

Efek likopen pada gangguan fungsi mitokondria hati tikus akibat alkohol = Effect of lycopene against ethanol-induced hepatic mitochondrial injury in rats

Liana Wijaya, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=98509&lokasi=lokal>

Abstrak

Alkohol merupakan senyawa yang paling sering disalahgunakan (abuse), dan akhirnya menimbulkan berbagai permasalahan, bukan hanya di bidang kesehatan, melainkan juga di bidang sosial dan ekonomi, di seluruh dunia. Hati merupakan salah satu organ yang paling banyak dipengaruhi oleh toksisitas etanol. Hepatotoksitas intrinsik etanol timbul akibat oksidasi etanol oleh enzim alkohol dehidrogenase (ADH) dan sistem enzim yang mengoksidasi etanol di mikrosom (MEOS), yang terutama melibatkan CYP2E1. Metabolit toksik etanol (akibat oksidasi etanol oleh ADH dan CYP2E1), yaitu asetaldehid, serta induksi aktivitas CYP2E1 akibat pemberian etanol kronik, dapat meningkatkan stres oksidatif terutama pada mitokondria, yang merupakan organel target intoksikasi alkohol. Stres oksidatif yang mengakibatkan gangguan fungsi mitokondria, mengawali berbagai gangguan metabolik maupun aktivasi sistem makrofag hepatis, yang akhirnya menuju kematian sel hati (hepatosit), baik secara nekrosis ataupun apoptosis; dan dianggap memainkan peranan penting dalam patogenesis dan progresi penyakit hati alkoholik. Oleh karena itu, antioksidan dapat menjadi salah satu terapi yang potensial dalam penanganan penyakit hati alkoholik di masa mendatang. Likopen, sebagai salah satu senyawa karotenoid non pro-vitamin A yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, secara *in vitro* terbukti dapat mencegah stres oksidatif pada mitokondria dan apoptosis yang diinduksi oleh etanol pada kultur sel HepG2 yang mengekspresikan CYP2E1. Namun demikian, sampai saat ini belum ada penelitian yang mengkonfirmasi efek protektif likopen *in vivo* terhadap gangguan fungsi mitokondria akibat stres oksidatif oleh pemberian etanol kronik. Penelitian ini merupakan penelitian *in vivo* yang menggunakan model hewan untuk mempelajari hal tersebut. Model hewan yang digunakan adalah tikus jantan (120-180 g), strain Sprague Dawley. Hewan uji dibagi ke dalam 6 kelompok @ 4 ekor. Diet standar untuk tikus yang diperoleh dari Badan POM, Jakarta, diberikan *ad libitum*. Untuk menimbulkan induksi gangguan fungsi mitokondria, pemberian etanol dilakukan pada tikus percobaan dilakukan selama 4 minggu, dengan dosis 1 mL etanol 25% I/100 g BB. Suplementasi likopen diberikan dalam 3 dosis yang berbeda (masing-masing 25, 50 dan 100 mg/kg BB/hari) dan dimulai sejak 2 minggu sebelum pemberian etanol kronik, dan tetap dilanjutkan selama etanol diberikan. Tikus dimatikan dengan dislokasi leher, dan segera dilakukan isolasi mitokondria. Stres oksidatif dan gangguan fungsi mitokondria akibat pemberian etanol kronik pada tikus dikuantifikasi menggunakan beberapa parameter, seperti: tingkat peroksidasi lipid (kadar MDA) mitokondria dan homogenat hati, kadar GSH mitokondria (mGSH), dan aktivitas beberapa enzim mitokondria, seperti suksinat dehidrogenase dan NADH-sitokrom c oksido-reduktase serta FO-F1-ATPase. Pengukuran parameter-parameter tersebut dilakukan dengan metode spektrofotometri menggunakan cahaya visibel (kolorimetri).

Mitokondria diisolasi dengan kemumian sedang (RSA SDH = 11.01). Dibandingkan dengan kelompok kontrol, pemberian etanol kronik secara bermakna meningkatkan stres oksidatif pada mitokondria, yang ditunjukkan oleh peningkatan kadar MDA mitokondria (100%) maupun homogenat hati (55%), serta

penurunan kadar mGSH (30%) dan rasio GSH/GSSG mitokondria (40%). Pemberian etanol kronik juga menyebabkan gangguan fungsi mitokondria, seperti menurunkan SA SDH mitokondria (40%), meningkatkan aktivitas NADH-sitokrom c oksido-reduktase (76%) dan meningkatkan aktivitas hidrolisis F1-ATPase (30%). Enzim NADH-sitokrom c oksido-reduktase tidak sensitif terhadap inhibitor rotenon. Pemberian rotenon hanya sedikit meningkatkan atau tidak mempengaruhi aktivitas enzim tersebut, dan tidak mengubah perbandingan aktivitas enzim anlar kelompok. Enzim FI-ATPase sensitif terhadap inhibitor oligomisin. Pada kelompok etanol kronik, pemberian oligomisin menurunkan aktivitas enzim FO-FI-ATPase sebesar 82%. Nilai ini lebih tinggi secara bermakna dibandingkan dengan penurunan aktivitas pada kelompok kontrol (72%). Suplementasi likopen pada ketiga dosis yang diberikan mampu mengembalikan aktivitas SDH, NADH-sitokrom c reduktase, kadar MDA mitokondria dan homogenat hati, serta kadar mGSH, sampai setara dengan kelompok kontrol. Peningkatan dosis likopen tidak menimbulkan perbedaan bermakna pada parameter-parameter tersebut. Namun demikian, hanya likopen dosis 100 mg/kg BB/hari yang dapat mengembalikan rasio GSH/GSSG, aktivitas hidrolisis FO-FI-ATPase dan sensitivitasnya terhadap oligomisin, sampai setara dengan kelompok kontrol. Secara umum dapat disimpulkan bahwa likopen memiliki efek proteksi terhadap gangguan fungsi mitokondria hati tikus akibat pemberian etanol kronik. Namun demikian, suplementasi likopen tanpa induksi gangguan fungsi mitokondria tidak memperlihatkan manfaat yang berarti.

<hr>

Alcohol is the most frequently abused substance worldwide, which will eventually bring about lots of health, social and economical problems. Of many other organs, alcohol exerts its toxicity mostly in the liver. Ethanol intrinsic hepatotoxicity results mainly from its oxidation by alcohol dehydrogenase (ADH) and microsomal ethanol oxidizing system (MEOS) which involves mainly CYP2E1. Acetaldehyde, a toxic metabolite of ethanol (results from its oxidation by ADH and CYP2E1), and the induction of CYP2E1 enzyme due to chronic alcohol consumption will raise oxidative stress on mitochondria, the target organelle of ethanol intoxication. Oxidative stress, which results in mitochondria dysfunction, initiates various metabolic disorders, activates hepatic macrophageal system, and contributes to enhanced cell death, either by apoptosis or necrosis. Mitochondrial oxidative stress plays a critical role in the pathogenesis and progression of alcoholic liver disease (ALD). Hence, antioxidants may be a potential therapy in the future management of ALD. To date, lycopene, a non-provitamin A carotenoid with a potent antioxidant activity, attenuated mitochondrial oxidative stress and ethanol-induced apoptosis in HepG2 cell expressing CYP2E1. Yet, there has no in vivo study been done in order to confirm the protective effect of lycopene against mitochondrial dysfunction due to chronic ethanol intake. Thus, the current in vivo study was designed to answer -at least partly- the question. The animal models used were male Sprague Dawley rats (120-180 g), which were divided into 6 groups @ 4 rats. Standard diet for rodents, produced by BPOM, Jakarta, was administered ad libitum every day. Ethanol at a concentration of 25% v/v (1 mL/100 g BW) was administered orally for 4 weeks, in order to induce mitochondrial injury. Lycopene supplementation was given orally in 3 dosage regimens, 25, 50 and 100 mg/kg BW/ day, since 2 weeks before and continued for 4 weeks during ethanol treatment. The rats were all terminated by cervical dislocation and then mitochondrial isolation was performed immediately. The ethanol-induced oxidative stress and mitochondria injury were quantified by measuring the following parameters: degree of lipid peroxidation (mitochondria) and liver homogenate MDA levels), mitochondria GSH level (mGSH) and the activity of some mitochondrial enzymes, such as succinate dehydrogenase, NADH-cytochrome c oxido-reductase, and FO-F1-ATPase. All

parameters were measured by using the method of visible spectrophotometry (colorimetry).

The liver mitochondria was adequately purified (RSA SDH = 11.01). Compared to the control group, chronic ethanol treatment significantly increased mitochondria oxidative stress, as exhibited by the increased levels of mitochondria and liver homogenate MDA (by 100% and 55%, respectively), depressed level of mGSH (by 30%) and lowered ratio of mitochondrial GSH/GSSG (by 40%). Chronic ethanol treatment also induced mitochondria dysfunction, as measured by the reduced specific activity of mitochondria SDH (by 40%), increased activity of NADH-cytochrome c oxido-reductase (by 76%), and increased hydrolysis activity of FO-F1-ATPase (by 30%). NADH-cytochrome c oxido-reductase was insensitive to rotenone, as addition of the inhibitor to the reaction mixture slightly increased or did not affect the enzyme activity, nor changed the ratio of its activity between groups. FO-F1-ATPase was sensitive to oligomycin. In chronic ethanol group, addition of oligomycin to the reaction mixture reduced the enzyme activity by 82%, which was significantly greater than the reduction showed by control group (72%). Lycopene supplementation was able to normalize the activity of SDH, NADH-cytochrome c oxido-reductase, the levels of mitochondrial and liver homogenate MDA and mGSH level, back to the levels of control group. Higher doses of lycopene did not provide significantly better results to those parameters. However, only the highest dose of lycopene (100 mg of /kg BW/day) could normalize mitochondria GSH/GSSG ratio, the activity of FO-F1-ATPase and its sensitivity to oligomycin to the levels of control group. Generally, this study concluded that lycopene has protective effect against ethanol-induced hepatic mitochondria injury in rats. However, without ethanol-induced mitochondrial injury, lycopene supplementation does not provide any additional benefit.