

Kesan Suplimentasi Tokotrienol dan Tokoferol ke atas Perubahan Status Oksidatif Hepar dan Aktiviti Enzim Antioksidan Tikus Aruhan Stres (Effects of Tocotrienol and Tocopherol Supplementation on Liver Oxidative Status and Antioxidant Enzymes Activity in Stress-Induced Rats)

NUR AZLINA MOHD. FAHAMI* & MUHARANI TAJUDIN

ABSTRAK

Kajian ini telah dijalankan untuk menentukan kesan suplimentasi tokotrienol (TT) dan tokoferol (TF) ke atas status oksidatif dan aktiviti enzim antioksidan pada hepar tikus dalam keadaan stres. Sebanyak 24 ekor tikus Sprague-Dawley jantan telah dibahagikan secara rawak kepada empat kumpulan. Dua kumpulan kawalan, kumpulan stres (CS) dan kumpulan tanpa stres (C) serta dua kumpulan rawatan yang diberikan tokotrienol (TTS) atau tokoferol (TFS) secara oral paksaan pada dos 60 mg/kg berat badan selama 28 hari dan didedahkan kepada stres. Setelah tamat tempoh rawatan, tikus-tikus daripada kumpulan CS, TTS dan TFS telah didedahkan kepada stres restrain selama dua jam sehari untuk empat hari berturut-turut. Kemudian, darah tikus diambil untuk menentukan aktiviti enzim antioksidan iaitu superoksid dismutas (SOD) dan glutation peroksidase (GPx) manakala hepar diambil untuk menentukan kandungan malondialdehid (MDA) dan tahap glutation. Hasil kajian mendapati kandungan MDA meningkat dan glutation menurun secara signifikan pada tisu hepar pada kumpulan CS setelah diaruh stres, berbanding kumpulan tanpa stres. Walau bagaimanapun, tikus yang diberi suplimentasi tokotrienol dan tokoferol menunjukkan penurunan signifikan kandungan MDA dan peningkatan glutation berbanding kumpulan kawalan. Keputusan kajian ini mencadangkan bahawa tokotrienol dan tokoferol mampu menghalang tekanan oksidatif pada hepar akibat stres. Hasil daripada kajian ini juga menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam aktiviti GPx plasma tikus pada kumpulan CS. Kumpulan tikus yang disuplimentasikan dengan tokotrienol menunjukkan penurunan yang signifikan dalam aktiviti GPx berbanding kumpulan CS. Sebagai kesimpulan, tokotrienol dan tokoferol berkesan dalam mengurangkan status oksidatif pada hepar tikus dan ini dapat diperhatikan dengan peningkatan glutation hepar dan penurunan aktiviti GPx plasma tikus yang teraruh stres.

Kata kunci: Stres oksidatif; stres restrain; tokoferol; tokotrienol; hepar

ABSTRACT

This study was designed to investigate the effects of tocotrienol (TT) and tocopherol (TF) supplementation on oxidative status and antioxidant enzymes activity in stress-induced rats. Twenty-four male Sprague-Dawley rats were randomly assigned into four groups, consisted of two control groups (C and CS) which were fed with a commercially prepared normal rat diet while two treatment groups (TTS and TFS) were given tocotrienol or tocopherol orally in the dose of 60 mg/kg body weight. After 28 days of treatment, the CS, TTS and TFS rats were subjected to restraint stress, two hours daily for four consecutive days. The rats were killed and their blood was taken to determine the antioxidant enzymes activity; superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx). The liver was taken to determine malondialdehyde (MDA) and glutathione levels. The findings showed that CS rats after being stressed had significantly higher levels of MDA and lower levels of glutathione in the liver. Tocotrienol and tocopherol were proved to significantly reduce the MDA and increased the glutathione content in tissues after exposure to stress compared to control groups. The findings also showed that the activity of GPx in plasma increased significantly in the CS group. However, rats fed with tocotrienol showed reduced GPx activity compared to the CS group. In conclusion, tocotrienol and tocopherol are capable of reducing the oxidative stress by reducing MDA tissue level, increasing glutathione tissue level and reducing GPx plasma activity in stress-induced rats.

Keywords: Oxidative stress; restraint stress; tocopherol; tocotrienol; liver

PENDAHULUAN

Pada masa kini manusia tidak dapat lari daripada cara hidup yang sibuk dan kompleks. Masyarakat juga harus sedar bahawa mereka sering berhadapan dengan masalah harian yang menjurus kepada keadaan stres sekiranya mereka tidak menghadapinya dengan cara yang bijak. Stres

atau dalam bahasa harian disebut tekanan, merupakan satu fenomena biasa yang sering dialami oleh setiap individu dalam kehidupan mereka sehari-hari. Antara keadaan yang boleh menjurus kepada keadaan stres ialah bebanan kerja yang berat, konflik dalam perhubungan, masalah kewangan yang serius dan sebagainya.

Stres diketahui boleh membawa impak negatif terhadap minda dan badan. Pendedahan kepada stres yang berulang atau berpanjangan boleh menyebabkan pendedahan berlebihan kepada hormon stres yang seterusnya meningkatkan risiko terhadap pelbagai masalah kesihatan (Lundberg 2005). Kajian stres ke atas haiwan diperhatikan mampu menyebabkan peningkatan enzim hepar (Chida et al. 2006). Banyak kajian terkini menitikberatkan kepentingan peranan spesies oksigen reaktif (ROS) dalam patogenesis pelbagai penyakit hepar termasuk hepatitis (Bartsch et al. 2004) dan kanser (Maellaro et al. 1990). Stres diketahui meningkatkan stres oksidatif pada organ utama termasuk hepar. Penghasilan radikal bebas yang sangat reaktif, mampu menyerang lipid poli tak tepu dalam membran sel yang menyebabkan reaksi tindak balas iaitu peroksidasi lipid (Maria & Clarkson 2003). Reaksi ini mengakibatkan membran sel hilang kestabilannya dan lama kelamaan akan mendorong kepada proses penuaan dan perkembangan penyakit seperti kanser, penyakit koronari seperti aterosklerosis, diabetes, katarak dan lain-lain (Moskovit et al. 2002). Radikal bebas ini juga mampu membawa kesan buruk yang lain seperti kemusnahan enzim dan kerosakan atau mutasi DNA (Meydani 1995).

Namun, keadaan ini boleh diatasi dengan antioksidan seperti vitamin E, vitamin C, dan beta-karotenoid yang dikatakan mampu menghalang atau mengurangkan proses peroksidasi lipid pada membran sel (Lim & Koh 1999). Vitamin E merupakan sejenis vitamin antioksidan utama yang ditemui di dalam sel dan dapat menghalang kerosakan sel melalui aktiviti sebagai pemecah rantai radikal bebas (Siu et al. 1999). Ini seterusnya merencat peroksidasi lipid disamping mengekalkan kestabilan membran sel terhadap agen oksidan. Tokotrienol ialah salah satu kumpulan vitamin E selain tokoferol di mana komposisinya paling tinggi di dalam kelapa sawit iaitu 80% berbanding 20% tokoferol (Nafeeza et al. 2002). Kajian yang dilakukan di Universiti California, Berkeley, USA mendapati tokotrienol adalah 40 hingga 60 kali lebih poten sebagai antioksidan berbanding tokoferol (Lim & Koh 1999).

Kajian ini diharap dapat memberikan sedikit sebanyak pengetahuan mengenai keberkesanan kumpulan utama vitamin E iaitu tokoferol dan tokotrienol sebagai antioksidan yang penting. Diharap juga tokotrienol daripada sumber sawit dapat digunakan sebagai antioksidan alternatif bagi mengurangkan risiko mendapat penyakit-penyakit serius yang timbul akibat komplikasi daripada keadaan stres seperti penyakit hepar, kanser dan ulser gaster disamping membantu merawat keadaan stres itu sendiri. Kajian ini dijalankan bagi menentukan kesan tokotrienol dan tokoferol terhadap beberapa enzim antioksidan dalam darah dan hepar tikus aruhan stres.

KAEDAH

Tikus dibahagikan secara rawak kepada 4 kumpulan iaitu kawalan (C), kawalan stres (CS), kumpulan tokoferol (TFS), dan kumpulan tokotrienol (TTS) dengan setiap kumpulan mempunyai bilangan tikus yang sama banyak iaitu 6

ekor (n=6). Kumpulan C dan CS yang bertindak sebagai kawalan diberikan diet normal (rat chow) dan minyak zaitun sebagai pembawa. Kumpulan TFS telah diberi *rat chow* bersama tokoferol (60 mg/kg) manakala kumpulan TTS diberi *rat chow* bersama tokotrienol (60 mg/kg) yang diberikan secara oral paksaan. Tempoh rawatan adalah selama 28 hari.

Selepas 28 hari rawatan, tikus-tikus daripada kumpulan CS, TFS dan TTS telah didedahkan kepada stres, dengan meletakkannya di dalam 'restrainer' selama 2 jam sehari untuk 4 hari berturut-turut. Selepas hari ke-4, plasma tikus diambil untuk menentukan aktiviti enzim superoksida dismutase dan glutathion peroksidase. Seterusnya kesemua 24 ekor tikus telah dibunuh dan organ hepar diambil untuk menentukan kandungan malondialdehid, glutathion terturun dan glutathion teroksida. Penyelidikan ini telah diluluskan oleh Etika Haiwan UKM (UKMAEC: FAR/AZLINA/12-July/129).

PENGUKURAN MALONDIALDEHID

Kaedah Ledwozyw et al. (1986) telah digunakan untuk menentukan kandungan malondialdehid (MDA) tisu organ. Kaedah ini menentukan MDA iaitu salah satu produk perantara peroksidasi lipid dengan mengukur produk tindak balas dengan asid tiobarbiturik (TBA). Tindak balas ini membentuk kompleks MDA-TBA yang berwarna jingga yang diukur pada jarak gelombang eksitasi 515 nm dan emisi 553 nm dengan menggunakan spektrofotometer Shimadzu RF-5000.

PENGUKURAN GLUTATHION TERTURUN DAN GLUTATHION TEROKSIDA

Pengukuran glutathion terturun (GSH) dan glutathion teroksida (GSSG) dilakukan mengikut kaedah oleh Griffith (1980). Lengkuh piawai disediakan menggunakan stok GSH (0.025 mM) dan GSSG (0.025 mM). Asai untuk GSH dan GSSG dilakukan dengan menambah 700 μ L 6.0 mM NADPH dicampurkan pada suhu 30°C selama 1 min. Setelah selesai 10 μ L glutathion reduktase ditambah dan dicampurkan dengan membalikkan kuvet sebanyak 3 kali. Seterusnya kadar penyerapan dibaca pada kadar penyerapan 412 nm selama 1 minit menggunakan spektrofotometer UV-160A, Shimadzu.

PENGUKURAN AKTIVITI SUPEROKSID DISMUTASE (SOD)

Pengukuran aktiviti superoksida dismutase telah dilakukan dengan menggunakan kit RANSOD bernombor catalog SD 125. Kit ini diperolehi dari RANDOX Laboratories Ltd., Ardmore, Diamond Road, Crumlin, United Kingdom. Kit ini menggunakan xantin dan xantin oksidase untuk menghasilkan radikal superoksida yang boleh berinteraksi dengan 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-feniltetrazolium klorida (INT) dan membentuk warna merah formazan. Aktiviti superoksida diukur dengan darjah perencatan 50% reaksi ini. Satu unit SOD diukur sebagai keadaan yang menyebabkan 50% perencatan kepada penurunan INT.

PENGUKURAN AKTIVITI GLUTATION PEROKSIDASE (GPX)

Aktiviti glutatone peroksidase telah diukur dengan menggunakan kit RANSEL bernombor catalog RS 504. Kit ini diperolehi dari RANDOX Laboratories Ltd., Ardmore, Diamond Road, Crumlin, United Kingdom. Kit ini adalah berdasarkan kaedah Paglia dan Valentine (1967). Glutaton peroksidase memangkin oksidasi glutatone (GSH) oleh cumene hidroperoksida. Dengan kehadiran glutatone reduktase (GR) dan NADPH, glutatone teroksida (GSSG) serta merta akan ditukarkan kepada NADP⁺. Pengurangan dalam penyerapan pada 340 nm diukur.

ANALISIS STATISTIK

Analisis statistik bagi setiap parameter kajian menggunakan perisian *Statistical Products and Services Solution 12* (SPSS). Semua data bagi setiap parameter kajian bertabur secara normal. Analisis Varians (ANOVA) telah digunakan bagi menentukan kewujudan perbezaan pada parameter-parameter yang diukur antara kumpulan-kumpulan kajian. Post-hoc Tukey telah digunakan bagi menentukan perbezaan antara dua kumpulan. Perbezaan yang signifikan diukur pada aras keertian (p) kurang daripada 0.05 ($p < 0.05$).

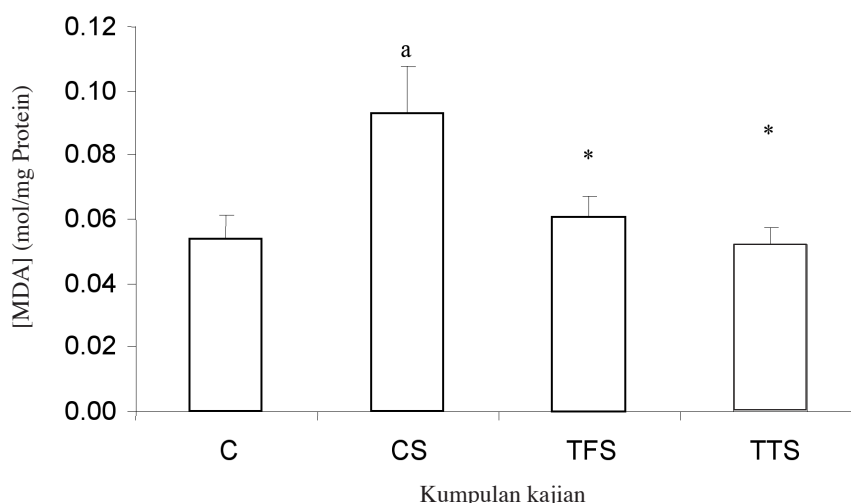
HASIL

Hasil kajian (Rajah 1) menunjukkan terdapat perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$) dalam peningkatan aras MDA hepar antara tikus kumpulan C dan CS. Perbezaan ini adalah sebanyak 42.3% ($p = 0.025$). Perbezaan yang signifikan juga dapat diperhatikan pada kumpulan TTS berbanding kumpulan CS. Pada kumpulan TTS, didapati perbezaan

adalah sebanyak 44.3% ($p = 0.018$) berbanding kumpulan CS. Walau bagaimanapun, tiada perbezaan yang signifikan setelah membandingkan kumpulan TFS dan TTS.

Hasil kajian menunjukkan terdapat perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$) dalam peningkatan aras enzim glutatone peroksidase plasma antara tikus kumpulan C dan CS (Rajah 2). Perbezaan ini adalah sebanyak 21.2% ($p < 0.0001$). Perbezaan yang signifikan juga diperhatikan pada kumpulan TTS iaitu sebanyak 12.3% ($p = 0.037$) berbanding kumpulan C. Tiada perbezaan yang signifikan dapat diperhatikan setelah perbandingan antara kumpulan TFS dan TTS dilakukan.

Aras enzim superoksid dismutase plasma dibandingkan pada tikus dari kumpulan C, CS, TFS, TTS selepas tikus didedahkan kepada stres restrain setelah diberi rawatan dengan vitamin E selama 28 hari. Hasil kajian menunjukkan terdapat corak perbezaan antara kumpulan, tetapi tidak menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$) dalam peningkatan aras enzim superoksid dismutase plasma antara tikus kumpulan C dan CS (Rajah 3). Setelah perbandingan antara kumpulan TFS dan TTS dilakukan, tiada perbezaan yang signifikan juga dapat diperhatikan. Terdapat perbezaan signifikan ($p < 0.05$) antara kumpulan C dan CS apabila dibandingkan (Rajah 4), di mana terdapat penurunan sebanyak 65% ratio GSH kepada GSSG. Pemberian suplementasi TTS ($p = 0.048$) dan TFS ($p = 0.0279$) meningkatkan aras GSH secara signifikan berbanding kumpulan CS. Tiada perbezaan signifikan diantara kumpulan TFS dan TTS diperhatikan. Hasil mencandangkan bahawa rawatan dengan vitamin E mampu memelihara kandungan GSH hepar sekaligus memelihara sel daripada kerosakan oksidatif.

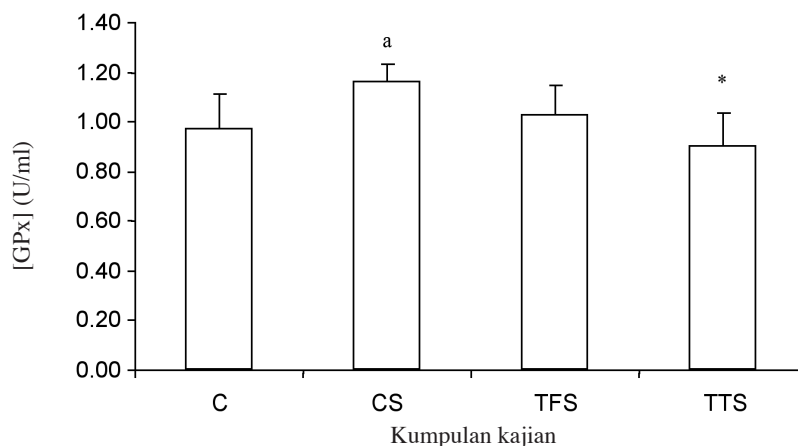


RAJAH 1. Kesan vitamin E ke atas aras MDA hepar tikus selepas diaruh stres restrain. Setiap bar mewakili min \pm SEM di mana $n=6$ bagi setiap kumpulan kajian. Huruf (a) menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$) berbanding kumpulan C.

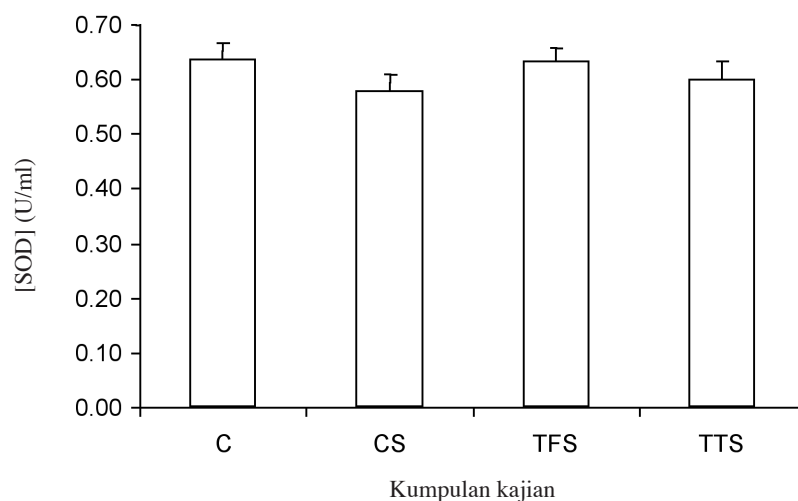
Simbol (*) menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$) berbanding kumpulan CS. C: kumpulan diet normal dan tidak didedahkan kepada stres, CS: kumpulan diet normal dan didedahkan kepada stres,

TFS: kumpulan suplementasi tokoferol dan didedahkan kepada stres,

TTS: kumpulan suplementasi tokotrienol dan didedahkan kepada stres



RAJAH 2. Kesan vitamin E ke atas aras enzim glutation peroksida (GPx) plasma tikus selepas diaruh stres restrain. Setiap bar mewakili min \pm SEM di mana $n=6$ bagi setiap kumpulan kajian. Huruf (a) menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p<0.05$) berbanding kumpulan C. Simbol (*) menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p<0.05$) berbanding kumpulan CS. C: kumpulan diet normal dan tidak didedahkan kepada stres, CS: kumpulan diet normal dan didedahkan kepada stres, TFS: kumpulan suplementasi tokoferol dan didedahkan kepada stres, TTS: kumpulan suplementasi tokotrienol dan didedahkan kepada stres

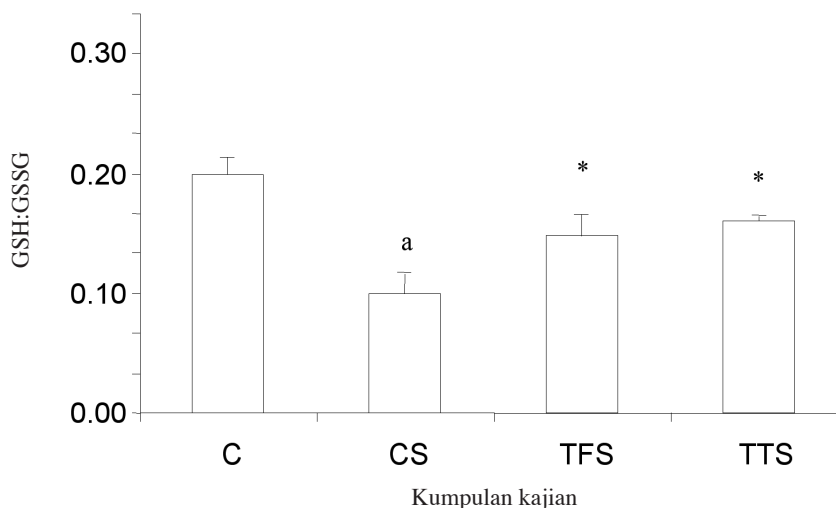


RAJAH 3. Kesan vitamin E ke atas aras enzim superoksida dismutase (SOD) plasma tikus selepas diaruh stres restrain. Setiap bar mewakili min \pm SEM di mana $n=6$ bagi setiap kumpulan kajian. Huruf (a) menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p<0.05$) berbanding kumpulan C. Simbol (*) menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p<0.05$) berbanding kumpulan CS. C: kumpulan diet normal dan tidak didedahkan kepada stres, CS: kumpulan diet normal dan didedahkan kepada stres, TFS: kumpulan suplementasi tokoferol dan didedahkan kepada stres, TTS: kumpulan suplementasi tokotrienol dan didedahkan kepada stres

PERBINCANGAN

Vitamin E merupakan antioksidan lipofilik yang utama dalam sel darah merah, plasma dan tisu pada organisma hidup (Serbinova & Packer 1994). Tekanan oksidatif dapat ditentukan apabila berlakunya peroksidasi lipid dengan peningkatan aras MDA dan penurunan aktiviti enzim antioksidan endogenus (Knap et al. 2009; Suryanarayana et al. 2007). Dalam kajian yang melibatkan haiwan, stres telah dikaitkan dengan peningkatan indeks aktiviti peroksidasi lipid (Liu et al. 1994), dan peningkatan kepekatan asid tiobarbiturik (TBA) berlaku pada tikus yang didedahkan kepada stres (Najemik et al. 1999).

Malondialdehid (MDA) merupakan salah satu produk akhir peroksidasi lipid yang berlaku pada asid lemak tak tepu (PUFA) membran sel akibat tindakan berantai radikal bebas (Burton & Ingold 1985). Dalam keadaan stres, akan berlaku peningkatan dalam kandungan MDA akibat dari peningkatan peroksidasi lipid apabila banyak radikal bebas terhasil (Maria & Clarkson 2003). Ini dibuktikan oleh kajian oleh Muqbil et al. (2006) yang mendapati bahawa tikus yang diaruh stres psikologi menunjukkan peningkatan MDA pada hepar. Hasil kajian kami mendapati keadaan yang sama di mana tikus yang telah didedahkan kepada stres mengalami peningkatan



RAJAH 4. Kesan vitamin E ke atas ratio glutathion terturun dan glutathion teroksida (GSH:GSSG) hepar tikus selepas diaruh stres restrain. Setiap bar mewakili min \pm SEM di mana $n=6$ bagi setiap kumpulan kajian. Huruf (a) menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p<0.05$) berbanding kumpulan C. Simbol (*) menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p<0.05$) berbanding kumpulan CS. C: kumpulan diet normal dan tidak didedahkan kepada stres, CS: kumpulan diet normal dan didedahkan kepada stres, TFS: kumpulan suplementasi tokoferol dan didedahkan kepada stres, TTS: kumpulan suplementasi tokotrienol dan didedahkan kepada stres

MDA hepar akibat dari peningkatan peroksidasi lipid (Rajah 1).

Hasil daripada kajian ini mendapati kandungan MDA meningkat secara signifikan dalam hepar pada kumpulan tikus yang diberi diet normal apabila diaruhkan stres restrain (CS) berbanding tikus yang tidak diaruhkan stres (C). Hasil ini adalah seiring dengan kajian-kajian lepas yang mendapati bahawa stres mampu merangsang penghasilan radikal bebas yang menyebabkan kemusnahan membran fosfolipid dan mencetuskan peroksidasi lipid (Bao et al. 2008; Nur Azlina & Nafeeza 2007; Salim 1990). Lebih banyak radikal bebas akan terhasil dalam keadaan stres dan ini menyebabkan berlakunya peningkatan pada kandungan MDA hasil daripada peroksidasi lipid. Stres restrain juga boleh mengaruhkan stres oksidatif dengan mengurangkan kandungan antioksidan dalam hepar dan tisu lain dalam tikus (Zaidi et al. 2005).

Namun begitu, keadaan ini berbeza bagi kumpulan tikus yang diberikan suplemen tokotrienol sebanyak 60mg/kg berat badan tikus selama 28 hari dan didedahkan kepada stres, kandungan MDA pada organ hepar dalam kumpulan ini didapati berkurangan secara signifikan berbanding kumpulan diet normal dan diaruh stres. Terdapat kajian yang menyatakan bahawa suplemen tokoferol bersama minyak zaitun mampu memberikan perlindungan kepada sel hepar daripada kerosakan oksidatif pada tikus yang dikenakan stres restrain hipotermia (Quiles et al. 1999). Kajian kami membuktikan bahawa tokotrienol juga mempunyai kesan perlindungan yang sama pada hepar tikus terhadap stres oksidatif.

Kajian ini mengesahkan bahawa stres menyebabkan peningkatan generasi radikal bebas di hepar. Kajian terdahulu juga menunjukkan bahawa stres akan meningkatkan

sesitiviti hepar kepada kecederaan akibat dadah (Panuganti et al. 2006). Mekanisme kerosakan oksidatif akibat stres masih belum diketahui, kajian telah menunjukkan berlakunya peningkatan aras glukokortikoid semasa stres merangsang peroksidasi lipid. Telah juga dilaporkan bahawa mencit yang dipelihara dengan kortikosteron, mengalami penambah-terukan kecederaan hepar (Chida et al. 2006). Maka, suplementasi dengan vitamin antioksidan seperti yang ditunjukkan dalam kajian ini adalah berguna dalam mengurangkan kecederaan akibat penimbunan radikal bebas. Aktiviti enzim antioksidan glutathion peroksidase dalam plasma juga meningkat dalam keadaan stres apabila tikus disuplementasi dengan tokotrienol dan tokoferol, menunjukkan kemampuan mengekalkan sistem antioksidan endogenus.

Tisu hepar sentiasa terdedah kepada faktor merbahaya atau merosakkan. Kapasiti kemusnahan dan perlindungan perlu berada dalam keadaan yang seimbang bagi memastikan integriti fungsi hepar. Di antara pelbagai kesan bahaya pada sistem biologi ialah kemusnahan oksidatif membran asid lemak tak tepu atau peroksidasi lipid di perhatikan belaku di pelbagai tisu, termasuk hepar (Izgut-uysal et al. 2001). Kegagalan sistem pertahanan antioksidan endogenus telah dikaitkan dengan generasi radikal bebas akibat stres. Dalam kajian ini, kami memerhatikan bahawa terdapat pengurangan kandungan glutathion secara signifikan selepas pendedahan kepada stres. Rawatan dengan tokotrienol atau tokoferol secara signifikan mengurangkan depleksi glutathion di hepar akibat stres.

Kajian telah menunjukkan, glutathion terturun (GSH), salah satu kompaun sufhidril bukan protein yang utama di hepar, memainkan peranan yang penting dalam

pembentukan penyakit hepar yang diakibatkan oleh pengumpulan radikal bebas atau stres oksidatif (Loguercio & Federico 2003; Nagai et al. 2002). Hepar mempunyai kandungan GSH tertinggi berbanding organ lain (Sri Widia & Abdul Halim 2009) dan merupakan sumber utama GSH dalam darah. Hirota et al. (1989) telah menunjukkan bahawa pemberian GSH secara intraperitoneum mampu meningkatkan aras glutatoin plasma dan menghalang pembentukan lesi gaster akibat stres. Kami juga telah menunjukkan, pengurangan kandungan glutatoin mempunyai korelasi dengan pembentukan lesi gaster akibat stres dan ini membuktikan pentingnya radikal bebas dalam patogenesis kecederaan tisu akibat stres (Nur Azlina & Nafeeza 2007). Maka pemberian suplementasi vitamin E atau antioksidan secara eksogenus merupakan alternatif yang logik dalam menghalang kecederaan akibat stres.

Telah juga dilaporkan bahawa kandungan GSH pada pesakit dengan hepatitis C adalah berkurangan secara signifikan. Ini telah dikaitkan dengan tahap keterukkan penyakit hepar dan kemampuan virus hepatitis C untuk berganda. Kajian telah mencadangkan bahawa peningkatan aras glutatoin membantu respon rawatan interferon dalam kes hepatitis. Dibuktikan bahawa stres oksidatif berlaku pada pesakit hepatitis dan kajian yang sama juga menunjukkan aras radikal bebas mempunyai korelasi dengan aktiviti hepatitis (Levent et al. 2006). Kajian juga menunjukkan kehadiran radikal bebas akibat peroksidasi lipid pada pesakit dengan penyakit hepar akibat alkohol, membawa kepada kesimpulan bahawa stres oksidatif menyumbang kepada deteriorasi penyakit hepar (Yuan & Kaplowitz 2009). Berdasarkan kajian ini, suplementasi dengan tokotrienol atau tokoferol mungkin mampu membantu dalam melambatkan proses kecederaan tisu hepar akibat penyakit dengan meningkatkan aras GSH yang membawa kepada pengurangan stres oksidatif.

KESIMPULAN

Data daripada kajian ini menunjukkan bahawa pengambilan suplementasi vitamin dalam bentuk tokotrienol atau tokoferol mampu menghalang kerosakan hepar akibat penimbunan radikal bebas dalam keadaan stres. Vitamin E juga membantu mengekalkan atau mengurangkan kehilangan antioksidan endogenus terutamanya GSH dan GPx yang amat perlu dalam mengekalkan keseimbangan status oksidan tisu hepar. Ini mampu melambatkan deteriorasi penyakit hepar disamping menghindari penyakit hepar aruhan stres.

PENGHARGAAN

Penyelidikan ini telah dibiayai oleh geran penyelidikan Fakulti Perubatan, UKM FF-086.

RUJUKAN

Bao, L., Yao, X.S., Yau, C.C., Tsi, D., Chia, C.S., Nagai, H. & Kurihara, H. 2008. Protective effects of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract on restraint stress-induced liver damage

in mice. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 56(17): 7803-7807.

- Bartsch, H. & Nair, J. 2004. Oxidative stress and lipid peroxidation-derived DNA-lesions in inflammation driven carcinogenesis. *Cancer Detection and Prevention* 28(6): 385-391.
- Burton, G.W. & Ingold, K.U. 1985. Autoxidation of biological molecules: The antioxidant action of vitamin E and related chain-breaking phenolic antioxidant in vitro. *Journal of American Chemistry Society* 103: 6472-6477.
- Chida, Y., Sudo, N. & Kubo, C. 2006. Does stress exacerbate liver disease?. *Journal of Gastroenterology & Hepatology* 20: 202-208.
- Griffith, O.W. 1980. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Analytical Biochemistry* 106: 207-212.
- Hirota, M., Inoue, M., Ando, Y., Hirayama, K., Morino, Y., Sakamoto, K., Mori, K. & Akagi, M. 1989. Inhibition of stress-induced gastric injury in the rat by glutathione. *Gastroenterology* 97: 853-859.
- Knap, B., Prezelj, M., Buturović-Ponikvar, J., Ponikvar, R. & Bren, A.F. 2009. Antioxidant enzymes show adaptation to oxidative stress in athletes and increased stress in haemodialysis patients. *Therapeutic Apheresis and Dialysis* 13(4): 300-305.
- Ledwozyw, A., Michalak, J., Stepien, A. & Kadziolla, A. 1986. The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipid peroxidation product during human arteriosclerosis. *Clinical Chemica Acta* 155: 275-84.
- Levent, G., Acar Ali, Aydın Ahmet, Eyigun Can Polat, Çetinkaya Aytac, Eken Ayşe & Sayal Ahmet. 2006. Oxidative stress and antioxidant defense in patients with chronic hepatitis C patients before and after pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin therapy. *Journal of Translational Medicine* 4: 25.
- Lim, C. & Koh C.S. 1999. *Tocotrienols: An Existing Member of the Vitamin E Family with Positive Health Effects*. Malaysia: Malaysian Palm Oil Promotion Council.
- Liu, J., Wang, X. & Mori, A. 1994. Immobilization stress-induced antioxidant defense changes in rat plasma: Effect of treatment with reduced glutathione. *International Journal of Biochemistry* 26: 511-517.
- Loguercio, C. & Federico, A. 2003. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis. *Free Radical Biology and Medicine* 34 (1): 1-10.
- Lundberg, U. 2005. Stress hormones in health and illness: The roles of work and gender. *Psychoneuroendocrinology* 30: 1017-1021.
- Maellaro, E., Casin, A.F., Del Ballo, B. & Comporti, M. 1990. Lipid peroxidation and antioxidant systems in the liver injury produced by glutathione depleting agents. *Biochemical Pharmacology* 39(10): 1513-1521.
- Maria, U.L. & Clarkson, P.M. 2003. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology* 189(1-2): 41-54.
- Meydani, M. 1995. Vitamin E (fat-soluble vitamins). *Lancet* 345(8943): 170-175.
- Moskovitz, J., Moon Bin Yim & P. Boon Chock. 2002. Free radicals and disease. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 397(2): 354-359.
- Muqbil, I., Asfar S. Azmi & Naheed Banu 2006. Prior exposure to restraint stress enhances 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) induced DNA damage in rats. *FEBS Letters* 580: 3995-3999.

- Nafeeza, M.I., Fauzee, A.M., Kamsiah J. & Gapor, M.T. 2002. Comparative effects of a tocotrienol rich fraction and tocopherol in aspirin-induced gastric lesion in rats. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 11(4): 309-313.
- Nagai, H., Matsumaru, K., Feng, G. & Kaplowitz, N. 2002. Reduced glutathione depletion causes necrosis and sensitization to tumour necrosis factor- α -induced apoptosis in cultured mouse hepatocytes. *Hepatology* 36(1): 55-64.
- Najemnik, C., Sinzinger, H. & Kritz, H. 1999. Endothelial dysfunction, atherosclerosis and diabetes. *Acta Med Austriaca* 26: 148-153.
- Nur Azlina, M.F. & Nafeeza, M.I. 2007. Phytonutrients: Effects on lipid peroxidation in experimental gastritis induced by restraint stress. *International Journal of Pharmacology* 3(3): 254-259.
- Paglia, D.E. & Valentine W.N. 1967. Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 70: 158-169.
- Panuganti, S.D., Khan, F.D. & Svensson, C.K. 2006. Enhanced Xenobiotic-Induced Hepatotoxicity and Kupffer Cell Activation by Restraint-Induced Stress. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics* 318: 26-34.
- Quiles, M.C. Ramirez-Tortosa, J.R. Huertas, S. Ibañez, J.A. Gomez, M. Battino & J. Mataix. 1999. Olive oil supplemented with vitamin E affects mitochondrial coenzyme Q levels in liver of rats after an oxidative stress induced by adriamycin. *Biofactors* 9(2-4): 331-336.
- Salim, A.S. 1990. Role of oxygen-derived free radicals in the mechanism of acute and chronic duodenal ulceration in the rat. *Digestive Diseases and Sciences* 35: 73-79.
- Serbinova, E.A. & Packer, L. 1994. Antioxidant properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol. *Methods in Enzymology* 234: 354-366.
- Siu, A.W., Reiter, R.J. & To, C.H. 1999. Pineal indoleamines and vitamin E reduce nitric oxide-induced lipid peroxidation in rat retinal homogenates. *Journal of Pineal Research* 27: 122-128.
- Sri Widia, A. Jusman & Abdul Halim, S. 2009. Oxidative stress in liver tissue of rat induced by chronic systemic hypoxia. *Makara, Kesehatan* 13(1): 34-38.
- Suryanarayana, P., Satyanarayana, A., Balakrishna, N., Putcha, U.K. & Geereddy, B.R. 2007. Effect of turmeric and curcumin on oxidative stress and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat. *Medical Science Monitor* 13(12): BR286-292.
- Paradis, V., Kollinger, M., Fabre, M., Holstege, A., Poynard, T. & Bedossa, P. 2003. *In situ* detection of lipid peroxidation by-products in chronic liver diseases. *Hepatology* 26(1): 135-142.
- Izgut-uysal, Y.N., Arzu Agac & Narin Derin. 2001. Effect of carnitine on stress-induced lipid peroxidation in rat gastric mucosa. *Gastroenterology* 36: 231-236.
- Yuan, L. & Kaplowitz, N. 2009. Glutathione in liver diseases and Hepatotoxicity. *Molecular Aspects of Medicine* 30(1-2): 29-41.
- Zaidi, S., Kashif, R., Al-Qirim, T.M. & Naheed, B. 2005. Effects of antioxidant vitamins on glutathione depletion and lipid peroxidation induced by restraint stress in the rat liver. *Drug in R&D* 6(3): 157-165.

Jabatan Farmakologi
Fakulti Perubatan
Universiti Kebangsaan Malaysia
Jalan Raja Muda Abdul Aziz
50300 Kuala Lumpur
Malaysia

*Pengarang untuk surat-menyurat; email: nazlina@medic.ukm.my

Diserahkan: 5 Januari 2010

Diterima: 20 Mei 2010