

УДК 577.1. 612.015. 616-092

ЗАГАЛЬНА АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА МІТОХОНДРІЙ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ В МОДЕЛІ ДЕПРЕСІЇ ТА ЗАСТОСУВАННЯ КОФЕЇНУ

Д. ПОЛЯНСЬКА, О. ХОМЕНКО, О. ДЬОМШИНА

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара
пр. Науки, 72, Дніпро, Україна, 49045
e-mail: olga-d2009@ukr.net

Депресія як неврологічне захворювання супроводжується утворенням метаболітів, які викликають токсикацію організму. Серед таких, значущими, є активні форми кисню здатні пошкодити будь-які молекули організму (Barcelos et al., 2014; Anh-Dao et al., 2022). Головним органом детоксикації є печінка, яка в умовах розвитку захворювань та терапії зазнає додаткового навантаження. Мітохондрії як головні постачальники енергії, в умовах підвищеної концентрації окисних продуктів, зазнають змін, що призводять до дисбалансу у клітинах. Пошук лікарських засобів, які одночасно здатні корегувати патологічні стани та виявляти гепатопротекторні та антиоксидантні властивості є актуальним завданням експериментальної та медичної біохімії. Мета дослідження: визначення стану загальної антиоксидантної системи мітохондрій печінки щурів за умов розвитку депресії та корегування даного патологічного стану кофеїном. Методи дослідження: експеримент проводили на білих статевозрілих щурах лінії Wistar, яких утримували відповідно до правил захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних цілей. Тварини були поділені на дві експериментальні групи: самці та самки, кожна з яких була поділена на чотири дослідні групи по п'ять тварин в кожній. Стан антиоксидантної системи визначали за змінами концентрації МДА та модифікованих білків, активності СОД та КТ та загальної антиоксидантної активності за допомогою методів колориметрії, спектрометрії. Отримані результати піддавали статистичній обробці програмою Excel Microsoft 365. Результати: у тварин з депресією спостерігали активацію окисних процесів, в тому числі й в мітохондріях печінки. У групі тварин, яким у якості лікувального засобу вводили кофеїн у концентрації 25 мг/кг протягом 5 тижнів спостерігали зниження концентрації МДА майже на 40% порівняно з групою депресивних тварин. Встановлено зниження концентрації окисно-модифікованих білків як за впливу кофеїну в контрольній групі щурів, так і в групі з депресією, яким вводили кофеїн. Визначення загальної антиоксидантної активності мітохондрій печінки за депресії показало зниження вдвічі даного параметру і вказує на пригнічення захисних механізмів. В умовах застосування кофеїну активність КТ та СОД, як одних з компонентів антиоксидантної системи, відновлювалася в межах контрольної групи. Висновки: отримані результати вказують на антиоксидантні властивості кофеїну, що позитивно позначалося на загальній антиоксидантній активності мітохондрій печінки на фоні депресії.

Ключові слова: депресія, кофеїн, антиоксидантна система, МДА, окисно-модифіковані білки, КТ, СОД

Вступ. Депресія є одним з найпоширеніших та важких захворювань серед населення земної кулі. За розвитку депресії найбільш уразливою є нервова система, але останні дослідження науковців (Lv et al., 2019; Li et al., 2020; Shea et al., 2021; Luo et al., 2022) доводять, що порушення функціонування серця, печінки, нирок, селезінки додають певний внесок у формування цього захворювання. Оскільки, печінка є головним органом виведення токсичних метаболітів з організму, а мітохондрії є головними органелами, що забезпечують енергією для здійснення виведення, дослідження їхнього стану за депресії та пошук ефективних засобів подолання депресивного стану є важливим та актуальним на даний час. Окрім того, депресія супроводжується активізацією

окисних процесів, до яких надзвичайно чутливі мітохондрії. Саме від ефективності функціонування антиоксидантної системи залежить здатність мітохондрій забезпечувати, в першу чергу, енергетичні потреби печінки, а також, повний метаболізм окисних продуктів. В якості ліків від депресії використовують кофеїн, хоча існують неоднозначні висновки щодо того, корисну чи шкідливу дію він спричинює на стан печінки та її мітохондрій (Kim & Kim, 2018; Baldissera et al., 2019; Ajaz et al., 2023).

Матеріали та методи. Експеримент проводили на білих статевозрілих щурах лінії Wistar, яких утримували відповідно до правил захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних цілей. Тварини були поділені на дві експериментальні групи: самці та

самки, кожна з яких була поділена на чотири дослідні групи по п'ять тварин в кожній. Модель депресії за (Войко et al., 2013). Кофеїн вводили у концентрації 25 мг/кг (Кофеїн-бензоат натрію ЗАТ «Дарниця»). Мітохондріальна фракція печінки за методом (Wieckowski et al., 2009). Стан антиоксидантної системи визначали за змінами концентрації МДА (Andreeva, 1988) та модифікованих білків (Miller et al., 2012), активності СОД (Kostjuk, 1990) та КТ (Koroljuk,

1988) та загальної антиоксидантної активності (Klebanov, 1988).

Результати та їх обговорення. Процеси забезпечення енергією тісно пов'язані з окисно-відновними реакціями, продуктами яких, в тому числі, є токсичні метаболіти, здатні змінювати редокс-статус клітин. Так, у тварин з депресією спостерігали активацію окисних процесів (рис.1), що підтверджує результати дослідження інших авторів.

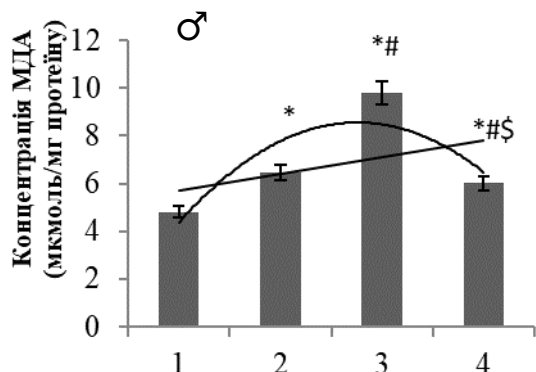


Рис. 1. Концентрація МДА у мітохондріальній фракції печінки щурів експериментальних груп

Примітка: тут і в наступних рисунках:

1 – інтактні тварини;
2 – тварини, яким вводили кофеїн у концентрації 25 мг/кг протягом 5 тижнів (Кофеїн-бензоат натрію ЗАТ «Дарниця»);

3 – тварини з депресією;

4 – тварини з депресією, яким вводили кофеїн у концентрації 25 мг/кг протягом 5 тижнів (Кофеїн-бензоат натрію ЗАТ «Дарниця»);

вірогідні дані при $P < 0,05$: * – відносно контрольної групи, # – відносно 2-ї групи тварин, \$ – відносно 3-ї групи тварин, усі величини наведені $x \pm SD$, $n = 5$.

У групі тварин, яким у якості лікувального засобу вводили кофеїн у концентрації 25 мг/кг протягом 5 тижнів спостерігали зниження концентрації МДА майже на 40% порівняно з групою депресивних тварин. Отримані результати вказують на антиоксидантні властивості кофеїну, що узгоджується з результатами досліджень (Barcelos, 2020). Однак, слід зазначити, що порівняно з контрольною групою цей показник був вище на 25%, що вказує на помірні антиоксидантні властивості кофеїну. В ході експерименту було встановлено цікавий факт зниження концентрації окисно-модифікованих білків у мітохондріях печінки як за впливу кофеїну в контрольній групі щурів, так і в групі з депресією, яким вводили кофеїн (рис.2). Отримані результати дали нам можливість зробити висновок про загальний превентивний захисний ефект кофеїну на білки

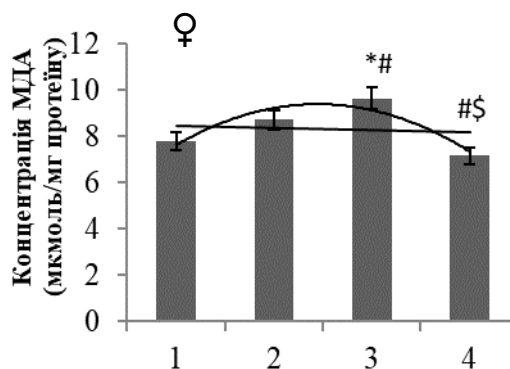


Fig. 1. Concentration of MDA in the mitochondrial fraction of the liver of rats of the experimental groups

Note: here and in the following figures:

1 – intact animals;

2 – animals injected with caffeine at a concentration of 25 mg/kg for 5 weeks (Caffeine-sodium benzoate of CJSC "Darnytsia");

3 – animals with depression;

4 – animals with depression, which were injected with caffeine at a concentration of 25 mg/kg for 5 weeks (Caffeine-sodium benzoate of CJSC "Darnytsia");

probable data at $P < 0,05$: * – relative to the control group, # – relative to the 2nd group of animals, \$ – relative to the 3rd group of animals, all values are given by $x \pm SD$, $n = 5$.

мітохондрій печінки щурів. Встановлений факт узгоджується із антиоксидантними властивостями кофеїну, який, в тому числі, попереджає окисну модифікацію білків. Задля попередження розвитку окисного стресу в клітинах, еволюційно сформувалися антиоксидантні системи захисту. Основою таких систем є високомолекулярні та низькомолекулярні сполуки, які забезпечують біотрансформацію прооксидантів. До таких антиоксидантних ферментів відносять широко розповсюджені ферменти СОД та КТ, які забезпечують перетворення токсичних супероксиду та пероксидів відповідно (рис.3).

Так, у групі тварин з депресією, яким вводили кофеїн відбувалось поступове відновлення активності КТ, що супроводжувалось підвищенням активності ферменту на 30% порівняно з групою тварин з депресією.

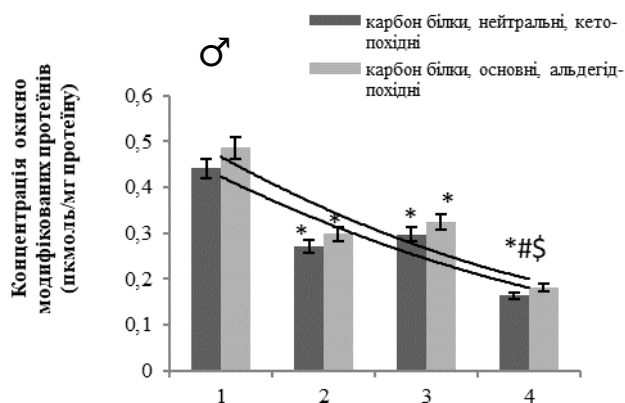


Рис. 2. Концентрація окисно модифікованих протеїнів у мітохондріальній фракції печінки щурів експериментальних груп.

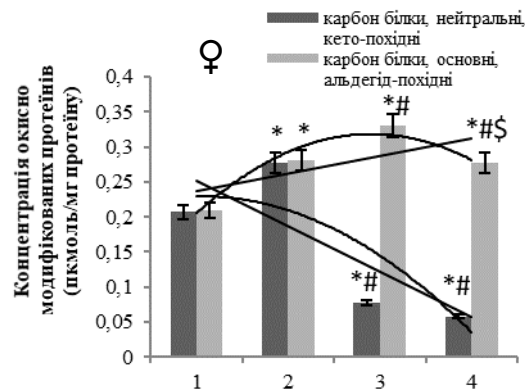


Fig. 2. Concentration of oxidatively modified proteins in the mitochondrial fraction of the liver of rats of the experimental groups

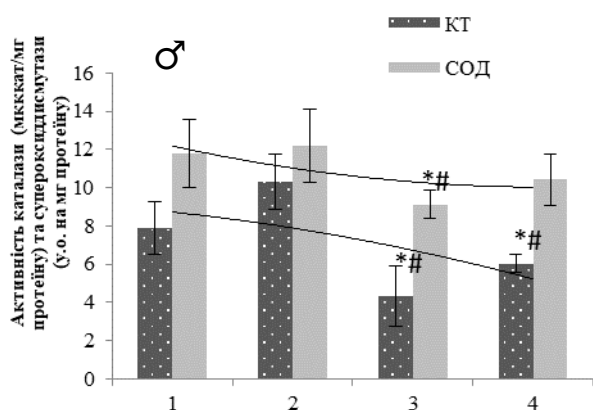


Рис. 3. Активність каталази та супероксиддисмутази у мітохондріальній фракції печінки щурів експериментальних груп

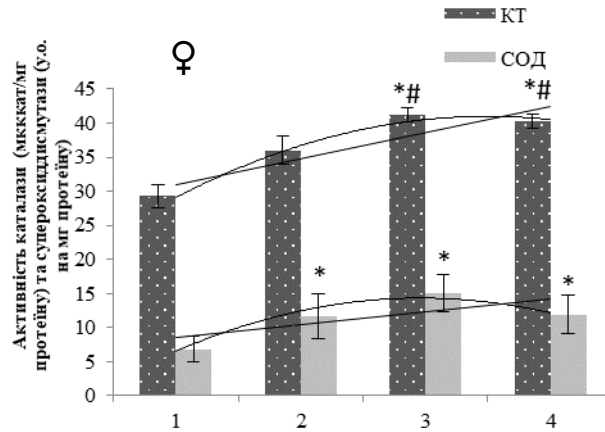


Fig. 3. Activity of catalase and superoxide dismutase in the mitochondrial fraction of the liver of rats of the experimental groups

Аналіз результатів по активності СОД у самців показав зміни в групі з депресією, а в інших активність була в межах контрольної групи. Це вказує на позитивний вплив кофеїну на антиоксидантну систему, який супроводжується відновленням активності СОД до нормального рівня та додатково підтверджує антиоксидантні властивості кофеїну за лікування депресії.

Додатковим інформативним параметром є загальна антиоксидантна активність (рис.4). Було встановлено, що щурів з депресією цей показник зменшувався у 2 рази, порівняно з контрольною

групою, що свідчить про загальне пригнічення антиоксидантної системи за дослідної патології. Отримані результати узгоджуються з даними по активності КТ та СОД в цій дослідній групі. Лікування кофеїном супроводжувалось поступовим відновленням загальної антиоксидантної активності мітохондрій печінки щурів, що додатково підтверджує антиоксидантні властивості кофеїну та узгоджується з дослідженнями науковців (Anh-Dao, 2022) та (Landerer, 2021).

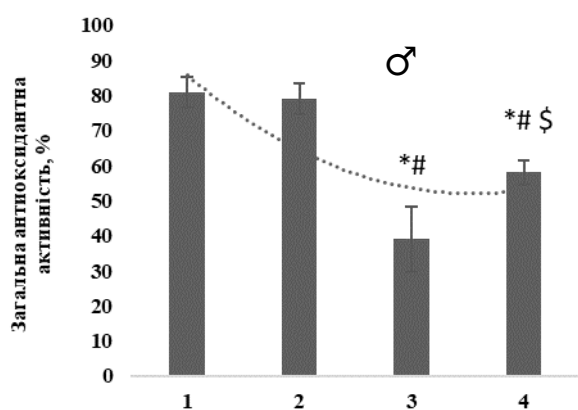


Рис. 4. Загальна антиоксидантна активність у мітохондріальній фракції печінки щурів експериментальних груп

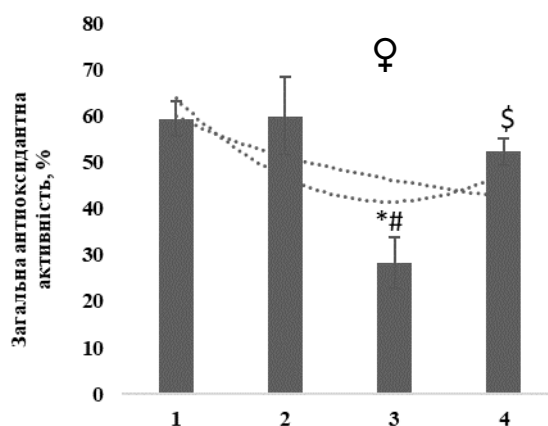


Fig. 4. Total antioxidant activity in the mitochondrial fraction of the liver of rats of the experimental groups

Висновки. Кофеїн виявляє позитивний вплив на антиоксидантну систему, який супроводжується відновленням активності супероксиддисмутази та стимуляцією активності каталази в мітохондріях печінки щурів та підтверджує антиоксидантні властивості кофеїну за лікування депресії.

Конфлікт інтересів: дослідження проводилося за відсутності будь-яких комерційних або фінансових відносин, які можна було б витлумачити як потенційний конфлікт інтересів

Фінансування та подяки: дослідження проводилося в рамках ініціативної науково-дослідної роботи «Молекулярні механізми адаптації до стресу та пошук природних адаптогенів» (№ 0122U001457), що виконується в Дніпровському національному університеті імені Олеся Гончара на базі кафедри біохімії та фізіології.

Список використаної літератури

1. Aijaz, M., Keserwani, N., Yusuf, M., Ansari, N. H., Ushal, R., & Kalia, P. (2022). Chemical, biological, and pharmacological prospects of caffeic acid. *Biointerface Res. Appl. Chem*, 13, 324. <https://doi.org/10.33263/BRIAC134.324>
2. Andreeva, L. Y.; Kozhemjakyn, L. A.; Kyshkun, A. A. (1988). Modification of the method for the determination of lipid peroxides in the test with thiobarbituric acid. *Laboratornoe Delo*, 2, 41-43
3. Baldissera, M. D., Souza, C. F., Descovi, S. N., Petrolli, T. G., da Silva, A. S., & Baldisserotto, B. (2019). A caffeine-supplemented diet modulates oxidative stress markers and prevents oxidative damage in the livers of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to hypoxia. *Fish Physiology and Biochemistry*, 45(3), 1041-1049. <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00616-7>.

4. Barcelos, R. P., Souza, M. A., Amaral, G. P., Stefanello, S. T., Bresciani, G., Figuera, M. R., & Barbosa, N. V. (2014). Caffeine supplementation modulates oxidative stress markers in the liver of trained rats. *Life Sciences*, 96(1-2), 40-45. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.12.002>.
5. Boyko, M., Kutz, R., Grinshpun, J., Zvenigorodsky, V., Gruenbaum, S. E., Gruenbaum, B. F., & Zlotnik, A. (2015). Establishment of an animal model of depression contagion. *Behavioural brain research*, 281, 358-363. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.12.017>.
6. Anh-Dao, L. T., Nhon-Duc, L., Cong-Hau, N., & Thanh-Nho, N. (2022). Variability of total polyphenol contents in ground coffee products and their antioxidant capacities through different reaction mechanisms. *Biointerface Res. Appl. Chem*, 12, 4857-4870. <https://doi.org/10.33263/BRIAC124.48574870>.
7. Kim, J., & Kim, J. (2018). Green Tea, Coffee, and Caffeine Consumption Are Inversely Associated with Self-Report Lifetime Depression in the Korean Population. *Nutrients*, 10(9), 1201. <https://doi.org/10.3390/nu10091201>.
8. Klebanov, G. I., Babenkova, I. V., Teselkin, Yu. O., Komarov, O. S., & Vladimirov, Yu. A. (1988). Evaluation of antioxidant activity of blood plasma using yolk lipoproteins. *Laboratornoe Delo*, (5), 59-62.
9. Koroljuk, M. A.; Yvanova, L. Y.; Majorova, Y. G.; Tokareva, V. E. Method for the determination of catalase activity. *Laboratornoe Delo* 1988, 1, 16-19.
10. Kostjuk, V. A.; Potapovych A. Y.; Kovaleva, Zh. V. (1990). A simple and sensitive method for determining the activity of superoxide dismutase, based on the oxidation reaction of quercetin. *Voprosi Medicinskoj Khimii*, 36(2), 88-91.
11. Miller, E., Walczak, A., Saluk, J., Ponczek, M. B., & Majsterek I. (2012). Oxidative modification of patient's plasma proteins and its role in pathogenesis of multiple sclerosis, *Clinical Biochemistry*, 45(1-2), 26-30. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2011.09.021>

12. Landerer, S., Kalthoff, S., & Strassburg, C. P. (2021). UDP-glucuronosyltransferases mediate coffee-associated reduction of liver fibrosis in bile duct ligated humanized transgenic UGT1A mice. *Hepatobiliary Surgery and Nutrition*, 10(6), 766. <https://doi.org/10.21037/hbsn-20-9>.
13. Li, X. J., Qiu, W. Q., Da, X. L., Hou, Y. J., Ma, Q. Y., Wang, T. Y., & Chen, J. X. (2020). A combination of depression and liver Qi stagnation and spleen deficiency syndrome using a rat model. *The Anatomical Record*, 303(8), 2154-2167. <https://doi.org/10.1002/ar.24388>.
14. Luo, K., Wang, M., Pan, X., & Xing, Y. (2022). Comparative Pharmacokinetic Study of Three Major Bioactive Components in the Normal and Different Courses of Liver-Stagnation and Spleen-Deficiency Syndrome Depressive Rats after Intragastric Administration of Zhi-Zi-Hou-Po Decoction. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2022, 8657616. <https://doi.org/10.1155/2022/8657616>
15. Lv, W. J., Wu, X. L., Chen, W. Q., Li, Y. F., Zhang, G. F., Chao, L. M., & Guo, S. N. (2019). The gut microbiome modulates the changes in liver metabolism and in inflammatory processes in the brain of chronic unpredictable mild stress rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 7902874. <https://doi.org/10.1155/2019/7902874>
16. Shea, S., Lionis, C., Kite, C., Atkinson, L., Chaggar, S. S., Randeve, H. S., & Kyrou, I. (2021). Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and potential links to depression, anxiety, and chronic stress. *Biomedicines*, 9(11), 1697. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9111697>
17. Wieckowski, M. R., Giorgi, C., Lebedzinska, M., Duszynski, J., Pinton, P. (2009). Isolation of mitochondria-associated membranes and mitochondria from animal tissues and cells. *Nature Protocols*, 4(11):1582-1590. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.151>.

GENERAL ANTIOXIDANT SYSTEM OF RAT LIVER MITOCHONDRIA IN A MODEL OF DEPRESSION AND CAFFEINE USE

D. Polyanska, O. Khomenko, O. Dyomshyna

*Oles Honchar Dnipro National University,
Dnipro, 49045, 72 Nauky Ave., Ukraine
olga-d2009@ukr.net*

Depression as a neurological disease is accompanied by the formation of metabolites that cause body toxicity. Among these, reactive oxygen species are significant, capable of damaging any body molecules (Barcelos et al., 2014; Anh-Dao et al., 2022). The main organ of detoxification is the liver, which, under the conditions of disease development and therapy, undergoes additional load. Mitochondria, as the main suppliers of energy, in conditions of increased concentration of oxidative products, undergo changes that lead to an imbalance in cells. The search for drugs that can simultaneously correct pathological conditions and exhibit hepatoprotective and antioxidant properties is an urgent task of experimental and medical biochemistry. To determine the state of the general antioxidant system of the liver mitochondria of rats under the conditions of depression and to correct this pathological state with caffeine. The experiment was carried out on white, sexually mature Wistar rats, which were kept by the rules for vertebrate animals used for experimental purposes. The animals were divided into two experimental groups: males and females, each divided into four experimental groups of five animals. The state of the antioxidant system was determined by changes in the concentration of MDA and modified proteins, SOD and CT activity, and total antioxidant activity using colorimetry and spectrometry methods. The obtained results were subjected to statistical processing with Excel Microsoft 365. Activation of oxidative processes was observed in animals with depression, including in liver mitochondria. In the group of animals treated with caffeine at a concentration of 25 mg/kg for 5 weeks, a decrease in MDA concentration by almost 40% was observed compared to the group of depressed animals. A decrease in the concentration of oxidatively modified proteins was established both under the influence of caffeine in the control group of rats and in the depressed group that was administered caffeine. Determination of the total antioxidant activity of liver mitochondria during depression showed a halving of this parameter and indicates inhibition of protective mechanisms. Under the conditions of caffeine use, the activity of KT and SOD, as one of the components of the antioxidant system, was restored within the control group. The obtained results indicate the antioxidant properties of caffeine, which had a positive effect on the overall antioxidant activity of liver mitochondria against the background of depression.

Keywords: depression, caffeine, antioxidant system, MDA, oxidatively modified proteins, CT, SOD.

Отримано редколегією 26.10.2024

ORCID ID

Олена Хоменко: <https://orcid.org/0000-0001-9341-6192>

Ольга Дьомшина: <https://orcid.org/0000-0001-7791-4028>