



TIOPENTAL BLOQUEIA OS CANAIS DE K^+_{ATP} NAS CÉLULAS β PANCREÁTICAS

THIOPENTAL BLOCKS K^+_{ATP} CHANNELS IN PANCREATIC β -CELL

Carlos Alberto da SILVA¹
Rinaldo Roberto de Jesus GUIRRO¹
Karina Maria CANCELLIERO¹
Fabiana FORTI¹

RESUMO

Objetivo

Este trabalho estuda o efeito do tiopental sobre a permeabilidade ao K^+ em ilhotas de Langerhans, isoladas de ratos.

Métodos

As ilhotas foram isoladas pelo método da colagenase, marcadas durante 90 minutos com $^{86}\text{RbCl}$ (substituto de K^+) e perfundidas em solução de Krebs-bicarbonato em diferentes condições experimentais.

Resultados

Os resultados indicam que o tiopental (0,2 e 2,0mM) reduziu o efluxo de ^{86}Rb de ilhotas perfundidas, tanto na presença quanto na ausência de glicose, em solução contendo ainda 20 ou 100 $\mu\text{g/mL}$ de tolbutamida, que é um bloqueador dos canais de K^+ modulados pelo ATP. O efeito inibidor de tiopental no efluxo do ^{86}Rb foi mais notável quando a perfusão das ilhotas foi processada em solução contendo diazoxida, substância que abre os canais de K^+ modulados pelo ATP.

¹ Programa de Pós-Graduação, Mestrado em Fisioterapia, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba. Rodovia do Açúcar, km 156, 13400-911, Piracicaba, SP, Brasil. Correspondência para/ *Correspondence to*: R.R.J. GUIRRO. *E-mail*: <rjguirro@unimep.br>.

Conclusão

Com base em resultados obtidos em experimentos com sulfonilurêias, constatou-se que o tiopental atua bloqueando preferencialmente, de maneira dose-dependente e reversível, os canais de K^+ modulados pelo ATP.

Termos de indexação: célula β , efluxo de ^{86}Rb , tiopental, ilhotas de Langerhans.

ABSTRACT

Objective

To study the effect of thiopental on the permeability to K^+ of isolated Langerhans islets of rats.

Methods

The islets were isolated by collagenase method and marked for 90 minutes with $^{86}RbCl$ (K^+ substitute), then perfused in Krebs-bicarbonate solution in different experimental conditions.

Results

The results indicate that the thiopental (0.2 and 2.0mM) reduced the ^{86}Rb efflux of perfused islets, either in glucose presence or in its absence, in solution containing still 20 or 100 $\mu g/mL$ of tolbutamide, which is a blocker of channels K^+ modulated by ATP. The inhibiting effect of thiopental in the ^{86}Rb efflux was even more outstanding when the islets perfusion was processed in solution containing diazoxide, substance that opens the K^+ channels modulated by ATP.

Conclusion

Based on results obtained in experiments with sulphonylureas, it was verified that thiopental acts by blocking preferentially, in a dose-dependent and reversible way, the K^+ channels modulated by ATP.

Indexing terms: β -cell, ^{86}Rb efflux, thiopental, islets of Langerhans.

INTRODUÇÃO

O processo secretório da insulina, induzido pela glicose e/ou outros secretagogos, de maneira geral apresenta, como um dos eventos iniciais, a redução da condutância ao K^+ , com conseqüente acúmulo deste cátion nas células β pancreáticas. Este acúmulo de cargas positivas leva à despolarização da membrana, ativação de canais de Ca^{2+} (alta condutância) sensíveis à voltagem e, finalmente, à ativação do sistema secretor¹.

Com o aprimoramento das técnicas de registro e, em especial, com o surgimento do *Patch-Clamp*², foi possível a discriminação dos canais de K^+ presentes nas células β , os quais são assim denominados: canal de K^+ bloqueados pelo Ca^{2+} (alta condutância), canal de K^+ voltagem dependente

(baixa condutância) e o canal de K^+ modulado pela relação ATP/ADP³.

A atividade dos canais de K^+ da célula β está intimamente ligada às variações no potencial elétrico da membrana, de tal modo que o canal de K^+ bloqueado pelo Ca^{2+} (alta condutância) participa da despolarização da célula β , auxiliando na retenção de cargas positivas; por outro lado, o canal de K^+ voltagem dependente (baixa condutância), quando ativado, participa da repolarização celular^{4,5}. Cabe salientar que ambos os canais de K^+ são passíveis de bloqueio pela tetraetilamonia (TEA)⁶.

Já foi observado que as células β apresentam uma população de canais de K^+ diferentes dos demais, por serem modulados pela relação ATP/ADP e serem responsáveis pela despolarização inicial (pré-potencial) que deflagra o processo secretório da

insulina⁷. Esses canais são bloqueados pela elevação na concentração citoplasmática de ATP, desencadeada pelo metabolismo da glicose; portanto, a atividade desses canais está associada ao metabolismo do referido secretagogo, sendo atribuída a este a função de sensor metabólico para a liberação de insulina⁸⁻¹⁰.

No que tange aos fármacos que modificam a funcionalidade dos canais de K^+ modulados pelo ATP, sabe-se que as sulfoniluréias como, por exemplo, a tolbutamida, exercem seu efeito estimulador da secreção de insulina pelas células beta pancreáticas por bloquear especificamente estes canais, não afetando, todavia, os demais canais de K^+ , demonstrando uma especificidade de ação¹¹⁻¹⁶. Por outro lado, outras sulfoniluréias, como a diazoxida, também atuam nas células β pancreáticas promovendo, no entanto, a abertura dos canais de K^+ modulados pelo ATP e, portanto, atuando como inibidores da secreção de insulina^{17,18}.

Diversos pesquisadores demonstraram que, no axônio gigante da lula, os barbitúricos exercem ação bloqueadora da condutância dos canais de K^+ , promovendo despolarização e sugerindo a gênese dos efeitos iniciais excitatórios, provocados por tais anestésicos no sistema nervoso¹⁹.

Sevcik²⁰ demonstrou que o barbitúrico tiopental apresenta alta afinidade com os canais de K^+ presentes na membrana de axônios gigantes de lula, estando a membrana em repouso ou despolarizada. Tal barbitúrico provoca uma redução na condutância ao canal de K^+ , sendo que as despolarizações observadas são do tipo dose-dependentes.

Estudos realizados na década de 80 avaliaram o efluxo do ⁸⁶Rb (radioisótopo marcador da permeabilidade ao K^+) em ilhotas pancreáticas isoladas de ratos e demonstraram que o tiopental reduziu significativamente o efluxo do ⁸⁶Rb, resultando no aumento da secreção de insulina induzida por 6,0mM de glicose. Ademais, demonstrou-se a reversão de tal efeito, com a retirada do barbitúrico do meio de perfusão. O efeito do tiopental sobre o efluxo do ⁸⁶Rb mostrou ser aditivo em relação ao efeito da glicose, uma vez que, em presença de

16,7mM de glicose, foi menor a redução do efluxo do referido isótopo induzido pelo tiopental²¹.

Tendo em vista os dados apresentados acima, destaca-se o consenso de que o tiopental atua nos ionóforos do K^+ , presentes na membrana das células β , entre outras. O objetivo deste trabalho foi o de discriminar sobre qual dos três tipos de permeabilidades distintas ao K^+ o referido anestésico atua, sabendo-se que: duas dessas permeabilidades são específicas (uma regulável pela relação ATP/ADP e outra pela concentração do Ca^{2+} intracelular), enquanto uma terceira é regulável pelo potencial de membrana.

MÉTODOS

Foram utilizados ratos albinos *Wistar*, de ambos os sexos, de 3 a 6 meses de idade, pesando entre 150 e 300g, procedentes do Biotério da Universidade Metodista de Piracicaba (Unimep). Os animais foram mantidos em ciclo fotoperiódico (claro/escuro) de 12 horas, sendo alimentados com ração balanceada e água *ad libitum*.

Para o isolamento das ilhotas de Langerhans, utilizou-se a técnica da colagenase²¹. Após o isolamento, as ilhotas ficaram expostas à solução de Hanks, contendo ⁸⁶Rb (radioisótopo traçador da permeabilidade ao K^+), durante 60 minutos. Após incubação e lavagem, as ilhotas foram perfundidas com solução de Krebs-bicarbonato durante 80 minutos, sendo que os primeiros 20 minutos constituem o período de adaptação das ilhotas ao sistema perfusor. A coleta das amostras teve início no 20º minuto, em intervalos regulares de dois minutos, e a radioatividade de cada frasco foi avaliada em contador de radiação beta Beckman, utilizando-se para isso o efeito Cerenkov. Os resultados dos experimentos estão expressos em termos da taxa fracional de efluxo do ⁸⁶Rb (%/min).

A variação do efluxo do ⁸⁶Rb foi avaliada segundo o método descrito por Boscheri & Malaisse²²: para cada experimento, calculou-se a diferença entre valores registrados após a alteração da condição experimental (40º minuto) e os valores

esperados, calculados pela extrapolação da curva exponencial dos valores obtidos antes do procedimento experimental (32º e 40º minutos).

O radioisótopo ^{86}Rb (traçador da permeabilidade ao K^+) foi adquirido da *New England Rad. Corporation*, enquanto os sais e as demais substâncias químicas, como a diazoxida (ativador do canal de K^+), tolbutamida (bloqueador do canal de K^+), terraetilamônia (TEA, bloqueador de canais de K^+ de alta condutância), EGTA (quelante de cálcio) e o pentobarbital sódico (tiopental), foram adquiridas da Sigma Diagnósticos.

A avaliação estatística dos dados foi feita pela aplicação de teste "t" de *Student*, admitindo-se como significativos os valores de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Foram avaliados, inicialmente, os efeitos da glicose e do tiopental no efluxo do ^{86}Rb , em presença

de tolbutamida. A Figura 1A mostra o efeito da glicose (2,8mM) no efluxo do ^{86}Rb de ilhotas perfundidas na presença de 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de tolbutamida. A média do efluxo, medida nos 10 minutos que precederam a introdução da glicose no meio, foi de $2,26 \pm 0,06\%$ /minuto. A glicose 2,8mM, presente no período entre o 40º e o 60ºmin, reduziu significativamente o efluxo do ^{86}Rb para $1,60 \pm 0,09\%$ /minutos (valor médio para os minutos entre o 50º e o 60º). Este efeito da glicose no efluxo do ^{86}Rb foi reversível pois, com a sua retirada, os valores do efluxo voltaram a níveis semelhantes aos da primeira fase.

A Figura 1B ilustra o efeito do tiopental (2mM) no efluxo do ^{86}Rb em presença de 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de tolbutamida e 2,8mM de glicose. Nota-se que, após a introdução do tiopental no meio, no intervalo do 40º ao 60º minutos, o efluxo foi reduzido de $1,83 \pm 0,07\%$ /minutos (do 30º ao 40º minutos) para $1,19 \pm 0,05\%$ /minutos (do 50º ao 60º minutos), sendo

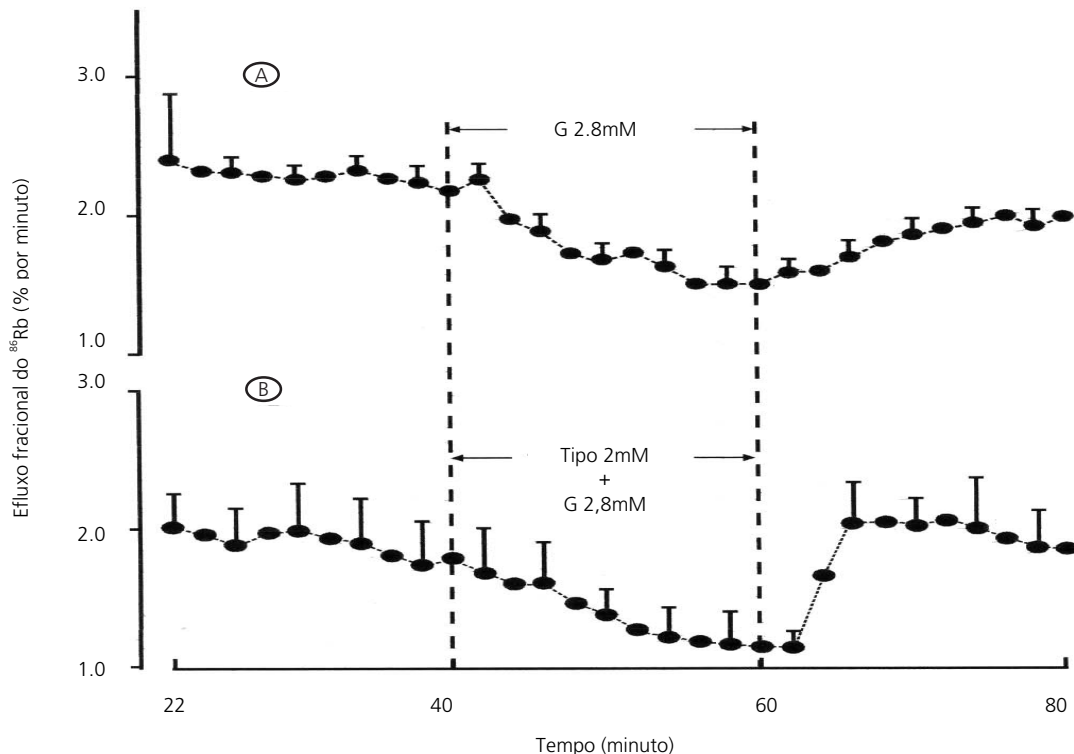


Figura 1. Efeito da glicose (G) 2,8mM (A), e do tiopental (TIO) 2mM (B), sobre o efluxo do ^{86}Rb de ilhotas perfundidas na presença de tolbutamida a 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$. A glicose e o tiopental estiveram presentes no intervalo compreendido entre o 40º e o 60º minutos da perfusão. Os pontos indicam as médias ($\pm\text{epm}$), sendo $n=4$ para cada condição experimental.

este efeito rapidamente revertido com a retirada da droga do meio perfusor. A capacidade do tiopental de reduzir o efluxo do ^{86}Rb , mesmo na presença de glicose mais tolbutamida, fica mais evidente ainda com a retirada da droga do meio (no 60º minuto), apresentando uma alta significância a partir do 64º minuto de perfusão. Nesta condição, o efluxo passou de $1,2 \pm 0,05\%$ /minutos para $1,9 \pm 0,05\%$ minutos.

A seguir, avaliou-se o efeito de diferentes concentrações de tolbutamida e tiopental no efluxo do ^{86}Rb , na ausência de glicose. A Figura 2A mostra o efeito do barbiturato tiopental (0,2mM) no efluxo do ^{86}Rb de ilhotas perfundidas, na presença de $20\mu\text{g}/\text{mL}$ de tolbutamida. Nota-se que, nos 10 minutos que precederam a introdução do anestésico

no meio, a média do efluxo foi de $3,33 \pm 0,05\%$ /minutos. Na presença do barbiturato (do 40º ao 60º minutos), observou-se redução significativa a partir do 52º minutos da perfusão, quando o efluxo atingiu $2,93 \pm 0,09\%$ /minutos (do 50º ao 60º minutos) da perfusão. Com a retirada do tiopental (60º minuto), o efluxo novamente elevou-se.

Quando a concentração do tiopental foi elevada para 2mM (Figura 2B), o efluxo do ^{86}Rb foi reduzido significativamente de $3,40 \pm 0,03\%$ /minutos para $1,94 \pm 0,03\%$ /minutos. Com a elevação da concentração da tolbutamida para $100\mu\text{g}/\text{mL}$ (Figura 2C), o tiopental (2mM) mostrou-se ainda efetivo em reduzir o efluxo do ^{86}Rb , passando de $3,66 \pm 0,01\%$ /minutos para $2,80 \pm 0,03\%$ /minutos.

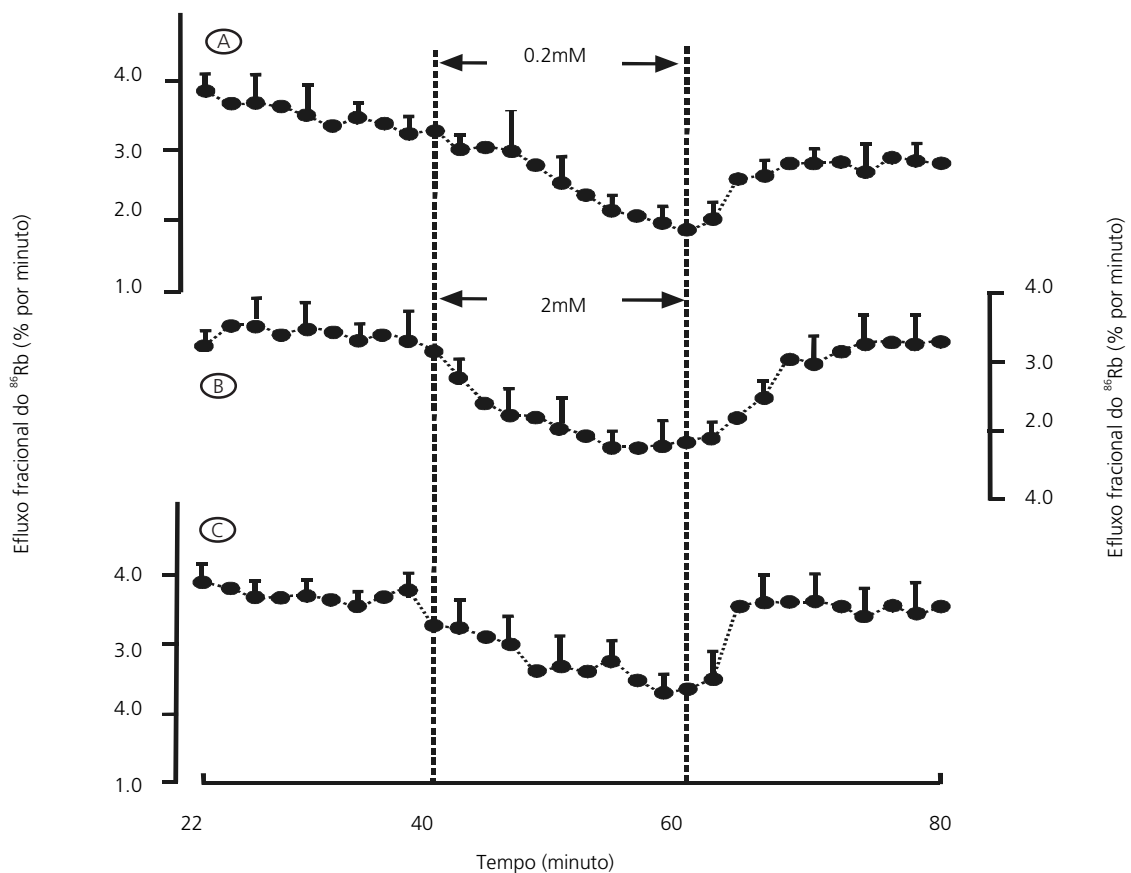


Figura 2. Efeito do tiopental a 0,2mM (A) e 2mM (B e C), sobre o efluxo do ^{86}Rb de ilhotas perfundidas na presença de tolbutamida 20mM (A e B) e 100mM (C) e na ausência de glicose. A tolbutamida esteve presente todo o período de perfusão, acrescentando-se à mesma o barbiturato entre o 40º e o 60º minuto. Os símbolos representam as médias (\pm epm), sendo $n=4$ para cada condição experimental.

Na Figura 3A, apresentam-se os efeitos de diferentes concentrações de diazoxida e tiopental sobre o efluxo do ^{86}Rb , podendo-se ainda observar que a introdução do tiopental (0,2mM) no meio perfusor contendo 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de diazoxida induziu uma drástica redução no efluxo do ^{86}Rb de 3,0% \pm 0,09%/min na primeira fase para 1,7 \pm 0,05%/min na fase intermediária. O efeito do anestésico foi significativamente maior, quando sua concentração foi elevada para 2mM. Neste caso, o efluxo do ^{86}Rb caiu de 3,1 \pm 0,02%/minutos para 1,1 \pm 0,02%/minutos. A ação inibidora do tiopental sobre o efluxo do ^{86}Rb foi atenuada, quando a concentração da diazoxida foi elevada para 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Figura 3B). Confirmando os dados obtidos nas figuras anteriores, o efeito do tiopental foi rápido, sendo rapidamente revertido com a retirada do barbitúrico do meio.

O efeito do tiopental no efluxo do ^{86}Rb na presença de TEA está apresentado na Figura 4, onde se observa que a introdução de 2mM de tiopental (no 40^o minuto), no meio perfusor contendo 20mM de TEA (substância que bloqueia a PK (Ca)_i e V_m dependentes), induziu uma redução rápida e altamente significativa no efluxo do ^{86}Rb . Este passou de 3,1 \pm 0,08%/minutos, na fase inicial da perfusão, para 1,4 \pm 0,1%/minutos, na presença do anestésico. A reversibilidade do tiopental ficou evidente ao analisar-se a retirada do fármaco do meio (60^o minuto): nesta fase, o efluxo voltou a aumentar gradativamente até valores semelhantes aos da primeira fase.

Por fim, foi analisado o efluxo do ^{86}Rb de ilhotas isoladas e perfundidas na presença de TEA,

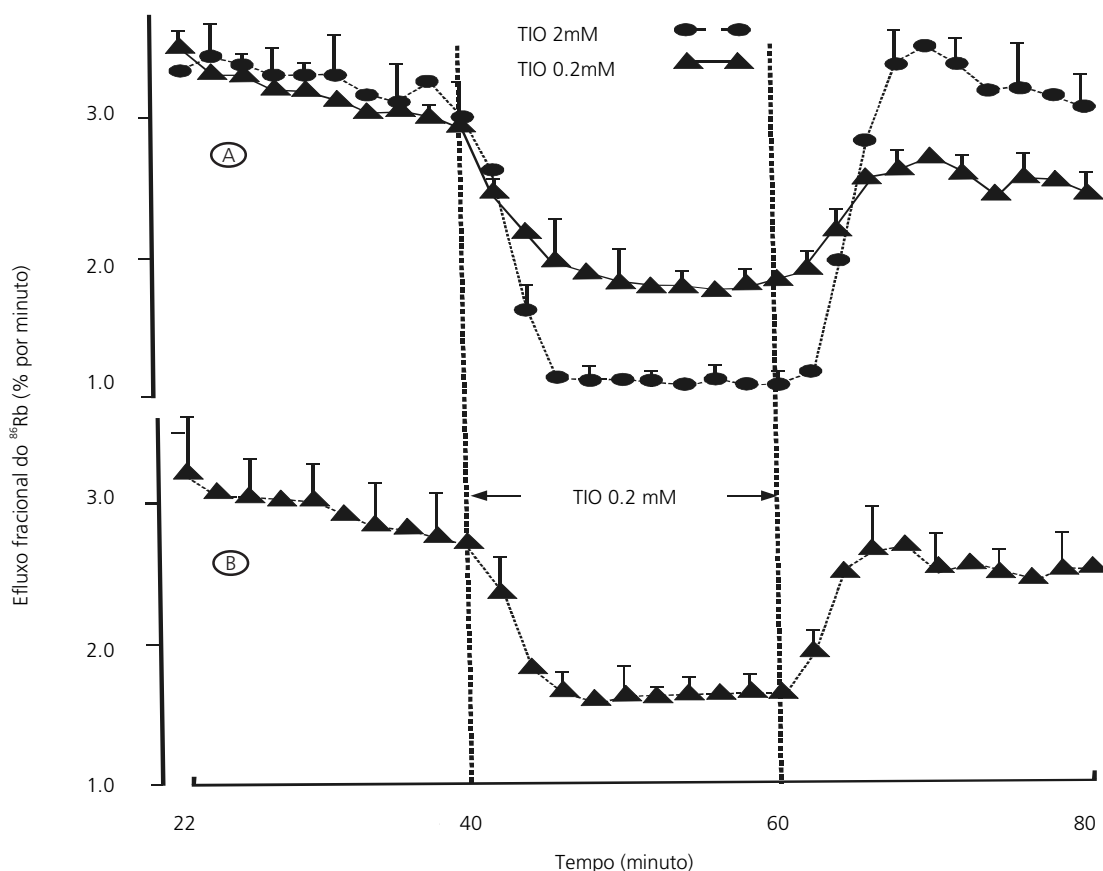


Figura 3. Efeito do tiopental (TIO) a 0,2mM (triângulos) e 2mM (círculos), sobre o efluxo do ^{86}Rb de ilhotas perfundidas na ausência de glicose e na presença de diazoxida 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (A) e 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (B). As linhas tracejadas delimitam o intervalo de tempo em que o tiopental esteve presente na perfusão. Os símbolos representam as médias (\pm epm), sendo n=4 para cada condição experimental.

diazoxida e tiopental, dando ênfase ao efeito da retirada do anestésico. A Figura 5A ilustra o efluxo do ^{86}Rb de ilhotas perfundidas na ausência de Ca^{2+} e glicose, e na presença de 20mM de TEA, mais 2mM de tiopental e 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de diazoxida. Durante a primeira fase, o efluxo foi de $1,7 \pm 0,05\%$ /minutos; contudo, com a retirada do tiopental do meio perfusor (40^o a 60^o minutos), notou-se um aumento abrupto e de grande magnitude no efluxo do ^{86}Rb , o qual atingiu a média de $4,9 \pm 0,5\%$ /minutos entre os 50^o e 60^o minutos do período de perfusão. Com a re-introdução do tiopental no meio, o efluxo do ^{86}Rb voltou a valores semelhantes aos da primeira fase.

A Figura 5B ilustra o efluxo do ^{86}Rb de ilhotas perfundidas na ausência extracelular de Ca^{2+} e de glicose, porém, na presença de 20mM de TEA e 2mM de tiopental. O efluxo do ^{86}Rb foi de $0,93 \pm 0,05\%$ /minutos entre o 30^o e 40^o minutos e não foi afetado pela introdução no meio perfusor de 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de diazoxida ($0,85 \pm 0,03\%$ /minutos, entre o 50^o e 60^o minutos). A retirada do diazoxida do meio (no 60^o minuto) não alterou o efluxo do ^{86}Rb .

DISCUSSÃO

As alterações na permeabilidade do K^+ na membrana das células beta, induzidas pela glicose, são fundamentais para o início da cascata de eventos que culmina com a secreção da insulina. O conhecimento detalhado da fisiologia dos canais de K^+ , em especial, daqueles canais modulados pelo ATP, se reveste de fundamental importância, considerando-se seu envolvimento no processo acima referido. Sua relevância é óbvia, ademais, considerando-se a sua efetiva implicação no controle clínico da manutenção de pacientes diabéticos não dependentes de insulina, através de hipoglicemiantes orais, tais como as sulfoniluréias, as quais atuam nesses canais.

Ho & Harris²³, analisando células nervosas, comprovaram que o tiobarbiturato tiopental modifica o potencial de membrana, além de exibir alta afinidade com o canal de K^+ , produzindo neste um efeito bloqueador e, com isso, estimulando o neurônio ao invés de inibi-lo. Da Silva²⁴, estudando o efeito do tiopental sobre a secreção de insulina e a permeabilidade ao K^+ em ilhotas isoladas, constatou

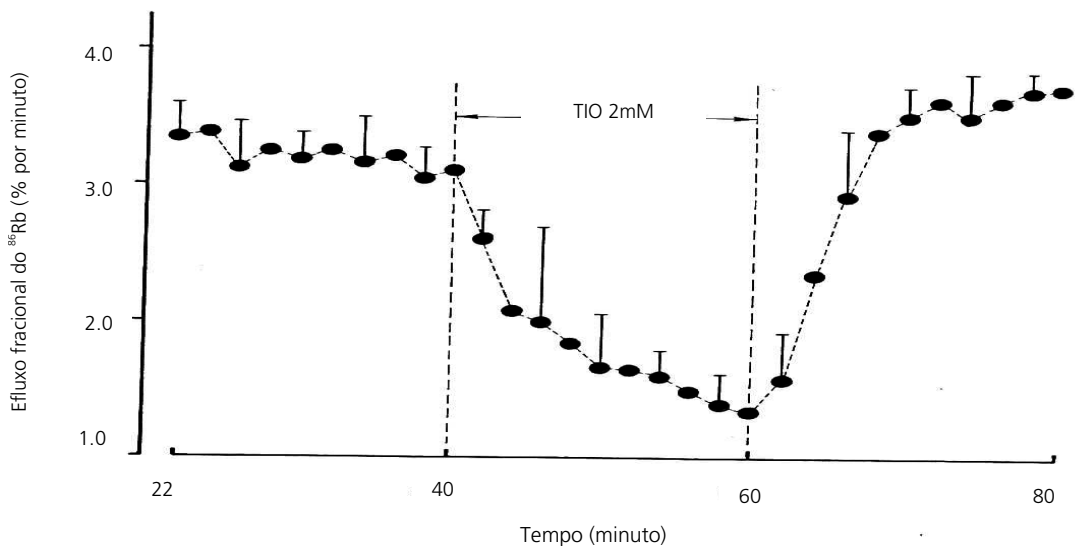


Figura 4. Efeito do tiopental (TIO) 2mM sobre o efluxo do ^{86}Rb de ilhotas perfundidas na presença de Tetraetilamônia (TEA) 20 mM, e na ausência de glicose. O barbitúrico (TIO) esteve presente no intervalo compreendido entre o 40^o e o 60^o minuto da perfusão. Os pontos representam as médias ($\pm\text{epm}$) $n=6$.

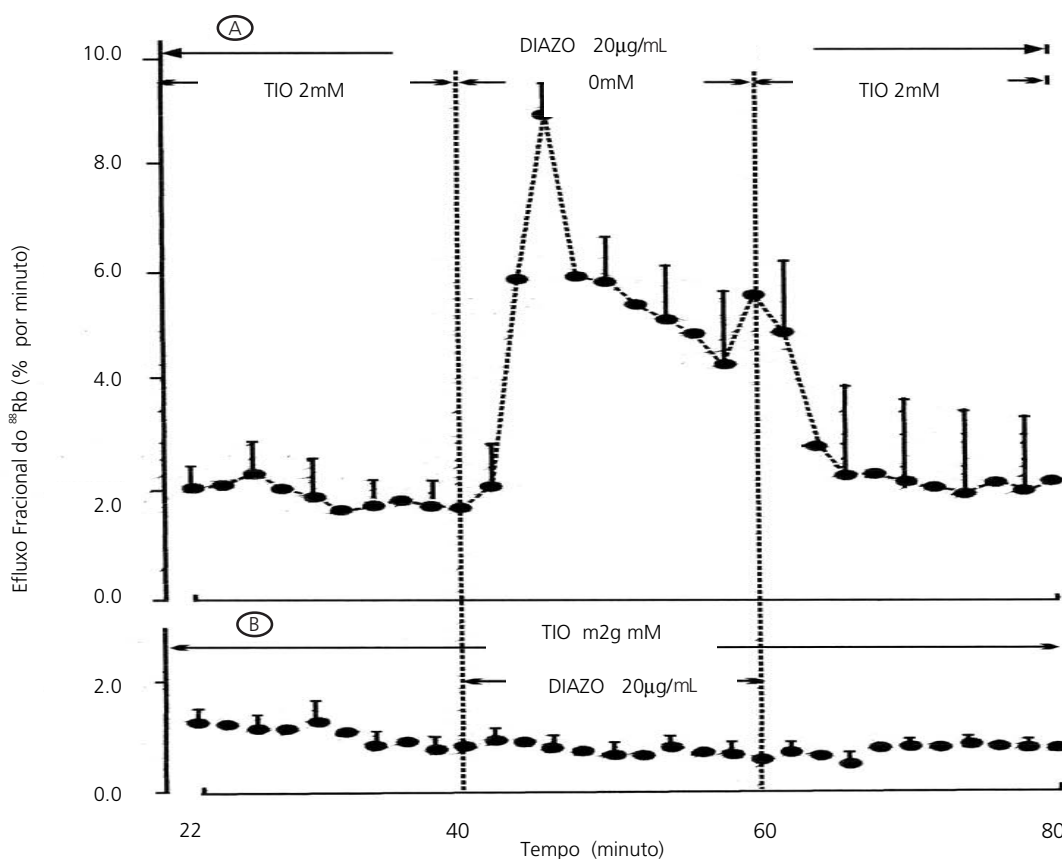


Figura 5. A Figura (A) ilustra o efeito da retirada do tiopental 2mM do meio perfusor, sobre o efluxo do ⁸⁶Rb de ilhotas perfundidas na ausência de glicose e de Ca²⁺ e na presença de 20mM de Tetraetilamônia (TEA), 20µg/mL de diazoxida, 0,5mM de EGTA. O barbiturato (TIO) esteve ausente no intervalo compreendido entre o 40º e o 60º minuto de perfusão, como delimitado pelas linhas verticais pontilhadas. A Figura (B), ilustra o efeito da adição de diazoxida 20µg/ml sobre o efluxo do ⁸⁶Rb de ilhotas perfundidas na ausência de glicose e de Ca²⁺, e na presença de TEA 20mM, tiopental 2mM, EGTA 0,5mM. A diazoxida foi adicionada ao meio perfusor entre o 40º e o 60º minuto da perfusão, como delimitado pelas linhas verticais pontilhadas. Os pontos representam as médias (±epm), n=4.

que o barbitúrico reduz o efluxo de ⁸⁶Rb, potencializando a secreção de insulina; verificou ainda que a redução também ocorreu na presença de menadione, um conhecido aceptor de hidrogênio, que atua reduzindo a formação de NAD(P)H em ilhotas isoladas²⁵. Na primeira parte deste trabalho compara-se a ação do barbiturato tiopental sobre o efluxo de ⁸⁶Rb, de ilhotas isoladas e perfundidas na presença e na ausência de glicose, além de verificar a ação complementar sobre o efeito produzido pela tolbutamida.

A glicose e a tolbutamida partilham de uma ação específica sobre os canais de K⁺ modulados pelo ATP. Note-se, na Figura 1A, que a tolbutamida

20µg/mL manteve reduzido o efluxo de ⁸⁶Rb na ausência de glicose, sendo que a adição de 2,8mM de glicose ao meio provocou redução suplementar no efluxo do radioisótopo, como já havia sido observado por outros autores²⁶. A Figura 1B mostra que a adição de tiopental ao meio contendo glicose e tolbutamida provocou maior redução adicional no efluxo de ⁸⁶Rb. Esse efeito foi rapidamente revertido com a retirada do anestésico do meio, registrada no 60º minuto de perfusão, indicando que o tiopental, enquanto glicosensor, não exerce ação tóxica sobre a fisiologia da células β.

Na mesma linha de raciocínio, analisou-se o efeito do tiopental na ausência de glicose, porém,

na presença de diferentes concentrações de tolbutamida. A ação do tiopental sobre o efluxo de ^{86}Rb sugere ser esta, dose-dependente, como ilustram as Figuras 2A e 2B. Ademais, como mostra a Figura 2C, na concentração de 2mM, o tiopental mostrou eficácia em reduzir o efluxo de ^{86}Rb , mesmo na presença de altas concentrações de tolbutamida (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Dentre as diferentes sulfoniluréias, a diazoxida exibe propriedades hiperglicemiantes, pois atua diretamente nas células beta, inibindo a secreção de insulina estimulada por vários agentes²⁶. Em contraste com os agentes hipoglicemiantes como a tolbutamida, a diazoxida produz ativação do canal de K-ATP modulável, não exercendo efeito sobre os demais canais de K^+ presentes na membrana das células β ^{26,27}.

Assim, tornou-se imperativo também estudar uma possível ação do tiopental sobre o efluxo do ^{86}Rb na presença da diazoxida. As Figuras 3A e 3B mostram que, mesmo na presença de 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de diazoxida, o tiopental reduziu significativamente o efluxo de ^{86}Rb , sendo mais evidente na concentração de 2,0mM. Por sua vez, a Figura 3C mostra que 0,2mM de tiopental também promoveu redução de efluxo de ^{86}Rb na presença de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de diazoxida. Em princípio, embora não conclusivos, estes resultados afastam a idéia de uma ação competitiva entre as duas drogas.

Indiretamente, os dados indicam que o tiopental exerce sua ação sobre os canais de K^+ modulados pelo ATP. Neste sentido, os estudos eletrofisiológicos apresentados por Gonçalves e Silva²⁸, associados aos registros recentes de *patch-clamp*²⁹, confirmam tal hipótese. A propósito, é muito sugestivo o fato de que, em altas concentrações de glicose (16,7mM), quando os canais de K^+ modulados pelo ATP estão praticamente fechados, o tiopental pode não exercer ação significativa.

Tendo presente o aspecto discutido, a segunda parte deste trabalho analisa as possíveis influências do tiopental sobre os canais de K^+ bloqueados por Ca^{2+} ou voltagem dependente⁹. Quanto a este aspecto, verifica-se na Figura 4 que o

tiopental promoveu redução adicional no efluxo do radioisótopo, sugerindo ação sobre a permeabilidade ao potássio, que não foi afetada pela presença da tetraetilamônia (TEA). Finalmente, a Figura 5 ilustra dois protocolos, os quais são subsídios importantes para a hipótese de que o tiopental atua nos canais de K^+ modulados pelo ATP. A Figura 5B ilustra com clareza o efluxo do ^{86}Rb observado na presença do tiopental, efluxo que não foi alterado com a adição de diazoxida (do 40º ao 60º minutos) ao meio contendo tetraetilamônia e EGTA. Por outro lado, a Figura 5A mostra que, concomitante à retirada do anestésico do meio perfusor, houve uma elevação de 185% no efluxo do ^{86}Rb , o qual retornou aos valores da primeira fase, concomitantemente à reintrodução do anestésico tiopental.

Frente aos resultados obtidos em experimentos com sulfoniluréias, constatou-se que o tiopental atua bloqueando preferencialmente, de maneira dose-dependente e reversível, os canais de K^+ modulados pela relação ATP/ADP.

REFERÊNCIAS

1. Boschero AC, Kawazu S, Duncan G, Malaisse WJ. Effet of glucose on K^+ handling by pancreatic islets. *Febs Lett.* 1977; 83:151-4.
2. Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ. Improved patch-clamp techniques for high resolution current recordings from cells and cell free membrane patches. *Pflugers Arch.* 1981; 391(2):85-100.
3. Aguilar BL, Clemente JP, Gonzalez G, Unjlwar K, Babenko A, Bryan J. Toward understanding the assembly and structure of K_{ATP} channel. *Physiol Rev.* 1998; 78(1):227-45.
4. Seino S. ATP sensitive potassium channels. *Annu Rev Physiol.* 1999; 61:337-62.
5. Petersen OH, Maruyama Y. Calcium-activated potassium channels and their role in secretion. *Nature (Lond).* 1984; 307(5953):693-6.
6. Ashcroft FM. Adenosine 5'-triphosphate sensitive potassium channels. *Annu Rev Neurosci.* 1988; 11:97-135.
7. Petersen OH, Findlay I. Electrophysiology of the pancreas. *Physiol Rev.* 1987; 67(3):1054-116.
8. Rinzel J, Lee YS. Dissection of a model for neuronal parabolic bursting. *J Math Biol.* 1987; 25(6):653-75.

9. Malaisse WJ. Meglitinide analogs: new insulinotropic agents for the treatment of non-insulin dependent diabetes. *Rev Med Brux.* 2003; 24(3):162-8.
 10. Ashcroft SJH. ATP-dependent K⁺ channels. *J Membrane Biol.* 2000, 176:187-206.
 11. Zünkler BJ, Wos-Maganga M, Panten U. Fluorescence microscopy studies with a fluorescent glibenclamide derivative, a high-affinity blocker of pancreatic-cell ATP-sensitive K⁺ currents. *Biochem Pharmacol.* 2004; 67(8):1437-44.
 12. Nenquin M, Szolowski A, Aguilar-Bryan L, Bryan J, Henquin JC. Both triggering and amplifying pathways contribute to fuel-induced insulin secretion in the absence of sulfonylurea receptor-1 in pancreatic beta-cells. *J Biol Chem.* 2004; 279(31):32316-24.
 13. Hastedt K, Panten U. Inhibition of ATP-sensitive K(+) channels by a sulfonylurea analogue with a phosphate group. *Biochem Pharmacol.* 2003; 64(4):599-602.
 14. Sturgess NC, Kozlowski HZ, Carrington CA, Hales CN, Ashford MLJ. Effects of sulphonylureas and diazoxide on insulin secretion and nucleotide sensitive channels in an insulin-secreting cell line. *Br J Pharmacol.* 1988; 95(1):83-94.
 15. Ashford ML, Sturgess NC, Cook DL, Hales C. K⁺ channels in an insulin-secreting cell line: effects of ATP and sulphonylureas. In: Atwater I, Rojas E, Sonia B, editors. *Biophysics of the pancreatic β -cell.* New York: Plenum Press; 1986. p.69-76.
 16. Ashcroft FM, Rorsman, P. Electrophysiology of the pancreatic-cell. *Prog Biophys Mol Biol.* 1991; 54(1):87-143.
 17. Zunkler BJ, Lensen S, Manner K, Panten U, Trube G. Concentration dependent effects of tolbutamide, meglitinide, glipizide, glibenclamide, and diazoxide on ATP-regulated K⁺ currents in pancreatic B-cells. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 1988; 337(2):225-30.
 18. Arkhammar P, Nilsson T, Rorsman P, Berggren PO. Inhibition of ATP regulated K channels precedes depolarization induced increase in cytoplasmic free Ca²⁺ concentration in pancreatic β -cells. *J Biol Chem.* 1987; 262(12):5448-54.
 19. Schwartz JR. The mode of action of phenobarbital on the excitable membrane of the node of ranvier. *Eur J Pharmacol.* 1979; 56:51-60.
 20. Sevcik C. Differences between the action of thiopental and pentobarbital in squid giant axon. *J Pharmacol Exp Ther.* 1980; 214(3):657-63.
 21. Boschero AC, Delattre E, Dos Santos ML. Isolamento de ilhotas de Langerhans de rato. Resumos do 22º Congresso de SBFis; 1980; Ribeirão Preto, SP. p.117.
 22. Boschero AC, Malaisse WJ. Stimulus-secretion coupling of glucose induced insulin release. XXIX regulation of 86Rb efflux from perfused islets. *Am J Physiol.* 1979; 236(2):E139-46.
 23. Ho IK, Harris RA. Mechanism of action of barbiturates. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 1981; 21:83-111.
 24. Silva CA. Permeability to K⁺ in pancreatic β cell [dissertação]. Campinas: Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas; 1997. 98p.
 25. Malaisse WJ, Boschero AC, Kawazu S, Hutton IC. The stimulus-secretion coupling of glucose-induced-insulin release. Effect of glucose on K⁺ fluxes in isolated islets. *Pflugers Arch.* 1978; 373:237-242.
 26. Henquin JC, Meissner HP. Opposite effects of tolbutamide and diazoxide on ⁸⁶Rb fluxes and membrane potential in pancreatic β cells. *Biochem Pharmacol.* 1982; 31(7):1407-15.
 27. Rossmann P, Trube G. Glucose dependent K⁺ channels in pancreatic beta cells are regulated by intracellular ATP. *Pflugers Arch.* 1985; 405:305-9.
 28. Gonçalves AA, Silva CA. Potassium permeability in pancreatic β -cell. The effect of thiopental. *Brazilian J Med Biol Res.* 1988; 21(2):365-8.
 29. Kozlowski RZ, Hales CN, Noble AL, Ashford MLJ. The ATP-K⁺ channel; a novel site of action for the barbiturates. *Diabetologia.* 1989; 32:506A.
- Recebido para publicação em 23 de abril e aceito em 9 de dezembro de 2004.