

Peter Proks, Frances M. Ashcroft

University Laboratory of Physiology, Oxford

Nowe spojrzenie na specyficzność tkankową pochodnych sulfonilomocznika

New insights into the tissue specificity of sulphonylureas

STRESZCZENIE

Pochodne sulfonilomocznika, podawane chorym na cukrzycę typu 2, stymulują wydzielanie insuliny poprzez zamknięcie ATP-zależnych kanałów potasowych (K_{ATP}) w błonie komórkowej komórek β trzustki. Leki te wiążą się z podjednostką kanału potasowego, będącą receptorem dla pochodnych sulfonilomocznika (SUR 1). Kanały K_{ATP} są zbudowane z 2 różnych typów podjednostek: podjednostki tworzącej światło kanału (zwykle Kir 6.2) oraz receptora dla pochodnych sulfonilomocznika (SUR), które wspólnie tworzą heteromeryczny kompleks 4:4. Obecnie znanych jest kilka izoform podjednostek receptora SUR, które występują w kanałach K_{ATP} w różnych tkankach: kanały K_{ATP} w komórkach β trzustki zawierają podjednostkę SUR 1, kardiomiocyty — podjednostkę SUR 2A, a komórki mięśni gładkich — podjednostkę SUR 2B. Wrażliwość kanałów K_{ATP} na pochodne sulfonilomocznika zależy od typu podjednostki SUR. Gliklazyd i tolbutamid z dużym powinowactwem hamują przewodnictwo w kanałach komórek β trzustki, lecz nie w kanałach K_{ATP} kardiomiocytów i komórek mięśni gładkich. W przeciwieństwie do tych leków, glibenklamid i glimepiryd blokują wszystkie 3 typy kanałów K_{ATP} z podobną siłą. Pochodne sulfonilomocznika różnią się również odwracalnością wiązania z re-

ceptorami — tolbutamid i gliklazyd zamykają wszystkie typy kanałów K_{ATP} w sposób odwracalny, podczas gdy glibenklamid i glimepiryd powodują wprowadzić odwracalną blokadę kanałów sercowych, ale nie kanałów K_{ATP} w komórkach β trzustki. Wrażliwość kanałów K_{ATP} na pochodne sulfonilomocznika reguluje znajdujący się wewnątrz komórki MgADP, który nasila zamykanie kanałów K_{ATP} wywołane przez pochodne sulfonilomocznika w komórkach β , a osłabia tę blokadę w kardiomiocytach. W niniejszej pracy przedstawiono najnowsze osiągnięcia dotyczące mechanizmów działania pochodnych sulfonilomocznika na kanały K_{ATP} oraz omówiono ich konsekwencje w przypadku stosowania tej grupy leków w terapii cukrzycy typu 2.

Słowa kluczowe: pochodna sulfonilomocznika, wydzielanie insuliny, cukrzyca

ABSTRACT

Sulphonylureas stimulate insulin secretion in type-2 diabetic patients by closing ATP-sensitive (K_{ATP}) potassium channels in the plasma membrane of pancreatic β -cells. This effect is mediated by binding of the drug to the sulphonylurea receptor (SUR 1) subunit of the channel. K_{ATP} channels are formed of two different types of subunit: a pore-forming subunit (usually Kir 6.2) and a sulphonylurea receptor subunit (SUR), which associate in a 4:4 heteromeric complex. Several different isoforms of SUR are known and K_{ATP} channels in different tissues possess different types of SUR subunit (SUR 1 in β -cells, SUR 2A in heart, and SUR 2B in smooth muscle). The sulphonylurea-sensitivity of K_{ATP} channels varies with the type of SUR subunit: thus, gliclazide and tolbutamide potently block the β -cell, but not the cardiac or smo-

Adres do korespondencji: Prof. Frances M. Ashcroft, FRS
University Laboratory of Physiology
Parks Road, Oxford OX1 3PT, UK
tel.: 01865 27 24 78
fax: 01865 27 24 69
e-mail: frances.ashcroft@physiol.ox.ac.uk

Diabetologia Praktyczna 2001, tom 2, supl. C, 1-6
Copyright ©2001 Via Medica
Tłumaczenie: dr med. Anna Korzon-Burakowska

oth muscle types of K_{ATP} channel. In contrast, glibenclamide and gliclazide block all three types of K_{ATP} channel with similar potency. The reversibility of sulphonylurea block also varies, with tolbutamide and gliclazide producing reversible block all types of K_{ATP} channels, whereas glibenclamide and gliclazide have a reversible effect on cardiac, but not β -cell, K_{ATP} channels. The apparent sensitivity of K_{ATP} channels to sulphonylureas is modulated by internal MgADP: thus, sulphonylurea block of β -cell K_{ATP} channels is enhanced whereas block of cardiac K_{ATP} channels is reduced, by internal MgADP. This review focuses on recent advances in the understanding of the mechanism of sulphonylurea action on K_{ATP} channels and discusses the implications of these findings for the use of sulphonylureas in the treatment of type 2 diabetes mellitus.

Key words: sulphonylurea, insulin secretion, diabetes

Wstęp

Pochodne sulfonilomocznika stosuje się w leczeniu cukrzycy typu 2 od ponad 50 lat. Leki te nasilają wydzielanie insuliny z komórek β trzustki poprzez zamykanie ATP-zależnych kanałów potasowych (K_{ATP}) w błonie komórkowej komórek β [1]. Trzustkowe kanały K_{ATP} są ogniwem łączącym stężenie glukozy w surowicy krwi z szybkością wydzielania insuliny [2]. Kanały K_{ATP} odgrywają także istotną rolę w tkankach innych niż trzustka, między innymi w kardiomiocytach, komórkach mięśni gładkich i prążkowanych, gdzie regulują aktywność elektryczną oraz kurczą się w odpowiedzi na stres metaboliczny lub pod wpływem neurotransmiterów [3–5]. Ponadto stwierdzono występowanie kanałów K_{ATP} w takich organellach jak mitochondria, gdzie prawdopodobnie odgrywają one pewną rolę w mechanizmie hartowania przez niedokrwienie [6]. Ponieważ występowanie ATP-zależnych kanałów potasowych stwierdzono w wielu różnych tkankach, szczególnie interesująca wydaje się odpowiedź na pytanie, czy pochodne sulfonilomocznika wchodzi w reakcję z kanałami potasowymi w tkankach innych niż trzustka.

Kanał potasowy ATP-zależny w komórkach beta

Kanały potasowe ATP-zależne w błonie komórkowej komórek β odgrywają istotną rolę w odpowiedzi na takie bodźce fizjologiczne, jak glukoza oraz związki farmakologiczne, na przykład pochodne sulfonilomocznika (ryc. 1). Przy niskich stężeniach

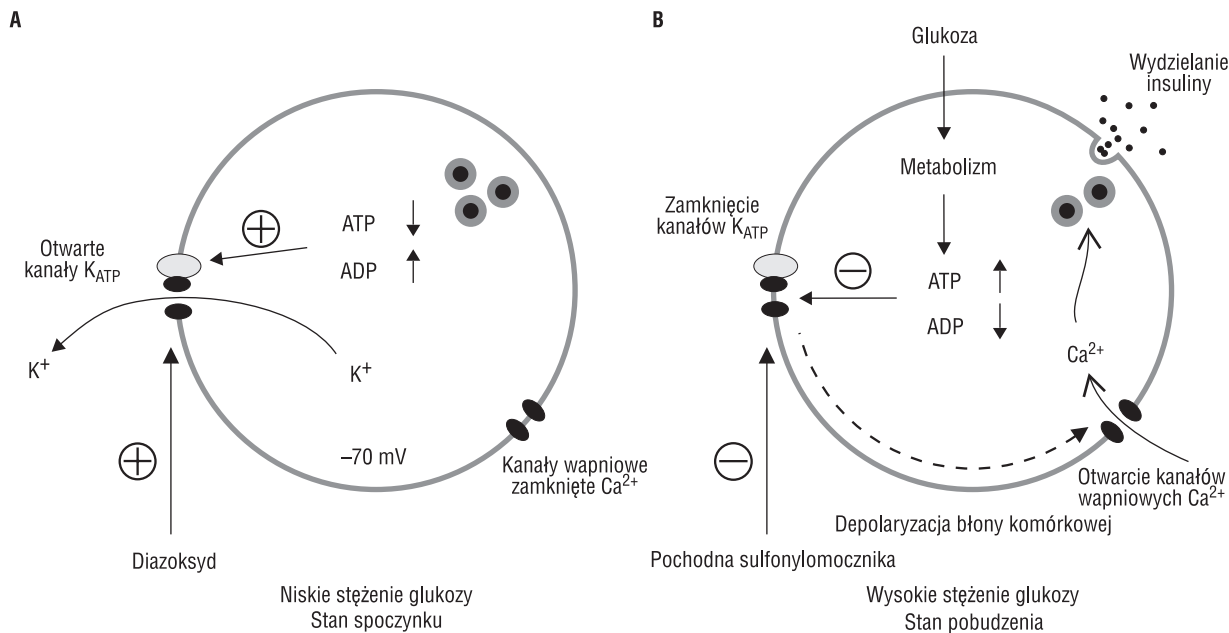
glukozy kanał potasowy komórek β jest otwarty, co umożliwia swobodny wypływ jonów potasu (K^+) z komórki. Powoduje to powstanie ujemnego potencjału spoczynkowego błony komórkowej, który wynosi w przybliżeniu -70 mV. W tych warunkach dochodzi do zamknięcia regulowanych napięciem kanałów wapniowych błony komórkowej. Kiedy stężenie glukozy w osoczu wzrasta, zwiększa się wychwyty i metabolizm glukozy w komórkach β , co powoduje wzrost stężenia wewnątrzkomórkowego ATP oraz zmniejszenie stężenia ADP. Nukleotydy te wpływają na czynność kanału K_{ATP} : ATP hamuje przewodnictwo w kanale, podczas gdy MgADP stymuluje jego aktywność. Pobudzenie metabolizmu glukozy wywołuje zamknięcie kanałów K_{ATP} , co prowadzi do zmniejszenia wypływu jonów K^+ z komórki. Dochodzi wtedy do depolaryzacji błony komórki β , otwarcia regulowanych napięciem kanałów wapniowych i w rezultacie — do napływu jonów wapnia do wnętrza komórki. Napływ jonów wapnia aktywuje mechanizm wydzielniczy, w rezultacie którego następuje egzocytoza insuliny z pęcherzyków wydzielniczych. Bezpośrednie zamykanie kanałów K_{ATP} przez pochodne sulfonilomocznika zapoczątkowuje ten sam łańcuch reakcji. Prowadzi to do aktywacji mechanizmu wydzielania insuliny.

Kanały K_{ATP} w innych tkankach

Kanały potasowe ATP-zależne, które znajdują się w tkankach pozatrzustkowych, również są regulowane przez nukleotydy adeninowe, ale w tych tkankach zmiany w stężeniu nukleotydów odzwierciedlają raczej dostępność tlenu niż glukozy [3–5]. Zmniejszenie stężenia ATP wewnątrz komórki na skutek niedotlenienia powoduje otwarcie kanałów K_{ATP} i wypływ jonów potasu z komórki, czego rezultatem jest hiperpolaryzacja błony komórkowej. W mięśni sercowym powoduje to skrócenie potencjału czynnościowego [3], a w mięśniówce gładkiej naczyń nasila relaksację [4].

Struktura ATP-zależnych kanałów potasowych

Kanały potasowe ATP-zależne składają się z 2 różnych typów podjednostek: z podjednostki tworzącej światło kanału (zwykle Kir 6.2) i z receptora dla pochodnych sulfonilomocznika (SUR), które wspólnie tworzą heteromeryczne kompleksy 4:4. Obie podjednostki są niezbędne, aby powstał funkcjonujący kanał. Podjednostka Kir 6.2, tworząca jego światło, zawiera miejsce wiążące ATP, które powoduje zamknięcie kanału [8]. Receptor dla pochod-



Rycina 1. Model wydzielania insuliny; **A.** Stan spoczynku. Przy niskich stężeniach glukozy na zewnątrz komórek ($< 3\text{ mmol/l}$) kanały K_{ATP} są otwarte, co pozwala na swobodny wypływ jonów K^+ z komórki i powoduje powstanie ujemnego potencjału spoczynkowego błony komórkowej (w przybliżeniu -70 mV). W obecności wysokich stężeń glukozy hiperpolaryzację błony komórkowej można wywołać za pomocą diazoksydu, który otwierając kanał, hamuje wydzielanie insuliny; **B.** Stan pobudzenia. Kiedy stężenie glukozy wzrasta, jest ona pobierana i metabolizowana przez komórki β . Powoduje to wzrost stężenia ATP i spadek stężenia ADP w komórce — zmiany te wywołują zamknięcie kanałów K_{ATP} . Na skutek zamknięcia kanałów dochodzi do depolaryzacji błony komórkowej, co prowadzi z kolei do otwarcia aktywowanych potencjałem kanałów wapniowych. Napływ jonów wapnia do komórki powoduje wzrost stężenia wapnia w cytoplazmie, co stanowi najważniejszy bodziec uruchamiający mechanizm wydzielania insuliny. Pochodne sulfonilomocznika zamykają kanały K_{ATP} i w ten sposób zapoczątkowują proces wydzielania insuliny nawet przy braku glukozy (wg [11]).

nych sulfonilomocznika jest podjednostką regulacyjną, odpowiadającą za wrażliwość kanału na $MgADP$, takie leki, jak pochodne sulfonilomocznika, oraz związki otwierające kanał [8]. Przyłączenie pochodnej sulfonilomocznika do podjednostki SUR powoduje zamknięcie kanału, podczas gdy związanie $MgADP$ lub diazoksydu pobudza jego aktywność. Dotychczas opisano 2 różne geny kodujące podjednostki SUR (SUR 1 i SUR 2), a dalsze różnicowanie wynika z odmiennego łączenia (*splicing*) białek podjednostki SUR 2 [9, 10]. Kanał potasowy komórek β trzustki tworzą podjednostki Kir 6.2 i SUR 1 [7, 10–12], podczas gdy kanały potasowe mięśni szkieletowych oraz kardiomiocytów budują podjednostki Kir 6.2 i SUR 2A [12]. Kanały potasowe mięśni gładkich składają się z podjednostek SUR 2B i Kir 6.2 lub Kir 6.1 [13, 14]. Kanały potasowe ATP-zależne różnych tkanek istotnie się różnią pod względem wrażliwości na poszczególne pochodne sulfonilomocznika. To interesujące zagadnienie o znaczeniu klinicznym omówiono poniżej.

Specyficzność tkankowa pochodnych sulfonilomocznika

1. Porównanie ATP-zależnych kanałów potasowych w tkankach natywnych

W wielu badaniach wykazano, że różne typy natywnych kanałów K_{ATP} cechują się określoną specyficznością w odniesieniu do poszczególnych pochodnych sulfonilomocznika. Tolbutamid hamuje z wysokim powinowactwem przewodnictwo w kanałach potasowych komórek β , ale nie w kanałach K_{ATP} kardiomiocytów ($IC_{50} \sim 7\text{ }\mu\text{mol/l}$ i 1 mmol/l odpowiednio dla kanałów potasowych komórek β i kardiomiocytów [15–17]). Niedawno porównano wpływ gliklazydu i glibenklamidu na natywne kanały K_{ATP} w komórkach β trzustki, kardiomiocytach i komórkach mięśni gładkich [18]. Gliklazyd hamował przewodnictwo w kanałach K_{ATP} całej komórki β z IC_{50} równym 184 nmol/l , ale znacznie mniej skutecznie oddziaływał na komórki kardiomiocytów i komórki mięśni gładkich (IC_{50} odpowiednio: $19,5\text{ }\mu\text{mol/l}$ i $37,9\text{ }\mu\text{mol/l}$). Natomiast glibenklamid hamował przewodnictwo za-

równy w trzustkowych, jak i w sercowych kanałach ATP z podobnym powinowactwem — IC_{50} dla kanałów komórek β i kardiomiocytów wynosiło odpowiednio 4 nmol/l i 8 nmol/l. Zatem tolbutamid i gliklazyd wykazują istotną selektywność w stosunku do komórek β trzustki, w przeciwieństwie do glibenklamidu i glimepirydu, które z wysokim powinowactwem hamują przewodnictwo zarówno w natywnych, jak i w sklonowanych kanałach K_{ATP} trzustki i kardiomiocytów.

We wszystkich trzech wspomnianych wyżej tkankach hamowanie przewodnictwa w kanale K_{ATP} wywołane przez gliklazyd było łatwo odwracalne. Wcześniej wykazano, że podobnymi właściwościami w stosunku do kanałów K_{ATP} komórek β trzustki i kardiomiocytów charakteryzuje się tolbutamid [15, 17]. Wiązanie glibenklamidu z kanałem K_{ATP} typu sercowego SUR było odwracalne, nie wykazano jednak odwracalności w przypadku wiązania glibenklamidu z receptorem komórek β trzustki [15].

2. Porównanie rekombinowanych kanałów K_{ATP}

Na rycinie 2 porównano wpływ dwóch pochodnych sulfonilomocznika, gliklazynu i glibenklamidu, na różne typy rekombinowanych kanałów K_{ATP} . Sklonowane kanały K_{ATP} — Kir 6.2/SUR 1 (typ występujący w komórkach β trzustki) i Kir 6.2/SUR 2A (typ sercowy kanału K_{ATP}) — uległy ekspresji na oocytach gatunku *Xenopus*, po czym dokonano rejestracji prądów makroskopowych z wyciętych fragmentów błony komórkowej. Pochodne sulfonilomocznika dodawano do wewnątrzkomórkowego roztworu inkubacyjnego.

W przypadku stosowania obu leków krzywa dawka-odpowiedź dla zahamowania przewodnictwa w rekombinowanym kanale komórek β (Kir 6.2/SUR 1) najbardziej odpowiada założeniu, że lek wchodzi w reakcję z 2 miejscami wiążącymi kanału — o wysokim i o niskim powinowactwie (ryc. 2). Miejsce o niskim powinowactwie znajduje się w obrębie podjednostki Kir 6.2, ponieważ występowanie bloku kanału o niskim powinowactwie obserwuje się, kiedy ekspresji ulega wyłącznie Kir 6.2 [19]. Blok ten nie ma znaczenia klinicznego, ze względu na występowanie tylko w przypadku stężeń leku znacznie przekraczających stężenia terapeutyczne. Blok o wysokim powinowactwie występuje tylko w obecności podjednostki SUR 1, co wskazuje, że miejsce o wysokim powinowactwie wiązania leży w obrębie tej podjednostki [20, 21]. Gliklazyd powodował zahamowanie przewodnictwa o wysokim powinowactwie kanałów Kir 6.2/SUR 1 (IC_{50} ~50 nmol/l), który wywołał redukcję amplitudy przewodnictwa mak-

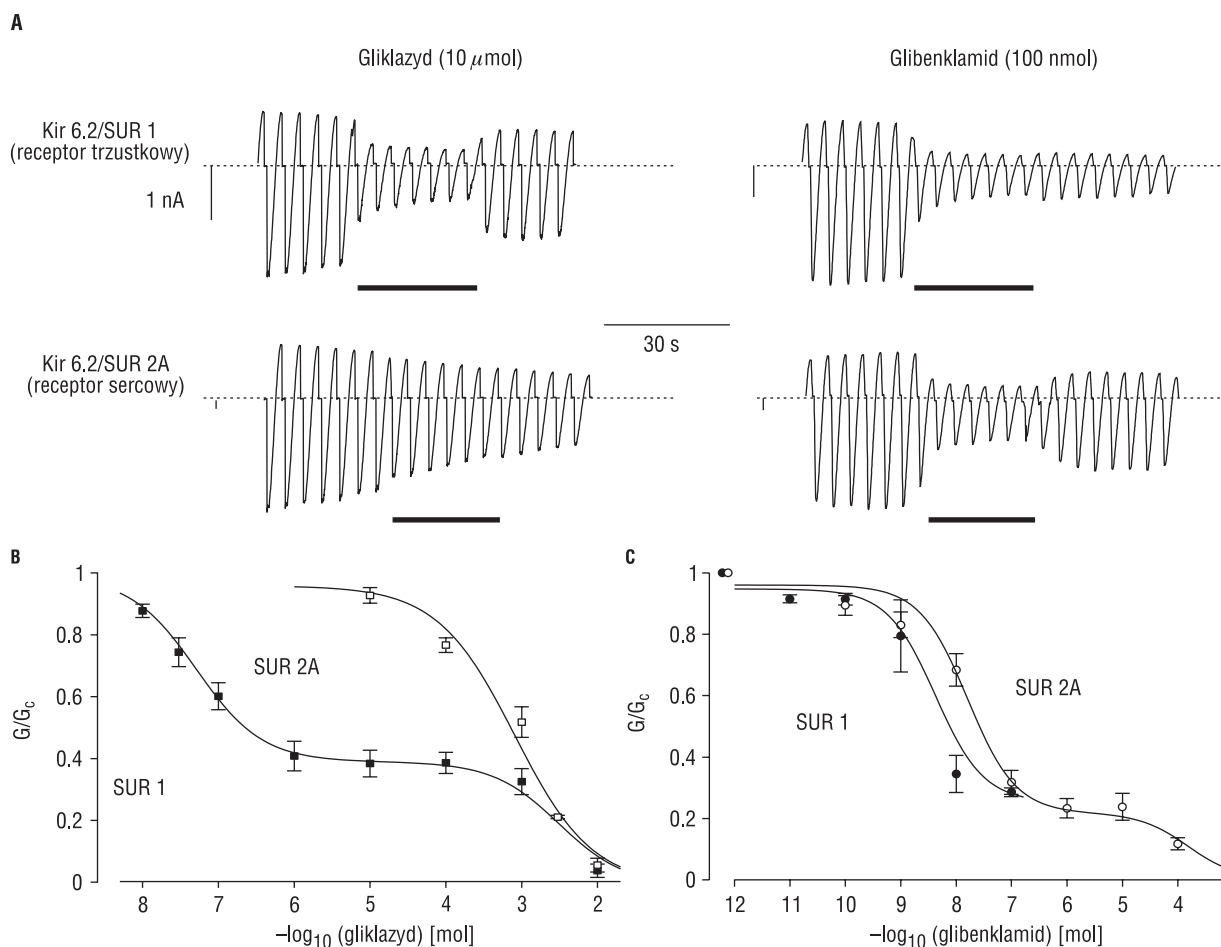
symalnie o ~60% [21]. Glibenklamid również wywołał silne zahamowanie przewodnictwa o wysokim powinowactwie (IC_{50} ~4 nmol/l) z maksymalnym hamowaniem amplitudy o ~80%. Jakościowo zbliżone wyniki na rekombinowanych kanałach Kir 6.2/SUR 1 opisywano wcześniej dla tolbutamidu: IC_{50} dla zahamowania przewodnictwa o wysokim powinowactwie wynosiło ~2 μ mol/l, a poziom maksymalnego zahamowania osiągnął ~50% [19].

W przeciwieństwie do hamowania przewodnictwa w kanałach trzustkowych Kir 6.2/SUR 1, gliklazyd hamował przewodnictwo kanałów sercowych Kir 6.2/SUR 2A tylko poprzez miejsce o niskim powinowactwie (IC_{50} ~3 nmol/l), które znajduje się na podjednostce Kir 6.2 [19, 21]. Dlatego mało prawdopodobne jest, aby terapeutyczne stężenia gliklazynu (≤ 1 μ mol/l) mogły wpływać na kanały K_{ATP} w sercu, mięśniach szkieletowych i gładkich, które są utworzone przez podjednostki Kir 6.2 i SUR 2. Glibenklamid hamował natomiast z wysokim powinowactwem przewodnictwo zarówno w kanałach trzustkowych Kir 6.2/SUR 1, jak i w kanałach sercowych Kir 6.2/SUR 2A; IC_{50} wynosiło odpowiednio ~4 nmol/l i ~27 nmol/l [20]. Podobne właściwości opisano w przypadku glimepirydu, którego struktura jest zbliżona do struktury glibenklamidu [22].

Podobnie jak w badaniach na tkankach natywnych, tak i w przypadku kanałów rekombinowanych hamowanie przewodnictwa kanałów trzustkowych Kir 6.2/SUR 1 i kanałów sercowych Kir 6.2/SUR 2A wywoływane przez gliklazyd i tolbutamid było łatwo odwracalne [19, 21]. Glibenklamid i glimepiryd powodowały powstanie odwracalnego zahamowania przewodnictwa w kanałach Kir 6.2/SUR 2, zaś w przypadku kanałów trzustkowych Kir 6.2/SUR 1 blok ten był nieodwracalny [20, 22] (ryc. 2).

Interakcje pomiędzy pochodnymi sulfonilomocznika a nukleotydami

Opisane powyżej wyniki są zgodne z hipotezą, że tolbutamid i gliklazyd cechują się większą selektywnością w stosunku do komórek β niż glibenklamid. Sytuacja staje się jednak bardziej skomplikowana, jeżeli weźmie się pod uwagę wpływ nukleotydów wewnątrzkomórkowych. Od dawna wiadomo, że tolbutamid w większym stopniu hamuje kanały komórek β , jeżeli w wewnątrzkomórkowym roztworze znajdują się nukleotydy [23]. Zjawisko to można wyjaśnić za pomocą modelu, w którym przyłączenie pochodnej sulfonilomocznika do receptora SUR zapobiega aktywującemu wpływowi MgADP. Powoduje to ujawnienie hamującego działania MgADP za pośrednictwem podjednostki Kir 6.2 [19], co tłu-



Rycina 2. Hamowanie przewodnictwa w kanałach trzustkowych Kir 6.2/SUR 1 i kanałach sercowych Kir 6.2/SUR 2A przez gliklazyd i glibenklamid. **A.** Wpływy gliklazylu (10 μ mol/l) lub glibenklamidu (100 nmol/l) na sklonowane kanały K_{ATP} komórek β trzustki (Kir 6.2/SUR 1) i serca (Kir 6.2/SUR 2A) (wg [20, 21]); **B, C.** Krzywa dawka-odpowiedź dla hamowania przewodnictwa przez gliklazyd (**B**) i glibenklamid (**C**) w kanałach trzustkowych Kir 6.2/SUR 1 i w kanałach sercowych Kir 6.2/SUR 2A. Przewodnictwo w obecności pochodnej sulfonylomocznika (G) jest wyrażone jako ułamek przewodnictwa przy braku leku (G_c). Do oocytów wstrzyknięto mRNA kodujące Kir 6.2 i SUR 1 lub SUR 2A oraz zarejestrowano makroskopowe przewodnictwo z fragmentów błony komórkowej, powstające w odpowiedzi na serię 3-sekundowych progów napięciowych o wartości -110 mV do $+110$ mV (wg [20, 21]).

maczy obserwowane w obecności nukleotydów nasilenie bloku o wysokim powinowactwie wywołanego przez pochodne sulfonylomocznika. Zatem obserwuje się całkowite zahamowanie przewodnictwa w kanale trzustkowym Kir 6.2/SUR 1, gdy bada się wpływ leków na nienaruszonych komórkach (kiedy obecne są nukleotydy wewnątrzkomórkowe), podczas gdy maksymalne zahamowanie przewodnictwa o wysokim powinowactwie w kanałach K_{ATP} w izolowanych fragmentach błony komórkowej jest zredukowane do około 50%.

Stymulującego wpływu MgADP na zamknięcie kanału wywołane przez pochodne sulfonylomocznika nie obserwuje się w przypadku badania przewodnictwa w kanale sercowym Kir 6.2/SUR 2A oraz w natywnych kanałach K_{ATP} kardiomiocytów

[17, 20]. Natomiast hamowanie przewodnictwa w sercowych kanałach K_{ATP} przez glibenklamid wydaje się zredukowane w obecności MgADP. Prawdopodobnie jest to spowodowane faktem, że nukleotydy wypiera wiązanie leku [24].

Znaczenie fizjologiczne i terapeutyczne

Badania prowadzone zarówno na natywnych, jak i rekombinowanych kanałach K_{ATP} wykazują podobny model hamowania przewodnictwa przez pochodne sulfonylomocznika. Takie leki, jak tolbutamid i gliklazyd cechują się wysoką selektywnością w odniesieniu do kanałów K_{ATP} komórek β trzustki, podczas gdy takie leki, jak glibenklamid i glimepiryd hamują przewodnictwo kanałów K_{ATP} w podobnym stopniu zarówno w trzustce, jak i w kardiomiocy-

tach oraz w komórkach mięśni gładkich. Nie ustalono jeszcze, jaka jest wrażliwość mitochondrialnych kanałów K_{ATP} w stosunku do poszczególnych pochodnych sulfonylomocznika — może to mieć istotne znaczenie, biorąc pod uwagę ich sugerowaną rolę w mechanizmie hartowania przez niedokrwienie [25].

Odpowiedź na pytanie, czy interakcja pochodnych sulfonylomocznika z kanałami K_{ATP} tkanek pozatrzustkowych może wywołać objawy uboczne, istotne z klinicznego punktu widzenia, jest kontrowersyjna. Należy jednak zauważyć, że w badaniu *UK Prospective Diabetes Study*, w którym obserwowano chorych leczonych insuliną, glibenklamidem lub chlorpropamidem, nie stwierdzono istotnych różnic w śmiertelności z przyczyn sercowych pomiędzy poszczególnymi grupami terapeutycznymi [26], co może być spowodowane między innymi faktem, że w większości przypadków kanały K_{ATP} w sercu pozostają zamknięte, a otwierają się tylko w warunkach niedokrwienia. Zatem jakiegokolwiek możliwe objawy uboczne wywoływane przez stosowanie nieselektywnych pochodnych sulfonylomocznika mogą dotyczyć jedynie wybranych grup chorych. Ponadto regulacja przez MgADP kanału K_{ATP} zamkniętego przez wiązanie z pochodną sulfonylomocznika powoduje obniżenie skuteczności hamowania przewodnictwa w odniesieniu do sercowych kanałów K_{ATP} i nasilenie hamowania w kanałach komórek β trzustki.

PIŚMIENNICTWO

- Ashcroft F.M., Gribble F.M.: ATP-sensitive K^+ channels and insulin secretion: their role in health and disease. *Diabetologia* 1999; 42: 903–919.
- Ashcroft F.M., Rorsman P.: Electrophysiology of the pancreatic β -cell. *Prog. Biophys. Molec. Biol.* 1989; 54: 87–143.
- Nichols C.G., Lederer W.J.: Adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in the cardiovascular system. *Am. J. Physiol.* 1991; 261: H1675–H1686.
- Quayle J.M., Nelson M.T., Standen N.B.: ATP-sensitive and inwardly-rectifying potassium channels in smooth muscle. *Physiol. Rev.* 1997; 77: 1165–1232.
- Davis N.W., Standen N.B., Stanfield P.R.: ATP-dependent potassium channels of muscle cells: their properties, regulation, and possible functions. *J. Bioenerg. Biomembr.* 1991; 23: 509–535.
- Gross G.J., Fryer R.M.: Sarcolemmal versus mitochondrial ATP-sensitive K^+ channels and myocardial preconditioning. *Circ. Res.* 1999; 84: 973–979.
- Clement IV J.P., Kunjilwar K., Gonzalez G. i wsp.: Association and stoichiometry of K_{ATP} channel subunits. *Neuron* 1997; 18: 827–838.
- Tucker S.J., Gribble F.M., Zhao C., Trapp S., Ashcroft F.M.: Truncation of Kir 6.2 produces ATP-sensitive K-channels in the absence of the sulphonylurea receptor. *Nature* 1997; 387: 179–180.
- Inagaki N., Gonoi T., Clement J.P. i wsp.: A family of sulphonylurea receptors determines the properties of ATP-sensitive K^+ channels. *Neuron* 1996; 16: 1011–1017.
- Aguilar-Bryan L., Nichols C.G., Wechsler S.W. i wsp.: Cloning of the β -cell high-affinity sulphonylurea receptor: a regulator of insulin secretion. *Science* 1995; 268: 423–425.
- Sakura H., Ämmälä C., Smith P.A., Gribble F.M., Ashcroft F.M.: Cloning and functional expression of the cDNA encoding a novel ATP-sensitive potassium channel expressed in pancreatic β -cells, brain, heart and skeletal muscle. *FEBS Lett.* 1995; 377: 338–344.
- Inagaki N., Gonoi T., Clement IV J.P. i wsp.: Reconstitution of I_{ATP} : an inward rectifier subunit plus the sulphonylurea receptor. *Science* 1995; 270: 1166–1169.
- Isomoto S., Kondo C., Yamada M. i wsp.: A novel sulphonylurea receptor forms with BIR (Kir 6.2) a smooth muscle type of ATP-sensitive K^+ channel. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 24321–24325.
- Yamada M., Isomoto S., Matsumoto S. i wsp.: Sulphonylurea receptor SUR 2B and Kir 6.1 form a sulphonylurea-sensitive but ATP-insensitive K^+ channel. *J. Physiol.* 1997; 499: 715–720.
- Trube G., Rorsman P., Ohnoshosaku T.: Opposite effects of tolbutamide and diazoxide on the ATP-dependent K^+ channel in mouse pancreatic β -cells. *Pflüg. Arch.* 1986; 407: 493–499.
- Zünckler B.J., Henning B., Ott T., Hildebrandt A.G., Fleck E.: Effects of tolbutamide on ATP-sensitive K^+ channels from human right atrial myocytes. *Pharmacol. Toxicol.* 1989; 69–75.
- Venkatesh N., Lamp S.T., Weiss J.N.: Sulphonylureas, ATP-sensitive K^+ channels and cellular K^+ loss during hypoxia, ischemia and metabolic inhibition in mammalian ventricle. *Circ. Res.* 1991; 69: 623–637.
- Lawrence C.L., Proks P., Rodrigo G.C. i wsp.: Gliclazide produces high-affinity block of K_{ATP} channels in mouse isolated pancreatic β -cells but not rat heart or arterial smooth muscle cells. *Diabetologia* 2001; 44: 1019–1025.
- Gribble F.M., Tucker S.J., Ashcroft F.M.: The interaction of nucleotides with the tolbutamide block of K-ATP currents: a reinterpretation. *J. Physiol.* 1997; 504: 35–45.
- Gribble F.M., Tucker S.J., Seino S., Ashcroft F.M.: Tissue specificity of sulphonylureas: studies on cloned cardiac and β -cell K_{ATP} channels. *Diabetes* 1998; 47: 1412–1418.
- Gribble F.M., Ashcroft F.M.: Differential sensitivity of β -cell and extrapancreatic K_{ATP} channels to gliclazide. *Diabetologia* 1999; 42: 845–848.
- Song D., Ashcroft F.M.: Glimperide block of cloned β -cell, cardiac and smooth muscle K_{ATP} channels. *Brit. J. Pharmacol.* 2001; 133: 193–199.
- Zünckler B.J., Lins S., Ohno-Shosaku T., Trube G., Panten U.: Cytosolic ADP enhances the sensitivity of tolbutamide of ATP-dependent K^+ channels from pancreatic β -cells. *FEBS Lett.* 1988; 239: 241–244.
- Zhu Q.L., He H.M., Xiao W.B., Wang H.: Modulation by nucleotides of binding sites for [H-3] glibenclamide in rat aorta and cardiac ventricular membranes. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2001; 37: 522–531.
- O'Rourke B.: Myocardial K-ATP channels in preconditioning. *Circ. Res.* 2000; 87: 845–855.
- UKPDS; Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type-2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998; 352: 837–853.