УДК 577.152.1+161.536:591.1

ВПЛИВ ВІКАСОЛУ НА АКТИВНІСТЬ ДЕГІДРОГЕНАЗ ЦИКЛУ КРЕБСА ТА СТАН СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ М'ЯЗІВ ШЛУНКА ГУСЕЙ

О. В. ЯКОВІЙЧУК[1], *асистент*
E-mail: alex.yakov1991@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-4667-3684
О. О. ДАНЧЕНКО[1,2], доктор сільськогосподарських наук, професор
https://orcid.org/0000-0001-5049-3446
М. М. ДАНЧЕНКО[2], кандидат технічних наук, доцент
https://orcid.org/0000-0001-7555-6511
А. С. ФЕДОРКО[1], викладач-стажист кафедри
https://orcid.org/0000-0001-5054-2770
Т. М. ГАПОНЕНКО[1], старший викладач кафедри
https://orcid.org/0000-0001-6695-8981
[1]Мелітопольський державний педагогічний університет імені Богдана Хмельницького
[2]Таврійський державний агротехнологічний університет

https://doi.org/10.31548/bio2019.04.002

Мета роботи – з'ясувати вплив вікасолу на активність дегідрогеназ циклу Кребса та стан системи антиоксидантного захисту м'язової тканини шлунка гусей.

За результатами роботи встановлено, що у гладкій м'язовій тканині шлунка гусей вікасол підвищує активність глутатіонпероксидази, каталази та супероксиддисмутази на 14 і 21 добу онтогенезу, зокрема, на 14 добу глутатіонпероксидазна, каталазна і супероксиддисмутазна активність підвищуються на 181,1 % ($p \leq 0,05$), 153,2 % ($p \leq 0,05$) і 103,3 % ($p \leq 0,05$), через 7 діб на 168,0 % ($p \leq 0,05$), 99,7 % ($p \leq 0,05$) і 111,3 % ($p \leq 0.05$) відносно контрольної групи. Активність ензимів антиоксидантного захисту дослідної групи на 28 добу має тенденцію до зниження, однак, достовірна різниця спостерігається між групами тварин лише для супероксиддисмутази, активність якої за дії вікасолу знижується на 62,5 % ($p \leq 0,05$). На 35 добу активність глутатіонпероксидази і каталази в дослідній групі підвищується порівняно з контролем на 43,2 % ($p \leq 0,05$) і 54,1 % ($p \leq 0,05$), у той же час активність супероксиддисмутази нижча на 23,9 % ($p \leq 0,05$).

У тканині відмічене вірогідне підвищення вмісту Гідроген пероксидів ліпідів (28 доба) на 27 % ($p \leq 0,05$) відносно контролю із подальшим зниженням на 35 добу онтогенезу. Вікасол стабілізує вміст кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів у гомогенаті тканин, за винятком зниження на 8,6 % ($p \leq 0,05$) в кінці експерименту. За індукції пероксидних процесів $Fe2+$ їх вміст у дослідній групі підвищується на 108,4 % ($p \leq 0\ 05$) (21 доба), в кінці експерименту спостерігається зниження вмісту вторинних продуктів розпаду ліпідів ініційованих $Fe2+$ у дослідній групі тварин на 27,5 % ($p \leq 0,05$).

Антиоксидантна активність тканини на початку експерименту за дії вікасолу була вища на 30 % ($p \leq 0,05$), на 21 добу знижувалась на 50 % ($p \leq 0,05$) відносно контрольної групи, а на 35 добу онтогенезу антиоксидантна активність підвищувалась на 21,6 %.

Вікасол підвищує активність дегідрогеназ циклу Кребса, зокрема, сукцинатдегідрогенази активність якої вища впродовж експерименту на 14 (78,2 %; p ≤ 0,05), 21 (263,3 %; p ≤ 0 05), 28 (78,8 %; p ≤ 0,05) і 35 (92,3 %; p ≤ 0,05) добу. 2-оксоглутаратдегідрогеназна активність більш специфічна та у значному ступені активується на 14 (122,2 %; p ≤ 0,05), 21 (84,4 %; p ≤ 0,05) і 28 добу (133,3 %; p ≤ 0,05) відносно контрольної групи.

Загалом вікасол активує роботу системи антиоксидантного захисту та енергетичного обміну, тобто є комплексним активатором метаболічних функцій організму.

Ключові слова: *вікасол, дегідрогенази, антиоксидантні ензими, продукти ліпопероксидації*

Актуальність. Хінони та їхні похідні володіють широким спектром біологічної активності (Москаленко та ін.. 2008; Bolton & Dunlap, 2017), яка проявляється залежно від дози та структури і може мати як позитивний (Hassan, 2013), так і негативний ефект (Wiraswati et al., 2016).

Синтетичний хінон – менадіон та його сульфатована похідна – вікасол (вітамін K_3), проявляє широкий спектр дії і здебільшого використовується як токсикант у моделюванні оксидаційного стресу в клітинах (Jan et al., 2015; Wiraswati et al., 2016), між тим встановлено, що механізм перетворення ліпо- (менадіон) та гідрофільного (вікасол) аналогів подібний і призводить до утворення однакових кінцевих форм, хоча й відрізняється за швидкістю їх утворення (Крылова и др., 2009).

Також відомо, що вітамін К3 у відновленій формі здатен прискорювати енергетичні процеси і процеси продукування вільних радикалів (Крылова и др., 2009; Hassan, 2013; Bolton & Dunlap, 2017), а в роботах останніх років (Oeekinghaus & Ghosh, 2009; Haefeli, 2011; Крылова и др., 2014) описано вплив хінонів на процеси транскрипції та активації факторів, які задіяні у ланцюгу антиоксидантної відповіді клітини на надмірну активацію ROS (активні форми оксигену), можна прогнозувати, що комплексний вплив даного препарату при правильному його дозуванні та технології згодовування призведе до підвищення стійкості та продуктивності сільськогосподарської птиці, зокрема, гусей. Адже відомо, що характер впливу хінонів визначається як концентрацією препарату, так і фізіологічним станом організму (Wróbel & Jurkowska, 2007; Hassan, 2013; Bolton & Dunlap, 2017).

Аналіз останніх досліджень. Аналіз раніше оприлюднених публікацій демонструє, що менадіон та його похідна вікасол знаходить широке застосування у годівлі тварин та медицині (Еремин и Петров, 2005; Kim et al., 2013; Oh et al., 2013; Carpentieri et al., 2014; Vukomanovic et al., 2014; Jan et al., 2015), окрім того речовина проявляє високу активність проти різних пухлинних клітин, що сприяло значному поштовху до вивчення його біологічної активності в останні роки (Крылова и др., 2009; Baran et al., 2014; Wiraswati et al., 2016; Chen et al., 2018). І хоча менадіон та його водорозчинні форми давно використовуються в годівлі сільськогосподарських тварин, у літературних джерелах описано лише вплив на амінокислотний обмін, уміст жиророзчинних вітамінів, ліпідний обмін у тканинах та імунологічні показники курчат за їх додавання до сухого корму (Сапарова, 1999; Бирюкова, 2000; Иванова, 2003). Однак вплив вікасолу на перебіг окисно-відновних процесів у тканинах птиці вивчено недостатньо і потребує подальшого комплексного дослідження.

Мета дослідження – з'ясувати вплив вікасолу на активність дегідрогеназ циклу Кребса та стан системи антиоксидантного захисту гладкої м'язової тканини гусей.

Матеріали та методи дослідження. Як модельний об'єкт використовували гусей породи Легард Великий. В 1-добовому віці було сформовано 2 групи (кон-

трольна та дослідна) по 25 голів у кожній. Гусенят дослідної групи із 3 доби випоювали розчином вікасолу з розрахунку 0,7 мг/кг маси тіла (Яковійчук та ін., 2017) та обмежувалась токсичністю препарату (Marchionatti et al., 2008).

Об'єктом дослідження було обрано м'язовий шлунок гусей.

Обрані методики базуються на методах молекулярно-абсорбційної спектроскопії. Всі дослідження проводили на однопроменевому спектрофотометрі СФ-46.

Дегідрогеназну активність цикла Кребса визначали за ступенем відновлення Калій гексоціанофератy (III) жовтого кольору (λ = 417 нм) до безкольорового Калій гексоціанофератy (II) із використанням інкубаційних середовищ, описаних у наступних джерелах: сукцинатдегідрогенази (SD) (КФ 1.3.5.1.) (Ещенко и Вольский, 1982), 2-оксоглутаратдегідрогенази (2-OGD) (КФ 1.2.4.2.) (Hein & Steinbuchel, 1996). Визначення активності ензимів антиоксидантного захисту проводили за відомими методиками. Принцип методу визначення глутатіонпероксидазної активності (GPO) (КФ 1.11.1.9.) базується на переведенні глутатіону в окиснену форму за дії глутатіонпероксидази у присутності трет-бутилгідрогенпероксиду (Гаврилова и Хмара, 1986). Оцінка активності проводилась за кількістю залишкового глутатіону, який у лужному середовищі дає забарвлений комплекс із Натрій нітропрусидом (λ=540 нм). Метод визначення каталазної активності (CAT) (КФ 1.11.1.6.) заснований на перетворенні гідрогенпероксиду ензимом та здатності амоній молібдату утворювати стійкий забарвлений комплекс із гідроген пероксидом (λ=410 нм) (Goth, 1991). Метод визначення супероксиддисмутазної активності (SOD) (КФ 1.15.1.1.) базується на здатності ензиму інгібувати аутоокиснення адреналін гідротартрату у лужному середовищі (pH = 10,6) (Сирота, 2000). Швидкість реакції оцінюють спектрофотометрично за оптичною густиною продукту окиснення адреналіну, що має максимум поглинання за λ = 410 нм.

Інтенсивність процесів пероксидного окислення ліпідів оцінювали за вмістом вторинних продуктів пероксидації, які здатні за підвищеної температури у кислому середовищі утворювати із 2-тіобарбітуровою кислотою забарвлений комплекс (λ = 532 нм) (Ионов и др., 2011). Уміст ТБК-активних продуктів визначали у гомогенатах тканини (TBARC) та за ініціації процесів ПОЛ Fe^{2+} (TBARCi). За визначення вмісту гідрогенпероксидів ліпідів (LGP) використовується здатність останніх у розведених розчинах окислювати Fe^{2+} до Fe^{3+}, що утворює з амоній тіоціанатом зафарбований комплекс (λ = 480 нм), за екстинцією якого оцінюють уміст пероксидів (Ионов и др., 2011). Окрім того, як інтегральний показник стану системи антиоксидантного захисту, застосовували коефіцієнт антиоксидантної активності ($К_{АОА}$), що рахували як співвідношення вмісту TBARC до TBARCi (Данченко та ін., 2012). Уміст білка для перерахунку активності ензимів визначали за модифікованим методом M. M. Bradford, який базується на здатності білків утворювати з барвником Coomassie Brilliant Blue G-250 забарвлені комплекси (λ = 595 нм) (Yongbo, 2017).

Статистичну обробку даних проводили із застосування методів математичної статистики, шляхом стандартних вбудованих функцій пакету спеціалізованого програмного забезпечення SPSS v23 та MS Office Excel-2013. Для перевірки статистичних гіпотез використовували *t*-критерій Стьюдента. Достовірними вважали відмінності за рівня значущості $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Випоювання гусей вікасолом призводить до суттєвого зростання активності антиоксидантних ензимів у

шлунку на 14 і 21 добу онтогенезу (табл. 1). Зокрема, на 14 добу GPO-, CAT- і SOD-активність підвищуються на 181,1 % ($p \leq 0,05$), 153,2 % ($p \leq 0,05$) і 103,3 % ($p \leq 0,05$), а ще через 7 діб – на 168,0 % ($p \leq 0,05$), 99,7 % ($p \leq 0,05$) і 111,3 % ($p \leq 0,05$) відносно контрольної групи.

Такого роду реакція ензимів системи антиоксидантного захисту (АОЗ) можлива за рахунок активації транскрипційного фактору NF- B (ядерний фактор «каппа-бі»), оскільки редокс-активні хінони індукують генерацію ROS у клітині, які є вторинними месенджерами передачі клітинних сигналів. Дане судження підтверджується рядом робіт, у яких описано механізм активації NF-κB хінонами (Oeekinghaus & Ghosh, 2009; Benedetti et al., 2015). У результаті такої активації відбувається експресія NF- B-залежних генів, що призводить до біосинтезу SOD, CAT, GPO (Morgan & Liu, 2011). Активність ензимів АОЗ дослідної групи на 28 добу має тенденцію до зниження, однак, достовірна різниця між групами тварин спостерігається лише для SOD, активність якої за дії вікасолу знижується на 62,5 % ($p \leq 0,05$). Така динаміка може бути зумовлена залученням альтернативних антиоксидантних факторів, що є логічним у період фізіологічної напруги формування контурного пір'я. На 35 добу GPO- і CAT-активність у дослідній групі підвищується порівняно з контрольною групою

1. Динаміка біохімічних показників м'язової тканини шлунка гусей контрольної – К та дослідної – Д груп

Показники	Група	Вік, діб				
		7	14	21	28	35
2-OGD, нМоль. хв-1·мг-1	К	0,28 ± 0,10	0,18 ± 0,03	0,32 ± 0,02	0,06 ± 0,08	0,33 ± 0,01
	Д	0,15 ± 0,02	0,40 ± 0,03*	0,59 ± 0,01*	0,14 ± 0,01*	0,37 ± 0,04
SD, нМоль. хв-1·мг-1	К	6,59 ± 0,23	2,29 ± 0,09	1,99 ± 0,11	3,06 ± 0,17	3,38 ± 0,23
	Д	5,07 ± 0,29*	4,08 ± 0,26*	7,23 ± 0,42*	5,47 ± 0,47*	6,50 ± 0,51*
GPO,мМоль. хв-1·мг-1	К	0,87 ± 0,14	1,75 ± 0,20	3,16 ± 0,17	4,89 ± 0,10	3,66 ± 0,28
	Д	0,99 ± 0,10	4,92 ± 0,45*	8,47 ± 0,18*	4,56 ± 0,09	5,24 ± 0,11*
CAT, нМоль. хв-1·мг-1	К	51,50 ± 2,00	20,50 ± 1,60	30,00 ± 2,50	29,60 ± 1,50	22,00 ± 2,10
	Д	39,40 ± 1,50*	51,90 ± 3,30*	59,90 ± 3,20*	28,10 ± 1,00	33,90 ± 2,90*
SOD, у.о..хв-1·мг-1	К	2,87 ± 0,77	1,53 ± 0,11	2,49 ± 0,09	2,00 ± 0,39	2,18 ± 0,09
	Д	5,03 ± 0,56	3,11 ± 0,19*	5,26 ± 0,20*	0,75 ± 0,12*	1,66 ± 0,10*
TBARC, нМоль·г	К	9,60 ± 1,40	17,70 ± 1,60	13,50 ± 0,90	10,40 ± 1,80	12,80 ± 0,13
	Д	12,20 ± 0,13	18,60 ± 0,40	14,20 ± 0,40	9,30 ± 0,80	11,70 ± 0,13*
TBARCi, нМоль·г	К	29,60 ± 1,00	28,90 ± 1,40	26,20 ± 3,00	23,50 ± 0,80	35,40 ± 3,10
	Д	28,40 ± 1,40	29,80 ± 3,00	54,60 ± 1,50*	23,30 ± 1,40	26,30 ± 1,40*
LGP, ΔD480/г	К	9,74 ± 0,60	11,38 ± 0,57	10,36 ± 0,39	11,64 ± 0,28	11,79 ± 0,11
	Д	11,20 ± 1,00	10,87 ± 0,31	11,87 ± 0,60	14,78 ± 1,06*	12,98 ± 0,81
КАОА	К	0,33	0,61	0,52	0,44	0,37
	Д	0,43	0,62	0,26	0,40	0,45

Примітка: різниця вірогідна відносно контролю на рівні * – $p \leq 0,05$.

тварин відповідно на 43,2 % ($p \leq 0,05$) і 54,1 % ($p \leq 0,05$), водночас активність SOD знижується на 23,9 % ($p \leq 0,05$).

Відмічене вірогідне підвищення вмісту Гідроген пероксидів ліпідів (28 доба) на 27,0 % ($p \leq 0,05$) відносно контролю. Активність SOD у цей період знижується на 62,5 % ($p \leq 0,05$) за невірогідної різниці GPO- і CAT-активності між групами, що вказує на значний внесок саме супероксид-радикалу у пошкодження ліпідів. Активація ензимів GPO (43,2 %; $p \leq 0,05$) і CAT (54,1 %; $p \leq 0,05$) на 35 добу навіть на тлі зниження SOD-активності сприяє зниженню вмісту гідрогенпероксидів до контрольних значень. Уміст TBARC між групами не відрізнявся впродовж експерименту, окрім 35 доби, коли відповідний показник дослідної групи поступився контролю на 8,6 % ($p \leq 0,05$). У той же час уміст TBARCi у дослідній групі був більшим на 108,4 % ($p \leq 0,05$) (21 доба) навіть на тлі високої активності ензимів АОЗ. Причиною накопичення $TBARC_i$ може бути автоокиснення вікасолу або його глутатіонільованих похідних, швидкість взаємодії яких із киснем значно вища порівняно з незаміщеними продуктами (Крылова и др., 2014). У кінці експерименту спостерігається зниження вмісту $TBARC_i$ у дослідній групі тварин на 27,5 % ($p \leq 0,05$), що добре узгоджується зі зростаючою GPO-і CAT-активністю.

Коефіцієнт антиоксидантної активності тканини на початку експерименту за дії вікасолу був вищим на 30,3 %, а на 21 добу знизився на 50,0 % відносно контрольної групи. Втім, на 35 добу онтогенезу антиоксидантна активність тканини дослідної групи підвищувалась на 21,6 %.

Також було відмічено, що застосування вікасолу стимулює енергетичні процеси, що підтверджується підвищенням активності дегідрогеназ циклу Кребса тканини дослідної групи птиці відносно контрольної на 14 (122,2 %; $p \leq 0,05$), 21 (84,4 %; $p \leq 0,05$) і 28 добу (133,3 %; $p \leq 0,05$) для 2-OGD, та на 14 (78,2 %; $p \leq 0,05$), 21 (263,3 %; $p \leq 0,05$), 28 (78,8 %; $p \leq 0,05$) і 35 (92,3 %; $p \leq 0,05$) добу для SD. В умовах, коли рівень ROS стає високим, 2-OGD може піддаватися повному інгібуванню шляхом глутатіонілювання, яке захищає ензим та клітину від окисної модифікації (Romani, 2018). У даному випадку зниження активності нижче контрольних показників не спостерігається, що вказує на баланс між продукуванням і знешкодженням вільних радикалів. Активація сукцинатдегідрогенази, в першу чергу, пов'язана з підсиленням потоку електронів через дихальний ланцюг (ЕТС), що зумовлено здатністю відновлених форм хінонів **шунтувати** ЕТС та переносити електрони безпосередньо на комплекс III, коензим Q або виступати субстратом сукцинатдегідрогенази (Haefeli et al., 2011; Krylova et al., 2016). За таких умов активність компоненту II комплексу ЕТС зростає.

Відомо, що менадіон призводить до мітохондріальної дисфункції клітин, зокрема описано його негативний вплив на 2-оксоглутарат- і піруватдегідрогенази епітеліальних клітин кишківника (Marchionatti et al., 2008). Однак, його сульфітована похідна вікасол за результатами дослідження у разі навантаження організму гусей не завдає негативної дії, зокрема на м'язи шлунку, про що свідчить висока активність ензимів енергетичної та антиоксидантної систем і низький уміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів. Порівняння цих даних з описаними результатами та роботою (Яковійчук та ін., 2017), підтверджує специфічний характер впливу вікасолу на енергетичні та пероксидні процеси різних типів м'язових тканин.

Висновки

Випоювання гусей вікасолом прискорює енергетичні процеси у м'язах їхнього шлунка, що підтверджується вірогідною активізацією 2-оксоглутаратдегідрогенази і сукцинатдегідрогенази із 7 до 35 доби.

Активізації дегідрогеназ циклу Кребса супроводжується підвищенням активності антиоксидантних ензимів GPO, CAT і SOD м'язового шлунка гусей дослідної групи (GPO і CAT із 7 до 35 доби, SOD – до 21).

Завдяки активізації антиоксидантних ензимів інтенсифікація біологічного окиснення за дії вікасолу не спричиняє порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, що підтверджується відсутністю стійких вірогідних відмінностей умісту проміжних і кінцевих продуктів ліпопероксидації та коефіцієнта антиоксидантної активності у м'язах шлунку гусей контрольної і дослідної груп упродовж досліду.

Література

1. Baran I., Ionescu D., Filippi A., Mocanu M., Iftime A., Babes R. et al. Novel insights into the antiproliferative effects and synergism of quercetin and menadione in human leukemia Jurkat T cells. Leuk. Res. 2014. № 38(7). P. 836–849. doi: 10.1016/j.leukres.2014.04.010.
2. Benedetti S., Nuvoli B., Catalani S., Galati R. Reactive oxygen species a double-edged sword for mesothelioma. Oncotarget. 2015. № № 6(19). P. 16848–16865. doi:10.18632/oncotarget.4253
3. Bolton J.L., Dunlap T. Formation and Biological Targets of Quinones: Cytotoxic versus Cytoprotective Effects. Chem Res Toxicol. 2017. № № 30(1). P. 13–37. doi: 10.1021/acs.chemrestox.6b00256.
4. Carpentieri A., Marchionatti A., Areco V., Perez A., Centeno V., Tolosa de Talamoni N. Antioxidant and antiapoptotic properties of melatonin restore intestinal calcium absorption altered by menadione. Mol Cell Biochem. 2014. № 387(1-2). P. 197–205. doi:10.1007/s11010-013-1885-2.
5. Chen J., Hu X., Cui J. Shikonin, vitamin K3 and vitamin K5 inhibit multiple glycolytic enzymes in MCF-7 cells. Oncol Lett. 2018. № 15(5). P. 7423–7432. doi: 10.3892/ol.2018.8251.
6. Еремин Д. . В., Петров Л. А. Экстракционно-фотометрическое определение 2-метил-1,4-нафтохинона (витамин К3) и 2-метил нафталина в реакционной смеси. Аналитика и контроль. 2005. Т. 9., № 4. С. 428–432.
7. Góth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. Clin Chim Acta. 1991. № № 196(2-3). P. 143–151.
8. Haefeli R.H., Erb M., Gemperli A.C., Robay D., Courdier-Fruh I., Anklin C. et al. NQO1-dependent redox cycling of idebenone: effects on cellular redox potential and energy levels. PLoS One. 2011. № № 6(3). URL: https://www.intechopen.com/books/secondary-metabolites-sources-and- applications/physiology-and-pathology-of- mitochondrial-dehydrogenases. doi: 10.1371/journal.pone.0017963.
9. Hassan G.S. Menadione. Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol. 2013. № 38. P. 227-313. doi: 10.1016/B978-0-12-407691-4.00006-X.
10. Hein S., Steinbüchel A. Cloning and characterization of the Alcaligenes eutrophus 2-oxoglutarate dehydrogenase complex. FEMS Microbiol Lett. 1996. № 136(3). P. 231–238.
11. Jan Y.H., Richardson J.R., Baker A.A., Mishin V., Heck D.E., Laskin D.L. et al. Vitamin K3 (menadione) redox cycling inhibits cytochrome P450-mediated metabolism and inhibits parathion intoxication. Toxicol Appl Pharmacol. 2015. № 288(1). P. 114–120. doi: 10.1016/j.taap.2015.07.023.
12. Kim E.H., Kim M.K., Yun H.Y., Baek K.J., Kwon N.S., Park K.C. et al. Menadione (Vitamin K3) decreases melanin synthesis through ERK activation in Mel-Ab cells. Eur J Pharmacol. 2013. № 718(1-3). P. 299–304. doi: 10.1016/j.ejphar.2013.08.018.
13. Krylova N.G., Kulahava T.A., Cheschevik V.T., Dremza I.K., Semenkova G.N., Zavodnik I.B. Redox regulation of mitochondrial functional activity by quinones. Physiol Int. 2016. № 103(4). P. 439–458. doi: 10.1556/2060.103.2016.4.4.
14. Marchionatti A.M., Perez A.V., Diaz de Barboza G.E., Pereira B.M., Tolosa de Talamoni N.G. Mitochondrial dysfunction is responsible for the intestinal calcium absorption inhibition induced by menadione. Biochim Biophys Acta. 2008. № 1780(2). P. 101–107. doi: 10.1016/j.bbagen.2007.10.020.
15. Morgan M.J., Liu Z.G. Crosstalk of reactive oxygen species and NF-κB signaling. Cell Res. 2011. № 21(1). P. 103–115. doi: 10.1038/cr.2010.178.
16. Oeckinghaus A., Ghosh S. The NF-kappa B family of transcription factors and its regulation. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2009. № 1(4). url: https://cshperspectives.cshlp.org/content/1/4/a000034.long. doi: 10.1101/cshperspect.a000034.

17. Oh S.J., Han H.K., Kang K.W., Lee Y.J., Lee M.Y. Menadione serves as a substrate for P-glycoprotein: implication in chemosensitizing activity. Arch Pharm Res. 2013. № № 36(4). P. 509–516. doi: 10.1007/s12272-013-0052-3.
18. Romani A. P. Physiology and Pathology of Mitochondrial Dehydrogenases. In: Secondary Metabolites. 2018. P. 125–138. doi: 10.5772/intechopen.76403.
19. Vukomanovic D., Rahman M.N., Bilokin Y., Golub A.G., Brien J.F., Szarek W.A. et al. In vitro Activation of heme oxygenase-2 by menadione and its analogs. Med Gas Res. 2014. № 4(1). URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3942077/. doi: 10.1186/2045-9912-4-4.
20. Wiraswati H.L., Hangen E., Sanz A.B., Lam N.V., Reinhardt C., Sauvat A. et al. Apoptosis inducing factor (AIF) mediates lethal redox stress induced by menadione. Oncotarget. 2016. № 7(47). P. 76496–76507. doi: 10.18632/oncotarget. 12562.
21. Wróbel M., Jurkowska H. Menadione effect on l-cysteine desulfuration in U373 cells. Acta Biochim Pol. 2007. № № 54(2). P. 407–411.
22. Yongbo C. Modified Bradford procedure for residual protein testing in enzyme catalysis synthesis products. 2017. URL: protocols.iodx.doi.org/10.17504/protocols.io.k4kcyuw
23. Бирюкова Д. Ю. Влияние биостимулирующей кормовой добавки и викасола Z-нафтолового на метаболизм и продуктивность у цыплят-бройлеров: дис. канд. биол. наук: 03.00.13, 06.02. Бирюкова Диана Юрьевна. Новосибирск. 2000. 150 с.
24. Гаврилова А. Р., Хмара Н. В. Определение активности глутатионпероксидазы эритроцитов. Лаб. Дело. 1986. № № 12. С. 721–724.
25. Данченко О. О., Пащенко Ю. П., Данченко Н. М., Здоровцева Л. М. Механізми підтримки прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в тканинах печінки гусей в умовах гіпо- і гіпероксії. Укр. біохім. Журн. 2012. № № 6. С. 109–114.
26. Ещенко Н. Д., Вольский Г. Г. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы. Методы биохимических исследований. Ленинград, 1982. С. 207–210.
27. Иванова О. В. Влияние викасола и пробиотиков на продуктивность цыплят-бройлеров: дис. канд. с.-х. наук: 06.02.02. Иванова О. В. Новосибирск. 2003. 112 с.
28. Критерии и методы контроля метаболизма в организме животных и птиц. Ионов И. А и др. Харьков, 2011. 377 с.
29. Крылова Н. Г., Кулагова Т. А., Семенгова Г. Н., Черенкевич С. Н. Витамин К3-индуцированная активация молекулярного кислорода в клетках глиомы. Укр. Біох. журнал. 2009. Т. 81, № 6. С. 85–93.
30. Крылова Н. Г., Кулагова Т. А., Семенкова Г. Н., Шадыро О. И., Черенке С. Н. Молекулярные механизмы хинонопосредованной регуляции клеточных сигнальных путей. Весці нацыянальнай акадэміі навук беларусі. Серыя біялагічных навук. 2014. № № 3. С. 105–115.
31. Москаленко Н. І., Комаровська-Порохнявець О. З., Іськів О. П., Стадницька Н. Є. Біологічні та фармакологічні аспекти хінонів. Вісник Національного університету "Львівська політехніка". Хімія, технологія речовин та їх застосування. 2008. № № 609. С. 124–130.
32. Сапарова Е. И. Эффективность использования различных дозировок викасола никотинамидной формы в рационе цыплят-бройлеров: дис. канд. с.-х. наук: 06.02.02. Сапарова Е. . И. Кемерово. 1999. 112 с.
33. Способ определения антиоксидантной активности супероксидисмутазы и химических соединений: пат. 2144674. Российская Федерация. № 99103192/14; заявл. 24.02.1999; опубл. 20.01.2000.
34. Яковійчук О. В., Рубан Г. В., Данченко О. О. Вплив вікасолу на активність ферментів циклу Кребса і антиоксидантної системи та стан пероксидного окиснення у м'язах гусей. Технологія виробництва та переробки продукції тваринництва. 2017. № № 1-2(134). С. 105–112.

References

1. Baran I., Ionescu D., Filippi A., Mocanu M., Iftime A., Babes R. Tofolean I.T., Irimia R., Goicea A., Popescu V., Dimancea A., Neagu A., Ganea C. (2014). Novel insights into the antiproliferative effects and synergism of quercetin and menadione in human leukemia Jurkat T cells. Leuk. Res, 38(7), 836–849. doi: 10.1016/j.leukres.2014.04.010. (in English).
2. Benedetti S., Nuvoli B., Catalani S., Galati R. (2015). Reactive oxygen species a double-edged sword for mesothelioma. Oncotarget, 6(19), 16848–16865. doi:10.18632/oncotarget.4253. (in English).

3. Birjukova, D. Ju. (2000). Influence of biostimulating fodder additive and vikasol Z-naphthol on metabolism and productivity in broiler chickens. dis. cand. biol. sci. Novosibirsk,. 150. p. (in Russian).
4. Bolton J.L., Dunlap T. (2017). Formation and Biological Targets of Quinones: Cytotoxic versus Cytoprotective Effects. Chem Res Toxicol, 30(1), 13–37. doi: 10.1021/acs.chemrestox.6b00256. (in English).
5. Carpentieri A., Marchionatti A., Areco V., Perez A., Centeno V., Tolosa de Talamoni N. (2014). Antioxidant and antiapoptotic properties of melatonin restore intestinal calcium absorption altered by menadione. Mol Cell Biochem, 387(1-2), 197–205. doi: 10.1007/s11010-013-1885-2. (in English).
6. Chen J., Hu X., Cui J. (2018). Shikonin, vitamin K3 and vitamin K5 inhibit multiple glycolytic enzymes in MCF-7 cells. Oncol Lett, 15(5), 7423–7432. doi: 10.3892/ol.2018.8251. (in English).
7. Danchenko O.O., Paschenko J.P., Danchenko N.M., Zdorovtseva L.M. (2012). Mechanisms of support prooxidant-antioxidant balance in the liver tissues of geese inhypo- and hyperoxia. Ukr. Biochem.J., 84(6), : 109-114.
8. Erjomin D.V., Petrov L. A. (2005). Phonometric determination of 2-methyl-1,4-naphthoquinone (vitamin K3) and 2-methylnaphthalene in reaction mixture. Analytics and control, 9(4), : 428–432.
9. Eshenko N.D., Volskii G.G. Ещенко Н.Д., Вольский Г.Г. Determination of the amount of succinic acid and succinate dehydrogenase activity. In: Biochemical research methods, Leningrad. pp. 207–210. (in Russian).
10. Góth L. (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. Clin Chim Acta, 196(2-3), 143–151. (in English).
11. Haefeli R.H., Erb M., Gemperli A.C., Robay D., Courdier-Fruh I., Anklin C., Dallmann R., Gueven N. (2011). NQO1-dependent redox cycling of idebenone: effects on cellular redox potential and energy levels. PLoS One, 6(3). URL: https://www.intechopen.com/books/secondary-metabolites-sources-and-applications/physiology-and-pathology-of- mitochondrial-dehydrogenases. doi: 10.1371/journal.pone.0017963. (in English).
12. Hassan G.S. (2013). Menadione. Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol, 38, 227-313. doi: 10.1016/B978-0-12-407691-4.00006-X. (in English).
13. Havrilova A.R., Hmara N.V. (1986) Determination of erythrocyte glutathione peroxidase activity. Lab. Delo, 12, : 721–724. (in Russian).
14. Hein S., Steinbüchel A. (1996). Cloning and characterization of the Alcaligenes eutrophus 2-oxoglutarate dehydrogenase complex. FEMS Microbiol Lett, 136(3), 231–238. doi: https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1996.tb08054.x. (in English).
15. Ionov I.A., Shapovalov S.O., Rudenko E.V., Long M.N., Akhtyrsky A.V., Zozulya Yu.A., Komisova T.E., Kostyuk I.A. (2011). Criteria and methods of control. Institute of Animal Husbandry of the National Academy of Agrarian Sciences, Kharkov. (in Russian).
16. Ivanova, O. V. (2003). Effect of vicasol and probiotics on the productivity of broiler chickens. dis. cand. agrarian sci. Novosibirsk,. 112 p. (in Russian).
17. Jan Y.H., Richardson J.R., Baker A.A., Mishin V., Heck D.E., Laskin D.L., Laskin J.D. (2015). Vitamin K3 (menadione) redox cycling inhibits cytochrome P450-mediated metabolism and inhibits parathion intoxication. Toxicol Appl Pharmacol, 288(1), 114–120. doi: 10.1016/j.taap.2015.07.023. (in English).
18. Kim E.H., Kim M.K., Yun H.Y., Baek K.J., Kwon N.S., Park K.C., Kim D.S. (2013). Menadione (Vitamin K3) decreases melanin synthesis through ERK activation in Mel-Ab cells. Eur J Pharmacol, 718(1-3), 299–304. doi: 10.1016/j.ejphar.2013.08.018. (in English).
19. Krylova N.G., Kulagova T.A., Semenkova G.N., Cherenkevich S.N. (2009). Vitamin K3-induced activation of molecular oxygen in glioma cells. Ukr Biokhim Zh (1999). 81(6), 85–93. (in Russian).
20. Krylova N.G., Kulahava T.A., Cheschevik V.T., Dremza I.K., Semenkova G.N., Zavodnik I.B. (2016). Redox regulation of mitochondrial functional activity by quinones. Physiol Int, 103(4): 439–458. doi: 10.1556/2060.103.2016.4.4. (in English).
21. Krylova N.G., Kylagova T.A., Semenkova G.N, Shadyro O.I., Cherenke S.N. (2014). Molecular mechanisms of quinone-mediated regulation of cellular signaling pathways. News of the National Academy of Sciences of Belarus. Series of Biological Sciences, 3, 105–115. (in Russian).
22. Marchionatti A.M., Perez A.V., Diaz de Barboza G.E., Pereira B.M., Tolosa de Talamoni N.G. (2008). Mitochondrial dysfunction is responsible for the intestinal calcium absorption inhibition induced by menadione. Biochim Biophys Acta, 1780(2), 101–107. doi: 10.1016/j.bbagen.2007.10.020. (in English).

23. Method for determination of antioxidant activity of superoxide dismutase and chemical compounds: pat. 2144674. Russian Federation. № 99103192/14; st. 24.02.1999; pub. 20.01.2000. (in Russian).
24. Morgan M.J., Liu Z.G. (2011). Crosstalk of reactive oxygen species and NF-κB signaling. Cell Res, 21(1), 103–115. doi: 10.1038/cr.2010.178. (in English).
25. Moskalenko N.I., Komarovska-Porohniavets O.Z., Iskiv O.P., Stadnytska N.E. (2008). Biological and pharmacological aspects of quinones. Bulletin of Lviv Polytechnic National University. Chemistry, technology of substances and their application, 2008, 609, 124–130. (in Ukrainian).
26. Oeckinghaus A., Ghosh S. (2009). The NF-kappa B family of transcription factors and its regulation. Cold Spring Harb Perspect Biol, 1(4). URL: https://cshperspectives.cshlp.org/content/1/4/a000034.long. doi: 10.1101/cshperspect.a000034. (in English).
27. Oh S.J., Han H.K., Kang K.W., Lee Y.J., Lee M.Y. (2013). Menadione serves as a substrate for P-glycoprotein: implication in chemosensitizing activity. Arch Pharm Res, 36(4) ,: 509–516. doi: 10.1007/s12272-013-0052-3. (in English).
28. Romani A.P. (2018). Physiology and Pathology of Mitochondrial Dehydrogenases. In: Secondary Metabolites, 125–138. doi: 10.5772/intechopen.76403. (in English).
29. Saparova, E. I. (1999). The effectiveness of the use of various dosages of vicasol nicotinamide form in the diet of broiler chickens. dis. cand. agrarian sci. Kemerovo,. 112 p. (in Russian).
30. Vukomanovic D., Rahman M.N., Bilokin Y., Golub A.G., Brien J.F., Szarek W.A. et al. (2014). I2014.n vitro Activation of heme oxygenase-2 by menadione and its analogs. Med Gas Res., № 4(1). URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3942077/. doi: 10.1186/2045-9912-4-4. (in English).
31. Wiraswati H.L., Hangen E., Sanz A.B., Lam N.V., Reinhardt C., Sauvat A., Mogha A., Ortiz A., Kroemer G., Modjtahedi N. (2016). Apoptosis inducing factor (AIF) mediates lethal redox stress induced by menadione. Oncotarget, 7(47), 76496–76507. doi: 10.18632/oncotarget. 12562. (in English).
32. Wróbel M., Jurkowska H. (2007). Menadione effect on l-cysteine desulfuration in U373 cells. Acta Biochim Pol, 54(2), 407–411. (in Polish).
33. Yakoviichuk O.V., Ruban G.V., Danchenko O.O. (2017). The effect of vikasol on the activity of Krebs and antioxidant system enzymes and the state of peroxide oxidation in geese muscles. Technology of production and processing of livestock products, 1(134), 105–112. (in Ukrainian).
34. Yongbo C. (2017). Modified Bradford procedure for residual protein testing in enzyme catalysis synthesis products. URL: protocols.iodx.doi.org/ 10.17504/ protocols.io.k4kcyuw. (in English).

SUMMARY

O.V. Yakoviichuk, O.O. Danchenko, M.M. Danchenko, A.S. Fedorko, T.M. Haponenko. *Influence of vicasol on the krebs cycle dehydrogenases activity and state of antioxidant defense system of the smooth muscle tissue of geese Biological Resources and Nature Managment. 2019. 11, №5–6. p.15–24. https://doi.org/10.31548/bio2019.04.002*

Abstract. *The aim of work was to study the effect of vicasol on the Krebs cycle dehydrogenase activity and the state of the antioxidant defense system of geese muscle tissue of the stomach.*

According to the results of the work, it was found in the smooth muscle tissue of the stomach of geese, vicasol increases the activity of glutathione peroxidase, catalase and superoxide dismutase on the 14th and 21st days of ontogenesis, in particular, on the 14th day glutathione peroxidase, catalase and superoxide dismutase activity increase by 181.1 % ($p \leq 0.05$), 153.2% ($p \leq 0.05$) i 103.3% ($p \leq 0.05$), after 7 days 168.0% ($p \leq 0.05$), 99.7% ($p \leq 0.05$) i 111.3% ($p \leq 0.05$) relative to the control group. The antioxidant system enzymes activity of the experimental group on the 28th day tends to decrease, however, a significant difference is observed only between groups of animals for superoxide dismutase, whose activity is reduced by 62.5 % under the influence of vicasol ($p \leq 0.05$). On the 35th day of ontogenesis, the activity of glutathione peroxidase and catalase in the experimental group increases by 43.2% ($p \leq 0.05$) and 54.1% ($p \leq 0.05$) compared to the control, at this time the activity of superoxide dismutase is lower by 23.9 % ($p \leq 0.05$).

A significant increase in the concentration of lipids hydrogen peroxides (28th day) by 27% ($p \leq 0.05$) relative to the control was established in the tissue, followed by a decrease on the 35th day of ontogenesis. Vicasol stabilizes the content of end products of lipid peroxidation in tissue homogenate, with the exception of a decrease of 8.6% ($p \leq 0.05$) at the end of experiment. Upon induction of peroxide processes with $Fe2+$ in cell, it is increased their

content by 108 % (p≤0.05) (21st day), at the end of the experiment, a decrease in the content of secondary lipid decomposition products in the experimental group of animals by 27.5% (p≤0.05).

The antioxidant activity of the tissue at the beginning of the experiment under the influence of vicasol was higher by 30%, on the the 21st day decreased by 50% relative to the control group, and on the 35th day it increased by 21,6 %.

Vicasol increases the activity of the Krebs cycle dehydrogenase, in particular, succinate dehydrogenase, which activity is higher during the experiment by 14- (78.2%; p≤0.05), 21- (263.3%; p≤0.05), 28- (78, 8%; p≤0.05) and the 35th (92.3%; p≤0.05) day. 2-oxoglutarate dehydrogenase activity are more specific and significantly increases relative to the control group by 14- (122.2%; p≤0.05), 21- (84.4%; p≤0.05) and on the 28th (133.3%; p≤ 0.05) day relative to the control group.

In general, vicasol activates the system of antioxidant protection and energy metabolism, that is, it is a complex activator of the body's metabolic functions.

Keywords: *vicasol, dehydrogenases, antioxidant enzymes, product of lipids peroxidation*

АННОТАЦИЯ

А. В. Яковейчук, Е. А. Данченко, Н. Н. Данченко, А. С. Федорко, Т. Н. Гапоненко. *Влияние викасола на активность дегидрогеназ цикла кребса и на состояние системы антиоксидантной защиты мышц желудка гусей. Биоресурсы и природопользование. 2019.* ***11****, №5–6. С.15–24. https://doi.org/10.31548/bio2019.04.002*

Аннотация. *Цель работы – изучить влияние викасола на активность дегидрогеназ цикла Кребса и состояние системы антиоксидантной защиты мышечной ткани желудка гусей.*

По результатам работы установлено, что в гладкой мышечной ткани желудка гусей викасол повышает активность глутатионпероксидазы, каталазы и супероксиддисмутазы на 14 и 21 сутки онтогенеза, в часности, на 14 сутки глутатионпероксидазная, каталазная и супероксиддисмутазная активность повышаются на 181,1 % (p ≤ 0,05), 153,2 % (p ≤ 0,05) и 103,3 % (p ≤ 0,05), через 7 суток – на 168,0 % (p ≤ 0,05), 99,7% (p ≤ 0,05) і 111,3 % (p ≤ 0,05) относительно контрольной группы. Активность ферментов антиоксидантной защиты экспериментальной группы на 28 сутки имеет тенденцию к снижению, однако, достоверная разница наблюдается только между группами животных для супероксиддисмутазы, активность которой при действии викасола снижается на 62,5 % (p ≤ 0,05). На 35 сутки активность глутатионпероксидазы и каталазы в опытной группе повышается по сравнению с контролем на 43,2 % (p ≤ 0,05) и 54,1 % (p ≤ 0,05), в то же время активность супероксиддисмутазы ниже на 23,9 % (p ≤ 0,05).

Отмечено достоверное повышение содержания Гидрогена пероксидов липидов (28 сутки) на 27 % (p ≤ 0,05) относительно контроля с последующим снижением на 35 сутки онтогенеза. Викасол стабилизирует содержание конечных продуктов пероксидного окисления липидов в гомогенате тканей, за исключением снижения на 8,6 % (p ≤ 0,05) в конце эксперимента. При индукции пероксидных процессов Fe2+ повышается содержание их конечных продуктов на 108 % (p ≤ 0,05) (21 сутки), в конце эксперимента наблюдается снижение содержания вторичных продуктов распада липидов в опытной группе животных на 27,5 % (p ≤ 0,05).

Антиоксидантная активность ткани в начале эксперимента при действии викасола была выше на 30 % (p ≤ 0,05), на 21 сутки снижалась на 50 % (p ≤ 0,05) относительно контрольной группы, а на 35 сутки повышалась на 21,6 %.

Викасол повышает активность дегидрогеназ цикла Кребса, в частности сукцинатдегидрогеназы, активность которой выше в течение эксперимента експерименту на 14 (78,2 %; p ≤ 0,05), 21 (263,3 %; p ≤ 0,05), 28 (78,8 %; p ≤ 0,05) и 35 (92,3 %; p ≤ 0,05) сутки. 2-оксоглутаратдегидрогеназная активность более специфическая и значительно повышается относительно контрольной группы на 14 (122,2 %; p ≤ 0,05), 21 (84,4 %; p ≤ 0,05) и 28 (133,3 %; p ≤ 0,05) сутки относительно контрольной группы.

В общем викасол активирует работу системы антиоксидантной защиты и энергетического обмена, то есть является комплексным активатором метаболических функций организма.

Ключевые слова: *викасол, дегидрогеназы, антиоксидантные энзимы, продукты липопероксидации*