

І. М. Маньковська<sup>1</sup>, В. І. Носар<sup>1</sup>, О. О. Гончар<sup>1</sup>, Б. Л. Гавенаускас<sup>1</sup>,  
С. Б. Французова<sup>1</sup>, Л. В. Братусь<sup>1</sup>, Г. Д. Миронова<sup>2</sup>

## Вплив модуляторів мітохондріального АТФ-залежного калієвого каналу на фізичну витривалість щурів

<sup>1</sup>Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України, м. Київ

<sup>2</sup>Інститут теоретичної та експериментальної біофізики РАН,  
Пушино, Московська область, Росія

*Ключові слова:* фізична витривалість,  
гіпоксія навантаження, мітоK<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-канал

Формування витривалості організму до інтенсивних фізичних навантажень тісно пов'язане з адаптацією до гіпоксії, що розвивається за цих умов. При напруженій м'язовій діяльності порушується адекватне забезпечення киснем метаболічних потреб тканин, зростає кисневий борг, накопичуються кислі продукти, пошкоджуються клітинні мембрани та органіли клітин у результаті оксидативного стресу. Було розроблено різні методи та схеми тренувань, які покликані підвищити фізичну витривалість організму шляхом зменшення вираженості тканинної гіпоксії та оксидативного стресу під час виконання м'язових навантажень [2, 6]. Ще одним підходом до цієї проблеми є пошук природних речовин і лікарських препаратів, дія яких спрямована на попередження розвитку тканинної гіпоксії та оксидативного стресу при напруженій м'язовій діяльності.

Відкриття мітохондріального АТФ-залежного калієвого каналу (мітоK<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-канал) викликало жвавий інтерес дослідників у галузі як біоенергетики, так і медицини в зв'язку з доведенням його ролі в захисті серця від гіпоксичного та ішемічного пошкодження [11, 14, 15, 21, 22]. Подальше накопичення об'єму експериментальних даних свідчить про те, що мітоK<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-канал є модулятором основних характеристик енергетичного стану мітохондрій [1, 12, 13] та може регулювати продукцію активних форм кисню, генерація яких

значно зростає при гіпоксії [10]. Нещодавно вдалося виявити метаболічний активатор мітоK<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-уридиндифосфат [19]. Було показано, що введення тваринам метаболічних попередників природного активатора мітоK<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу уридиндифосфату – уридина та уридинмонофосфату перед моделюванням ішемії міокарда захищає серце від ішемічних пошкоджень, спричиняючи антигіпоксичний та антиоксидантний вплив на енергетичний та окиснювальний обмін у міокарді [4, 5, 17].

У зв'язку з вищесказаним, виникла наступна ідея: встановити, чи може активатор мітоK<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу спричиняти подібний вплив на м'язову тканину при напруженій м'язовій діяльності, що в результаті може призвести до покращання фізичної витривалості та аеробної продуктивності організму. Слід підкреслити, що недавні дослідження чітко пов'язують особливості фізичної витривалості організму з такими молекулярно-генетичними маркерами, як алельний поліморфізм генів, які мають відношення до м'язової діяльності [3].

*Мета дослідження* – виявити здатність мітохондріального АТФ-залежного калієвого каналу впливати на витривалість тварин до фізичних навантажень.

*Матеріали та методи.* Витривалість до фізичного навантаження визначали шляхом реєстрації часу, протягом якого щури-самці Вістар масою 200–250 г плавали з 20 % вантажем від маси тіла у воді за температури 32 °С до знемоги (заягання на дно басейну протягом 15 с). Усі маніпуляції з тваринами

проведено відповідно до міжнародних принципів Європейської конвенції (Страсбург, 1986 р.) та положення Комітету з біоетики Інституту фізіології імені О. О. Богомольця НАН України. Було встановлено, що дослідні щури по-різному реагували на дане навантаження й тому були розподілені за часом плавання до знемоги наступним чином: з високою, середньою та низькою витривалістю. У подальші дослідження було включено тільки високовитривалих (ВВ) до фізичного навантаження щурів ( $n = 39$ ), які плавали до знемоги в середньому 7–8 хв, та низьковитривалих (НВ) тварин ( $n = 39$ ), час плавання (до знемоги) яких становив 1,5–2,5 хв. Кожну з цих великих груп тварин було розподілено методом випадкової вибірки на такі 6 підгруп: 1) плавання до знемоги без додаткових фармакологічних втручань (контроль); 2) введення уридину + плавання; 3) введення 5-hydroxydecanoic (5-HD) + плавання; 4) введення 5-HD та уридину + плавання; 5) введення глібенкламіду (ГЛ) + плавання; 6) введення ГЛ та уридину + плавання. Активатор мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу – уридин вводили внутрішньоочеревинно (в/о) за 60 хв до плавання в дозах 20 мг/кг, 30 мг/кг та 45 мг/кг маси тіла. Блокатори мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу 5-HD та ГЛ вводили в/о за 5 хв до введення уридину в дозах 5 мг/кг та 1 мг/кг маси тіла відповідно.

Тварин декапітували під легким ефірним наркозом, печінку переносили в охолоджене середовище виділення наступного складу: сахарози – 70 ммоль/л, Д-манітолу – 210 ммоль/л, ЕДТА – 2 ммоль/л, НЕРЕС – 10 ммоль/л, рН 7,2. Потім печінку подрібнювали та гомогенізували в скляному гомогенізаторі з тефлоновим товчачиком у 8-кратному об'ємі середовища виділення відносно маси тканини. Для виділення мітохондрій (Мх) гомогенат центрифугували 7 хв при 700 g (4 °С), потім супернатант центрифугували 15 хв при 11000 g (4 °С). Осадок суспендирували в невеликому об'ємі середовища без додавання ЕДТА та зберігали за температури 4 °С.

Транспорт калію визначали спектрофотометричним методом за світлопоглинан-

ням препарату Мх при 520 нм, що віддзеркалює величину набряку Мх внаслідок накопичення в них калію та води [16]. Середовище інкубації мало наступний склад: КСl – 50,0 ммоль/л; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 5,0 ммоль/л; MgCl<sub>2</sub> – 0,5 ммоль/л; EGTA – 0,1 ммоль/л; НЕРЕС – 5 ммоль/л, рН 7,2. Концентрація мітохондріального білка в комірці складала 0,2 мг/мл. Набряк Мх ініціювали внесенням 5 ммоль/л сукцинату натрію в присутності 2 мкмоль/л ротенону.

АТФ-залежний вихід калію з Мх, який індукований роз'єднувачем (50 мкмоль/л 2,4-ДНФ) і також віддзеркалює роботу мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу, але в зворотному напрямі [9], вимірювали за допомогою калій-селективного електрода в комірці об'ємом 1 мл при постійному перемішуванні за температури 26 °С. Середовище інкубації мало наступний склад: сахароза – 170 ммоль/л; Д-манітол – 80 ммоль/л; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 5 ммоль/л; tris-HCl – 10 ммоль/л (рН 7,2); олігоміцину – 1 мкг/мл; концентрація мітохондріального білка в комірці складала 0,9–1,1 мг/мл. Швидкість виходу калію з Мх розраховували за кількістю іонів, які вийшли в середовище за хв/мг білка.

Визначення кількості калію в Мх проводили за допомогою селективного калієвого електрода в комірці об'ємом 1 мл при постійному перемішуванні за температури 26 °С. Середовище інкубації мало наступний склад: сахароза – 170 ммоль/л; Д-манітол – 80 ммоль/л; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 5 ммоль/л; tris-HCl – 10 ммоль/л (рН 7,2); концентрація мітохондріального білка в комірці складала 0,9–1,1 мг/мл. У середовище з Мх додавали детергент (0,05 % тритону X-100). Кількість калію розраховували за кількістю іонів, які з'являлися в середовищі інкубації після руйнування Мх за рахунок доданого тритону X-100.

Результати обробляли з застосуванням методів параметричної варіаційної статистики з використанням програми Microsoft Excel, вірогідність різниці у вибірках визначали за t-критерієм Стьюдента. Відмінності вважали статистично значущими при  $P < 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** У дослідженні вивчали вплив уридину на

витривалість до фізичного навантаження ВВ та НВ тварин. Уридин є метаболічним попередником природного активатора мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу – уридиндифосфату (УДФ). Для нього характерна низька токсичність та здатність, на відміну від УДФ, проходити крізь біологічні мембрани та утворювати в клітині УДФ та уридинтрифосфат (УТФ). З УТФ у клітині утворюється УДФ-глюкоза, яка надалі використовується як донор залишка глюкози при синтезі глікогену [8].

Встановлено, що при внутрішньоочеревинному введенні щурам уридину (30 мг/кг за 60 хв до плавання) спостерігаються відмінності в його впливі на термін плавання до знемоги в дослідних тварин (таблиця). Так, у НВ щурів він значно збільшувався, у середньому вдвічі, у той час, як ВВ тварини плавали менше, у середньому на 45 % (відносно контрольних значень). Таким чином, як показано в таблиці, у присутності уридину тварини НВ та ВВ плавали однаковий час до знемоги.

Зниження часу плавання ВВ тварин під впливом уридину ми пов'язуємо зі здатністю уридину підсилювати синтез глікогену, метаболізм якого відрізняється в дослідних тварин [7]. Вважаємо, що введення уридину ВВ щурам, у яких первісно підвищений цей синтез, призводить до зростання синтезу гліко-

гену в тканинах цих тварин вище критичного рівня. У той самий час відомо, що накопичення глікогену вище норми призводить до активації гліколізу та зростання концентрації молочної кислоти, яка й має негативний вплив на витривалість цих тварин [7]. Цілком вірогідно, що в НВ тварин синтез глікогену знижений, а під впливом уридину він дещо збільшується, що сприяє зростанню витривалості.

Таким чином, у ВВ тварин введення уридину може створювати стан «хімічного перетренування». Проте це вимагає експериментального підтвердження.

Для того, щоб з'ясувати, у якій мірі час плавання тварин залежить від роботи мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу, було використано інгібітори цього каналу (внутрішньоочеревинне введення 5 мг/кг 5-НД та 1 мг/кг ГЛ) і показано, що вони вірогідно знижують термін плавання тварин. Проте цей ефект також залежить від стану фізичної витривалості тварин. Так, як видно з таблиці, 5-НД та ГЛ значно знижують час плавання НВ щурів (на 50 %), у той час як цей показник у ВВ знижується менше. Цей факт також підтверджує припущення, що мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-канал бере участь у забезпеченні стійкості щурів до фізичних навантажень, проте у ВВ щурів здатність виконувати великі навантаження

Таблиця

*Час плавання щурів до знемоги за введення модуляторів мітохондріального АТФ-залежного калієвого каналу, М ± т*

Умова досліджу	Час плавання, хв	
	високovitривалі щури	низьковитривалі щури
Плавання (контроль)	7,40 ± 0,35 n = 8	2,07 ± 0,10 n = 8
Уридин (30 мг/кг) + плавання	4,11 ± 0,18* n = 8	4,28 ± 0,25* n = 8
5-hydroxydecanoic + плавання	3,26 ± 0,25* n = 7	1,08 ± 0,34* n = 7
5-hydroxydecanoic + уридин + плавання	2,35 ± 0,45* n = 6	2,15 ± 0,24 n = 6
Глібенкламід + плавання	3,36 ± 0,45* n = 5	1,10 ± 0,14* n = 5
Глібенкламід + уридин + плавання	2,30 ± 0,25* n = 5	1,57 ± 0,41 n = 5

Примітка. \*Відмінності відносно контролю (P < 0,05).

пов'язані не тільки з активацією роботи каналу, але й з іншими захисними факторами, можливо з підсиленням синтезу глікогену. Судячи з інгібіторного аналізу, у НВ щурів за посилення витривалості відповідає в значній мірі активація мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу. Це також підтверджується експериментами з введенням селективного інгібітора 5-HD на тлі уридину. Як видно з таблиці, у НВ щурів термін плавання наближується до контрольного значення, що свідчить про повне усунення інгібітором позитивного ефекту уридину; ГЛ діє подібним чином.

Отримано також дані порівняння швидкості транспорту калію в Мх печінки в стані спокою обох груп тварин, які визначали за стандартною методикою визначення набряку Мх (рисунок). Аналіз цих даних свідчить, що швидкість транспорту калію в Мх ВВ щурів у стані спокою була вищою, ніж у НВ тварин. Уведення уридину в дозі 30 мг/кг НВ тваринам через 60 хв призводило до збільшення швидкості АТФ-залежного набряку Мх майже до рівня його значень у ВВ, а сумісне введення уридину та інгібітора цього транспорту знижувало її майже до контрольного рівня. Слід зазначити, що ефект дії уридину зберігався принаймні протягом 1 доби.

Останнє узгоджується з відомою дією фармакологічних активаторів мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу на толерантність тварин до гіпоксії [5]. При введенні активатора або за умов прекодиціювання спостерігаються дві хвили толерантності тварин до гіпоксії: перша – розвивається в перші години після введення активатора, а друга хвиля спостерігається через кілька діб (3–7) [23]. Перша хвиля пов'язується з активацією мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу, можливо, уридином, а друга – з посиленням синтезу білків цього каналу, так як відомо, що введення активатора призводить до посилення експресії гена білків-каналів [18].

Отримані дані з набряку Мх печінки щурів узгоджуються з результатами дослідження 2,4-ДНФ, що індукує АТФ-залежний вихід калію з Мх. Було виявлено, що у ВВ щурів швидкість цього транспорту вища, ніж у НВ тварин [(39,7 ± 3,7) та (27,9 ± 2,9) мкмоль/хв · мг відповідно, P < 0,05]. Уведення уридину в дозі 30 мг/кг маси НВ щурам підвищує її майже до рівня швидкості у ВВ щурів (до 33,61 ± 3,14), а інгібітор перешкоджає ефекту уридину. Визначення кількості калію в Мх печінки щурів свідчить про те, що вміст калію у НВ щурів більший, ніж у ВВ [(56,5 ± 8,7) та (42,3 ± 5,4) мкмоль/мг

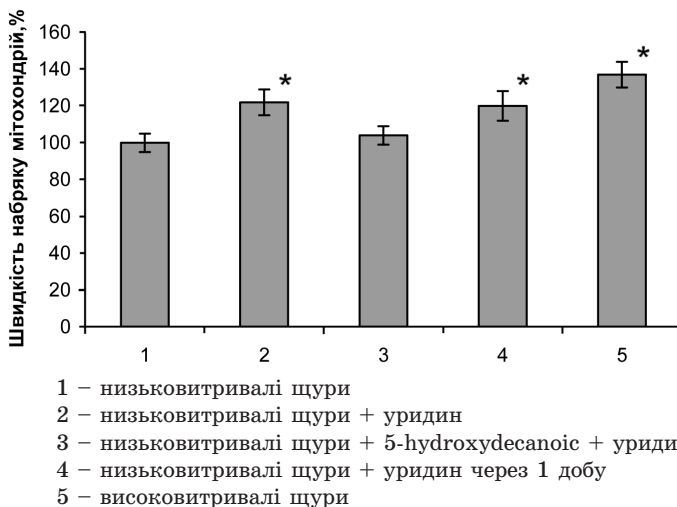


Рисунок. Швидкість набряку мітохондрій печінки у високо- та низьковитривалих до фізичного навантаження щурів у стані спокою

Примітка. За 100 % прийнято швидкість набряку в низьковитривалих щурів; введення уридину – за 60 хв у дозі 30 мг/кг; введення 5-hydroxydecanoic у дозі 5 мг/кг – за 5 хв до введення уридину; \*P < 0,05 відносно контролю.

відповідно,  $P < 0,05$ ]. Введення активатора та інгібітора каналів, що вивчаються, суттєво не впливає на його кількість у Мх печінки. Наведені дані узгоджуються з результатами, отриманими нами раніше на тваринах із різною стійкістю до гіпоксії [ 20].

Виявлені різнонаправлені реакції на дію уридину в дозі 30 мг/кг у тварин з різною витривалістю до фізичного навантаження спонукали нас визначити, чи зберігаються ці відмінності при дії інших доз речовини. Виявилося, що за умов введення уридину в дозі 20 мг/кг у ВВ тварин ( $n = 5$ ) термін плавання до знемоги зменшився на  $(36,0 \pm 2,5)\%$  відносно контролю, у той час як при введенні уридину в дозі 30 мг/кг це зменшення становило 45 %. У НВ тварин ( $n = 5$ ) зареєстровано зростання цього показника лише на  $(35,0 \pm 3,1)\%$  проти збільшення вдвічі при застосуванні уридину в дозі 30 мг/кг.

Використання уридину в дозі 45 мг/кг призводило до зниження витривалості до фізичного навантаження на  $(36,0 \pm 2,7)\%$  у тварин обох груп. Отримані результати свідчать, що для значущої активації мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу в НВ тварин доцільно застосовувати уридин у дозі 30 мг/кг. Щодо зростання витривалості у ВВ, то можливо слід застосовувати (з урахуванням приведених даних) ще менші дози уридину, проте це припущення потребує додаткових ретельних досліджень. Щоб пояснити зниження витривалості в НВ та ВВ тварин при введенні уридину в дозі 45 мг/кг, ми можемо послатися на роботу К. В. Розової та співавт., яка була проведена в нашому відділі (прийнята до друку). У цій роботі показано, що збільшення дози уридину до вказаної вище супроводжувалося порушеннями ультраструктури мітохондрій міокарда: такі порушення автори пов'язують з ймовірною «переактивацією» мітохондріальних АТФ-залежних калієвих каналів. Таке пояснення добре узгоджується з тим, що при застосуванні блокатора цих каналів 5-ND (поряд з високою дозою активатора) нормалізується ультраструктура мітохондрій.

Аналіз отриманих даних свідчить про те, що витривалість до фізичних

навантажень тісно пов'язана з активністю мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналів. У ВВ щурів швидкість транспорту калію в Мх печінки вища, а кількість калію нижча, ніж у НВ тварин. Уведення тваринам уридину в дозі 30 мг/кг призводило до підвищення стійкості до гіпоксії навантаження в НВ, а в ВВ – до зниження, що пов'язано, як ми вважаємо, з дією уридину на синтез глікогену та його накопичення, що, у свою чергу, призводить до зростання швидкості гліколізу та збільшення кількості молочної кислоти в тканинах. Проте інгібітори мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу як на тлі уридину, так і без нього, знижували витривалість обох груп тварин, що вказує на позитивну роль каналу в формуванні витривалості організму до фізичних навантажень. Допускаємо, що уридин у дозі 30 мг/кг маси може бути застосований як фактор, який захищає від гіпоксії навантаження за умов зниження фізичної витривалості організму.

Механізми дії активаторів мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу ми пов'язуємо з активацією циклу калію в мітохондріях [20]. Можуть бути запропоновані такі тлумачення щодо того, яким чином активація мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу може захистити тканини від дії гіпоксії навантаження. Перше, відкриття мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу внаслідок набряку Мх може посилити продукцію та/чи утилізацію АТФ в Мх [13]. Друге, протективний ефект активації мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу може бути опосередкований через зниження перевантаження Мх Ca<sup>2+</sup> [1]. Третє, вищезгадана активація може призводити до зміни експресії протеїнкінази С та інших «протективних» білків [15]. Накинець, і може найважливіше, відкриття мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу зменшує генерацію активних форм кисню та вираженість оксидативного стресу в клітинах [10].

## Висновки

Зростання витривалості щурів до фізичного навантаження тісно пов'язане з активацією мітохондріального АТФ-залежного калієвого каналу. Для підвищення активації мітоК<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу в низьковитривалих до фізичного навантаження тварин доцільно використовувати уридин у дозі 30 мг/кг.

1. Влияние активатора АТФ-зависимого К<sup>+</sup>-канала на функциональное состояние и открывание циклоспоринчувствительной поры в митохондриях печени крыс / Акопова О. В., Носарь В. И., Бурый В. А. [и др.] // Укр. біохім. журн. – 2013. – Т. 85, № 3. – С. 38–51.
2. Модулюючий вплив інтервального гіпоксичного тренування на функціональні і метаболічні показники адаптації організму і м'язової тканини щурів до гіпоксії навантаження / Гавенаускас Б. Л., Маньковська І. М., Носар В. І. [та ін.] // Фізіол. журн. – 2004. – Т. 50, № 6. – С. 42–52.
3. Основи молекулярної генетики м'язової діяльності: навч. посібник / В. М. Ільїн, С. Б. Дроздовська, В. С. Лизогуб, О. П. Безкопильний. – Київ :Олімп. л-ра, 2013. – 112 с.
4. Влияние уридина на энергетический обмен, ПОЛ и антиоксидантную систему в миокарде в условиях острой коронарной недостаточности / Крылова И. В., Балион В. В. Селина Е. Н. [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и медицины. – 2012. – Т. 153, № 5. – С. 644–646.
5. Влияние некоторых флавоноидсодержащих препаратов растительного происхождения на активность митохондриального АТФ-зависимого калиевого канала / Миронова Г. Д., Шигаева М. И., Белослудцева Н. В. [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и медицины. – 2008. – № 8. – С. 96–100.
6. Филиппов М. М. Процесс массопереноса респираторных газов при мышечной деятельности. Степени гипоксии нагрузки / Филиппов М. М. // Вторичная тканевая гипоксия. – Киев : Наук. думка, 1983. – С. 197–216.
7. Шумицкая Н. М. Активность гексокиназы и интенсивность анаэробного гликолиза в мозге и миокарде высоко- и низкоустойчивых к недостатку кислорода белых крыс при острой и хронической гипоксии / Шумицкая Н. М. // Оксидотические и аноксидотические процессы при экспериментальной и клинической патологии. – Киев, 1975. – С. 245–246.
8. Aussedat J. Uridine incorporation in normal and ischemic perfused rat heart / Aussedat J., Ray A., Rossi A. // Mol. Physiol. – 1984. – V. 6. – P. 247–256.
9. Inhibition of DNP-induced potassium efflux by adenine nucleotides in mitochondria / Baranova O. V., Skarga Y. Y., Negoda A. E., Mironova G. D. // Biochemistry (Moscow). – 2000. – V. 65. – P. 218–222.
10. Ferranti R. F. Mitochondrial ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel opening decreases reactive oxygen species generation / Ferranti R. F., de Silva M. M., Kowaltowski A. J. // FEBS Letters. – 2003. – V. 536. – P. 51–55.
11. Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels: possible mechanism of cardioprotection / Garlid K. D., Paucek P., Yarov-Yarovoy V. [et al.] // Circ. Res. – 1997. – V. 81. – P. 1072–1082.
12. Garlid K. D. The mitochondrial potassium cycle / Garlid K. D., Paucek P. // IUBMB Life. – 2001. – V. 52. – P. 153–158.
13. Garlid K. D. Mitochondrial potassium transport : the K<sup>+</sup> cycle / Garlid K. D., Paucek P. // Biochem. Biophys. Acta. – 2003. – V. 1606. – P. 23–41.
14. Myocardial and endothelial dysfunction after multiple, brief coronary occlusions: role of oxygen radicals / Gross G., O'Rourke S., Pelc L., Warltier D. // Am. J. Physiol. – 1992. – V. 263 (6, pt 2). – P. 1703–1709.
15. Grover G. ATP-sensitive potassium channels: a review of their cardioprotective pharmacology / Grover G., Garlid K. // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2000. – V. 32. – P. 677–695.
16. State-dependent inhibition of the mitochondrial KATP channel by glyburide and 5-hydroxydecanoate / Jaburek M., Yarov-Yarovoy V., Paucek P., Garlid K. // J. Biol. Chem. – 1998. – V. 273 (22). – P. 13578–13582.
17. The cardioprotective effect of uridine and uridine-5/-monophosphate: the role of the mitochondrial ATP-dependent potassium channel / Krylova I. B., Kachaeva E. V., Rodionova O. M. [et al.] // Experimental Gerontology. – 2006. – V. 41 (7). – P. 697–703.
18. Lu Ch. Channel activators regulate ATP-sensitive potassium channel (KIR6.1) expression in chick cardiomyocytes / Lu Ch., Halvorsen S. // FEBS Lett. – 1997. – V. 412. – P. 119–125.
19. Functional distinctions between the mitochondrial ATP-dependent K<sup>+</sup> channel (mito KATP) and its inward rectifier subunit (mito KIR) / Mironova G. D., Negoda A., Marinov B. [et al.] // J. Biol. Chem. – 2004. – 279 (31). – P. 32562–32568.
20. Functioning of the mitochondrial ATP-dependent potassium channel in rats varying in their resistance to hypoxia. Involvement of the channel in the process of animal/s adaptation to hypoxia / Mironova G. D., Shigaeva M. I., Gritsenko E. N. [et al.] // J. Bioenerg Biomembr. – 2010. – V. 42. – P. 473–481.
21. Szewczyk A. Mitochondria as a Pharmacological Target / Szewczyk A., Wojtczak Z. // Pharmacol. Reviews. – 2002. – V. 54, № 1. – P. 101–127.
22. Tkachenko H. Pinacidil modulates mitochondrial function under experimental myocardium dystrophy in rats / Tkachenko H., Kurhalyuk N. // Bull Vet Inst Pulawy. – 2006. – V. 50. – P. 571–575.
23. Ischemic preconditioning: present position and future directions / Yellon D., Baxter G. F., Garcia-Dorado D. [et al.] // Cardiovasc. Res. – 1998. – V. 37 (1). – P. 21–33.

**І. М. Маньковська, В. І. Носар, О. О. Гончар, Б. Л. Гавенаускас,  
С. Б. Французова, Л. В. Братусь, Г. Д. Миронова**

### **Вплив модуляторів мітохондріального АТФ-залежного калієвого каналу на фізичну витривалість щурів**

У дослідженні вивчено здатність мітохондріального АТФ-залежного калієвого каналу (мітоK<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-канал) впливати на витривалість тварин до інтенсивних фізичних навантажень. Як модулятор функціонування цих каналів застосовували уридин – метаболічний попередник їхнього природного активатора уридиндифосфату. Виявилось, що дослідні тварини по-різному реагували на плавання до знемоги: високовитривалі щури плавали (7,40 ± 0,35) хв, а низьковитривалі – (2,07 ± 0,10) хв. Уридин вводили внутрішньочеревинно за 60 хв до плавання в дозах 20, 30 та 45 мг/кг маси тіла. Інгібітори мітоK<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу 5-hydroxydecanoic (5-HD) та глібенкламід (ГЛ) вводили за 5 хв до введення уридину в дозах 5 мг/кг та 1 мг/кг маси тіла відповідно. В ізольованих з печінки мітохондріях визначали величину входу калію за світлопоглинанням препарату мітохондрій при 520 нм, що відзеркалює величину набряку мітохондрій, а також величину АТФ-залежного виходу калію із мітохондрій, який індукований 2,4-ДНФ. Кількість калію в мітохондріях визначали після додавання детергенту (тритону X-100) за допомогою селективного калієвого електрода. Встановлено, що при введенні уридину час плавання до знемоги у низьковитривалих щурів збільшувався вдвічі відносно контрольних значень. Інгібітори мітоK<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу 5-HD та ГЛ знижують час плавання в цих щурів на 50 %, а при сумісному введенні інгібіторів та уридину перші повністю усувають позитивний ефект уридину. Швидкість входу калію в мітохондрії у високовитривалих щурів була вищою порівняно з такою у низьковитривалих тварин. Уведення уридину в дозі 30 мг/кг низьковитривалим тваринам призводило до збільшення набряку мітохондрій майже до рівня його значень у високовитривалих, а сумісне введення уридину та інгібіторів транспорту калію знижувало його майже до контрольного рівня. Швидкість виходу калію з мітохондрій була різною у високо- та низьковитривалих щурів [(39,7 ± 3,7) та (27,9 ± 2,9) мкмоль/хв · мг відповідно]. Уведення уридину в дозі 30 мг/кг маси низьковитривалим щурам підвищує величину виходу калію з мітохондрій майже до її рівня у високовитривалих щурів [до (33,6 ± 3,1) мкмоль/хв · мг], а введення 5-HD перешкоджає такому ефекту уридину. Визначення кількості калію в мітохондріях свідчить про те, що вона в низьковитривалих щурів більша, ніж у високовитривалих [(56,5 ± 8,7) та (42,3 ± 5,4) мкмоль/мг відповідно]. Уведення активатора та інгібітора мітоK<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналів суттєво не впливає на кількість калію в мітохондріях печінки. Отже, зростання витривалості щурів до фізичного навантаження тісно пов'язане з активацією мітоK<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-каналу, а уридин у дозі 30 мг/кг є найефективнішим для підвищення такої активації в низьковитривалих до фізичного навантаження тварин.

*Ключові слова: фізична витривалість, гіпоксія навантаження, мітоK<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-канал*

**И. Н. Маньковская, В. И. Носарь, О. А. Гончар, Б. Л. Гавенаускас,  
С. Б. Французова, Л. В. Братусь, Г. Д. Миронова**

### **Влияние модуляторов митохондриального АТФ-зависимого калиевого канала на физическую выносливость крыс**

В исследовании изучали способность митохондриального АТФ-зависимого калиевого канала (миток<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-канал) влиять на выносливость животных при выполнении интенсивных физических нагрузок. В качестве модулятора функционирования этих каналов применяли уридин – метаболитический предшественник их естественного активатора уридиндифосфата. Показано, что подопытные крысы по-разному реагировали на плавание до изнеможения: высоковыносливые крысы плавали (7,40 ± 0,35) мин, а низковыносливые – (2,07 ± 0,10) мин. Уридин вводили внутривершинно за 60 мин до плавания в дозах 20, 30 и 45 мг/кг массы тела. Ингибиторы миток<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-канала 5-hydroxydecanoic (5-HD) и глибенкламид (ГЛ) вводили за 5 мин до введения уридина в дозах 5 и 1 мг/кг массы тела соответственно. В изолированных из печени митохондриях определяли величину входа калия по светопоглощению препарата митохондрій при 520 нм, что отображает величину набухания митохондрій, а также величину АТФ-зависимого выхода калия из митохондрій, который индуцировал 2,4-ДНФ. Количество калия в митохондриях определяли после добавления детергента (тритона X-100) с помощью селективного калиевого электрода. Установлено, что при введении уридина время плавания до изнеможения у низковыносливых крыс увеличивалось вдвое по отношению к контрольным значениям. Ингибиторы миток<sup>+</sup><sub>АТФ</sub>-канала 5-HD и ГЛ снижают время плавания у этих крыс на 50 %, а при совместном введении ингибиторов и уридина первые полностью устраняют позитивный эффект уридина. Скорость входа калия в митохондрии у высоковыносливых крыс была выше по сравнению с таковой у низковыносливых животных. Введение уридина в дозе 30 мг/кг низковыносливым животным приводило к увеличению набухания митохондрій почти до уровня его значений у высоковыносливых, а совместное введение уридина и ингибиторов транспорта калия снижало его почти до контрольного уровня. Скорость выхода калия из митохондрій была разной у высоко- и низковыносливых крыс [(39,7 ± 3,7) и (27,9 ± 2,9) мкмоль/мин · мг соответственно]. Введение уридина в дозе 30 мг/кг массы низковыносливым крысам повышает величину выхода калия из митохондрій почти до ее

---

значения у высоковыносливых животных [(33,6 ± 3,1) мкмоль/мин · мг], а введение 5-HD препятствовало такому действию уридина. Определение количества калия в митохондриях показало, что оно у низковыносливых крыс больше, по сравнению с высоковыносливыми [(56,5 ± 8,7) и (42,3 ± 5,4) мкмоль/мг соответственно]. Введение активатора и ингибитора  $\text{mitoK}^+_{\text{ATP}}$ -каналов существенно не влияло на количество калия в митохондриях печени.

Таким образом, повышение выносливости крыс к физическим нагрузкам тесно связано с активацией  $\text{mitoK}^+_{\text{ATP}}$ -канала, а уридин в дозе 30 мг/кг является наиболее эффективным для увеличения такой активации у низковыносливых к физическим нагрузкам животных.

*Ключевые слова:* физическая выносливость, гипоксия нагрузки,  $\text{mitoK}^+_{\text{ATP}}$ -канал

**I. N. Mankovskaya, V. I. Nosar, O. A. Gonchar, B. L. Gavenauskas,  
S. B. Frantsuzova, L. V. Bratus, G. D. Mironova**

### **Effect of the mitochondrial ATP-dependent potassium channel modulators on rat physical endurance**

The impact of a metabolic precursor of natural activator of mitochondrial ATP-dependent potassium channel ( $\text{mitoK}^+_{\text{ATP}}$ -channel) – uridine on rat endurance to physical load was studied. The endurance was determined by recording the time period during which the rat loaded with a plumb of 20 % of body weight can swim until exhaustion. It was found that high- enduring rats swam until exhaustion significantly longer than low-enduring rats [(7,40 ± 0,35) and (2,07 ± 0,10) min respectively]. Uridine was injected intraperitoneally 60 min before swimming in doses 20, 30 and 45 mg/kg. Inhibitors of the  $\text{mitoK}^+_{\text{ATP}}$ -channel 5-hydroxydecanoic (5-HD) and glibenclamide (GL) were introduced 5 min before the uridine injection in doses 5 and 1 mg/kg respectively. The rate of potassium transport in the liver mitochondria and its amount therein were determined. Potassium entry to mitochondria was determined spectrophotometrically by light absorption of a mitochondrial preparation at 520 nm, reflecting the magnitude of the mitochondria swelling. Potassium release from mitochondria was induced by 2,4-DNP. Determination of the potassium amount in mitochondria was conducted after the adding of a detergent (Triton X-100) with the aid of a potassium-selective electrode. It was found that the time of swimming to exhaustion increased significantly in low-enduring rats after the uridine introduction, on average twice compared to control. Upon introduction to low-enduring rats of 5-HD and GL, their swimming time reduced by 50 %; upon joint introduction of inhibitors and uridine, the former abolished completely the positive effect of uridine. The rate of potassium entry to mitochondria of high-enduring rats was significantly higher as compared with that in low-enduring animals. Injection of uridine in a dose 30 mg/kg to low-enduring animals in 60 min led to an increase in the rate of ATP-dependent swelling almost to the level of its values in high-enduring rats, while joint introduction of uridine and an inhibitor of potassium transport reduced it almost to a control level. The rates of potassium release from mitochondria were different in high- and low-enduring rats [(39,7 ± 3,7) and (27,9 ± 2,9)  $\mu\text{M}/\text{min} \cdot \text{mg}$ , respectively]. Upon introduction of uridine in a dose 30 mg/kg to low-enduring animals, potassium release from mitochondria was increased almost to the level of its value in high-enduring rats (33,6 ± 3,1)  $\mu\text{M}/\text{min} \cdot \text{mg}$ , introduction of 5-HD obstructed this effect of uridine. Upon measurement of the amount of potassium in liver mitochondria, a greater content of potassium was disclosed in low-enduring rats as compared with high-enduring ones [(56,5 ± 8,7) and (42,3 ± 5,4)  $\mu\text{M}/\text{mg}$  respectively]. Introduction of activator or inhibitor of  $\text{mitoK}^+_{\text{ATP}}$ -channel does not significantly influence on the potassium amount in mitochondria. So, it was shown that the increase in rat physical endurance is connected with the  $\text{mitoK}^+_{\text{ATP}}$ -channel activation by uridine; uridine in a dose 30 mg/kg is most effective for a rise of this activation in low-enduring rats.

*Key words:* physical endurance, load hypoxia,  $\text{mitoK}^+_{\text{ATP}}$ -channel

Надійшла: 23.03.2015 р.

---

**Контактна особа:** Маньковська І. М., доктор медичних наук, професор, відділ з вивчення гіпоксичних станів, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України, буд. 4, вул. Богомольця, м. Київ. Тел.: + 38 0 44 253 76 90. Електронна пошта: mankovsk@biph. kiev.ua