

OXIDATIVE AND ANTIOXIDANT STATUS IN DEPRESSIVE DISORDER PATHOLOGY

Sanggary Marimuthu
Udayana University School of Medicine Denpasar

ABSTRACT

Depressive disorder is a psychiatric disorder often found lately. Oxidative stress is a mechanism that promotes the occurrence of major depressive disorder. Oxidative stress is defined as an imbalance between oxidants and antioxidants whereby high oxidant content is due to decrease the antioxidant capacity of the system. Objective: The aim of this study is to assess the oxidative and antioxidative status in plasma in patients diagnosed with clinical depression, and to assess whether there is a relationship between oxidative stress and severity of depression. Methods: In this study we gather 50 patients with depression according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders fourth edition and 20 healthy control subjects. Activity levels of plasma malondialdehyde, superoxide dismutase and glutathione peroxidase were measured in this study to assess the oxidative status and antioxidative defense prior to antidepressant medication. Results: Patients with depression had higher total plasma peroxide and lower plasma antioxidants than controls. Depressed oxidative stress index values patients were significantly higher than controls, and there is a significant positive correlation between the scale and the Hamilton depression Rating Oxidative stress index value. Conclusion: Patients with major depression are exposed to oxidative stress, and oxidative stress index may be useful to reflect the severity of the disease.

Key words: Oxidative stress, antioxidant capacity, depressive disorders.

STATUS OKSIDAN DAN ANTIOKSIDAN PADA PATOLOGI GANGGUAN DEPRESI ABSTRAK

Gangguan depresi dilaporkan kelainan psikiatri yang sering ditemukan pada masa ini. Stres oksidatif adalah suatu mekanisme yang menyebabkan terjadinya gangguan depresi mayor. Stres oksidatif didefinisikan sebagai ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan dimana oksidan lebih tinggi, karena terjadi penurunan pada sistem kapasitas antioksidan. *Objektif:* Tujuan dari studi ini adalah untuk menilai status oksidatif dan antioxidative dalam plasma pada pasien yang didiagnosa dengan depresi klinis, dan untuk menilai apakah ada hubungan antara Stres oksidatif dan tingkat keparahan depresi. *Metode:* Dalam studi ini kami mendapatkan 50 pasien dengan depresi menurut diagnostik dan statistik Manual of Mental Disorders edisi keempat dan 20 subjek kontrol yang sehat. Aktifitas tingkat Plasma malondialdehyde, superoksida dismutase dan glutathione peroxidase diukur dalam penelitian ini untuk menilai status oksidatif dan pertahanan antioxidatif sebelum pemberian obat antidepresan. *Hasil:* Pasien memiliki peroksida plasma total yang tinggi dan antioksidan plasma yang lebih rendah daripada kontrol. Nilai indeks Stres oksidatif pasien depresi secara signifikan lebih tinggi daripada kontrol dan terdapat korelasi positif yang signifikan antara skala Rating depresi Hamilton dan nilai indeks Stres oksidatif.

Kesimpulan: Pasien dengan depresi mayor terpapar pada Stres oksidatif, dan indeks Stres oksidatif mungkin berguna untuk mencerminkan keparahan penyakit.

Key words: Stres oksidatif, kapasitas antioksidan, gangguan depresi.

Pendahuluan

Stres oksidatif didefinisikan sebagai ketidakseimbangan antara produksi spesies oksigen reaktif tinggi (reactive oxygen species)/(ROS) dan kemampuan mekanisme pelindung alami organisme untuk menghilangkan zat reaktif atau memperbaiki sel rusak dan mencegah efek yang merugikan.¹ Status stres oksidatif dinilai dengan mengukur tingkat kerusakan oksidatif pada lipid, protein dan DNA, yang dapat diukur dengan biomarkers yang spesifik. Peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) menginduksi kerusakan jaringan melalui satu mekanisme yang mengaktifkan sejumlah jalur pensinyalan selular.² Depresi mayor mewakili 12 persen dari seluruh penyakit dan persentasenya berkembang, sehingga pada tahun 2020 dikatakan akan mencapai lebih dari 15 persen dan menduduki tempat kedua setelah penyakit kardiovaskular.³ Di antara orang dewasa, 15 persen dari mereka yang didiagnosa dengan depresi, mati disebabkan bunuh diri.⁴ Perawatan untuk depresi biasanya multifaset, dan tidak diragukan bahwa gizi memainkan peran penting. Penelitian telah menunjukkan bahwa kimia tubuh seseorang yang mengalami depresi tertekan dan berubah-ubah dalam berbagai cara, mereka yang kekurangan dalam neurotransmitter, ketidakseimbangan hormon, dan defisit gizi lain dapat menyebabkan depresi klinis.⁵ Pada waktu ini, para peneliti menaruh depresi dalam hubungan dengan Stres oksidatif, yang dapat dikelola dengan suplemen gizi. Secara menyeluruh, perawatan depresi biasanya menyentuh pada banyak aspek kehidupan seseorang. Kabar baiknya adalah, depresi dapat dirawat dengan baik.⁶

Material dan Metode

Kita meneliti status enzim antioksidan dan indeks Stres oksidatif serta produk akhir lipid peroxidation dalam eritrosit dari pasien dengan gangguan depresi. Diagnosis depresi dibuat menggunakan DSM-IV-TR dan gejala depresi dievaluasi dengan menggunakan skala Rating

Hamilton untuk depresi (HRSD). Untuk tujuan ini, kita mengukur aktifitas superoksida dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) dan katalase (CAT), serta tingkat malondialdehyde (MDA) pada pasien dengan gangguan depresi sebelum pengobatan antidepresan.

Subjek

Dalam studi ini kami masukan lima puluh pasien dengan gangguan depresi, didiagnosa di rumah sakit psikiatris University Hospital “Socola” Iasi dan 20 kontrol yang sehat. Kriteria pengecualian adalah alkohol atau penyalahgunaan obat atau ketergantungan, riwayat gangguan organic yang parah, penggunaan apapun antioksidan seperti vitamin E atau C, asam lemak omega-3, riwayat epilepsi atau gangguan neurologis parah yang lain, riwayat penyakit menular atau virus, riwayat diabetes mellitus atau obesitas berlebihan, dan kondisi medis lain yang parah.

Pengumpulan sampel

Darah diambil dengan cara “venous arm puncture” dari pasien dan kontrol kemudian dimasukkan ke dalam tabung EDTA. Plasma sampel disentrifugasi pada 1000 g untuk 15 min. Setelah pengisian darah ke dalam tabung, sampel segera dihantar ke laboratorium.

Estimasi Biokimia

Pengukuran Lipid Peroxidation

Lipid polyunsaturated sangat rentan terhadap serangan radikal bebas. Malondialdehyde adalah salah satu daripda aldehyde yang diproduksi oleh lipid peroxidation dan pengukuran indeks paling umum dari Stres oksidatif dikuantifikasi oleh assay zat-zat asam reaktif thiobarbituric (TBARS). Dalam reaksi tes TBA, MDA dan TBA bereaksi membentuk pigmen merah muda dengan absorpsi maksimum pada 532 nm. Reaksi ini dilakukan pada pH 2-3 pada 95 °C selama

15 menit. Sampel dicampur dengan 2,5 volume 10% (w/v) trichloroaceticacid untuk presipitase protein.

Presipitase/endapan kelihatan pelleted karena sentrifugatsi dan aliquot supernatant diperbolehkan untuk bereaksi dengan volume sama 0,67% TBA dalam bak air mendidih selama 15 menit. Setelah pendinginan, absorbansi dibacakan pada 532 nm. Hasil ditulis dalam bentuk nmol/mL.

Pengukuran aktifitas SOD

Prinsip metode aktivitas SOD total adalah berdasarkan pada inhibisi nitroblue tetrazolium (NBT) yang dikurangi O_2^- . Satu unit SOD didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menyebabkan 50% penghambatan pada tingkat pengurangan NBT. Aktifitas ini diekspresikan sebagai unit per mililiter serum (U/mL).

Estimasi Katalase (CAT)

CAT di assay secara colorimetric pada 620 nm dan diekspresi sebagai μ moles of H_2O_2 dikonsumsi/min/mg Hb sebagaimana yang dijelaskan oleh Sinha (1972). Campuran reaksi (1,5 ml, vol) berisi 1,0 ml buffer fosfat 0.01 M (pH 7.0), 0.1 ml hemolysate dan 0.4 ml 2 M H_2O_2 . Reaksi dihentikan dengan addisi 2.0 ml reagen asam asetat dikromat (5% kalium dikromat dan asam asetat glasial dicampur dalam 1: 3). Nilai-nilai diekspresikan sebagai unit/GmHb.

Assay Glutathione Peroxidase (GPx)

Aktivitas GPx diukur dengan metode yang didiskripsikan oleh Rotruck *et al.* (1973). Rta-rata, campuran reaksi terkandung 0.2 ml of 0.4M Tris - HCl buffer pH 7.0, 0.1 ml of 10 mM natrium azide, 0,2 ml of homogenate (homogen dalam 0.4 M, Tris-HCl buffer, pH 7.0), 0,2 ml glutathione, 0.1 ml of 0,2 mM H_2O_2 . Isi diinkubasi pad $37^\circ C$ selama 10 menit. Reaksi ditahan dengan 0.4 ml 10% TCA, dan centrifuged. Supernatant di assay untuk konten glutathione dengan

menggunakan reagen Ellmans (19.8 mg 5.5'-dithiobisnitro asam benzoat (DTNB) dalam 100 ml 0,1% Natrium nitrat).

Analisa statistik

Data yang diperoleh dianalisa menggunakan tes Mann Whitney. Korelasi antara variabel diperkirakan oleh koefisien korelasi Pearsons. Semua data diekspresikan sebagai mean \pm SD.

Hasil

Tingkat plasma MDA yang diperkirakan pada pasien depresi, tingginya signifikan ($p < 0.001$) bila dibandingkan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan lipid peroxidation meningkat Secara signifikan pada pasien depresi (tabel 1). Aktifitas antioksidan eritrosit seperti superoksida dismutase (ideologi), katalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) menurun secara signifikan dalam periode pre-treatment pada pasien dengan MDD dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Diskusi

Stres oksidatif mungkin terlibat dalam MDD (Major Depressive Disorders). Radikal bebas memainkan peran penting dalam terjadinya perubahan struktural dan fungsional saraf membran yang dapat bertanggungjawab pada awal atau aggravasi penyakit. Otak dan sistem saraf memiliki potensi tinggi untuk inisiasi reaksi radikal bebas yang relatif dari jaringan lain, dapat menyebabkan lebih banyak kerusakan dalam otak dan sistem saraf karena kurangnya perlindungan antioksidan dan adanya metabolisme aerobik yang intensif disertai dengan produksi radikal oksigen. Ada beberapa cara dimana radikal bebas yang berlebihan dapat dihasilkan di dalam otak. Dalam studi ini tingkat *mean* plasma MDA adalah signifikan lebih tinggi dalam kelompok pasien daripada pada kelompok kontrol. Ini menunjukkan adanya peningkatan Stres oksidatif.

Kesimpulan

Stres oksidatif ini disebabkan oleh gangguan dalam keseimbangan antara produksi ROS dan efisiensi pertahanan antioksidan. Dengan kata lain, Stres oksidatif adalah hasil daripada produksi ROS yang berlebihan, melemahkan sistem pertahanan antioksidan atau adanya penurunan yang signifikan atau kurangnya pertahanan antioksidan. Antioksidan merupakan sistem pertahanan yang membatasi kerusakan yang berhubungan dengan radikal bebas. Kami mengamati bahwa kapasitas plasma antioksidan (TAOC) berkurang dan keseimbangan oksidatif/antioxidative bergeser ke sisi oksidatif pada pasien dengan MDD. Alasan untuk peningkatan lipid peroxidation dalam plasma pada pasien depresi adalah karena sistem pertahanan kurang dengan enzim dan nonenzymatic antioksidan. SOD, CAT dan GPx yang merupakan antioksidan preventif, memainkan peran yang sangat penting dalam perlindungan terhadap lipid peroxidation. Dalam studi ini, aktifitas SOD, CAT dan GPx secara signifikan lebih rendah pada pasien depresi kalau dibandingkan dengan kelompok control. Pada kesimpulannya, studi ini menunjukkan bahwa MDD disertai dengan Stres oksidatif.

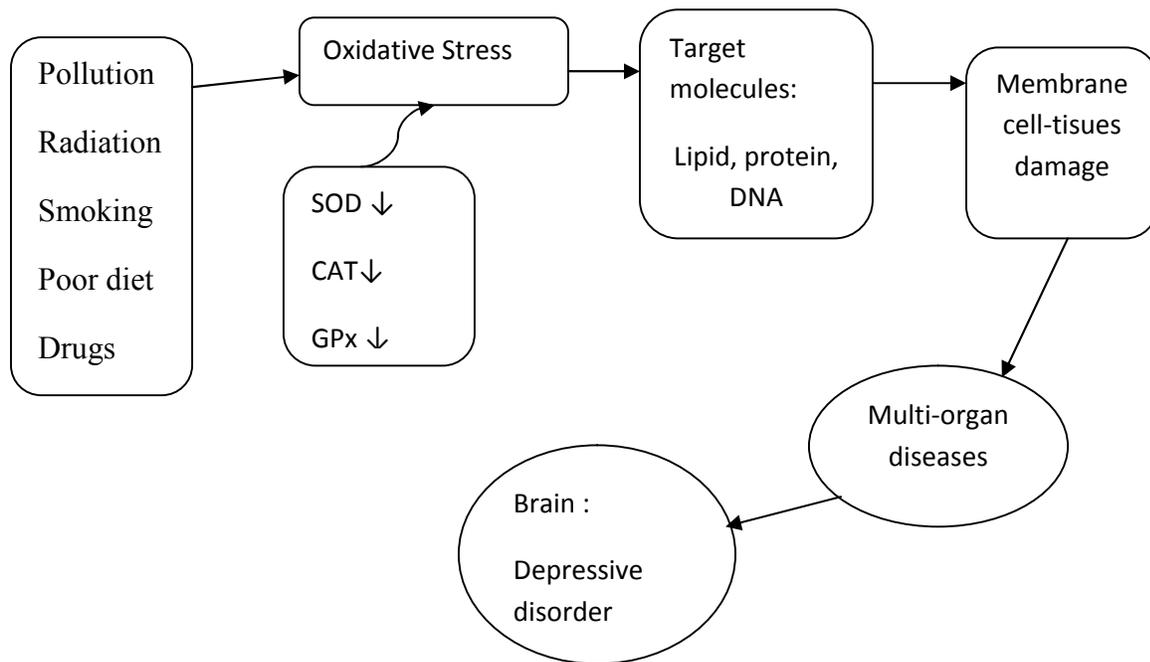


Fig. 1. The sequence of events leading to Depressive disorder

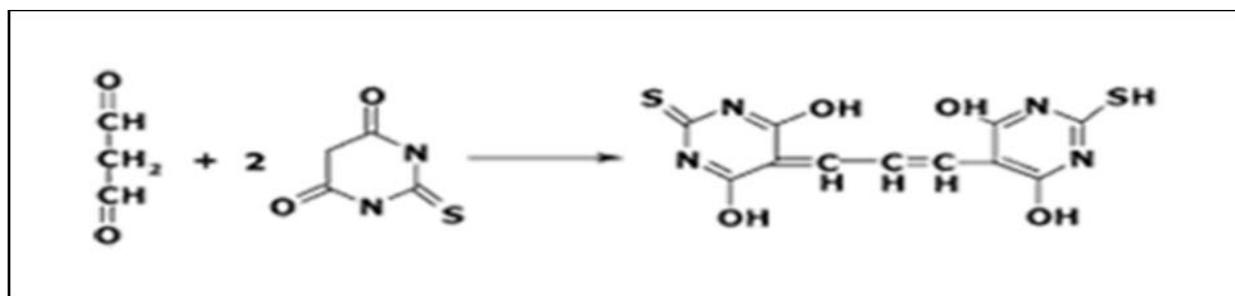


Fig .2. MDA reaction with thiobarbituric acid (TBA) forming a MDA-TBA₂ adduct that absorbs strongly at 532 nm.

Parameter	Control subjects	Depressive patients
TBARS (nmole /ml)	2.48 ± 0.25	6.32 ± 0.21***
SOD (Unita mg/ Hb)	5.23 ± 0.39	3.41 ± 0.20***
CAT (Unitb mg /Hb)	65.5 ± 7.40	52.2 ± 4.62***
GPx (Unitc mg /Hb)	7.25 ± 1.62	4.39 ± 0.95***

Table 1. Circulatory lipid peroxide and antioxidant status in control and depressive subjects

Values are given as mean ± S.D.

Depressive patients compared with control subjects (***) $p < 0.001$

aOne unit of activity was taken as the enzyme reaction, which gave 50% inhibition of NBT reduction in one minute.

b μ mole of H₂O₂ consumed/minute.

c μ g of GSH consumed/min.

Daftar Pustaka

1. Rudzinska, Magdalena, Korczak, Jozef, Gramza, Anna, Wasowicz, Erwin, Dutta, and Paresh. Inhibition of Stigmasterol Oxidation by Antioxidants in Purified Sunflower Oil. *Journal of AOAC International*. 2008; 87(2): 499-504
2. Niki E. Do antioxidants impair signaling by reactive oxygen species and lipid oxidative products. 2012;586(21): 3767-3770
3. Janssen-Heininger Y.M.W., Mossman B.T., Heintz N.H. et al. Redox-based regulation of signal transduction: principles, pitfalls, and promises. *Free Radic. Biol. Med.* 2008; 45:1-17
4. Saran M. and Bors W. Oxygen radicals acting as chemical messengers: a hypothesis. *Free Radic. Res. Comm.* 2008;7:213-220
5. Suzuki Y.J., Forman H.J., and Sevanian A. Oxidants as stimulators of signal transduction. *Free Radic. Biol. Med.* 2007;22:269-285
6. Finkel T. Signal transduction by reactive oxygen species. *J. Cell Biol.* 2011;194:7-15
7. Forman H.J., Maiorino M., and Ursini F. Signaling functions of reactive oxygen species. *Biochemistry*. 2010;49:835-842
8. Murphy M.P., Holmgren A., Larsson N. et al. Unraveling the biological roles of reactive oxygen species. *Cell Metab.* 2011;13:361-366
9. Niki N. Lipid peroxidant: physiological levels and dual biological effects. *Free Radic. Biol. Med.* 2009;47:469-484
10. Higdon A., Diers A.R., Oh J.Y., et al. Cell signaling by reactive lipid species: new concepts and molecular mechanism. *Biochem. J.* 2012;442:453-464