskemiden kaynaklanan (SUR1<sup>-/-</sup> fareler için de bildirildiği gibi) miyokard enfarktüsüne karşı korunduğunu (SUR-bağımlı) sarkolemmal  $K_{ATP}$  kanallarının açılmasının iskemide koruyucu bir mekanizma olduğu genel olarak kabul edilen görüş ile tutarsızdır. Daha

sonraki bir grup çalışması, tam uzunlukta SUR2A'nın yeniden ekspresyonunun iskemiden iyileşmeyi iyileştirdiğini gösterdi. SUR2<sup>-/-</sup> hayvanların wild-type gelişiminin bir şekilde kısa biçimli SUR2 yapılarının bir sonucu olduğu tartışmaya yol açmıştır [85]. Bunların mitokondride artmış olma ihtimali daha sonra bu hayvanlarda gelişmiş mitokondriyal enerjileri açıklayabilir [107-109].

Mitokondride kanonik SUR veya Kir6 alt birimlerinin henüz doğrulanmış olmayışı mitoK<sub>ATP</sub> yapısına ilişkin alternatif hipotezlere yol açmıştır. K<sub>ATP</sub> kanallarının açılmasının yanı sıra diazoksit sksinatdehidrojenazı da inhibe edebilir. Hem Krebs siklusu hem de elektron taşıma zincirinin bu kilit enziminin mitoK<sub>ATP</sub> kanalının bir bileşeni olabileceği, Ardehali ve ark.'nın fikrine uygun olarak diazoksit aktivasyonu ve 5-hidroksidekanoat inhibisyonu da dahil olmak üzere mitoK<sub>ATP</sub> aktivitesinin tekrarlanan makromoleküler bir kompleks olduğunu saptamışlardır. Kompleks sksinatdehidrojenaz, mitokondriyal ATP bağlayıcı kaset protein-1 (mABC-1), ATP sentaz, adenin nükleotid translokaj ve fosfat taşıyıcı proteinleri içerir fakat kanal gzeneğini hangi bileşenin oluşturması gerektiği henüz açık değildir. Bildirilen kayıtlar, kısa dönemler boyunca sadece tek kanal aktivitesini göstermektedir. Takip alışmaları henüz ortaya çıkmamıştır [110-112].

En son olarak, saflaştırılmış sığır mitokondriyal i zarların proteomik analizi, bir N-terminal mitokondriyal hedefleme sinyali ve mitokondriyal ATP sentaz  $\beta$  ile tam uzunlukta bir epitop (bir antikorum kendisine bağlandığı bir antijen molekülünün parçası) etiketli ROMK2'nin kolokalizasyonu içerdiği için KCNJ1 geninin bir kısa biçim (ROMK2) rnn tanımlamıştır. Ek deneyler nispeten spesifik bir ROMK engelleyicinin tersiyer Q'nun izole mitokondriyadaki mitoK<sub>ATP</sub> aktivitesinin fonksiyonel analizlerini inhibe ettiğini ve mitokondriyal talyum tutulumunun diazoksit ile aktive edilen bileşenini inhibe ettiğini göstermiştir. Bu alışmalar bağımsız bir onay beklemesine rağmen mitoK<sub>ATP</sub> kanalını oluşturmada ROMK2 (Kir1) alt birimlerinin rolünü ifade eder (Tablo 2.2).

**Tablo 2.2.** Kardiyovasküler Farklı Doku Tiplerinde ve Mitokondride Bulunan K<sub>ATP</sub> Kanallarının Moleküler Bileşimi [87].

Doku	Alt Birim Bileşimi
Karıncık	Kir6.2 / SUR2A
İletim sistemi	Kir6.2 / SUR2A
Atriyum	Kir6.1 / Kir6.2 / SUR2B
Düz kas	Kir6.2 / SUR1 / SUR2A
Mitokondri	Kir1.1 ve / veya SUR2A

## 2.8. $K_{ATP}$ Kanallarının Keşfedilmesi

1964 yılında kalp dokusundaki voltaj-kelepçe tekniğinin ilk kullanımından bu yana, kardiyak uyarımın iyonik doğasının tanımı, kısmen kayıt ekipmanlarının teknik sınırlamalarından dolayı, kısmen kardiyak doku karmaşıklığı ve çok hücreli doğası nedeniyle problemler ile doluydu [113]. 1980'lerin başında enzimatik olarak izole edilmiş  $Ca^{2+}$  duyarlı kardiyak miyositlerin başarılı bir şekilde izole edilmesi ve sıkı sızdırmazlık, tek elektrot yama-kelepçe tekniğinin kullanılmasıyla kardiyak elektrofizyolojisinin keşfini hızlandırmıştır [114-116].

Sonraki dönemlerde daha hızlı ilerlemeler kaydedilmiştir.  $Ca^{2+}$  kanallarının yapısının açıklanması ve cAMP ile düzenlenmesi, nodal (boğum/düğüm) dokuda asetilkolin ile aktive edilmiş bir  $K^+$  kanalının tarifi gibi çok sayıda yeni çalışmalar gerçekleştirilmiştir [117,118].

Bunların dışında 1980'lerin başındaki diğer yeni gelişmeler arasında dinitrofenol (DNP) tarafından metabolik inhibisyonun zamandan bağımsız dışa doğru  $K^+$  akımının aktivasyonu sayesinde izole ventrikül miyositlerinin aksiyon potansiyeli kısılmasına yol açtığı gösterilmiştir. Ventriküler miyositlerde yapılan sarcolemmal plazmalemmal ATP'ye duyarlı  $K^+$  kanalının tanımları metabolik olarak aktif dış  $K^+$  akımının temelini oluşturan üniter kanal olayları hakkında eşsiz bilgiler vermiştir.  $K_{ATP}$  kanallarının daha sonra birçok doku tipinde varlığı bulunmuştur. Böylece insan fizyolojisi ve patofizyolojisinde farklı rollere sahip oldukları gösterilmiştir [119].

### 2.8.1. Hücre İçi ATP- $K_{ATP}$ Kanalı İlişkisi

Kesilmiş bir zar yamasının sitozolik yüzünde ATP varlığında büyük ölçüde azalması  $K_{ATP}$  kanallarının kendine has tanımlayıcı bir özelliği olduğunu açıkça kanıtlar. Diğer  $K^+$  kanalları tipleri sitozolik ATP'ye genellikle duyarsızdır. Farklı olarak renal Kir1 alt familyasının (örn., ROMK1 kanalı) üyeleri ve retinal Kir4 alt familyasının üyeleri gibi bazı  $K^+$  kanalları ise sitozolik ATP ile aktive edilir [120-123].  $K_{ATP}$  kanallarında, kanalın açılma olasılığı ile ATP konsantrasyonu arasında ters bir ilişki vardır. Kardiyak ventriküler miyositlerden elde edilen internal-out (iç yüzey dışa doğru dönük) membran yamaları ile yapılan ilk çalışmalarda, yarı maksimal parça üretmek için gereken ATP konsantrasyonunun  $\sim 100 \mu M$  olduğu tespit edilmiştir. Kanal ayrıca hidrolizlenemeyen ATP analogları tarafından veya  $Mg^{2+}$  yokluğunda da bloke edilebilir, bu da kanal bloğu için ATP hidrolizinin gerekli olmadığını gösterir [124-127].

Serbest adenzindifosfatın (ADP)  $K_{ATP}$  kanalını bloke edebilmesine rağmen  $Mg^{2+}$  'nin kanalın ADP'ye karşı tepkisini düzenlediği anlaşılmıştır. Fakat bu durum ATP'den daha az etkili olmuştur [128].

ADP yerine adenzinmonofosfatın (AMP) enerji metabolizmasındaki değişiklikleri ve metabolik yolları düzenlemek için anahtar rol oynadığı daha fazla kabul görmektedir. İyi

oksijenlenmiş hücrelerde AMP seviyelerinin çok düşük seviyelerde tutulmasının nedeni reaksiyonun sağdan sola doğru çalışmasıdır. Bu da ADP/ATP oranının yaklaşık 1:10 olmasını ve ADP'nin karesi olarak değişen bir AMP/ATP oranının olmasını sağlar. ATP tüketimi hücrel stres sırasında üretimi aştığında, ADP/ATP oranı artar, ancak AMP/ATP oranı daha fazla artar. Böylece hücre içi AMP konsantrasyonu ATP veya ADP'ye göre çok daha belirgin olarak değişir [129,130].

### 2.8.2. Kir6.X Alt Birimleri

Çeşitli yaklaşımlarla gerçekleştirilen çok sayıda çalışma, Kir6 alt familyası üyelerinin (Kir6.1 ve Kir6.2)  $K_{ATP}$  kanalının gözenek oluşturan bileşenleri olduğunu ortaya koymuştur. Kir6 alt familyasının ilk üyesi (başlangıçta uKATP-1 olarak adlandırılan Kir6.1), bir fare pankreatik cDNA kütüphanesinin bir GIRK1 (Kir3.1) probu ile taranması yoluyla homoloji klonlama prosedürleri ile tanımlanmıştır. Kir6.1, her yerde bir doku ekspresyon dağılımına sahip olduğu tarif edilmiştir. Kir6.1 ve daha önce tanımlanan Kir alt familya üyeleri arasındaki düşük amino asit özdeşliği, bu alt birimin yeni bir alt familya olan Kir6'ya yerleştirilmesinden sorumlu olmuştur. Kir6 alt familyasının ikinci üyesi (Kir6.2; başlangıçta BIR veya  $\beta$ -hücreli içe doğrultucu olarak adlandırılır) daha sonra bir insan genomik kütüphanesinden bir sonda olarak Kir6.1 kullanılarak homoloji klonlaması ile tanımlanmıştır. Kir6.2 mRNA ekspresyonu pankreas  $\beta$ -hücresi, kalp, iskelet kası ve beyinde bulunmuştur [131,132]. Topoloji analizi, Kir6.x alt ailesi üyelerinin her birinin hücre içi  $NH_2$  ve  $COOH$  uçları olan iki transmembran bölgesine sahip olmasını öngörmektedir. İnsan Kir6.1 (Genbank erişim numarası NP\_004973) ve insan Kir6.2 (NP\_000516) arasında %71 oranında bir amino asit kimliği (%85 benzerlik) vardır. Aminoasit farklılıkları çoğunlukla  $NH_2$  ve  $COOH$  termininde ve ekstraselüler bölgede (M1 ve M2 arasında) meydana gelir, burada Kir6.1 bu bölgeye 9-amino asit eki içerir. Kir6.1 ve Kir6.2 memeli türleri arasında iyi korunmuştur.

### 2.8.3 Düzenleyici Alt Birim: Sülfonilüre Reseptörleri

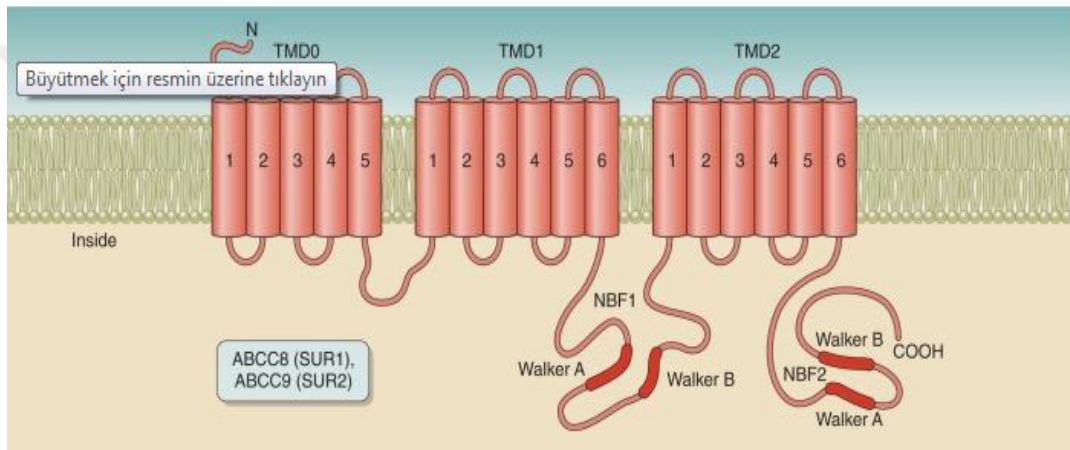
Kir6 alt birimleri, bir yardımcı sülfonilüre reseptörü (SUR) alt biriminin varlığının fonksiyonel bir kanal oluşturmak için mutlak bir gereklilik olması nedeniyle  $K^+$  kanal alt birimleri arasında benzersizdir. SUR1 ilk olarak glibenklamid (antidiyabetik sülfonilüre) ile foto-etiketleme, dejenere PCR ile ve sıçan insüliniomu (RINm5F) ve hamster insülin salgılayan tümör hücresi (HIT T15) cDNA kütüphanelerinin taranmasıyla tanımlanmıştır. Northernblot analizi pankreas, beyin ve kalpte yüksek SUR1 mRNA ekspresyonu göstermiştir. SUR2A (ABCC9 geninin ana ekleme varyantlarından biri), SUR1 kullanılarak bir prob kullanılarak sıçan beyninin ve kalp cDNA kütüphanelerinin homoloji taraması ile tanımlanmıştır [133]. Fare kalp cDNA kütüphanelerinin diferansiyel görüntüleme PCR ve RACE amplifikasyonu ile ikinci bir

büyük ekleme varyantı (SUR2B) tanımlanmıştır. SUR2A mRNA düzeylerinin kalpte, iskelet kasında ve yumurtalıkta ve beyin, dil ve pankreatik adacıklarda (insülin salgılayan hücre çizgilerinde ifade edilmemiş olsa da) orta düzeyde yüksek olduğu, SUR2B'nin ise her yerde ifade edildiği bildirilmiştir [133,134]. Diğer ekleme varyantlarının hem SUR1 hem de SUR2 için mevcut olduğu dikkate alınmalıdır, fakat bunlar ayrıntılı olarak incelenmemiştir ve yayınlanmış literatür büyük ölçüde tam uzunlukta SUR1, SUR2A ve SUR2B'ye odaklanmaktadır [135-137].

SUR proteinleri, ATP bağlayıcı kaset (ABC) proteinlerine üstaile olarak aittir ve sarcolemmal/plasmalemmal  $K_{ATP}$  kanal proteini kompleksinin alt birimleri olarak oluşturulmuştur. ABC proteinlerinin çoğu ATP hidrolizi pahasına hücre membranları boyunca çeşitli molekülleri taşır. Bu proteinlerin tanımlayıcı bir özelliği, 90-120 amino asit ile ayrılan karakteristik Walker A ve B motiflerini içeren nükleotid bağlayıcı kıvrımlar (NBF'ler) olarak bilinen hücre içi ATP-bağlama alan (lar) ının varlığıdır. Yedi memeli ABC gen alt aileleri vardır. SURx proteinleri, CFTR'yi (veya ABCC7'yi) de içeren ABCC alt familyasına aittir. SURx proteinleri, üç alanda düzenlenmiş 17 transmembran bölgesine sahiptir: TMD0, TMD1 ve TMD2, sırasıyla 1-5, 6-11 ve 12-17 transmembran segmentlerinden oluşur. Başlangıçta çoklu ilaca dirençli proteinlerle dizi karşılaştırması ile önerilen bu topoloji, deneysel olarak doğrulanmıştır [138,139].

Belirtildiği üzere iki büyük SUR2 ekleme varyantı vardır: SUR2A ve SUR2B. İki varyant, alternatif ekson kullanımı nedeniyle distal COOH terminal 42-amino asit kalıntılarında birbirinden farklıdır [133,140]. Bu oldukça küçük fark, önemli fonksiyonel çeşitliliğe yol açar. Örneğin, pinasidil, SUR2A/Kir6.2 ve SUR2B/Kir6.2  $K_{ATP}$  kanallarını benzer potansiyele sahip olarak aktive eder buna karşılık nicorandil SUR2B / Kir6.2 kanalını SUR2A/Kir6.2 kanallarından 100 kat daha güçlü bir şekilde aktive eder. Kir6.2/SUR2B kanalları, sitosolik MgADP ile Kir6.2/SUR2A kanallarından daha etkin bir şekilde aktive edilir. Ayrıca bazal koşullar altında diazoksit gibi  $K_{ATP}$  kanal açıcılar tarafından Kir6.2/SUR2B kanalları kuvvetle aktive edilirken, diazoksidin Kir6.2/SUR2A  $K_{ATP}$  kanallarını aktive etmesi için yüksek sitosolik MgADP seviyeleri için bir gereksinim vardır [141-143]. SUR2A ve SUR2B'nin doku dağılımları da ayrıdır. SUR2A kardiyak ventrikülde (kemirgen atriyumunda değil), iskelet kasında, yumurtalıkta, beyin nöronlarında, dil ve pankreatik adacıklarda orta düzeyde yüksek düzeyde eksprese edilir [133,144,145]. SUR2B, vasküler düz kas, kalp, kardiyak özel iletim sistemi miyositleri, vasküler endotelyum, akciğer epitelyumu, kıl folikülleri, renal proksimal tübüller, renal tübüler epitel hücreleri, mikroglia, astrositler ve dentatgiruslarda daha yaygın olarak ifade edilir [86,145]. SUR2A ve SUR2B'nin farklı doku dağılımlarından sorumlu transkripsiyonel mekanizmalar açıklığa kavuşturulmaya devam etmektedir.

Nükleotid bağlanma alanları; SURx proteinleri iki NBF'ye sahiptir; NBF1, TMD1 ve TMD2 arasında bulunurken NBF2, TMD2'ye COOH terminalidir [Şekil 2.3.]. Nükleotid hidroliziyle ilişkili Walker A ve Walker B motifleri, NBF'lerin her birinde bulunur ve tipik nükleotid bağlanma alanlarıdır. Bir Walker A motifi için konsensus dizisi G-X-X-X-G-K- [TS] şeklindedir. Yüksek oranda korunmuş olan lizin (K) kalıntısı, bağlı nükleotitin a- ve P- fosfatlarının oksijen atomları ile hidrojen bağları oluşturur. Walker B motiflerindeki aspartat artığı (konsensus sekansı [RK] -4X-G-4X-L-4Φ-D) Mg<sup>2+</sup> bağlanmasını koordine eder. Yrte Mutajenezi (rneğin, K719 ve K1384, sırasıyla, SUR1'in NBF1 ve NBF2'sinde) veya Walker B asparati kalıntıları (rn., SUR1'in D854') içindeki bir lizin tortuları, KATP kanal fonksiyonunun bazı yönlerini bozar [147-149].



**Şekil 2.3.** ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı ailesi, 48 alt aile üyesinden oluşan 7 alt aileden (ABCA-ABCG) oluşmaktadır. (rneğin, "yarı taşıyıcı" membran topolojisi ABCG ailesi), bir NH<sub>2</sub> sahip terminal nükleotid bağlanma katlaması (NBF), 6TM ve hücre içi bir COOH terminusu. "Tam taşıyıcılar" (ABCC7 veya CFTR gibi) 6 TM alan adının 2 NBF ile birlikte tekrarlanan bir tekrarı olarak görünmektedir [146].

#### 2.8.4. Alt Birim Bileşiminin K<sub>ATP</sub> Kanalının Biyofiziksel ve Farmakolojik zelliklerine Etkisi

Çeşitli hücrelerdeki K<sub>ATP</sub> kanalı alt tiplerinin çeşitliliği, kısmen çeşitli Kir6.x ve SURx alt birimlerinin spesifik kombinasyonları tarafından kaynaklanmaktadır. Örneğin, ventriküler sarkomlemmal K<sub>ATP</sub> kanalları ve pankreas β-hücrelerindeki aynı gözenek oluşturan alt birime (Kir6.2) sahiptir, fakat düzenleyici alt birimin kullanımında farklıdır (kardiyak kanal durumunda SUR2A ve pankreasta SUR1). Atriyal K<sub>ATP</sub> kanalları (en azından kemirgende) SUR1 alt birimlerine dayanıyor gibi görünmektedir. Düz kas KATP kanalları aksine, SUR2B alt üniteleri ile kombinasyon halinde Kir6.1 alt birimlerinden oluşmuş gibi görünmektedir ve endotelial K<sub>ATP</sub> kanalları, düzenleyici SUR2B alt birimleri ile kombinasyon halinde heteromerik Kir6.1/Kir6.2 gözenek oluşturucu alt birimlerden oluşabilir. Mitokondriyal KATP kanallarının



altbirim kombinasyonu çözülmemiştir, ancak Kir1.1 ve/veya SUR2 kısa biçimli ekleme varyantlarının rolleri önerilmiştir.

## **2.9. K<sub>ATP</sub> Kanal Fonksiyonu Düzenleyen Moleküler Mekanizmalar**

### **2.9.1. Kir6 Alt Birimlerinin Sur Alt Birimleriyle Etkileşimi**

Yeni bir radyoyodine edilmiş azidoglibenklamid analogunun, domuz serebral korteksinden izole edilen mikrozomlarda bir ~175 kDa proteini ile etiketlendiği bulunmuştur [150]. İlginç bir şekilde, aynı grup daha sonra SDS-PAGE'den önce “kaynama adımı” nı atlayarak, 38 kDa'lık bir proteinin ortaya çıkarıldığını ortaya çıkarmıştır [151]. Bryan laboratuvarı, Kir6.2 ve SUR1 arasındaki doğrudan fiziksel etkileşim için ilk biyokimyasal kanıtı sağlayan 38 kDa proteininin Kir6.2 olduğunu göstermiştir. İkinci çalışmada, heterolog olarak Kir6.2 ve SUR1 alt birimlerinin (Cosm6 hücrelerinde) 125I-azidoglibenklamid ile etiketlendiği, diğer Kir alt birimlerinin (Kir1.1 veya Kir3.4) ise etiketlenmediği belirtilmiştir. Dahası, Kir6.2 ve bir NH<sub>2</sub>-terminali His-etiketli SUR1, her iki alt birimini ifade eden COSm6 hücrelerinin digitonin ile çözüldürülmüş zarlarından, protein kompleksinin tahmini moleküler kütlesi ~950 Da olacak şekilde, kopyalanabilir [152]. En az dört Kir6.2 ve dört SUR1 alt biriminin bir oktamerik bileşimidir. Anti-Kir6.2 antikorları ile birlikte immüno-çökeltme deneyleri ayrıca, iki alt birimi ve in vitro çevrilmiş Kir6.2 ve SUR2A proteinleri arasında eşzamanlı sentezleyen COS hücrelerinden izole edilen membranlarda Kir6.2 ve SUR1 arasında spesifik bir etkileşimi göstermiştir [153].

Kir6.2 ve SUR1 etkileşimlerinin stokiyometrisi, birlikte sentezleme yaklaşımları ile araştırılmıştır. Seino grubu, akımların 1: 1 stokiyometrik montajı düşündüren art arda dizili Kir6.2-SUR1 alt biriminden oluşan bir eşzamanlı yapı ile transfektede edilmiş COS1 hücrelerinden kaydedilebildiğini bulmuştur [154]. Bryan grubu benzer bir yaklaşım kullanmıştır ve aynı sonuca ulaşmıştır [152]. Shyng ve Nichols bu yaklaşımı, normal olarak zayıf doğrultudaki kanalın kuvvetli düzeltme özelliklerini veren mutant Kir6.2-N160D alt-birimi oluşturarak genişletmiştir. Yabani tip veya Kir6.2-N160D mutant alt birimlerinin veya dimerik (SUR1-Kir6.2) yapıların farklı oranlarının birlikte sentezlenmesiyle, K<sub>ATP</sub> kanal gözeneğinin dört Kir6.2 alt birimi tarafından ve her bir Kir6 tarafından dizildiğini belirleyebilmişlerdir. 2 alt birimi, bir SUR1 alt ünitesinin, bir oktamerik veya tetradimerik (Kir6.2-SUR1) yapıyla tutarlı bir model olan bir fonksiyonel kanal üretmesini gerektirir. Kir6.2-SUR2x kompleksinin de bu oktamerik yapısal organizasyona sahip olduğu varsayılmaktadır [155].

## 2.9.2. Kanal Gözeneği

Bir K<sup>+</sup> kanalının gözeneği, membrana giren kısa bir amino asit bölümü olan TM1 ve TM2 arasında korunmuş gözenek oluşturu bir alandan (veya "P halkası") oluşur. K<sup>+</sup> kanal ana ünitelerinin P alanı, kanal fonksiyonu ve iyon geçirgenliği açısından kritik öneme sahiptir. Mutajenez ve üç boyutlu yapısal çalışmalar, bu alanın kanalın K<sup>+</sup> seçici gözeneğini oluşturduğunu göstermiştir [155-158]. Kv alt birimlerinin P döngüsünün birincil dizisi, T-V-G-Y-G imzası dizisine (standart tek harfli amino asit kodları) sahiptir. Kir alt birimleri için P- döngü "imza dizisi" T-I-G- [YF] -G ile temsil edilir [159].

K<sub>ATP</sub> kanallarını sabit bir yoğunlukta kardiyak miyositlerin yüzeyinde homojen olarak ifade edildiğinde görselleştirmek kolaydır. Bununla birlikte, K<sub>ATP</sub> kanallarının yüzey ekspresyonu, de novo sentezi, montaj, anterograd kaçakçılığı, alt-birim etkileşimi, glikosilasyon, membran ankrajı ve endositik geri dönüşüm gibi posttranslasyonel modifikasyonlar arasındaki ince bir denge ile oldukça kararsız olabilir ve düzenlenebilir.

## 2.10. K<sub>ATP</sub> Kanallarının Çalışması İçin Genetik Fare Modellerinin Kardiyovasküler Fenotipleri

Farelerde gen hedeflemesi, K<sub>ATP</sub> kanallarının fizyolojik ve patofizyolojik fonksiyonlarını aydınlatmak için faydalı olmuştur. K<sub>ATP</sub> kanal alt birimlerinin her birinin ifadesinin ortadan kaldırıldığı ve K<sub>ATP</sub> kanalı alt birimlerinin bir kısmının, dokuya özel bir şekilde transgenik olarak aşırı eksprese edildiği, nakavt fare modelleri geliştirilmiştir.

### 2.10.1. Gözenek Oluşturan Alt Birimler

#### 2.10.1.1. Kir1.1

Kcnj1 geni fare kromozomu 9 üzerinde bulunur ve üç eksonuna sahiptir [160-163]. Ekzon 2'nin farelerdeki hedefe yönelik bozulması, neonatal mortaliteye yol açmakta, ~%95'i ise 3 haftalıktan önce yenik düşmektedir [164]. Hayatta kalan farelerde ciddi böbrek defektleri vardır ve metabolikasidozla, Na<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup> nin düzensiz kan seviyelerinde, kan basıncında polidipsi, poliüri ve kötü idrar konsantrasyonu ile dehidre edilmiştir. Dikkatli üreme ile sağ kalım oranı artırılabilir, ancak böbrek defektleri kalır. Heterozigot Kcnj1<sup>+/-</sup> sıçanları, vahşi tip yavrulardan biraz daha düşük (2-5 mmHg) kan basıncına ve yüksek tuzlu bir diyetle ise daha düşük bir kan basıncına sahiptir [165]. Bu son çalışma, ROMK kanallarının böbrek fonksiyonlarını sürdürmede önemli bir rol oynadığını ve kan basıncı regülasyonunda ROMK kanallarının kritik rolünü ortaya çıkarmıştır. Kcnj1<sup>-/-</sup> hayvanlar için şimdye kadar başka hiçbir kardiyovasküler fenotip (veya mitokondriyal defekt) bildirilmemiştir.

### 2.10.1.2. Kir6.1

Farelerde, Kcnj8 geni 142, 522, 146 ila 142, 528, 581 numaralı lokasyonda kromozom 6 üzerinde bulunur ve üç ekson içerir. Kir6.1'in kodlama bölgesi ekson 2 ve 3'de yer alır. Kir6.1<sup>-/-</sup> faresinde, strateji ekson 3'ün kodlama bölgesini silmek olmuştur. Fenotipik olarak, bu fareler vasküler problemler geliştirir. Vasküler K<sub>ATP</sub> kanallarından yoksundurlar ve insanlarda prinzmetal (veya varyant) anjinaya benzeyen koroner arter vazospazmı geliştirirler [166]. Özellikle düz kas hücrelerinde Kir6.1 eksikliği olan koşullu nakavt fareleri hipertansiftir ve vasküler düz kas hücreleri kan akış kontrolünde Kir6.1'in önemli rolünün altını çizen vazodilatatörlere yanıt vermez [167]. Ayrıca vasküler düz kasta Kir6.1 kazançlı fonksiyon alt birimlerinin transgenik ifadesi ile farelerde hipotansiyon kaydedilmiştir. Bu bulguların önemine rağmen, kardiyak iskemi, reperfüzyon, iskemik önkoşullama gibi patofizyolojik durumlarda kan akışının rolünü araştırmak için Kir6.1<sup>-/-</sup> fareleri veya vasküler Kir6.1 aşırı ekspresyon yaklaşımları kullanılmamıştır. Endoteldeki dominant-negatif, gözenek-mutant, Kir6.1 alt birimlerinin transgenik ifadesi, endotelin-1'in endotelden salınmasında K<sub>ATP</sub> kanalları için bir rol ortaya koymuştur [168]. Endotelin-1'in bu farelerin kalplerinden salınması, artan koroner direnç ile ilişkili olan vahşi tip yavrularla karşılaştırıldığında yükselmiştir. Farelerin bosentan (ET-1 reseptörlerinin bir engelleyicisi) ile ön muamelesi, yükseltilmiş koroner direncini geri getirmiştir. Bu bulgu, endotelial K<sub>ATP</sub> kanallarının açılmasının, henüz belirlenmemesi gereken hücrel mekanizmalar yoluyla ET-1 salımının bastırılması ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Bu son sonucun, mutant alt birimlerin K<sub>ATP</sub> kanal fonksiyonunu ortadan kaldırmak için endojen Kir6.2 ile heteromultimerize olabildiğinden endoteliumda Kir6.1 için özel bir rol anlamına gelmediğine dikkat edilmelidir [169,170].

### 2.10.1.3. Kir6.2

Kcnj11 geni (Kir6.2 alt ünitesini kodlayan) fare kromozomu 25 (pozisyon 19, 105, 218 ila 19, 106, 363) üzerinde bulunur. Kesintisizdir ve silinmek için hedeflenen tüm kodlama bölgesini içerir [171]. Kir6.2, insülin salımını tetikleyen pankreatik  $\beta$ -hücreleri K<sub>ATP</sub> kanalının bir bileşenini oluşturduğundan, bu farelerin diyabetik olması beklenmiştir. Bununla birlikte, Kir6.2<sup>-/-</sup> fareleri büyük ölçüde beklenen hiperglisemik fenotipten yoksundur, fakat Kir6.2'nin glukoz ve sülfonilüre kaynaklı insülin sekresyonunun anahtar regülatörü olduğunu göstermek için kullanılmıştır [172].

Kir6.2 kazançlı işlevli mutant alt birimlerinin (Kir6.2- $\Delta$ N30, K185Q) kardiyak spesifik transjenik aşırı ekspresyonu olan fareler, herhangi bir kaba fizyolojik veya morfolojik fenotip göstermemiştir [173,174]. Bununla birlikte ilginç bir şekilde, K<sub>ATP</sub> kanallarının ATP duyarlılığının kesikli yamalarda azalmasına rağmen, kanallar bozulmamış hücrede kapalı kalmıştır. Yenidoğan diyabeti (Kir6.2-V59M mutantı) ile ilişkili bir mutasyon taşıyan bir Kir6.2

alt ünitesinin kardiyak spesifik ekspresyonu ile benzer bir gözlem yapılmış ve bu da ATP duyarlılığı değiştirilmiş kanallara yol açmıştır, fakat hiçbir kardiyak anormallik yoktur [175]. SUR1'in transgenik aşırı ekspresyonu ve ventriküldeki Kir6.2 ( $\Delta N30$ , K185Q) alt-birimlerinin embriyonik letalite ile sonuçlanması, ancak bu aşırı ekspresyon çalışmasının fizyolojik uygunluğu net değildir. Nakavt yaklaşımları da kullanılmıştır. Ventriküler  $K_{ATP}$  kanallarından yoksun olan Kir6.2<sup>-/-</sup> fareleri belirgin açık kalp kusurlarına sahip değildir [172]. Daha yakından inceleme, kardiyovasküler sistemdeki  $K_{ATP}$  kanalları için önemli fizyolojik rolleri ortaya çıkarmıştır. İlk çalışma, Kir6.2<sup>-/-</sup> farelerinin egzersiz ve strese karşı toleransı zayıf olduğudur [176]. Bu açıktan sorumlu olan ventriküler  $K_{ATP}$  kanalı (ve başka bir somatik bölmedeki  $K_{ATP}$  kanallarının kaybı değil) gerçeği, benzer şekilde dominant negatif Kir6 alt-birimlerinin kardiyak-spesifik aşırı ekspresyonu ile transgenik farelerin kullanımıyla da vurgulanmıştır. Bozulmuş egzersiz toleransı vardır [168]. Kir6.2<sup>-/-</sup> fareler aynı zamanda sempatik zorlukla (muhtemelen  $Ca^{2+}$  kanal blokerleri tarafından önlenemediği için hücrel  $Ca^{2+}$  aşırı yüklenmesinden dolayı) fizyolojik koşullar altında  $K_{ATP}$  kanallarının hayati koruyucu işlevine işaret eden aritmiler ve ani ölümler geliştirirler [176]. Son zamanlardaki bulgular, daha ince ve önemli bir fizyolojik işleve işaret etmektedir: kalp hızı yükseldiğinde, aksiyon potansiyeli süresi, birkaç dakikalığına göre uyarlanır (azalır), ki bu da refrakterliğin azaltılmasından ve önlenmesinden sorumludur [177]. Hem glibenklamid hem de  $K_{ATP}$  kanal fonksiyonunun kaybı (dominant negatif Kir6 alt ünitelerinin kardiyak-spesifik aşırı ekspresyonu ile elde edilir) büyük ölçüde frekans adaptasyonunu ortadan kaldırır, bu da  $K_{ATP}$  kanallarının yüksek kalp hızlarında aksiyon potansiyeli uyarlamasında önemli bir fizyolojik etkisine işaret eder. Dahası, egzersiz ventriküler  $K_{ATP}$  kanalı alt birim ekspresyonunun yanı sıra farelerde daha güçlü bir  $K_{ATP}$  kanalına bağlı kalp atış hızı adaptasyonunun artmasına yol açmıştır [178]. Kir6.2<sup>-/-</sup> fare modeli sarkolemmal  $K_{ATP}$  kanallarını incelemek için yararlıdır, çünkü ventriküler  $K_{ATP}$  kanalları farelerde bulunmazken, mitokondri  $K_{ATP}$  kanal fonksiyonu korunur [179]. Gerçekten de, iskemi ve iskemik önkoşullandırma gibi patolojik süreçler sırasında  $K_{ATP}$  kanalları için önemli rollerin ortaya çıkarılmasına yardımcı olmuştur.

## 2.10.2. Yardımcı Alt Birimleri

### 2.10.2.1. SUR1

SUR1 alt birimi 17 transmembran segmenti içerir ve fare kromozomu 25 üzerinde (19.072.876 ila 19.091.318 lokasyonunda) ABCC8 geni tarafından kodlanır. ABCC8, çoklu eksonlardan oluşur ve transkripsiyon aktivitesi, birkaç SUR1 ekleme varyantına yol açabilir [180-184]. İki grup, ekson 1'i, promoter bölgeleri ve başlangıç metionini veya ekzon 2'yi içeren silme ile SUR1<sup>-/-</sup> fareler üretmiştir. Her iki fare modeli de insülin salınımının beklenen ciddi

düzensizliğini göstermemesine rağmen, insülin salınımının nasıl ince ayarlandığını anlamamıza yardımcı olmak için yararlı olmuştur [185,186]. SUR1'in başka işlevleri de vardır, ancak kardiyovasküler sistemde bu rolün ortaya çıktığı raporlar yeni ortaya çıkmaktadır. Örneğin, SUR1<sup>-/-</sup> fareleri, fare atriyumunda SUR1-esaslı, diazoksite duyarlı  $K_{ATP}$  kanallarının yeni bir alt tipinin tanımlanmasında etkili olmuştur, bu da insan atriyum ve ventrikülde de mevcut olabilir [187,188]. SUR1-null fareler beklenmedik şekilde kardiyak iskemiden korunmaktadır; iskemiden sonra reperfüzyon sonrası azalmış postiskemik infarkt boyutu ve sol ventrikül fonksiyonunun korunmasını gösterirler. İlginç olarak, SUR<sup>-/-</sup> farelerde omurilik yaralanmasında hemorajik kontüzyon ve kapiler parçalanma yayılımı da önlenmiştir. Bu sonuçlar bu nedenle stres koşulları sırasında SUR1 için zararlı bir rol önerir. SUR1 etkilerinin kardiyovasküler sistemden kaynaklanamayabileceğine dikkat edilmelidir, fakat diğer hücre ve doku tipleri üzerindeki olası etkilerle iskemi / reperfüzyon sekeli etkileyebilir [189].

#### **2.10.2.2. SUR2**

SUR2 alt birimi, fare kromozomu 6 üzerinde (pozisyon 142, 546, 356 ila 142, 659, 537) Abcc9 geni tarafından kodlanır ve 40 eksonuna (2'si çevrilmemiş) sahiptir. Birçok ekleme varyantı tanımlanmıştır [190]. En yaygın olarak incelenen ikisi "tam uzunlukta" ekleme varyantı, SUR2A ve SUR2B, ekzonlar 39 ve 40'ın alternatif kullanımı ile birbirinden farklıdır. SUR2<sup>-/-</sup> fareler, bölgelerdeki bölgeleri çıkarmak için iki ekzonun hedeflendiği ATP/ADP bağlanmasında yer alan iki hücre içi nükleotid bağlanma kıvrımından ilki Kir6.1<sup>-/-</sup> farelere benzer şekilde, bu fareler hipertansiftir ve kendiliğinden koroner vazospazma sergiler [191,192]. SUR2<sup>-/-</sup> fareleri, paradoksal olarak iskemiye karşı korunurlar. Koruma, SUR2<sup>-/-</sup> fare kalplerinde ortaya çıkan, iskemik patlamalara neden olabilen (iskemik önkoşullamaya benzer) spontan koroner vazospazmlara bağlı olabilir. SUR2'nin spesifik olarak SUR2-null arka planında transgenik ekspresyon ile geri yüklenmesi, iskemi kaynaklı infarkt gelişmesine ve iyileşmiş postiskemik kasılma iyileşmesine karşı daha fazla koruma sağlamıştır [193,194]. Başka bir çalışma, farelerde SUR2A'nın (CMV promoteri tarafından tahrik edilen) spesifik olmayan transgenik aşırı ekspresyonunun, iskemiye karşı koruyucu olduğunu ve bu farelerden alınan kalplerin, vahşi tipte karşılaştırıldığında iskemi reperfüzyona yanıt olarak enfarktüs boyutlarının azaldığını göstermiştir. SUR2<sup>-/-</sup> fareleri ile verilerin yorumlanması, kalan kısa form SUR2 izoformlarının varlığından dolayı karmaşıktır [195]. Tüm SUR2 izoformlarını ortadan kaldıran farklı bir nakavt tasarımı (ekzon 5'in silinmesi) yakın zamanda tarif edilmiştir. Homozigotekzon 5 delesyonu (SUR2-Ex5), yaşamın ilk haftalarında progresif kardiyak disfonksiyon ile neonatal mortalite ile sonuçlanır.

## 2.11. $K_{ATP}$ Kanallarının Patofizyolojik Rolü

### 2.11.1. Kardiyak $K_{ATP}$ Kanallarının Strese Karşı Koruma Durumu

Kir6.2 alt birimlerinin somatik eksikliği olan veya dominant negatif Kir6 alt-birimlerinin transgenik, kardiyak spesifik aşırı ekspresyonu olan fareler, bir stres yükü ve bir egzersiz yüküne karşı toleranssızlık fenotipine sahiptirler. Hücrel mekanizmaların (en azından kısmen) hücre içi  $Ca^{2+}$  aşırı yüklenmesinin önlenmesi ile ilişkili olması muhtemeldir. Gerçekten de, katekolamin tehdidinde, Kir6.2<sup>-/-</sup> farelerinin kalplerinden izole edilen ventriküler miyositler, miyokardiyumun erken dönemde yapılan kutuplaşmalara ve aritmilere yatkın hale gelmesi nedeniyle, kusurlu aksiyon potansiyeli kısılması sergilerler [196]. Daha fazla destekte mitokondriyal çözücü DNP ile metabolik inhibisyon, COS-7 hücrelerinde  $Ca^{2+}$  aşırı yüklenmesine yol açar, bu da hücreler Kir6.2/SUR2A cDNA'ları ile transfekte edildiğinde hafifletilir.  $K_{ATP}$  kanallarının,  $Ca^{2+}$  aşırı yüküne karşı miyokardın korunmasında merkezi bir rol için in vivo kanıtlar vardır: manganezle güçlendirilmiş kardiyak manyetik rezonans görüntüleme kullanılarak miyokardiyal  $Ca^{2+}$  birikimi alevlenmiştir ve Kir6.2<sup>-/-</sup> farelerinin kalplerinde miyokardiyal fonksiyon bozuktur [197]. ATP duyarsız Kir6.2 mutant alt birimlerinin kardiyak aşırı ekspresyonu, hücre içi  $Ca^{2+}$  tutulumundaki bozukluklara da neden olur. Hücre içi  $Ca^{2+}$  üzerindeki etkilere ek olarak,  $K_{ATP}$  kanalları ek olarak mitokondriyal fonksiyonu koruyarak stresten korunabilir. Sıçan ventriküler miyositlerinde örneğin, Kir6.2'nin (%50) shRNA demonte edilmesi, sadece hücre içi  $Ca^{2+}$  homeostazını bozmakla kalmaz, aynı zamanda mitokondriyal membran potansiyelinin salınımlarına da yol açar [198]. Mitokondriyal  $K_{ATP}$  kanalları elbette strese karşı korunmaya da doğrudan katılabilirler. HEK293 ve HL-1 hücrelerinin mitokondrilerinde Kir6.2'nin hedeflenen ifadesi hipoksik strese karşı koruma sağlar [199]. Kir6.2'nin mitokondri içindeki rolünün sorgulanabilir olmasına rağmen bu çalışma mitokondrideki  $K^+$  akılarının artan strese karşı korumaya katılabileceğine dair iyi olmayan farmakolojik kanıtlar sunmaktadır. Son olarak,  $K_{ATP}$  kanalları, FOXO1 yolu yoluyla, PGC-la ve hedef genlerini düzenleyerek strese karşı kalp tepkisini kolaylaştırabilir.

### 2.12. Koroner Damar Sisteminde $K_{ATP}$ Kanalları

Düz kas  $K_{ATP}$  kanalları, çeşitli fizyolojik uyaranlara yanıt olarak bazal koroner vasküler tonusun korunmasında yaygın olarak kabul gören bir role sahiptir. Ayrıca hipoksik koşullara yanıt olarak artmış kan koroner akışı için de köklü bir role sahiptirler.  $K_{ATP}$  kanallarının tutulumu ilk kez glibenklamidin koroner arterlerde hipoksiye bağlı vazodilatasyonu bloke ettiği bulunduğu ortaya çıkmıştır [200]. Böylece enerji metabolizmasını ve hücre içi nükleotid konsantrasyonlarını bozan stres olayları, koroner arteriollerde  $K_{ATP}$  kanallarını aktive etmek için

yeterli gibi görünmektedir, bu da membran hiperpolarizasyonunun  $Ca^{2+}$  akı ve vazodilasyonu azalttığını göstermektedir [108].

### **2.12.1. İskemi Sırasinda Koroner Kan Akışı**

Miyokardiyal iskemi sıklıkla bozulmuş kan akışından kaynaklanır. Doğrudan etkilenmeyen damarlarda bile (rneğin, bir kan pıhtılaşmasıyla), miyokardiyal iskemi/reperfüzyon sırasında kardiyak miyositlerin kaderi için doğrudan olumsuz sonuçlara sahip olan koroner vazodilatasyon ve kan akışını ciddi şekilde tehlikeye atabilir. Bu nedenle, iskeminin kan akışı regülasyonunda sahip olabileceği değişiklikleri dikkate almak önemlidir.  $K_{ATP}$  kanallarının postiskemik koroner kan akımına katılımının kanıtı yetersizdir. İskeminin, lokal perfüzyonu etkileyen lokal miyokardiyal kan akımı modellerinde hızlı değişimlere neden olduğu gösterilmiştir [201]. Miyokardiyal hipoksinin koroner arter stenozu distalinde rezistans damarlarının mikrovasküler vazodilatasyonunu stimüle eden ana faktör olduğu ve iskemik ortamda  $K_{ATP}$  kanalı açılarak hipoksi sinyallerinin ortaya çıktığı düşünülmektedir [202].

### **2.12.2. Reaktif Hiperemi**

Kalp de dahil olmak üzere birçok organda, kısa bir iskemi periyodu kaçınılmaz olarak kan akışında büyük ve geçici bir artış izler. Reaktif hiperemi olarak adlandırılan bu fenomen, koroner akım rezervi indeksi olarak kullanılmaktadır [203].  $K_{ATP}$  kanalları, koroner reaktif hiperemi mekanizmasında kilit bir role sahiptirler; çünkü glibenklamid, tepe kan akımı tepkilerini ve fare, köpek ve insan kalplerinde hiperemik dönemin süresini engeller [204]. Bu yanıtta hem koroner mikrovasküler hem de büyük damarlardaki  $K_{ATP}$  kanalları yer almaktadır. Koroner mikrovasküler disfonksiyon, akım rezervinde azalma ve talebi karşılamak için miyokardiyal oksijen tüketiminde bir başarısızlık ile sonuçlanır. Koroner düz kas hücrelerindeki  $K_{ATP}$  kanalları için bir rol kolayca kabul edilse de endotelyumun çıkarılmasının,  $K_{ATP}$  kanal aıcılarına vazodilatatif yanıtı ve aletli köpek kalbindeki koroner arterlerdeki iskemik reaktif hiperemik yanıtı azalttığından endotelyumun da rol oynadığı anlaşılmaktadır. Farklı  $K_{ATP}$  kanallarının vasküler yatakta katkısını araştırmak için daha fazla çalışmaya ve nitrik oksit üretimi gibi diğer reaktif hiperemi mekanizmalarıyla nasıl bir ilişki içinde olduklarına ihtiyaç vardır [205].

### **2.13. $K_{ATP}$ Kanal Genlerinde Genetik Varyasyonlar ve Kardiyovasküler Hastalıklarla İlişkisi**

$K_{ATP}$  kanalı alt birimi genlerindeki genetik varyasyon ve mutasyonlar, yaşamı tehdit eden birçok insan hastalığının etiyolojisine bağlanmıştır [206-208]. KCNJ11 (Kir6.2) ve ABCC8 (SUR1) 'de bir dizi mutasyon, kalıcı neonatal diyabet (OMIM: 606176), geçici neonatal diyabet

(OMIM: 610582), ailesel hiperinsülinemik hipoglisemi (OMIM: 601820) dahil olmak üzere insülin bozuklukları ve tip 2 diabetes mellitus'a duyarlılık (OMIM:125853) ile ilişkilendirilmiştir [209,210]. Bu iki gendeki mutasyonlar genellikle kardiyovasküler hastalık ile ilişkili değildir. Bir istisna, Kir6.2 NH<sub>2</sub> terminalinde bir E23K amino asit substitüsyonu ile sonuçlanan bir polimorfizmdir. Tip II diyabetli hastalarda kontrol deneklerine göre daha sık ortaya çıkan K23 (KK varyantı) için homozigotluk, aynı zamanda dilate kardiyomiopati ve konjestif kalp yetmezliği olan bireylerde kontrollerle karşılaştırıldığında daha fazla temsil edilir [211]. K23 KK genotipi ek olarak, hipertansiyona bağlı artan stres yükü olan kişilerde daha büyük sol ventrikül büyüklüğü ile ilişkilidir, bu da Kir6.2 K23 polimorfizminin ters subklinik miyokardiyal yeniden modelleme için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir.

Son veriler, KCNJ8 (Kir6.1) ve ABCC9 (SUR2)'de kardiyovasküler hastalığı olan genetik varyasyondaki ilişkileri göstermektedir. Örneğin, KCNJ8'deki genetik varyasyon Brugada sendromu, J dalgası sendromları, ventriküler fibrilasyon, atriyal fibrilasyon ve erken infantil epileptik ensefalopati riskiyle ilişkilidir. İlginçtir ki, aynı genetik varyant, bu koşulların hepsine bağlı olan Kir6.1 COOH terminusunda S422L ikamesi ile sonuçlanan bir c.1265C-T geçişidir. Açıkça önemli olmakla birlikte, bu varyantın bu tür farklı fenotiplere sahip olduğu açık değildir, özellikle Kir6.1'in genellikle ventriküler K<sub>ATP</sub> kanalına yol açan bir alt birim olarak düşünülmemesi göz önüne alındığında. Ayrıca, Avrupalı Amerikalılar ve Afrikalı-Amerikalı bireylerde varyant düşük frekansta mevcut olmasına rağmen, Aşkenaz Yahudilerinin %4'üne kadar mevcuttur [212]. Yama-klemp çalışmaları, S422L mutant Kir6.1 kanallarının azaltılmış ATP duyarlılığına bağlı olarak bir fonksiyon kazanımına sahip olduğunu ve böylece kanalın normoxik koşullar altında tamamlanmamış kapanmasına neden olduğunu bildirmektedir [213]. Son veriler ayrıca hipertrikozun kalın saçlı deriye ve diğer anormalliklere yol açtığı Cantu sendromu adlı KCNJ8 genetik varyasyon ve hipertrikotik osteokondrodizplazi arasında bir bağlantı olduğunu göstermektedir. Kardiyak ve vasküler anormallikler bu vakaların %80'inde görülür ve patent duktusarteriyozus, ventriküler hipertrofi, pulmoner hipertansiyon, perikardiyal efüzyonlar ve tortuöz retinal damarlar ve çoklu dolambaçlı pulmoner arteriyovenöz iletişimlerini içerebilir [214]. Kir6.1 aminoasit substitüsyonları V65M veya C176S ile sonuçlanan iki KCNJ8 varyantı bu bozukluğa bağlanmıştır. Bazı ABCC9 varyantları ayrıca, Cantu sendromuna da bağlanmıştır, bu da H60Y, A478V, S1020P, C1043Y, R1116H, R1116C, R1154W ve R1154Q dahil olmak üzere SUR2 amino asit substitüsyonları ile sonuçlanmıştır SUR2 mutasyonları (A1513T, L1524 ve T1547I'de erken kesilme) ayrıca dilate kardiyomiopatiye ve ailesel atriyal fibrilasyona bağlanmıştır (Tablo 2.3.).



**Tablo 2.3.** K<sub>ATP</sub> Kanal Mutasyonlarının İlişkili Olduğu Hastalıklar [207]

GENLER	KLİNİK DURUMU	ÖZELLİKLERİ	ETKİLENEN BİREYLER
<b>KCNJ8 (Kir6.1)</b>	J-Dalga Sendromu	S422L mutasyonu. Rapor edilen GOF. EKG' de J noktasındaki anormallik BrS ve ERS ile birlikte VF ve AF içermektedir.	9
	SIDS	Çerçeve delesyonu (E332del) ve nokta mutasyon (V346I). Mekanizması tam olarak açıklanamamıştır.	2
<b>KCNJ11 (Kir6.2)</b>	Neonatal Diyabet	Çoklu GOF mutasyonları insülin segresyonununinhibisyonuna sebep olmaktadır. Kardiyovasküler Fenotipi bulunmamaktadır.	>100
	Tip 2 Diyabet	E23K varyasyonu, hafif GOF, T2DM ile ilişkili potansiyel olarak HF ile ilişkili	30% Kafkasyalılar
	Konjenital Hiperinsü lizm	LOF mutasyonları insülinin hipersekresyonuna sebep olmaktadır. Kardiyovasküler Fenotip bulunmamaktadır.	>10
<b>ABCC9 (SUR1)</b>	Neonatal Diyabet	Çoklu GOF mutasyonları insülin segresyonununinhibisyonuna sebep olmaktadır. Kardiyovasküler Fenotip bulunmamaktadır.	>100
	Konjenital Hiperin	Çoklu LOF mutasyonları insülin hipersegregresyonuna sebep olur. Kardiyovasküler fenotip bulunmamaktadır.	>100
<b>ABCC9 (SUR2)</b>	AF	LOF mutasyonlarının izole edilmesiyle Marshall damarındaki atriyal fibrilasyon ile ilişkili	1
	İdiyopatik Açılan Kardiyomipati	İki farklı LOF mutasyon içermektedir. Kalp yetmezliği ile ilişkili	2
	Cantu Sendromu	GOF mutasyonlar birçok organı etkileyen kompleks bir hastalıkla ilişkilidir.	25

#### 2.14. KCNJ8 Geni (Potasyum Kanalı, Reaktif Edici, J Altfamilya, 8. Üye)

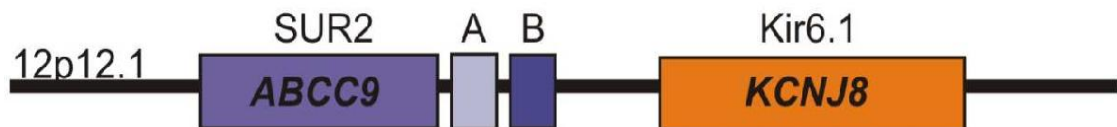
Inagaki ve ark. pankreatik adacıklar, hipofiz, iskelet kası ve kalp de dahil olmak üzere sıçan dokularında birçok yerde ifade edilen bir KATP kanalı cDNA'sı (uKATP-1) izole etmişlerdir. Burada, insan cDNA'sının ve uKATP-1'i kodlayan genin klonlanmasını bildirmişlerdir. Bu klonlamayı fare pankreatik adacık hücrelerinden izole etmişlerdir. İnsan uKATP-1'i ile sıçan uKATP-1 'i %98 özdeşlik gösteren 424 amino asitlik bir proteindir. Bu protein 2 transmembran alana sahiptir ve ROMK1, IRK1, GIRK1 ve cKATP-1 dahil olmak üzere diğer içe doğru doğrultucu potasyum kanalları ile %43 ila 46 aralığında özdeşliğe sahiptir.

Sitogenetik konumu 12p12.1'dir. NCBI'deki genomik koordinatları (GRCh38): 12: 21,764,954-21,775,592 olarak belirlenmiştir [215]. KCNJ8 olarak adlandırılan uKATP-1'i kodlayan insan geni yaklaşık 9.7 kb uzunluğundadır ve üç eksondan oluşur. KCNJ8, floresan in situ hibridizasyon kullanılarak 12p11.23 kromozomunda haritalandırılmıştır [216].

Kir6.1, uKATP-1, ATP duyarlı içe doğru doğrultucu potasyum kanalı 8, içe doğrultucu K<sup>(+)</sup> kanalı Kir6.1, içeriye rektifiye potasyum kanalı KIR6.1, potasyum kanalı içe doğru J alt familyası üye 8, potasyum içeri doğru yönlendirici kanal alt aile J, üye 8, potasyum voltaj kapılı kanal J alt ailesi 8. üye gibi eş anlamlı olarak tanımlanabilir.

Çok çeşitli fizyolojik görevleri bulunan potasyum kanalları, birçok memeli hücresinde bulunur. KCNJ8 geni tarafından kodlanan protein, bir entegre zar proteini olup içe doğrultucu tip potasyum kanalıdır. Potasyumun bir hücreden ziyade bir hücreye akmasına izin verme eğilimi yüksek olan kodlanmış protein, G-proteinleri tarafından kontrol edilir. KCNJ8 genindeki kusurlar J dalgası sendromları ve ani bebek ölüm sendromuna (SIDS) neden olabilir

G proteinleri tarafından kontrol edilen içeri doğru doğrultucu bu potasyum kanalları, potasyumun hücre dışına değil de hücre içine akmasına izin verme eğilimindedir. Bunların voltaja bağımlılığı hücre dışı potasyum konsantrasyonu ile düzenlenir. Dışarıdaki potasyum yükseltildiğinde, kanal açıklığının voltaj aralığı daha pozitif voltajlara geçer. İçeriye doğru düzenlenme esas olarak dahili magnezyum tarafından dışarı doğru akımın engellenmesinden kaynaklanmaktadır. Dışarıdan gelen baryum ile engellenebilir [217].



#### Şekil 2.4. ATP Bağımlı Potasyum Kanallarında Çalışılacak Gen ve Varyasyon

K<sub>ATP</sub> kanal proteinlerini kodlayan gen. Genin bulunduğu insan kromozomları 12'nin gösterimi. Her kutuda italik belirtilen geni temsil eder [218].

##### 2.14.1. p.Ser422Leu Varyasyonu

424 amino asit içeren bir proteinin 422. pozisyonunda Serin (S) ile Lösin'in (L) yer değiştirmesi sonucu oluşmaktadır. p.Ser422Leu ve S422L şeklinde gösterimleri vardır (SNP ID:rs72554071) [219].

### **3. MATERYAL ve YÖNTEM**

#### **3.1. Çalışma Grubu ve Örnek Temini**

Çalışmamızın hasta ve kontrol grupları Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp-Damar Cerrahisi Anabilim Dalı ve Mersin Devlet Hastanesi Kalp-Damar Cerrahisi birimlerinden temin edilmiştir. Başvuran bireylerden, koroner anjiyografi sonrası koroner arterlerinde %50 ve daha fazla darlığı saptanan 100 birey hasta grubuna, %50 ve daha az darlığı tespit edilen 100 birey kontrol grubuna dahil edilmiştir. Bu kapsamda hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerden alınan kanlar EDTA'lı tüplere konularak soğuk zincir uygulanmıştır. Kan örnekleri Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında çalışma yapmak üzere muhafaza edilmiştir. Toplanan kanlardan DNA izolasyonları "High Pure PCR Template Preparation Kit" (Roche, Catalog #11796828001)+ ile gerçekleştirilmiştir. İzole edilen DNA'lar kullanılmak üzere +4°C'de tutulmuştur. İzolasyonların yeterli derişimde olup olmadığı Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezi'ndeki (MEİTAM) nanodrop spektrofotometrede ölçülerek test edilmiştir.

#### **3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler**

##### **3.2.1. Kullanılan Cihazlar**

- Buzdolabı (Regal)
- ThermalCycler (SimpliAmp, ThermoFischerScientific Catalog#A24811)
- Elektroforez Güç Kaynağı (BIO-RAD)
- Santrifüj (Eppendorf)
- Vorteks (REAX)
- Isıtıcı (VWR)
- Mikropipet seti (Gilson-Pipetman)
- Hassas Terazi (MettlerToledo)
- Elektroforez Tankı (BIO-RAD)
- Jel Görüntüleme Sistemi (DNR Bio-ImagingSystem)
- Mikrodalga Fırın (Arçelik)
- Distile Su Cihazı (Millipore)
- pH Metre (MettlerToledo)

### 3.2.2. Kullanılan Kimyasallar

- High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche, Catalog#11796828001)
- Taq DNA Polimeraz (Thermo Fisher Scientific, Catalog#EP0402)
- 10X PCR Buffer((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (Thermo Fisher Scientific, Catalog#EP0402)
- 10 µM Primer (1, 2, 3, 4) (Macrogen,)
- 25 mM MgCl<sub>2</sub> (Thermo Fisher Scientific, Catalog#EP0402)
- 2 mM dNTPs (Thermo Fisher Scientific, Catalog#R0191)
- dH<sub>2</sub>O (Invitrogen, Catalog#10977-035, Lot#1838065)
- Agaroz (Sigma Aldrich, Catalog#A9539, Lot#SLBR6299V)
- 10X TBE (Tris Borik asit EDTA) Elektroforez Tampon Çözeltisi (Thermo Fisher Scientific, Catalog#B52)
- Borik Asit (CARLO ERBA, CAS#10043-35-3)
- Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA) (Sigma Aldrich, CAS#60-00-4)
- Tris-Baz (Sigma Aldrich, CAS#77-86-1)
- 100 bp DNA Ladder (100 bp DNA Ladder, Includes Gel Loading Dye, Catalog# N3231S, Lot#1091506)
- 6X Jel Yükleme Boyası (100 bp DNA Ladder, Includes Gel Loading Dye, Catalog# N3231S, Lot#1091506)
- Etidyum Bromür (Thermo Fisher Scientific, Catalog#15585-011)

### 3.3. Genotiplendirme

KCNJ8 geninde bulunan NG\_041794.1:g.14089C>T varyasyonunun belirlenmesi için Tetra-Primer ARMS (T-ARMS) yöntemi kullanıldı. Yöntemin tercih edilme sebebi konvansiyonel ARMS'a kıyasla yabancı, mutant ve kontrol ampikonlarının tek tüp kullanılarak elde edilebilmesidir.

Tetra-Primer ARMS'ta kullanılmak üzere çevirimiçi primer tasarım aracı PRIMER1'de dört farklı primer tasarlanmıştır [220]. Tasarlanan primerlerin PCR başarıları, kimyasal ve kinetik özellikleriyle özgünlükleri, Vector NTI paket programı (Advance 11.5; Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) ve NCBI-PRIMER BLAST araçları kullanılarak kontrol edildi [221].

Allelleri belirlemede kullanılacak primerlerden "forwardouter" ve "reverseouter" kontrol ampikonunu, "forwardouter" ve "reverseinner" yabancı ampikonunu, "reverseouter" ve "forwardinner" primerleri de mutant ampikonu amplifiye eder. Yöntemde elde edilen ampikonların tanımlanmasında agaroz jel elektroforezi kullanılacağından outer primerleri polimorfik nükleotidden farklı uzaklıklara yerleştirilerek mutant ve yabancı ampikon uzunluklarının farklı olması sağlandı.

### 3.3.1. Primerlerin Tasarımı

Primerlerin tasarımı için KCNJ8 genini kapsayan 16867 baz çifti uzunluğundaki dizi NG\_041794.1 kayıt numarası ile NCBI Nükleotit veritabanından elde edildi [222].

**Tablo 3.1.** KCNJ8, rs72554071 Varyasyonu : T-ARMS PCR Primerleri

KCNJ8FWDOuter:5'-AACTACTGGCATCACCACACAAG-3'	Kontrol ampikon:692 bp
KCNJ8REVOuter :5'-TTTTGTGCTCAAGGCCTGTTACTA-3'	
KCNJ8FWDInner :5'-TCCAGAAGGAAATCAAAACACCTT-3'(T Alel)	T Alel: 352 bp
KCNJ8REVInner :5'-GGGTTATCTTGCTGTCATGATTACG-3' (C Alel)	C Alel:388 bp

**Tablo 3.2.** Kontrol Ampikonu

Sense Primer (KCNJ8 FWD Outer)	AACTACTGGCATCACCACACAAG
Benzerlik (%)	100
Uzunluk	24
Tm (°C)	54,9
GC	45,8
dH (kcal/mol)	-171,3
dS (cal/mol)	-443,3
dG (kcal/mol)	-37,4
AntisensePrimer (KCNJ8 REV Outer)	TTTTGTGCTCAAGGCCTGTTACTA
Benzerlik (%)	100
Uzunluk	24
Tm (°C)	55,0
GC	41,7
dH(kcal/mol)	-181,2
dS (cal/mol)	-471,4
dG (kcal/mol)	-38,9
Tm Farkı	0,1
GC Farkı	4,2

**Tablo 3.3.** Yabancı Ampikonu

Sense Primer (KCNJ8 FWD Outer)	AACTACTGGCATCACCACACAAG
Benzerlik (%)	100
Uzunluk	24
Tm (°C)	54,9
GC	45,8
dH (kcal/mol)	-171,3
dS (cal/mol)	-443,3
dG (kcal/mol)	-37,4
AntisensePrimer (KCNJ8 REV Inner)	GGGTTATCTTGCTGTCATGATTACG
Benzerlik (%)	96
Uzunluk	25
Tm (°C)	55,8
GC	44,0
dH(kcal/mol)	-185,2
dS (cal/mol)	-481,6
dG (kcal/mol)	-39,8
Tm Farkı	1,0
GC Farkı	1,8

**Tablo 3.4.** Mutant Amplikonu

Sense Primer (KCNJ8 FWD Inner)	TCCAGAAGGAAATCAAAACACCTT
Benzerlik (%)	91,7
Uzunluk	24
Tm (°C)	55,0
GC	37,5
dH (kcal/mol)	-181,5
dS (cal/mol)	-472,2
dG (kcal/mol)	-38,9
AntisensePrimer (KCNJ8 REV Outer)	TTTTGTGCTCAAGGCCTGTTACTA
Benzerlik (%)	100
Uzunluk	24
Tm (°C)	55,0
GC	41,7
dH(kcal/mol)	-181,2
dS (cal/mol)	-471,4
dG (kcal/mol)	-38,9
Tm Farkı	0,0
GC Farkı	4,2

### 3.4. Elektroforez Çözeltileri

#### 10X TBE (Tris-Borik asit-EDTA) Çözeltisi

- Tris (MA:121,14 g/mol) 108 g
- Borik Asit (MA:61,8 g/mol) 55 g
- EDTA (MA:292,24 g/mol) 5,85 g

Tris, borik asit ve EDTA yukarıda belirtilen miktarlarda tartılarak son hacim 1 L olacak şekilde saf suda çözüldü ve pH 8,3'e ayarlandı.

#### Elektroforez Tampon Çözeltisi (1XTBE)

10X TBE stok çözeltisi saf su ile seyreltilerek 1X TBE tampon çözeltisi hazırlandı.

### 3.5. Kullanılan Yöntemler

#### 3.5.1. DNA İzolasyonu

Genomik DNA izolasyonu için High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche, Catalog#11-976-828-001) aşağıdaki prosedüre göre elde edildi:

- EDTA'lı tüpte bulunan kandan 200 µL alınarak 1,5 mL'lik ependorf tüpüne konuldu.

- Üzerine 40 µL proteinaz K ve 200 µL binding buffer (6 M guanidin-HCl, 10mM üre, 10 mMTris-HCl, %20 Triton-X-100 (v/v), pH 4,4 eklendi ve karıştırıldı. 70°C'de 10 dakika inkübasyon yapıldı.
- 100 µL izopropanol eklenerek karıştırıldı.
- Karışım ependorf tüplerinden yüksek saflıktaki filtre tüplerine alındı ve 8,000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Filtre üzerindeki karışımın santrifüj sonrasında koleksiyon tüpüne geçmesiyle yeni bir koleksiyon tüpü kullanıldı.
- 500 µL inhibitör removal buffer (5 M guanidin-HCl, 20 mMTris-HCl, pH 6,6 , 20 mL etanol) eklenerek 8,000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Koleksiyon tüpü tekrar değiştirildi ve 500 µL wash buffer (20 mM NaCl, 2mM Tris-HCl, pH 7.5, 80 mL etanol) eklenerek 8,000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Koleksiyon tüpü değiştirildi, 500 µL wash buffer eklendi. 8,000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- 10 saniye de 13,000 rpm'de santrifüj edildi.
- 1,5 µL'lik ependorf tüpüne filtreler takılarak üzerine 200 µL elutionbuffer (10 mMTris-HCl, pH 8.5 (+25°C)) eklendi. 8,000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- DNA izolasyonu tamamlanarak -20°C'de saklandı.

### 3.5.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

KCNJ8 geninde bulunan S422L (dbSNP HGVS: NM\_004982.3 (KCNJ8): c.1265C> T (p.Ser422Leu)) varyasyonunun tespiti için Tetra-Primer ARMS PCR yöntemi kullanıldı. Biyoinformatik araçlar kullanılarak tasarlanan primerler aşağıdaki gibidir.

- KCNJ8, dbSNP:rs72554071 Varyasyonu: T-ARMS PCR Primerleri

KCNJ8FWDOuter	:5'-AAACTACTGGCATCACCACACAAG-3'	
KCNJ8REVOuter	:5'-TTTTGTGCTCAAGGCCTGTTACTA-3'	
KCNJ8FWDInner	:5'-TCCAGAAGGAAATCAAAACACCTT-3'	T Alel
KCNJ8REVInner	:5'-GGGTTATCTTGCTGTCATGATTACG-3'	C Alel

T-ARMS PCR'da kullanılan bileşen miktarları Tablo 3.5.'te gösterilmiştir.

---

**Tablo 3.5.** T-ARMS PCR Yönteminde Kullanılacak Bileşen Miktarları

Reaktif	Stok Derişimi	Final Derişimi	Hacim (µL)
TaqPolimeraz	5,0 U/µL	1,25 U	0,25
DNA rnekleri	100,0 ng/µL	200,0 ng	2,0
<b>Mastermiks İçindekileri</b>			
Reaktif	Stok Derişimi	Final Derişimi	Hacim (µL)
PCR Buffer	10,0X	1,0X	2,5
Mg <sup>2+</sup> zeltisi	25,0 mM	1,5 mM	1,5
dNTP	2,0 mM	0,2 mM	2,5
Primer 1	10,0 µM	0,3µM	0,8
Primer 2	10,0 µM	0,3µM	0,8
Primer 3	10,0 µM	0,3µM	0,8
Primer 4	10,0 µM	0,3µM	0,8
Toplam			9,7
ddH <sub>2</sub> O			13,05
Mastermiks Toplam			22,75
Genel Toplam			25,0

Çalışılacak rnek sayısı kullanılan miktarlarla çarpılarak mastermiksler hazırlandı. Her bir reaksiyon için 25 µL'lik hacimler kullanıldı. 200 µL'lik PCR tüplerine 2 µL DNA yüklenerek üzerine önceden hazırlanan mastermiks ve Taq polimeraz karışımı (23 µL) konularak karıştırıldı. Hazırlanan karışımı içeren tüpler PCR cihazına yerleştirilerek Tablo 3.6. da belirtilen koşullarda PCR gerçekleştirildi.

**Tablo 3.6.** rs72554071 İçin PCR Koşulları

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyonu	95	4 dk	1
Denatürasyon	94	30 sn	
Primer Bağlanması (Annealing)	61	45sn	30
Zincir Uzaması (Elongation)	72	45 sn	
Final Uzaması	72	8 dk	1
Muhafaza	4	∞	∞

### 3.5.3. Agaroz Jel Elektroforezi

KCNJ8 genindeki rs72554071 varyasyonunun belirlenmesi için gerçekleştirilen T-ARMS ampliconları agaroz jel elektroforezi ile kontrol edildi. Agaroz jelde yürütülen ampliconların baz çifti uzunlukları DNA ladder (100 bp DNA Ladder, Includes Gel Loading Dye, NEW ENGLAND Biolabs Inc, Catalog#N3231S, Lot#1091506) kullanılarak belirlendi ve sonuçlar yorumlandı.



### 3.5.3.1. Agaroz Jelin Hazırlanması ve örneklerin Yüklenmesi

%2'lik (w/v) agaroz jel hazırlamak için 2 g agaroz (SigmaAldrich, Catalog#A9539, Lot#SLBR6299V) tartılarak 100 mL 1X TBE tamponu ile 250 mL'lik bir erlene alındı. Karıştırılan özelti 5-10 dakika bekletildikten sonra mikrodalga fırında 2 dakika ısıtıldı. Bu esnada kaynayan çözelti berraklaştı. Mikrodalga fırından çıkarılan çözelti eşme suyu altında 50-60°C civarına soğutuldu. Soğuyan özelti üzerine 0,8 µg/mL etidyum bromür (Ethidium Bromide Solution, Thermo Fisher Scientific, Catalog#15585-011, Lot#MS16F06048) eklenerek karışması sağlandı. Hazırlanan özelti tarakların bulunduğu kaset içerisine hava kabarcığı oluşmayacak şekilde döküldü. Çözeltinin polimerleşerek jel kıvamını alması için 30-40 dakika beklendi. Jelin katılaştıktan sonra kasetler ile birlikte tampon özeltisi (1X TBE) zerini geçecek şekilde elektroforez tankına yerleştirildi. Taraklar çıkarılarak örnek yüklemeye hazır hale getirildi.

PCR rnlerinin üzerlerine 10 µL jel yükleme boyası (100 bp DNA Ladder, Includes Gel Loading Dye, NEW ENGLAND Biolabs Inc, Catalog# N3231S, Lot#1091506) eklenerek mikropipet yardımıyla karışması sağlandı. Daha sonra üzerlerine 1 µL DNA Marker, 15 µL de jel yükleme boyası eklenerek karıştırıldı. zerinde kuyucuklar açılan jele DNA Marker ve hazırlanan örnekler yüklendi. 100 volt/cm elektriksel potansiyel fark uygulanarak 45-50 dakika boyunca örneklerin yürümesi sağlandı. Elektroforez tamamlandıktan sonra jel, UV transuliminatr (DNR Bio-Imaging System) kullanılarak sonuçları yorumlamak üzere görüntülendi.

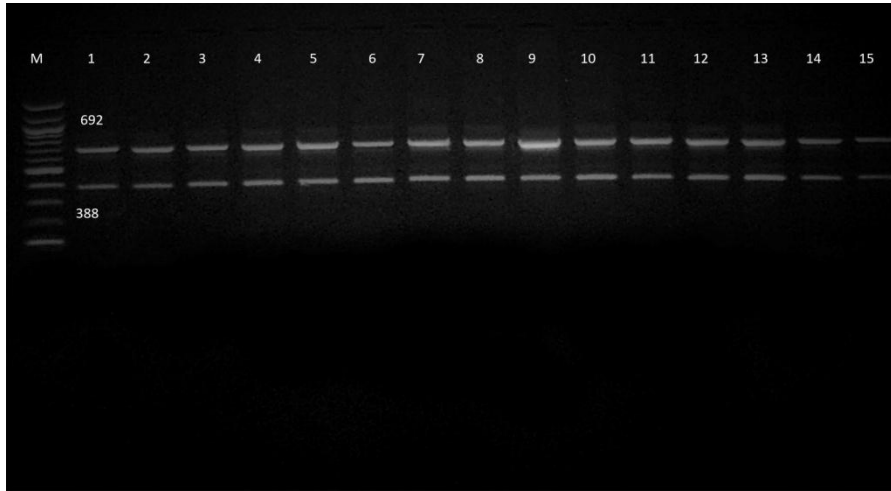
#### 4. BULGULAR

Çalışmaya Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi ile Mersin Devlet Hastanesi Kardiyoloji ve Kalp Damar Cerrahisi polikliniklerine başvurmuş toplam 200 birey dahil edilmiştir. Koroner anjiyografi ile majör epikardiyal damarlarda veya dallarında %50 ve üzerinde kritik darlık tespit edilen 100 birey hasta grubu (KAH) olarak, normal koroner damar tespit edilen 100 birey de kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Hasta grubunu oluşturan bireylerin 44'ü kadın 56'sı erkek iken kontrol grubunu oluşturan bireylerin 43'ü kadın 57'si erkektir.

Bu bireylerde KCNJ8 geninde S422L (dbSNP HGVS: NM\_004982.3 (KCNJ8): c.1265C> T (p.Ser422Leu)) varyasyonu araştırıldı.

KCNJ8 geninde; çalışmamızda kontrol ve hasta grubunu oluşturan bireylerde **TCG** kodonu Serin (Ser) aminoasitini kodlamakta iken C,T'ye dönüştüğünde **TTG** Lösin (Leu) aminoasitini kodlamaktadır. Hem hasta hem de kontrol grubunda normal allel olan Serin'i kodlayan Sitozin (C) bulunduğu CC homozigot yabancıl olduğu belirlendi.

Çalışmamızdaki hasta ve kontrol gruplarında C allelinin frekansı %100 iken T alleli tespit edilmemiştir. Genotip dağılımlarında ise CC genotipi %100 iken CT ve TT genotipine rastlanmamıştır (Şekil 3.1.) (Tablo 4.1 , Tablo 4.2).



**Şekil 4.1.** rs72554071 varyasyonunun agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü (M: Marker, 1-15: Olgular)

**Tablo 4.1.** Hasta ve kontrol gruplarında C ve T allellerinin frekansları

Alleller	Hasta (n=100)	Kontrol (n=100)
C	100	100
T	0	0

**Tablo 4.2.** Hasta ve kontrol gruplarında KCNJ8: c.1265C>T varyasyonu genotip dağılımları

Genotipler	Hasta Grubu (n=100)	Kontrol grubu (n=100)
CC	100	100
CT	0	0
TT	0	0

n=kişi sayısı



## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

$K_{ATP}$  kanallarının son 35 yıldır yaygın olarak ifade edildiği ve farklı hücre tiplerinde farklı fonksiyonlara sahip oldukları bilinmektedir [223].

$K_{ATP}$  kanalları ATP tarafından inhibe edilen kanallardır.  $K_{ATP}$  kanalları Kir6 olarak adlandırılan içeriye doğrultucu potasyum kanal alt ünitesi ile SUR olarak adlandırılan sülfonilüre reseptör alt ünitesi olmak üzere iki alt üniteden oluşmaktadır. Kir6 ve SUR alt üniteleri de kendi içlerinde alt ünitelere ayrılmışlardır. Kir6'nın Kir6.1 ve Kir6.2 olarak isimlendirilen iki alt birimi bulunurken, SUR ise SUR1 ve SUR2 alt birimlerine ayrılmıştır. Bunlardan SUR2; A, B, C alt tiplerine ayrılmıştır. KCNJ8 geni Kir6.1 proteinlerini kodlarken KCNJ11 geni ise Kir6.2 proteinlerini kodlamaktadır. Farklı Kir ve SUR alt ünitelerinin bir araya gelmesiyle farklı farmakolojik ve nükleotid hassasiyetine sahip olan  $K_{ATP}$  kanalları oluşur. Bundan dolayı her dokuda bulunan  $K_{ATP}$  kanal alt üniteleri de farklılık göstermektedir. Örneğin; Kir6.1'in kardiyomisitlerde, özellikle de epikardiyumda eksprese olduğu bilinmektedir [224].

$K_{ATP}$  kanallarının uyarılması vazodilatasyona ve iskemiye karşı miyokardı koruyucu etki göstermektedir. Sağlıklı normal kalpte  $K_{ATP}$  kanalları yüksek hücre içi ATP derişiminden dolayı kapalıdır. Hücre içi ATP derişiminin düşük olduğu iskemi gibi durumlarda ise açılırlar. Dışa doğru  $K^+$  akımlarının artması aksiyon potansiyelinin süresini kısaltarak hücre içine  $Ca^{+2}$  girişini ve kasılmayı azaltır. Böylece ATP tasarrufu sağlanarak iskemiye karşı koruyucu etki sağlanmış olur. KCNJ8 gen mutasyonu bulunduğu durumda epikardiyal aksiyon potansiyelinin erken faz aşamasındaki ilave repolarize gücün varlığı IK-ATP yapı kazanımından dolayı ATP hassasiyetini azaltır. Bu durumda kanal yarı açık kalarak dışarıya K kaybı olur. Erken repolarizasyon ve polimorfik ventriküler taşikardi meydana gelebilecek sonuçlar arasında yer alır.

Plazma/sarkomlemmal  $K_{ATP}$  kanallarının alt birimlerinin moleküler klonlanması, bu alt birimleri hedefleyen transgenik ve nakavt farelerin gelişimi ve bu alt birimler için kodlayan genlerdeki insan hastalığı ve genetik varyasyonlar arasındaki ilişki, zengin çeşitliliğin eksiksiz bir şekilde anlaşılmasında etkilidir. Farklı kardiyovasküler dokulardaki çeşitli  $K_{ATP}$  kanallarının sinerjistik olarak stresten korunmak için etkileşime girmesi muhtemel olduğundan  $K_{ATP}$  kanallarının herhangi birinin işlevsel ve patofizyolojik rolüne gereksiz vurgu yapmaktan kaçınılmalıdır. Kalp nöronları, fibroblastlar ve makrofajlar gibi kardiyovasküler dokulardaki  $K_{ATP}$  kanallarının, hormonların salınımını düzenleyerek ve inflamatuvar tepkilerde rol oynayarak strese karşı kardiyovasküler tepkileri şekillendirmeye yardımcı olma ihtimali de yüksektir [225].

Koroner arter hastalığına sahip olan hastaların önemli bir çoğunluğunda geleneksel risk faktörlerinin bulunmayışından dolayı son yıllarda ateroskleroz patogenezinde rolü bulunan genetik ve çevresel etkenler üzerindeki çalışmalar araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir.

İnsanların yaşam kalitesinin artırılması açısından koroner arter hastalığına eğiliminin olup olmadığını erken zamanda öğrenebilmek, önlem alınması veya tedavi şansının oluşturulabilmesi için genetik alt yapısının belirlenmesi önem taşımaktadır [226].

Farelerde  $K_{ATP}$  genlerinin genetik manipülasyonu dramatik kardiyovasküler patolojilere yol açabilir ancak yakın zamana kadar  $K_{ATP}$  gen mutasyonlarından kaynaklanan insan kardiyovasküler hastalığı için çok az kanıt vardır.

Dört  $K_{ATP}$  kanalı geninin her biri için nakavt fare modelleri üretilerek kapsamlı bir şekilde analiz edilmiştir. Bunlardan Kir6.2'nin nakavt fare modelinde glikoza bağımlı insülin salgısının olmayışı insanlarda hiperinsülinizmi işaret etmektedir [227]. SUR1 nakavt fare modeli, Kir6.2/- ile aynı fenotipi tekrarlamış ve yine pankreasta etki etmiştir. Kir6.1 ve SUR2 nakavt fare modellerinin vasküler düz kas veya endotel kanal aktivitesine etki ettiği gösterilmiştir. Kir6.1 ve SUR2 genlerinin nakavt edildiği fare modelleri, bu alt birimlerin özellikle kardiyovasküler sistemdeki koroner dolaşımında kritik rol üstlenmektedir. Benzer fenotip içeren bu genler bazal hipertansiyon, koroner arter vazospazmı ve ani kardiyak ölüm geliştirebilirler. Bu araştırmalar incelenerek KCNJ8 geninde S422L varyasyonu çalışılmıştır.

Ayrıca KCNJ11 geni de hem pankreas  $\beta$ -hücresi hem de kardiyak miyositlerde baskın  $K_{ATP}$  kanal gözenek oluşturucu alt birimini (Kir6.2) kodlar. Bu gendeki kazanç ve fonksiyon kaybı mutasyonlarının şu anda neonatal diyabet ve konjenital hiperinsülinizm altında yatan neden çok iyi olduğu anlaşılmaktadır, ancak bu hastalarda herhangi bir kardiyak problem için yayınlanmış kanıt yoktur [228].

Ermiş ve ark.'nın yaptığı çalışmada, Erken Repolarizasyon Sendromu (ERS) teşhisi konulmuş kişilerde KCNJ8 geninde S422L varyasyonunu araştırılmıştır. Kontrol grubunda yalnızca bir örnekte varyasyon tespit edilmiştir. Deney ve kontrol gruplarının her ikisinde de ERS ile KCNJ8 geni S422L varyasyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır [224].

Veeramah ve ark.'nın yaptığı çalışmada, Eskenazi Yahudilerinde yüksek frekansta görülen J Dalga Sendromunun KCNJ8 genindeki S422L varyasyonunun ilişkili olup olmadığı araştırılmıştır. Avrupa, Ortadoğu, Eskenazi Yahudi ve Eskenazi Yahudi olmayan populasyondan 722 kişide S422L varyasyonunun genotiplendirilmesi yapılmıştır. S422L varyasyonu Eskenazi Yahudileri hariç çalışılan tüm populasyonda neredeyse hiç olmadığı, Eskenazi Yahudisi olan 291 bireyin 23'ünün (%7,9) heterozigot olduğu ve genel alel sıklığının %4 olduğu gösterilmiştir. İstisna olarak Eskenazi olmayan Yahudiler'in bulunduğu 48 kişinin 3'ünde S422L alelinin heterozigot olduğu gösterilmiştir. Böylece Eskenazi Yahudilerindeki alel frekansı Yahudi olmayan populasyondan anlamlı derecede yüksek bulunarak değişiklik heterozigot olarak kaydedilmiştir [229].

Fedele ve ark., çalışmalarında iskemik kalp hastalığı ve koroner mikrovasküler fonksiyon bozukluğunun patolojisi ile iyon kanallarındaki genetik polimorfizmlerin ilişkisini

incelemişlerdir. Çalışmaya koroner arter hastalığı bulunan 155 kişi ile endotelyuma bağlı veya bağlı olmayan mikrovasküler fonksiyon bozukluğu bulunan 46 kişi deney grubu olarak, normal koroner arterlere sahip 41 kişi de kontrol grubu olarak dahil edilmiştir.  $K_{ATP}$  kanal protein genlerinden KCNJ8'de bulunan gen varyasyonu çalışılmıştır. Çalışılan gruplar ile S422L varyasyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır [230].

Hector Barajas-Martınez ve ark. KCNJ8 genindeki mutasyonlar ile Brugada (BrS) ve erken repolarizasyon (ERS) sendromları arasındaki ilişkisini incelemek ve S422L mutasyonu nedeniyle  $K_{ATP}$  kanal akımının ( $I_{K-ATP}$ ) fonksiyon kazanımının altında yatan mekanizmayı aydınlatmak için çalışmışlardır. Bu kapsamda incelenen 204 J dalga sendromlu olgu arasında 3 BrS, 1ERS hastasında S422L mutasyonuna rastlamışlardır. Mutasyon bulunan hastaların tümü aritmisi olan hastalardır [231].

Phani ve ark. Güney Hint nüfusunda KCNJ11 gen polimorfizmlerinin tip 2 diyabet (T2D) riski üzerindeki genetik etkisini tanımlamak için çalışma yapmışlardır. KCNJ11 polimorfizmleri (K23E-rs5219, V337I-rs5215, rs41282930, rs1800467) varyasyonlarının T2D riski üzerindeki ilişkisini analiz etmek için 400 T2D olgusu ve Güney Hindistan kökenli vaka kontrol çalışmasında yer almıştır. Buna ek olarak, çeşitli veritabanlarında arama yaparak Güney Asya'daki popülasyondan yayınlanan 5 rapordan 3,831 vaka ve 3,543 kontrol KCNJ11 geni rs5219 varyantı için sistematik bir gözden geçirme ve meta-analiz gerçekleştirilmiştir. KCNJ11 genindeki K23E-rs5219 varyasyonu, Güney-Hindistan popülasyonunda T2D ile ilişkili değildir. Meta-analiz sonuçları, KCNJ11 geni polimorfizminin (rs5219) Doğu Asya popülasyonunda ve global popülasyonda T2D riski ile ilişkili olduğunu ancak bu sonucun Güney Asya alt gruplarında tekrarlamayacağını düşündürmektedir [232].

Li YY. in Han popülasyonunda KCNJ11 E23K gen polimorfizmi ve tip 2 diyabet duyarlılığını çalışmıştır. Bu çalışmada 6,109 kişinin meta-analizi gerçekleştirilmiştir. KCNJ11 E23K gen polimorfizmi ve T2D arasındaki ilişkiyi araştırmak için Çinli Han nüfusundan 3.080 T2D hastasını içeren bir meta analiz ve beş ayrı çalışmadan 3,029 kontrol gerçekleştirilmiştir. Allelic yoluyla havuzlanmış in Han nüfusunda resesif genetik modelde KCNJ11 E23K gen polimorfizmi ve T2D arasında anlamlı bir ilişki gözlenmiştir. Buna karşılık, dominant genetik modelde KCNJ11 E23K gen polimorfizmi ve T2D arasında anlamlı bir ilişki görülmemiştir [233].

Haissaguerre ve ark. tarafından bildirilen, S422L varyantı olan bir hastada J-nokta elevasyonunun erken repolarizasyonla ilişkili çoklu (> 100) yanıtız ventriküler fibrilasyon (VF) nüksü gösterilmiştir [234]. Ek olarak Delaney ve arkadaşları 325 kişi üzerinden erken repolarizasyon ile iki atriyal fibrilasyon (AF) probandı göstermiştir. [235]. Medeiros-Domingo ve ark. analiz ettikleri 101 hastanın aynı varyantı taşıyan Brugada sendromlu hastayı rapor etmişlerdir [236].

Yukarıda değinilen çalışmalarda olduğu gibi bu çalışmada da S422L varyasyonu ile koroner arter hastalığı arasında anlamlı sayılabilecek bir ilişki tespit edilememiştir. Ayrıca KCNJ11 geninde rastlanan mutasyonların araştırıldığı koroner arter hastalığı ilişkili çalışmaya rastlanmamıştır. Fakat çalışılan örneklerin sayısı itibarı ile bu varyasyonun koroner arter hastalığı ile ilişkisinin olmadığını söylemek yanıltıcı olabilir. Bu sebeple daha fazla örneklem üzerinden yapılacak çalışmalarla  $K_{ATP}$  genlerindeki varyasyonların koroner arter hastalığıyla ilişkisinin incelenmesi genetik açıdan faydalı olacaktır.

Daha geniş gruplarda çalışılarak analizlerin gerçekleştirilmesiyle daha duyarlı ve özgün sonuçlar elde edilebileceğini düşünmekteyiz. Gelecekteki alışmaların,  $K_{ATP}$  kanallarının kardiyovasküler sistemdeki çeşitli rollerinin kapsamlı bir şekilde araştırılması için yeni yöntemler bulunması umulmaktadır.



## KAYNAKLAR

- [1]. Bishop, ML., Duben-Engelkirk, JL., Fody EP., Clinical Chemistry, Principals, Procedures, Correlations. 4th ed., New York, **2000**; p 429-430.
- [2]. Gökdemir, O., Palaoğlu, KE., Aterogenezin hücresel ve moleküler biyolojisi, Kolesterol taşınması ve lipoprotein metabolizması. İstanbul, **1993**; p 4-5.
- [3]. Bonetti, PO., Lerman, LO., Lerman, A., Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arteioscler Thromb VascBiol*, **2003**; p 23:168-175.
- [4]. Devenci, S.E., Açık, Y., Güler, H. ve Gülbayrak, C., Elazığ Emniyet Müdürlüğü kurum hekimliğine başvuran emniyet teşkilatı çalışanı ve eşlerinde koroner arter hastalıkları risk faktörleri araştırması. TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni, **2006**, p 235-243.
- [5]. Onat, A., Sansoy, V., Soydan, İ., Tokgözoğlu, L., Adalet, K., TEKHARF; Oniki Yıllık İzleme Deneyimine Göre Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığı, Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve TicaretAnonim Şirketi, İstanbul, Temmuz, **2003**.
- [6]. Koroner Arter Hastalıkları, [http://www.tkdcd.org/public/uploads/files/pdf/saglikli\\_yasam/koroner\\_arter\\_hastaliklari.pdf](http://www.tkdcd.org/public/uploads/files/pdf/saglikli_yasam/koroner_arter_hastaliklari.pdf) (18.02.2019).
- [7]. Aksu, Ü. Hale., Stabil Koroner Arter Hastalığı Olan Hastalarda Hastalığın Yaygınlığı ile Aortun Elastikiyet Özellikleri Arasındaki İlişki, Uzmanlık Tezi, Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Merkezi, İstanbul, 2008.
- [8]. Thom, TJ., Kannel, WB., Silbershatz, S., et al. Incidence, Prevalence, and Mortality of Cardiovascular Diseases in the United States. In: Hurst'sThe Heart, 9th ed, Alexander, RW Schlant, RC, Fuster, V, Roberts, R (Eds), McGrawHill, New York, **1998**, p 3.
- [9]. Enar, R., Ateroskleroz; Koroner, Serebral, Periferik Arter Tutulumu Sempozyum Dizisi No: 52 Ekim **2006**, s9- 27
- [10]. Grobbee, D.E., Bots M.L., Carotid artery intima-mediathickness as an indicator of generalized atherosclerosis, *J InternMed.*, **1994**, 236:567-573.
- [11]. Ross, R., The Pathogenesis of atherosclerosis. Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine, 5th edition, WB Saunders Company, Ed: E. Braunwald, **1997**, pp 1105-1125.
- [12]. Özgül, U., Koroner Arter Hastalığı Yaygınlığı'nın Rdw İle İlişkisi, Uzmanlık Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı, Sivas, **2005**.
- [13]. Lippincott Publishers, *Atlas of Coroner Arterey Disease*, Türkcesi Yelkovan Yayıncılık, **2000**; s 23-54.
- [14]. Thompson, GR., A Handbook of Hyperlipidaemia, Current Science Ltd, London, **1990**.
- [15]. Braunwald, Fauci, Kasper, Hauser, Longo, Jameson., *Harrison's Principles of Internal Medicine*.15th ed. s 1377-1387.
- [16]. Grayston, JT., Kuo, CC., Wang, SP., Altman, J., A new Chlamydiapsittacistrain, TWAR, İsolated In Acute Respiratory Tract Infections, *New Eng J Med*, **1986**, 315(3):161-8.
- [17]. Li, X., McGue, M., Gottesman, II. Two sources of genetic ability to depression: interpreting the relationship between stress sensitivity and depression under a multifactorial polygenic model, *Behavior Gen*, **2012**, 42(2):268-77.
- [18]. Cinemre, H., Yıldız, Ö., Ani Kardiyak Ölüm, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, **2003**; 3:35-44.
- [19]. Zipes, DP., Wellens, HJ., Sudden Cardiac Death, *Circulation*, **1998**, 98(21):2334-51.
- [Review]
- [20]. Lee, Keane, K., Al-Ahmad, Amin., Wang, Paul, J., Myerburg, Robert, J., Epidemiology and Etiologies of Sudden Cardiac Deat. in Wang, Paul, J., Al-Ahmad, A., Hsia, Henry, H., Zei, Paul, C Eds., *Ventricular Arrhythmias and Sudden Cardiac Death*, Blackwell Publishing, **2008**, 199-212.
- [21]. Avrupa Kardiyoloji Derneği Çalışma Grubu, Ani Kardiyak Ölüm, [http://www.tkd-online.org/link/ESC/ani\\_kardiyak\\_olum.pdf](http://www.tkd-online.org/link/ESC/ani_kardiyak_olum.pdf) (19.02.2009).
- [22]. Ellinor, PT., Nam, EG., Shea, MA., Milano, DJ., Ruskin, JN., MacRae, CA., Atrial fibrilasyonda kardiyak sodyum kanal mutasyonu, *Kalp Ritmi*, **2008**, 5 : 99 - 105 .



- [23]. Campuzano, O., Beltrán-Alvarez, P., Iglesias, A., Scornik, F., Perez, G., Brugada, R., Genetics and Cardiac Channelopathies, *Genetics in Medicine*, **2010**, 12, p 260–267.
- [24]. Grant, AO., Carboni, MP., Neplioueva, V., et al., Long QT syndrome, Brugada syndrome, and conduction system disease are linked to a single sodium channel mutation. *J Clin Invest*, **2002**, 110: 1201–1209.
- [25]. Chen, Q., Kirsch, GE., Zhang, D., et al., Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation, *Nature*, **1998**, 392: 293–296.
- [26]. Roden, DM., Lazzara, R., Rosen, M., Schwartz, PJ., Towbin, J., Vincent, GM., Multiple mechanisms in the long-QT syndrome, Current knowledge, gaps, and future directions. The SADS Foundation Task Force on LQTS, *Circulation*, **1996**, 94: 1996–2012.
- [27]. Brugada, R., Hong, K., Dumaine, R., et al. Sudden death associated with short-QT syndrome linked to mutations in HERG. *Circulation*, **2004**; 109: 30–35.
- [28]. Hong, K., Brugada, J., Oliva, A., et al. Value of electrocardiographic parameters and ajmaline test in the diagnosis of Brugada syndrome caused by SCN5A mutations, *Circulation*, **2004**; 110: 3023–3027.
- [29]. Alders, M., Koopmann, TT., Christiaans, I., et al. Haplotype-sharing analysis implicates chromosome 7q36 harboring DPP6 in familial idiopathic ventricular fibrillation. *Am J Hum Genet*, **2009**; 84: 468–476.
- [30]. Yang, T., Snyders, DJ., Roden, DM., Rapid inactivation determines the rectification and  $[K^+]_o$  dependence of the rapid component of the delayed rectifier  $K^+$  current in cardiac cells, *Circ Res*, **1997**, vol.80, (pg.782-9).
- [31]. Rivolta, I., Abriel, H., Tateyama, M., et al., Inherited Brugada and long QT-3 syndrome mutations of a single residue of the cardiac sodium channel confer distinct channel and clinical phenotypes, *J Biol Chem*, **2001**, 276, 30623–30630.
- [32]. Ravens, U., Cerbai, E., Role of potassium currents in cardiac arrhythmias, *Europace*, **2008**, 10, 1133–1137.
- [33]. Roden, DM., Cellular basis of drug-induced torsades de pointes *Br J Pharmacol*, **2008**, 154, 1502–1507.
- [34]. Priori, SG., Napolitano, C., Schwartz, PJ., et al., Association of long QT syndrome loci and cardiac event among patients treated with beta-blockers, *JAMA*, **2004**, 292, 1341–1344.
- [35]. Westenskow, P., Splawski I., Timothy, KW., et al., Compound mutations: a common cause of severe long-QT syndrome, *Circulation*, **2004**, 109, 1834–1841.
- [36]. Avrupa Kardiyoloji Derneği Çalışma Grubu, Ani Kardiyak Ölüm, [http://www.tkd-online.org/link/ESC/ani\\_kardiyak\\_olum.pdf](http://www.tkd-online.org/link/ESC/ani_kardiyak_olum.pdf) (19.02.2009).
- [37]. Ruey, J, Sung, Chi-Tai, Kuo., Shan-Nan, Wu., Wen-Ter, La.i, Nazar Luqman and Ngai-Yin, Chan., Sudden Cardiac Death Syndrome: Age, Gender, ethnicity and genetics, <http://www.tsoc.org.tw/db/Jour/1/20080630/1.pdf> (19.02.2009).
- [38]. Rodríguez-Calvo, MS., Brion, M., Allegue, C., Concheiro, L., Carracedo, A., Molecular Genetics of Sudden Cardiac Death, *Forensic Sci Int.*, **2008**, 182(1-3):1-12.
- [39]. Lee, Keane, K., Al-Ahmad, Amin., Wang, Paul, J., Myerburg, Robert, J., Epidemiology and Etiologies of Sudden Cardiac Death. in Wang, Paul, J., Al-Ahmad, A., Hsia, Henry, H., Zei, Paul, C, Eds., *Ventricular Arrhythmias and Sudden Cardiac Death*, Blackwell Publishing, **2008**, 199-212.
- [40]. Benton, Ng., Maginot, KR., Sudden Cardiac Death in Young Athletes: Trying to Find the Needle in the Haystack, *WMJ*, **2007**, 106(6):335-42.
- [41]. Çakmak, N., Erdinler, İ., Akyol, A., Kardiyak Kanalopatiler ve Kısa QT Sendromları, *Türk Kardiyol Dern Arş.*, **2007**, 35(3):187-194.
- [42]. Gussak, I., Brugada, P., Brugada, J., et al., Idiopathic short QT interval: a new clinical syndrome, *Cardiology*, **2000**, 94, 99–102.
- [43]. Gaita, F., Giustetto, C., Bianchi, F., et al., Short QT syndrome: pharmacological treatment, *J Am Coll Cardiol*, **2004**, 43, 1494–1499.
- [44]. Bellocq, C., van Ginneken, AC., Bezzina, CR., et al., Mutation in the KCNQ1 gene leading to the short QT-interval syndrome, *Circulation*, **2004**, 109, 2394–2397.

- [45]. Wilde, AA., Bezzina, CR., Genetics of cardiac arrhythmias, *Heart*, 2005, 91:1352-8.
- [46]. Yi, Cui., Jonathan, P, Giblin., Lucie, H, Clapp., Andrew, Tinker., A mechanism for ATP-sensitive potassium channel diversity: Functionalcoassembly of twopore-forming subunits, *PNAS*, **2001**, vol. 98, no. 2, 729–734.
- [47]. Colin, G., Nichols, Gautam, K., Singh, Dorothy, K, Grange., KATP Channels and Cardiovascular Disease Suddenly a Syndrome, American Heart Association, Inc., **2013**, vol. 112 no. 7 1059-1072.
- [48]. Inagaki, N., Gonoï, T., Clement, JP., Wang, CZ., Aguilar-Bryan, L., Bryan, J., Seino, S., A family of sulfonylurea receptors determines the pharmacologica lproperties of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels, *Neuron*, **1996**, 16, 1011–1017.
- [49]. Inagaki, N., Gonoï, T., Clement, JPt., Namba, N., Inazawa, J., Gonzalez, G., Aguilar-Bryan, L., Seino, S., Bryan, J., Reconstitution of IKATP: an inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor [seecomments], *Science*, **1995**, 270,1166–1170.
- [50]. Aguilar -Bryan, L., Nichols, CG., Wechsler, SW., Clement, JP, IV., Boyd AE III., González G, Herrera-Sosa, H., Nguy, K., Bryan, J., Nelson, DA., Cloning of the beta cellhigh-affinitysulfonylureareceptor: a regulator of insulinsecretion, *Science*, **1995**, 268:423–426.
- [51]. Chutkow, WA., Simon, MC., Le, Beau, MM., Burant, CF., Cloning, tissue expression, and chromosomal localization of SUR2, the putative drug-binding subunit of cardiac, skeletal muscle and vascular K<sub>APT</sub> channels, *Diabetes*, **1996**, 45, 1439-1445.
- [52]. Shi, Y., Wu, Z., Cui, N., Shi, W., Yang, Y., Zhang, X., Rojas, A., Ha, BT., Jiang, C., PKA phosphorylation of SUR2B subunit underscores vascular KATP channel activation by beta-adrenergic receptors, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. **2007**, 293:R1205–R1214.
- [53]. Chutkow, WA., Makielski, JC., Nelson, DJ., Burant, CF.,Fan, Z. Alternative splicing of sur2 Exon 17 regulates nucleotide sensitivity of the ATP-sensitive potassium channel,*J BiolChem*, **1999**, 274:13656–13665.
- [54]. Shyng, S., Nichols, CG., Octameric stoichiometry of the KATP channel complex, *J Gen Physiol*,**1997**,110:655–664.
- [55]. Clement, JPt., Kunjilwar, K., Gonzalez, G., Schwanstecher, M., Panten, U., Aguilar-Bryan, L., Bryan, J., Association and stoichiometry of K(ATP) channel subunits, *Neuron*, **1997**,18:827–838.
- [56]. Inagaki, N., GonoïT., Seino, S., Subunit stoichiometry of the pancreatic beta-cell ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel, *FEBS Lett*, **1997**, 409:232–236.
- [57]. Yamada, M., Isomoto, S., Matsumoto, S., Kondo, C., Shindo, T., Horio, Y., Kurachi, Y., Sulphonylurea receptor 2B and Kir6.1 form a sulphonylurea-sensitive but ATP-insensitive K<sup>+</sup> channel. *J Physiol (Lond)*,**1997**, 499(Pt 3):715–720.
- [58]. Okuyama, Yç., Yamada, Mç., Kondo, C., Satoh, E., Isomoto, S., Shindo, T., Horio, Y., Kitakaz, M., Hori, M., Kurachi, Y., The effects of nucleotides and potassium channel openers on the SUR2A/Kir6.2 complex K<sup>+</sup> channel expressed in a mammalian cell line, HEK293T cells, *PflugersArch*,**1998**, 435:595–603.
- [59]. Babenko, AP, Gonzalez, G, Aguilar-Bryan, L., Bryan, J., Reconstituted human cardiac KATP channels: functional identity with the native channels from the sarcolemma of human ventricular cells, *CircRes*, **1998**, 83:1132–1143.
- [60]. Seino, S., Miki, T., Physiological and pathophysiological roles of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **2003**, 81:133–176.
- [61]. Kane, GC., Liu, XK., Yamada, S., Olson, TM., Terzic, AJ., Cardiac KATP channels in health and disease, , **2005** Jun, 38(6):937-43.
- [62]. Chan, KW., Zhang, H., Logothetis, DE., N-terminal transmembrane domain of the SUR controls trafficking and gating of Kir6 channel subunits, *EMBO J.*, **2003**, Aug 1, 22(15):3833-43.
- [63]. Fang, K., Csanády, L., Chan, KW., The N-terminal transmembrane domain (TMD0) and a cytosoliclinker (L0) of sulphonylurea receptor define the unique intrinsic gating of KATP channels, *J Physiol*, **2006**, Oct 15, 576(Pt 2):379-89.
- [64]. Linton, KJ., Higgins, CF., Structure and function of ABC transporters: the ATP switch provides flexible control, *PflugersArch*, **2007**, Feb, 453(5):555-67.

- [65]. Schwanstecher, M., Sieverding, C., Dörschner, H., Gross, I., Aguilar-Bryan, L., Schwanstecher, C., Bryan, J., Potassium channel openers require ATP to bind to and act through sulfonylurea receptors, *EMBO J*, **1998**, Oct 1, 17(19): 5529–5535.
- [66]. Inagaki, N., Gono, T., Clement, JP., 4th, Namba, N., Inazawa, J., Gonzalez, G., Aguilar-Bryan, L., Seino, S., Bryan, J., Reconstitution of IKATP: an inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor, *Science*, **1995**, Nov 17, 270(5239):1166-70.
- [67]. Andrew, Tinker., Qadeer, Aziz., Alison, Thomas., The role of ATP-sensitive potassium channels in cellular function and protection in the cardiovascular system, *Br J Pharmacol*, **2014**, Jan, 171(1): 12–23.
- [68]. Ursula, R., Elisabetta, C., Role of potassium currents in cardiac arrhythmias, *EP Europace*, Volume 10, Issue 10, 1 October **2008**, p 1133–1137.
- [69]. Aguilar-Bryan, L., Nichols, CG., Wechsler, SW., ClementJPtBoyd, AE., 3rd Gonzalez, G., Herrera-Sosa, H., Nguy, K., Bryan, J., Nelson, DA. Cloning of the beta cell high-affinity sulfonylurea receptor: a regulator of insulin secretion, *Science*, **1995**, 268: 423–426.
- [70]. Ashcroft, SJH., Ashcroft, FM., The sulfonylurea receptor, *BiochimBiophysActa*, **1992**, 1175: 45–49.
- [71]. Ashfield, R., Gribble, FM., Ashcroft, SJ., Ashcroft, FM., Identification of the high-affinity tolbutamide site on the SUR1 subunit of the K(ATP) channel. *Diabetes*, **1999**, 48: 1341–1347.
- [72]. Auchampach, JA., Caverio, I., Gross, GJ., Nicorandil attenuates myocardial dysfunction associated with transient ischemia by opening ATP-dependent potassium channels, *J Cardiovasc Pharmacol*, **1992**, 20: 765–771.
- [73]. Aversano, TR., Ouyang, P., Silverman, H., Blockade of the ATP-sensitive potassium channel modulates reactive hyperemia in the canine coronary circulation. *CircRes*, **1991**, 69: 618–622.
- [74]. Aversano, TR., Ouyang, P., Silverman, H., Ziegelstein, RC., Gips S. Effect of blockade of the ATP-sensitive potassium channel on metabolic coronary vasodilation in the dog. *Pharmacology*, **1993**, 47: 360–368.
- [75]. Aziz, Q., Thomas, AM., Khambra, T., Tinker, A., Regulation of the ATP-sensitive potassium channel subunit, Kir6.2, by a Ca<sup>2+</sup>-dependent protein kinase C. *J BiolChem* **2012**, 287: 6196–6207.
- [76]. Babenko, AP., Bryan, J., SUR domains that associate with and gate K<sub>ATP</sub> pores define a novel gate keeper. *J BiolChem*, **2003**, 278: 41577–41580.
- [77]. Babenko, AP., Gonzalez, G., Aguilar-Bryan, L., Bryan, J., Reconstituted human cardiac K<sub>ATP</sub> channels: functional identity with the native channels from the sarcolemma of human ventricular cells. *CircRes*, **1998**, 83: 1132–1143.
- [78]. Babenko, AP., Gonzalez, G., Bryan, J., Pharmacology of sulfonylurea receptors. Separate domains of their regulatory subunits of K<sub>ATP</sub> channel isoforms are required for selective interaction with K<sup>+</sup> channel openers. *J BiolChem*, **2000**, 275: 717–720.
- [79]. Bagdonas, AA., Stuckey, JH., Hoffman, BF., Piers, J., Amer, NS., Changes in cardiac conduction produced by ischemia and hypoxia. *Surg Forum* **1960**, 11: 204–207.
- [80]. Bagdonas, AA., Stuckey, JH., Piers, J., Amer, NS., Hoffman, BF., Effects of ischemia and hypoxia on the specialized conducting system of the canine heart. *AmHeart J*, **1961**, 61: 206–218.
- [81]. Baiardi, G., Zumino, AP., Petrich, ER., Effects of barium and 5-hydroxydecanoate on the electrophysiologic response to acute regional ischemia and reperfusion in rat hearts. *Mol Cell Biochem*, **2003**, 254: 185–191,
- [82]. Baines, CP., Liu, GS., Birincioglu, M., Critz, SD., Cohen, MV., Downey JM. Ischemic preconditioning depends on interaction between mitochondrial K<sub>ATP</sub> channels and actin to skeleton. *Am J PhysiolHeartCircPhysiol*, **1999**, 276: H1361–H1368.
- [83]. Bajjar, R., Seetharaman, S., Kowaltowski, AJ., Garlid, KD., Paucek P. Identification and properties of a novel intracellular (mitochondrial) ATP-sensitive potassium channel in brain. *J BiolChem*, **2001**, 276: 33369–33374.
- [84]. Balse, E., Steele, DF., Abriel, H., Coulombe, A., Fedida, D., Hatem, SN., Dynamic of ion channel expression at the plasma membrane of cardiomyocytes. *PhysiolRev*, **2012**, 92: 1317–1358.

- [85]. Banitt, PF., Smits, P., Williams, SB., Ganz, P., Creager, MA., Activation of ATP-sensitive potassium channels contribute store active hyperemia in humans. *Am J Physiol HeartCircPhysiol*, **1996**, 271: H1594–H1598.
- [86]. Bao, L., Hadjiolova, K., Coetzee, WA., Rindler, MJ., Endosomal  $K_{ATP}$  channels as a reservoir after myocardial ischemia: a role for SUR2 subunits. *Am J PhysiolHeartCircPhysiol*, **2011**, 300: H262–H270.
- [87]. Bao, L., Kefaloyianni, E., Lader, J., Hong, M., Morley, G., Fishman, GI., Sobie, EA., Coetzee, WA., Unique properties of the ATP-sensitive  $K^+$  channel in the Mouse ventricular cardiac conduction system. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, **2011**, 4: 926–935.
- [88]. Barajas-Martinez, H., Hu, D., Ferrer, T., Onetti, CG., Wu, Y., Burashnikov, E., Boyle, M., Surman, T., Urrutia, J., Veltmann, C., Schimpf, R., Borggrefe, M., Wolpert, C., Ibrahim, BB., Sanchez-Chapula, JA., Winters, S., Haissaguerre, M., Antzelevitch, C., Molecular genetic and functional association of Brugada and early repolarization syndromes with S422L missense mutation in KCNJ8. *HeartRhythm*, **2012**, 9: 548–555.
- [89]. Aasland, R., Abrams, C., Ampe, C., Ball, LJ., Bedford, MT., Cesareni, G., Gimona, M., Hurley, JH., Jarchau, T., Lehto, VP., Lemmon, MA., Linding, R., Mayer, BJ, Nagai, M., Sudol, M., Walter, U., Winder, SJ., Normalization of nomenclature for peptide motifs as ligands of modular protein domains. *FEBS Lett*, **2002**, 513: 141–144.
- [90]. Bednarczyk, P., Barker, GD., Halestrap, AP., Determination of the rate of  $K^+$  movement through potassium channels in isolated rat heart and liver mitochondria. *Biochim Biophys Acta*, **2008**1777: 540–548.
- [91]. Bednarczyk, P, Dolowy, K., Szewczyk, A., Matrix  $Mg^{2+}$  regulates mitochondrial ATP-dependen tpotassium channel from heart. *FEBS Lett*, **2005**, 579: 1625–1632.
- [92]. Belles, B., Hescheler, J., Trube, G., Changes of membrane currents in cardiac cells induced by long whole-cell recordings and tolbutamide. *Pflügers Arch*, **1987**, 409: 582–588.
- [93]. Belloni, FL., Hintze, TH., Glibenclamide attenuates adenosine-induced brady cardia and coronary vasodilatation. *Am J PhysiolHeartCircPhysiol*, **1991**, 261: H720–H727.
- [94]. Bernardo, NL., D'Angelo, M., Okubo, S., Joy, A., Kukreja, RC., Delayed ischemic preconditioning is mediated by opening of ATP-sensitive potassium channels in the rabbit heart. *Am J Physiol Heart CircPhysiol*, **1999**, 276: H1323–H1330.
- [95]. Bienengraeber, M., Alekseev, AE., Abraham, MR., Carrasco, AJ., Moreau, C., Vivaudou, M., Dzeja, PP., Terzic, A., ATPase activity of the sulfonyleurea receptor: a catalytic function for the  $K_{AT}$  channel complex, **2000**, *FASEB J* 14: 1943–1952.
- [96]. Bienengraeber, M., Olson, TM., Selivanov, VA., Kathmann, EC., O'Cochlain, F., Gao, F., Karger, AB., Ballew, JD., Hodgson, DM., Zingman, LV., Pang, YP., Alekseev, AE., Terzic, A., ABCC9 mutations identified in human dilated cardiomyopathy disrupt catalytic  $K_{ATP}$  channel gating, *NatGenet*, **2004**, 36: 382–387.
- [97]. Billman, GE., Role of ATP sensitive potassium channel in extracellular potassium accumulation and cardiac arrhythmias during myocardial ischaemia. *Cardiovasc Res*, **1994**, 28: 762–769.
- [98]. Billman, GE., Avendano, CE., Halliwill, JR., Burroughs, JM., The effects of the ATP-dependent potassium channel antagonsts, glyburide, on coronary blood flow and susceptibility to ventricular fibrillation in unanesthetized dogs, *J CardiovascPharmacol*, **1993**, 21: 197–204.
- [99]. Bing, RJ., Sasaki, Y., Chemnitius, M., Burger, W., Compartmentation and functional mechanisms in myocardial failure and myocardial infarction. *Adv Exp Med Biol*, **1986**, 194: 283–296.
- [100]. Boineau, JP., Cox, JL., Slow ventricular activation in acute myocardial infarction. A source of re-entrant premature ventricular contractions. *Circulation*, **1973**, 48: 702–713.
- [101]. Bonev, AD., Nelson, MT., Muscarinic inhibition of ATP-sensitive  $K^+$  channels by protein kinase-C in urinary bladder smooth muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, **1993**, 265: C1723–C1728.
- [102]. Bonifacino, JS., Rojas, R., Retrograde transport from endosomes to the *trans*-Golgi network. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **2006**, 7: 568–579.
- [103]. Boulanger, C., Luscher, TF., Release of endothelin from the porcine aorta. Inhibition by endothelium-derived nitricoxide. *J Clin Invest*, **1990**, 85: 587–590.

- [104]. Bouwman, RA., Musters, RJ., vanBeek-Harmsen, BJ., de Lange, JJ., Lamberts, RR., Loer, SA., BoerC. Sevoflurane-induced cardio protection depends on PKC- $\alpha$  activation via production of reactive oxygen species. *Br J Anaesth*, **2007**, 99: 639–645.
- [105]. Boyden, PA, Hirose, M., Dun, W., Cardiac Purkinje cells. *Heart Rhythm*, **2010**, 7: 127–135.
- [106]. Chutkow, WA., Simon, MC., Le, Beau, MM., Burant, CF., Cloning, tissue expression, and chromosomal localization of SUR2, the putative drug-binding subunit of cardiac, skeletal muscle and vascular K<sub>ATP</sub> channels, *Diabetes*, **1996**, 45, 1439-1445.
- [107]. Brady, PA., Alekseev, AE., Aleksandrova, LA., Gomez, LA., Terzic, A., A disrupter of actin micro filaments impairs sulfonylurea-inhibitory gating of cardiac K<sub>ATP</sub> channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **1996**, 271: H2710–H2716.
- [108]. Brayden, JE., Functional roles of K<sub>ATP</sub> channels in vascular smooth muscle. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **2002**, 29: 312–316.
- [109]. Bril, A., Laville, MP., Gout, B., Effects of glibenclamide on ventricular arrhythmias and cardiac function in ischaemia and reperfusion in isolated rat heart. *Cardiovasc Res*, **1992**, 26: 1069–1076.
- [110]. Brown, D., Breton, S., Sorting proteins to their target membranes. *Kidney Int*, **2000**, 57: 816–824.
- [111]. Brownstein, CA., Towne, MC., Luquette, LJ., Harris, DJ., Marinakis, NS., Meinecke, P., Kutsche, K., Campeau, PM., Yu, TW., Margulies, DM., Agrawal, PB., Beggs, AH., Mutation of KCNJ8 in a patient with Cantu syndrome with unique vascular abnormalities: support for the role of K(ATP) channels in this condition. *Eur J Med Genet*, **2013**, 56: 678–682.
- [112]. Bruederle, CE., Gay, J., Shyng, SL., A role of the sulfonylurea receptor 1 in endocytic trafficking of ATP-sensitive potassium channels. *Traffic*, **2011**, 12: 1242–1256.
- [113]. Beeler, GW., McGuigan, JAS., Voltage clamping of multicellular myocardia lpreparations: capabilities and limitations of existing methods. *Prog Biophys Mol Biol*, **1978**, 34: 219–254.
- [114]. Bustamante, JO., Watanabe, T., McDonald, TF., Single cells from adult mammalian heart: isolation procedure and preliminary electrophysiological studies. *Can J Physiol Pharmacol*, **1981**, 59: 907–910.
- [115]. Dow, JW., Harding, NGL., Powell, T., Isolated cardiac myocytes. I. Preparation of adult myocytes and their homology with the intact tissue. *Cardiovasc Res*, **1981**, 15: 483–514.
- [116]. Powell, T., Terrar, DA., Twist, VW., Electrical properties of individual cells isolated from adult rat ventricular myocardium. *J Physiol*, **1980**, 302: 131–153.
- [117]. Cavalie, A., Ochi, R., Pelzer, D., Trautwein, W., Elementary currents through Ca<sup>2+</sup> channels in guinea pig myocytes. *Pflügers Arch*, **1983**, 398: 284–297.
- [118]. Sakmann, B., Noma, A., Trautwein, W., Acetylcholine activation of single muscarinic K<sup>+</sup> channels in isolated pace maker cells of the mammalian heart. *Nature*, **1983**, 303: 250–253.
- [119]. Ashcroft, FM., Adenosine 5'-triphosphate-sensitive potassium channels, *Annu Rev Neurosci*, **1988**, 11: 97–118.
- [120]. Kakei, M., Noma, A., Shibasaki, T., Properties of adenosine-triphosphate-regulated potassium channels in guinea pig ventricular cells, *J Physiol*, **1985**, 363: 441–462.
- [121]. Noma, A., ATP-regulated K<sup>+</sup> channels in cardiac muscle, *Nature*, **1983**, 305: 147–148.
- [122]. Trube, G., Hescheler, J., Inward-rectifying channels in isolated patches of the heart cell membrane: ATP-dependence and comparison with cell-attached patches, *Pflügers Arch*, **1984**, 401: 178–184.
- [123]. Takumi, T., Ishii, T., Horio, Y., Morishige, KI., Takahashi, N., Yamada, M., Yamashita, T., Kiyama, H., Sohmiya, K., Nakanishi, S., Kurachi, Y., A novel ATP-dependent inward rectifier potassium channel expressed predominantly in glial cells, *J BiolChem*, **1995**, 270: 16339–16346.
- [124]. Ashcroft, FM., Kakei, M., ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in rat pancreatic beta-cells—modulation by AAP and Mg<sup>2+</sup> ions, *J Physiol*, **1989**, 416: 349–367.
- [125]. Cook, DL., Hales, CN., Intracellular ATP directly blocks K<sup>+</sup> channels in pancreatic B-cells, *Nature*, **1984**, 311: 271–273.
- [126]. Kakei, M., Noma, A., Shibasaki, T., Properties of adenosine-triphosphate-regulated potassium channels in guinea pig ventricular cells, *J Physiol*, **1985**, 363: 441–462.

- [127]. Lederer, WJ., Nichols, CG., Nucleotide modulation of the activity of rat heart ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in isolated membrane patches, *J Physiol*, **1989**, 419: 193–211.
- [128]. Dunne, MJ., Petersen, OH., Intracellular ADP activates K<sup>+</sup> channels that are inhibited by ATP in an insulin-secreting cellline, *FEBS Lett*, **1986**, 208: 59–62.
- [129]. Hardie, DG., AMP-activated protein kinase: the guardian of cardiac energy status, *J Clin Invest*, **2004**, 114: 465–468.
- [130]. Hardie, DG., Hawley, SA., AMP-activated protein kinase: the energy charge hypothesis revisited, *Bioessays*, **2001**, 23: 1112–1119.
- [131]. Inagaki, N., Tsuura, Y., Namba, N., Masuda, K., Gonoï, T., Horie, M., Seino, Y., Mizuta, M., Seino, S., Cloning and functional characterization of a novel ATP-sensitive potassium channel ubiquitously expressed in rat tissues, including pancreatic islets, pituitary, skeletal muscle, and heart, *J Biol Chem*, 270: 5691–5694.
- [132]. Inagaki, N., Gonoï, T., Clement, JPt., Namba, N., Inazawa, J., Gonzalez, G., Aguilar-Bryan, L., Seino, S., Bryan, J., Reconstitution of IKATP: an inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor, *Science*, **1995**, 270: 1166–1170.
- [133]. Inagaki, N., Gonoï, T., Clement, JP., Wang, CZ., Aguilar-Bryan, L., Bryan, J., Seino, S., A family of sulfonylurea receptors determines the pharmacological properties of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels, *Neuron*, **1996**, 16: 1011–1017.
- [134]. Chutkow, WA., Simon, MC., Le, Beau, MM., Burant, CF., Cloning, tissue expression, and chromosomal localization of SUR2, the putative drug-binding subunit of cardiac, skeletal muscle, and vascular KATP channels, *Diabetes*, **1996**, 45: 1439–1445.
- [135]. Chutkow, WA., Makielski, JC., Nelson, DJ., Burant, CF., Fan, Z., Alternative splicing of sur2 exon 17 regulates nucleotide sensitivity of the ATP-sensitive potassium channel, *J Biol Chem*, **1999**, 274: 13656–13665.
- [136]. Hambrock, A., Preisig-Muller, R., Russ, U., Piehl, A., Hanley, PJ., Ray, J., Daut, J., Quast, U., Derst, C., Four novel splice variants of sulfonylurea receptor 1, *Am J Physiol Cell Physiol*, **2002**, 283: C587–C598.
- [137]. Shi, NQ., Ye, B., Makielski, JC., Function and distribution of the SUR isoforms and splice variants, *J Mol Cell Cardiol*, **2005**, 39: 51–60.
- [138]. Dean, M., The human ATP-binding cassette (ABC) transporters super family. In: The Human ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter Super family (Internet), edited by Dean, M., editor. Bethesda, MD: National Center for Biotechnology Information, **2002**.
- [139]. Conti, LR., Radeke, CM., Vandenberg, CA., Membrane targeting of ATP-sensitive potassium channel. Effects of glycosylation on surface expression, *J Biol Chem*, **2002**, 277: 25416–25422.
- [140]. Isomoto, S., Kondo, C., Yamada, M., Matsumoto, S., Higashiguchi, O., Horio, Y., Matsuzawa, Y., Kurachi, Y., A novel sulfonylurea receptor forms with BIR (Kir6.2) a smooth muscle type ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel, *J Biol Chem*, **1996**, 271: 24321–24324.
- [141]. Matsuoka, T., Matsushita, K., Katayama, Y., Fujita, A., Inageda, K., Tanemoto, M., Inanobe, A., Yamashita, S., Matsuzawa, Y., Kurachi, Y., C-terminal tails of sulfonylurea receptors control ADP-induced activation and diazoxide modulation of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels, *Circ Res*, **2000**, 87: 873–880.
- [142]. Reimann, F., Gribble, FM., Ashcroft, FM., Differential response of K(ATP) channels containing SUR2A or SUR2B subunits to nucleotides and pinacidil, *Mol Pharmacol*, **2000**, 58: 1318–1325.
- [143]. Yamada, M., Kurachi, Y., A functional role of the C-terminal 42 amino acids of SUR2A and SUR2B in the physiology and pharmacology of cardiovascular ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels, *J Mol Cell Cardiol*, **2005**, 39: 1–6.
- [144]. Arakel, EC., Brandenburg, S., Uchida, K., Zhang, H., Lin, YW., Kohl, T., Schrul, B., Sulkin, MS., Efimov, IR., Nichols, CG., Lehnart, SE., Schwappach, B., Tuning the electrical properties of the heart by differential trafficking of K<sub>ATP</sub> ion channel complexes, *J Cell Sci*, **2014**, 127: 2106–2119.
- [145]. Zhou, M., He, HJ., Tanaka, O., Sekiguchi, M., Kawahara, K., Abe, H., Localization of the ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel regulatory subunits SUR2A and SUR2B in the rat brain, *Neurosci Res*, **2012**, 74: 91–105.

- [146]. Dean, M., Hamon, Y., Chimini, G., The human ATP-binding cassette (ABC) transporters super family, *J Lipid Res*, **2001**, 42: 1007–1017.
- [147]. Amann, T., Schell, S., Kuhner, P., Winkler, M., Schwanstecher, M., Russ, U., Quast, U., Substitution of the Walker A lysine by arginine in the nucleotide-binding domains of sulphonylurea receptor SUR2B: effects on ligand binding and channel activity, *Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol*, **2010**, 381: 507–516.
- [148]. Gribble, FM., Tucker, SJ., Ashcroft, FM., The essential role of the Walker A motifs of SUR1 in K-ATP channel activation by Mg-ADP and diazoxide, *EMBO J*, **1997**, 16: 1145–1152.
- [149]. Ueda, K., Inagaki, N., Seino, S., MgADP antagonism to Mg<sup>2+</sup>-independent ATP binding of the sulfonylurea receptor SUR1, *J Biol Chem*, **1997**, 272: 22983–22986.
- [150]. Schwanstecher, M., Loser, S., Chudziak, F., Bachmann, C., Panten, U., Photo affinity labeling of the cerebral sulfonylurea receptor using a novel radio iodinated azidoglibenclamide analogue, *J Neurochem*, **1994**, 63: 698–708.
- [151]. Schwanstecher, M., Loser, S., Chudziak, F., Panten, U., Identification of a 38-kDa high affinity sulfonylurea-binding peptide in insulin-secreting cells and cerebral cortex, *J Biol Chem*, **1994**, 269: 17768–17771.
- [152]. Clement, JP., Kunjilwar, K., Gonzalez, G., Schwanstecher, M., Panten, U., Aguilar-Bryan, L., Bryan, J., Association and stoichiometry of K(ATP) channel subunits, *Neuron*, **1997**, 18: 827–838.
- [153]. Lorenz, E., Alekseev, AE., Krapivinsky, GB., Carrasco, AJ., Clapham, DE., Terzic, A., Evidence for direct physical association between a K<sup>+</sup> channel (Kir6.2) and an ATP-binding cassette protein (SUR1) which affects cellular distribution and kinetic behavior of an ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel, *Mol Cell Biol*, **1998**, 18: 1652–1659.
- [154]. Inagaki, N., Gono, T., Clement, JP., Namba, N., Inazawa, J., Gonzalez, G., Aguilar-Bryan, L., Seino, S., Bryan, J., Reconstitution of IKATP: an inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor, *Science*, **1995**, 270: 1166–1170.
- [155]. Shyng, S., Nichols, CG., Octameric stoichiometry of the K ATP channel complex, *J Gen Physiol*, **1997**, 110: 655–664.
- [156]. Doyle, DA., Morais-Cabral, J., Pfuetzner, RA., Kuo, A., Gulbis, JM., Cohen, SL., Chait, BT., MacKinnon, R., The structure of the potassium channel: molecular basis of K<sup>+</sup> conduction and selectivity, *Science*, **1998**, 280: 69–77.
- [157]. Heginbotham, L., Lu, Z., Abramson, T., MacKinnon, R., Mutations in the K<sup>+</sup> channel signature sequence, *Biophys J*, **1994**, 66: 1061–1067.
- [158]. Taglialatela, M., Champagne, MS., Drewe, JA., Brown, AM., Comparison of H5, S6, and H5-S6 exchanges on pore properties of voltage-dependent K<sup>+</sup> channels, *J Biol Chem*, **1994**, 269: 13867–13873.
- [159]. Coetzee, WA., Amarillo, Y., Chiu, J., Chow, A., Lau, D., McCormack, T., Moreno, H., Nadal, MS., Ozaita, A., Pountney, D., Saganich, M., Vega-Saenz de Miera, E., Rudy, B., Molecular diversity of K<sup>+</sup> channels, *Ann NY Acad Sci*, **1999**, 868: 233–285.
- [160]. Auchampach, JA., Maruyama, M., Cavero, I., Gross, GJ., Pharmacological evidence for a role of ATP-dependent potassium channels in myocardial stunning, *Circulation*, **1992**, 86: 311–319.
- [161]. Kamb, A., Iverson, LE., Tanouye, MA., Molecular characterization of Shaker, a *Drosophila* gene that encodes a potassium channel, *Cell*, **1987**, 50: 405–413.
- [162]. Jiang, C., Crake, T., Poole-Wilson, PA., Inhibition by barium and glibenclamide of the net loss of <sup>86</sup>Rb<sup>+</sup> from rabbit myocardium during hypoxia, *Cardiovasc Res*, **1991**, 25: 414–420.
- [163]. Duncker, DJ., Van, Zon, NS., Altman, JD., Pavek, TJ., Bache, RJ., Role of K<sub>ATP</sub> channels in coronary vasodilation during exercise, *Circulation*, **1993**, 88: 1245–1253.
- [164]. Lorenz, JN., Baird, NR., Judd, LM., Noonan, WT., Andringa, A., Doetschman, T., Manning, PA., Liu, LH., Miller, ML., Shull, GE., Impaired renal NaCl absorption in mice lacking the ROMK potassium channel, a model for type II Bartter's syndrome, *J Biol Chem*, **2002**, 277: 37871–37880.
- [165]. Zhou, X., Zhang, Z., Shin, MK., Horwitz, SB., Levorse, JM., Zhu, L., Sharif-Rodriguez, W., Streltsov, DY., Dajee, M., Hernandez, M., Pan, Y., Urosevic-Price, O., Wang, L., Forrest, G., Szeto, D., Zhu, Y., Cui, Y., Michael, B., Balogh, LA., Welling, PA., Wade, JB., Roy, S., Sullivan, KA.,

Heterozygous disruption of renal outer medullary potassium channel in rats is associated with reduced blood pressure, *Hypertension*, **2013**, 62: 288–294.

[166]. Miki, T., Suzuki, M., Shibasaki, T., Uemura, H., Sato, T., Yamaguchi, K., Koseki, H., Iwanaga, T., Nakaya, H., Seino, S., Mouse model of Prinzmetal angina by disruption of the inward rectifier Kir6.1. *Nat Med*, **2002**, 8: 466–472.

[167]. Aziz, Q., Thomas, AM., Gomes, J., Ang, R., Sones, WR., Li, Y., Ng, KE., Gee, L., Tinker, A., The ATP-sensitive potassium channel subunit, Kir6.1, in vascular smooth muscle plays a major role in blood pressure control, *Hypertension*, **2014**, 64: 523–529.

[168]. Malester, B., Tong, X., Ghu, I., Kontogeorgis, A., Gutstein, DE., Xu, J., Hendricks-Munoz, KD., Coetzee, WA., Transgenic expression of a dominant negative K(ATP) channel subunit in the Mouse endothelium: effects on coronary flow and endothelin-1 secretion, *FASEB J*, **2007**, 21: 2162–2172.

[169]. Tong, X., Porter, LM., Liu, G., Dhar-Chowdhury, P., Srivastava, S., Pountney, DJ., Yoshida, H., Artman, M., Fishman, GI., Yu, C., Iyer, R., Morley, GE., Gutstein, DE., Coetzee, WA., Consequences of cardiac myocyte-specific ablation of KATP channels in transgenic mice expressing dominant negative Kir6 subunits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2006**, 291: H543–H551.

[170]. Yoshida, H., Feig, JE., Morrissey, A., Ghu, IA., Artman, M., Coetzee, WA., K<sub>ATP</sub> channels of primary human coronary artery endothelial cells consist of a heteromultimeric complex of Kir6.1, Kir6.2, and SUR2B subunits, *J Mol Cell Cardiol*, **2004**, 37: 857–869.

[171]. Miki, T., Nagashima, K., Tashiro, F., Kotake, K., Yoshitomi, H., Tamamoto, A., Gono, T., Iwanaga, T., Miyazaki, J., Seino, S., Defective insulin secretion and enhanced insulin action in K<sub>ATP</sub> channel-deficient mice, *Proc Natl Acad Sci USA*, **1995**, 95: 10402–10406.

[172]. Seino, S., Iwanaga, T., Nagashima, K., Miki, T., Diverse roles of K(ATP) channels learned from Kir6.2 genetically engineered mice, *Diabetes*, **2000**, 49: 311–318.

[173]. Flagg, TP., Charpentier, F., Manning-Fox, J., Remedi, MS., Enkvetchakul, D., Lopatin, A., Koster, J., Nichols, C., Remodeling of excitation-contraction coupling in transgenic mice expressing ATP-insensitive sarcolemmal K<sub>ATP</sub> channels, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2004**, 286: H1361–H1369.

[174]. Koster, JC., Knopp, A., Flagg, TP., Markova, KP., Sha, Q., Enkvetchakul, D., Betsuyaku, T., Yamada, KA., Nichols, CG., Tolerance for ATP-insensitive K(ATP) channels in transgenic mice, *Circ Res*, **2001**, 89: 1022–1029.

[175]. Clark, R., Mannikko, R., Stuckey, DJ., Iberl, M., Clarke, K., Ashcroft, FM., Mice expressing a human K(ATP) channel mutation have altered channel ATP sensitivity but no cardiac abnormalities, *Diabetologia*, **2012**, 55: 1195–1204.

[176]. Zingman, LV., Hodgson, DM., Bast, PH., Kane, GC., Perez-Terzic, C., Gumina, RJ., Pucar, D., Bienengraeber, M., Dzeja, PP., Miki, T., Seino, S., Alekseev, AE., Terzic, A., Kir 6.2 is required for adaptation to stress, *Proc Natl Acad Sci USA*, **2002**, 99: 13278–13283.

[177]. Eisner, DA., Dibb, KM., Trafford, AW., The mechanism and significance of the slow changes of ventricular action potential duration following a change of heart rate, *Exp Physiol*, **2009**, 94: 520–528.

[178]. Zingman, LV., Zhu, Z., Sierra, A., Stepniak, E., Burnett, CM., Maksymov, G., Anderson, ME., Coetzee, WA., Hodgson-Zingman, DM., Exercise-induced expression of cardiac ATP-sensitive potassium channels promote action potential shortening and energy conservation, *J Mol Cell Cardiol*, **2011**, 51: 72–81.

[179]. Suzuki, M., Sasaki, N., Miki, T., Sakamoto, N., Ohmoto-Sekine, Y., Tamagawa, M., Seino, S., Marban, E., Nakaya, H., Role of sarcolemmal K(ATP) channels in cardio protection against ischemia/reperfusion injury in mice, *J Clin Invest*, **2002**, 109: 509–516.

[180]. Gros, L., Trapp, S., Dabrowski, M., Ashcroft, FM., Bataille, D., Blache, P., Characterization of two novel forms of the rat sulphonylurea receptor SUR1A2 and SUR1B Delta31, *Br J Pharmacol*, **2002**, 137: 98–106.

[181]. Hansen, T., Echwald, SM., Hansen, L., Moller, AM., Almind, K., Clausen, JO., Urhammer, SA., Inoue, H., Ferrer, J., Bryan, J., Aguilar-Bryan, L., Permutt, MA., Pedersen, O., Decreased tolbutamide-stimulated insulin secretion in healthy subjects with sequence variants in the high-affinity sulphonylurea receptor gene, *Diabetes*, **1998**, 47: 598–605.



- [182]. Hart, LM., de Knijff, P., Dekker, JM., Stolk, RP., Nijpels, G., van der Does, FE., Ruige, JB., Grobbee, DE., Heine, RJ., Maassen, JA., Variants in the sulphonylurea receptor gene: association of the exon 16-3t variant with Type II diabetes mellitus in Dutch Caucasians, *Diabetologia*, **1999**, 42: 617–620.
- [183]. Sakura, H., Trapp, S., Liss, B., Ashcroft, FM., Altered functional properties of K<sub>ATP</sub> channel conferred by a novel splice variant of SUR1, *J Physiol*, **1999**, 521: 337–350.
- [184]. Schmid, D., Stolzlechner, M., Sorgner, A., Bentele, C., Assinger, A., Chiba, P., Moeslinger, T., An abundant, truncated human sulfonylurea receptor 1 splice variant has prodiabetic properties and impairs sulfonylurea action, *Cell Mol Life Sci*, **2012**, 69: 129–148.
- [185]. Shiota, C., Larsson, O., Shelton, KD., Shiota, M., Efanov, AM., Hoy, M., Lindner, J., Kooptiwut, S., Juntti-Berggren, L., Gromada, J., Berggren, PO., Magnuson, MA., Sulfonylurea receptor type 1 knock-out mice have intact feeding-stimulated insulin secretion despite marked impairment in their response to glucose, *J Biol Chem*, **2002**, 277: 37176–37183.
- [186]. Seghers, V., Nakazaki, M., DeMayo, F., Aguilar-Bryan, L., Bryan, J., Sur1 knockout mice. A model for K(ATP) channel-independent regulation of insulin secretion, *J Biol Chem*, **2000**, 275: 9270–9277.
- [187]. Flagg, TP., Kurata, HT., Masia, R., Caputa, G., Magnuson, MA., Lefer, DJ., Coetzee, WA., Nichols, CG., Differential structure of atrial and ventricular KATP: atrial KATP channels require SUR1, *Circ Res*, **2008**, 103: 1458–1465.
- [188]. Fedorov, VV., Glukhov, AV., Ambrosi, CM., Kostecki, G., Chang, R., Janks, D., Schuessler, RB., Moazami, N., Nichols, CG., Efimov, IR., Effects of KATP channel openers diazoxide and pinacidil in coronary-perfused atria and ventricles from failing and non-failing human hearts, *J Mol Cell Cardiol*, **2011**, 51: 215–225.
- [189]. Lefer, DJ., Nichols, CG., Coetzee, WA., Sulfonylurea receptor 1 subunits of ATP-sensitive potassium channels and myocardial ischemia/reperfusion injury, *Trends Cardiovasc Med*, **2009**, 19: 61–67.
- [190]. Chutkow, WA., Makielski, JC., Nelson, DJ., Burant, CF., Fan, Z., Alternative splicing of sur2 exon 17 regulates nucleotide sensitivity of the ATP-sensitive potassium channel, *J Biol Chem*, **1999**, 274: 13656–13665.
- [191]. Chutkow, WA., Pu, J., Wheeler, MT., Wada, T., Makielski, JC., Burant, CF., McNally, EM., Episodic coronary artery vasospasm and hypertension develop in the absence of Sur2 K(ATP) channels, *J Clin Invest*, **2002**, 110: 203–208.
- [192]. Chutkow, WA., Samuel, V., Hansen, PA., Pu, J., Valdivia, CR., Makielski, JC., Burant, CF. Disruption of Sur2-containing K(ATP) channels enhances insulin-stimulated glucose uptake in skeletal muscle, *Proc Natl Acad Sci USA*, **2001**, 98: 11760–11764.
- [193]. Stoller, D., Kakkar, R., Smelley, M., Chalupsky, K., Earley, JU., Shi, NQ., Makielski, JC., McNally, EM., Mice lacking sulfonylurea receptor 2 (SUR2) ATP-sensitive potassium channels are resistant to acute cardiovascular stress, *J Mol Cell Cardiol*, **2007**, 43: 445–454.
- [194]. Stoller, DA., Fahrenbach, JP., Chalupsky, K., Tan, BH., Aggarwal, N., Metcalfe, J., Hadhazy, M., Shi, NQ., Makielski, JC., McNally, EM., Cardiomyocyte sulfonylurea receptor 2-K<sub>ATP</sub> channel mediates cardio protection and ST segment elevation, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2010**, 299: H1100–H1108.
- [195]. Shi, NQ., Ye, B., Makielski, JC., Function and distribution of the SUR isoforms and splice variants, *J Mol Cell Cardiol*, **2005**, 39: 51–60.
- [196]. Liu, XK., Yamada, S., Kane, GC., Alekseev, AE., Hodgson, DM., O’Cochlain, F., Jahangir, A., Miki, T., Seino, S., Terzic, A., Genetic disruption of Kir6.2, the pore-forming subunit of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel, predisposes to catecholamine-induced ventricular dysrhythmia, *Diabetes* 53 Suppl, **2004**, 3: S165–S168.
- [197]. Gumina, RJ., O’Cochlain, DF., Kurtz, CE., Bast, P., Pucar, D., Mishra, P., Miki, T., Seino, S., Macura, S., Terzic, A., K<sub>ATP</sub> channel knockout worsens myocardial calcium stress load in vivo and impairs recovery in stunned heart, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2007**, 292: H1706–H1713.
- [198]. Storey, NM., Stratton, RC., Rainbow, RD., Standen, NB., Lodwick, D., Kir 6.2 limits Ca<sup>2+</sup> over load and mitochondrial oscillations of ventricular myocytes in response to metabolic stress, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2013**, 305: H1508–H1518.

- [199]. Ljubkovic, M., Marinovic, J., Fuchs, A., Bosnjak, ZJ., Bienengraeber, M., Targeted expression of Kir6.2 in mitochondria confers protection against hypoxic stress, *J Physiol*, **2006**, 577: 17–29.
- [200]. Daut, J., Maierrudolph, W., Vonbeckerath, N., Mehrke, G., Gunther, K., Goedelmeinen, L., Hypoxic dilation of coronary arteries is mediated by ATP-sensitive potassium channels, *Science*, **1990**, 247: 1341–1344.
- [201]. Moir, TW., Coronary vascular adjustments to acute myocardial ischemia, *Arch Intern Med*, **1972**, 129: 799–807.
- [202]. Schaper, J., Borgers, M., Schaper, W., Ultrastructure of ischemia-induced changes in the precapillary anastomotic network of the heart, *Am J Cardiol*, **1972**, 29: 851–859.
- [203]. Coffman, JD., Gregg, DE., Reactive hyperemia characteristics of the myocardium, *Am J Physiol*, **1960**, 199: 1143–1149.
- [204]. Clayton, FC., Smith, MA., Grover, GJ., Coronary reactive hyperemia and adenosine-induced vasodilation are mediated partially by a glyburide-sensitive mechanism, *Pharmacology*, **1992**, 44: 92–100.
- [205]. Komaru, T., Kanatsuka, H., Shirato, K., Coronary microcirculation: physiology and pharmacology, *Pharmacol Ther*, **2000**, 86: 217–261.
- [206]. Cooper, PE., Reutter, H., Woelfle, J., Engels, H., Grange, DK., vanHaften, G., van Bon, BW., Hoischen, A., Nichols, CG., Cantu syndrome resulting from activating mutation in the KCNJ8 gene, *Hum Mutat*, **2014**, 35: 809–813.
- [207]. Nichols, CG., Singh, GK., Grange, DK., K<sub>ATP</sub> channels and cardiovascular disease: suddenly a syndrome, *Circ Res*, **2013**, 112: 1059–1072.
- [208]. Olson, TM., Terzic, A., Human K(ATP) channelopathies: diseases of metabolic homeostasis. *Pflügers Arch*, **2010**, 460: 295–306.
- [209]. Flanagan, SE., Clauin, S., Bellanne-Chantelot, C., de Lonlay, P., Harries, LW., Gloyn, AL., Ellard, S., Update of mutations in the genes encoding the pancreatic beta-cell K(ATP) channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and sulfonylurea receptor 1 (ABCC8) in diabetes mellitus and hyperinsulinism. *Hum Mutat*, **2009**, 30: 170–180.
- [210]. Naylor, RN., Greeley, SA., Bell, GI., Philipson, LH., Genetics and pathophysiology of neonatal diabetes mellitus. *J Diabetes Invest*, **2011**, 2: 158–169.
- [211]. Reyes, S., Park, S., Johnson, BD., Terzic, A., Olson, TM., Kir6.2 K<sub>ATP</sub> channel E23K variant over represented in human heart failure is associated with impaired exercise stress response. *Hum Genet*, **2009**, 126: 779–789.
- [212]. Veeramah, KR., Karafet, TM., Wolf, D., Samson, RA., Hammer, MF., The KCNJ8-S422L variant previously associated with J-wave syndromes is found at an increased frequency in Ashkenazi Jews. *Eur J Hum Genet*, **2014**, 22: 94–98.
- [213]. Medeiros-Domingo, A., Tan, BH., Crotti, L., Tester, DJ., Eckhardt, L., Cuoretti, A., Kroboth, SL., Song, C., Zhou, Q., Kopp, D., Schwartz, PJ., Makielski, JC., Ackerman, MJ., Gain-of-function mutation S422L in the KCNJ8-encoded cardiac K(ATP) channel Kir6.1 as a pathogenic substrate for J-wave syndromes. *Heart Rhythm*, **2010**, 7: 1466–1471.
- [214]. Grange, DK., Nichols, CG., Singh, GK., Cantu syndrome and related disorders. In: Gene Reviews, edited by Pagon, RA., Adam, MP., Ardinger, HH., Wallace, SE., Amemiya, A., Bean, LJH., Bird, TD., Fong, CT., Mefford, HC., Smith, RJH., Stephens, K., Seattle, WA: Univ. of Washington, **1993–2015**, (2014 oct 02).
- [215]. Inagaki, N., Tsuura, Y., Namba, N., Masuda, K., Gono, T., Horie, M., Seino, Y., Mizuta, M., Seino, S., Cloning and functional characterization of a novel ATP-sensitive potassium channel ubiquitously expressed in rat tissues, including pancreatic islets, pituitary, skeletal muscle, and heart. *J Biol Chem* 270: 5691–5694.
- [216]. Inagaki, N., Inazawa, J., Seino, S., Cdna Sequence, Gene Structure, And Chromosomal Localization Of The Human ATP-Sensitive Potassium Channel, Ukatp-1, Gene (KCNJ8), *Genomics*. **1995**, Nov 1;30(1):102-4.
- [217]. NCBI, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/target/gene/KCNJ8#section=Top> (12.04.2019)
- [218]. [https://openscholarship.wustl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1643&context=art\\_sci\\_etds](https://openscholarship.wustl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1643&context=art_sci_etds) (14.04.2019)

- [219].Ensembl,[http://apr2018.archive.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Mappings?db=core;r=12:21765233-21766233;v=rs72554071;vdb=variation;vf=13567750](http://apr2018.archive.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Mappings?db=core;r=12:21765233-21766233;v=rs72554071;vdb=variation;vf=13567750) (14.04.2019)
- [220]. Shu, Ye., Sahar, Dhillon, Xiayi, Ke., Andrew, R., Collins and Ian N.M. Day An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nucleic Acid Research*, **2001**, Vol. 29, No. 17, E88-8.
- [221]. BLAST [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2019 - [cited 2019 04 30]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK\\_LOC=BlastHome](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK_LOC=BlastHome) (07.05.2019)
- [222]. Nucleotide [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; [2019], Accession No. NG\_012876.1, Homo sapiens optineurin (OPTN), RefSeqGene on chromosome 10, Linear DNA; [cited 2019 04 30]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/257743476> (07.05.2019)
- [223]. Ashcroft, SJ., Ashcroft, FM., Properties and functions of ATP-sensitive K-channels, *Cell Signal*, 2: 197–214, **1990**.
- [224]. Ermiş, E., Erken Repolarizasyon Bulunan Kişilerde Ani Ölüm Ve Aritmi Belirteci Testlerin Değerlendirilmesi ve KCNJ8-S422L Gen Mutasyon İlişkisinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, **2012**.
- [225]. Monique, N., Foster and William, A., Coetzee., KATP Channels in the Cardiovascular System, *Physiol Rev.* **2016** Jan; 96(1): 177–252.
- [226]. Libby, P., (Bölüm çevirisi: Karasu Ç.) Aterosklerozisin Önlenmesi ve Tedavisi, In: Braunwald, E., Fauci, AS., Kasper, DL., Hauser, SL., Longo, DL., Jameson, JL, Eds., Harrison İç Hastalıkları Prensibi, 15. Baskı, İstanbul, **2004**, 1382-1386.
- [227]. Seino, S., Iwanaga, T., Nagashima, K., and Miki, T. Diverse Roles of K(ATP) Channels Learned From Kir6.2 Genetically Engineered Mice. *Diabetes*, **2000**; 49:311–318.
- [228]. Miki, T., Seino, S., Roles of KATP channels as metabolic sensors in acute metabolic changes, *Journal of Molecular & Cellular Cardiology*, **2005**; 38:917–925.
- [229]. Veeramah, R. K., Karafet, M. T., Wolf, D., Samson, A. R., and Hammer, F. M. The KCNJ8-S422L Variant Previously Associated with J-Wave Syndromes is Found at an Increased Frequency in Ashkenazi Jews. *European Journal of Human Genetics*, **2014**; 22:94-98.
- [230]. Fedele, F., Mancone, M., Chilian, M. W., Severino, P., Canali, E., Logan, S., De Marchis, L. M., Volterrani, M., Palmirotta, R., and Guadagni, F. Role of Genetic Polymorphisms of Ion Channels in the Pathophysiology of Coronary Microvascular Dysfunction and Ischemic Heart Disease. *Basic Res Cardiol*, **2013**; 108:387.
- [231]. Barajas-Martínez, H., Hu, D., Ferrer, T., Onetti, G., Wu, Y., Burashnikov, E., Boyle, M., Surman, T., Urrutia, J., Veltmann, C., Schimpf, R., Borggrefe, M., Wolpert, C., Ibrahim, B., Sánchez-Chapula, J., Winters, S., Haïssaguerre, M., Antzelevitch, C., Molecular Genetic and Functional Association of Brugada and Early Repolarization Syndromes with S422L Missense Mutation in KCNJ8, *Heart Rhythm*, **2012** Apr; 9(4): 548–555.
- [232]. Phani, N., Guddattu, V., Bellampalli, R., Seenappa, V., Adhikari, P., Nagri, S., D'Souza, S., Mundyat, G., Satyamoorthy, K., Rai, P., Population Specific Impact of Genetic Variants in KCNJ11 Gene to Type 2 Diabetes: A Case-Control and Meta-Analysis Study, *PLoS One*, **2014**; 9(9): e107021.
- [233]. Li, YY., The KCNJ11 E23K gene polymorphism and type 2 diabetes mellitus in the Chinese Han population: a meta-analysis of 6,109 subjects, *Molecular Biology Reports*, **2013**; 40(1): 141-146.
- [234]. Haïssaguerre, M., Chatel, S., Sacher, F., Weerasooriya, R., Probst, V., Lousouarn, G., Horlitz, M., Liersch, R., Schulze-Bahr, E., Wilde, A., Kaab, S., Koster, J., Rudy, Y., Le, Marec, H., Schott, JJ., Ventricular fibrillation with prominent early repolarization associated with a rare variant of KCNJ8/KATP channel. *J Cardiovasc Electrophysiol.* **2009**; 20:93–98.
- [235]. A Delaney, JT., Muhammad, R., Blair, MA., Kor, K., Fish, FA., Roden, DM., Darbar, D. KCNJ8 mutation associated with early repolarization and atrial fibrillation. *Europace.* **2012**, Oct; 14(10):1428-32.

[236]. Medeiros-Domingo, A., Tan, BH., Crotti, L., Tester, DJ., Eckhardt, L., Cuoretti, A., Kroboth, SL., Song, C., Zhou, Q., Kopp, D., Schwartz, PJ., Makielski, JC., Ackerman, MJ., Gain of function mutation S422L in the KCNJ8-encoded cardiac K(ATP) channel Kir6.1 as a pathogenic substrate for J wave syndromes. *HeartRhythm*, **2010**, 7:1466–1471.



## ÖZGEÇMİŞ

**Adı ve Soyadı** :Didem SEÇER

**Doğum Tarihi** :28.02.1989

**E-mail** :ylebik201304@mersin.edu.tr

**ğrenim Durumu** :

Derece	Bölüm/Program	niversite	Yıl
Lisans	Kimya	Mersin Üniversitesi	2008-2013

## ESERLER (Makaleler ve Bildiriler)

1. Vezir, .; melekoğlu, .; Sucu, N.; Yalın, A. E.; Yılmaz, Ő. N.; Yalın, S.; Sğt, F.; Yaman, S.; Kibar, K.; Akkapulu, M.; Ko, M. İ.; Seer, D. N -Acetylcysteine-Induced Vasodilatation is Modulatedby KATP Channels, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase Activity and Intracellular Calcium Concentration: An in Vitro Study. *ELSEVIER BV*, **2017**, 69, 738-745.

2. Akkapulu, M.; Yaman, S.; Seer, D.; Sğt, F.; Yalın, A. E.; Vezir, .; melekoğlu, .; Sucu, N.; Yılmaz, N.; Yalın, S., The role of Na<sup>+</sup> KATPase Activity in the Vasodilatory Effect of N-Acetylcysteine. 41. FEBS Congress, İzmır, Türkiye, **2016**.

3. Sğt, F.; melekoğlu, .; Vezir, .; Sucu, N.; Yalın, A.; Yalın, S.; Yılmaz, N.; Yaman, S.; Karagl, M. İ.; Kibar, K.; Akkapulu, M.; Seer, D., The Role of ATP-Sensitive Potassium Channels in the Vasodilatory Effect of N-Acetylcysteine. 41. FEBS Congress, İzmır, Türkiye, **2016**.