

Hambatan Produksi Reactive Oxygen Species Radikal Superoksida (O_2^-) oleh Antioksidan Vitamin E (α -tocopherol) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Menerima Stressor Renjatan Listrik

The Inhibition of Vitamin E (α -tocopherol) Antioxidant to Superoxide Radical Reactive Oxygen Species (O_2^-) Production on the White Rat (*Rattus norvegicus*) Stressed by an Electric Shock

Lilik Maslachah¹, Rahmi Sugihartuti¹ dan Rahma Kurniasanti²

¹) Therapeutika Veteriner, ²) Pharmacology Veteriner Departemen Ilmu Kedokteran Dasar Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Kampus C Universitas Airlangga, Jl. Mulyorejo Surabaya-60115. Tlp. 031-5992785. e-mail : maslachah@telcom.net

Abstract

The research was done to prove the inhibition of antioxidant vitamin E (α -tocopherol) 400 IU to superoxide radical reactive oxygen species (O_2^-) production on the white rats (*Rattus norvegicus*) serum stressed by an electric shocks. There were twenty one Wistar males divided into three groups (P0, P1 and P2). P0 (control) was given 3 ml drug solution, P1 was given a stressor and 3 ml drug solution. P2 was given a stressor and vitamin E emulsion. The treatment were done every day for 14 days. The serum blood of each treatment was carried out at day fourteen and were examined for radical superoxide (O_2^-) level. It could be concluded that 3ml vitamin E (α -tocopherol) 400 IU could decrease the Reactive Oxygen Species (ROS) radical superoxide on the rats stressed by an electric shock.

Key words : α -tocopherol, stressor, radical superoxide

Pendahuluan

Dalam keadaan yang semakin kompleks menjelang era globalisasi dan adanya tekanan kesulitan hidup yang semakin berat saat ini membuat banyak orang tidak bisa beradaptasi, yang akhirnya akan mempengaruhi keseimbangan (homeostasis) di dalam tubuhnya. Keadaan seperti ini (kronik) dapat menimbulkan gangguan terhadap sistem organ dengan tingkatan yang berbeda-beda (Covelli, 1992). Bila beban yang diberikan melebihi batas ambang, maka akan menimbulkan respons stres, yaitu respons yang terjadi pada saat individu tidak mampu mengatasi beban fisik atau psikologik (Riley, 1981). Stres yang berat diketahui dapat menyebabkan stres oksidatif (ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dan antioksidan tubuh) yang pada keadaan normal aktivitas *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam tubuh dikendalikan oleh sistem antioksidan tubuh. Berbagai penelitian baik pada manusia atau hewan coba, dilaporkan bahwa aktivitas fisik yang berlebihan dapat meningkatkan jumlah radikal superoksida (O_2^-) darah hingga 75 kali (Halliwell dan Guetteridge, 1999).

Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan oksidan yang sangat reaktif dan mempunyai aktivitas yang berbeda. Dampak negatif senyawa tersebut timbul karena aktivitasnya, sehingga dapat merusak komponen sel yang sangat penting untuk mempertahankan integritas sel. Setiap ROS yang terbentuk dapat memulai suatu reaksi berantai yang terus berlanjut sampai ROS itu dihilangkan oleh ROS yang lain atau sistem antioksidannya (Wijaya, 1996).

Studi terbaru menunjukkan bahwa kejadian depresi, hipertensi dan penyakit jantung, adalah penyakit yang diperkirakan ada hubungannya dengan respons stres yang memegang peranan penting dalam masalah kesehatan (Atkinson *et al.*, 1993). Penyakit jantung koroner merupakan penyebab kematian utama di negara maju. Hasil survei kesehatan rumah tangga tahun 1992 melaporkan penyakit sistem sirkulasi sudah merupakan penyebab kematian yang semakin banyak di Indonesia. Upaya menurunkan morbiditas dan mortalitas penyakit jantung koroner, pengendalian faktor resiko merupakan prioritas utama baik pada pencegahan primer maupun sekunder, diperlukan pemahaman yang baik mengenai faktor resiko serta

mekanisme yang berperan pada penyakit jantung koroner (Alwi, 1996).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fungsi dari endothelium dipengaruhi oleh ROS yang dapat menginaktivasi *Nitric Oxid* (degradasi NO). Faktor ini dapat menginduksi perubahan profil ekspresi gen pada endotel dan otot polos pembuluh darah yang menyebabkan fenotipe proatherosklerotik pembuluh darah.

Degradasi NO akan menyebabkan disfungsi vasomotor, aktivasi endotel mengekspresikan molekul adhesi, proliferasi otot polos menginduksi, ekspresi gen inflamasi, menginduksi apoptosis, migrasi dan reorganisasi matrik seluler yang dapat mengganggu vasorelaksasi yang tergantung endotel, semuanya ini merupakan mekanisme yang mengawali perkembangan *atherosclerosis*, hipertensi dan penyakit jantung koroner (Taniyama dan Griendling, 2003). Reaksi antara NO dengan superoxid akan menghasilkan peroksinitrit ($ONOO^-$) dan *Reaktif Oksigen Spesies* (ROS) yang merupakan oksidan yang sangat poten (Faraci, 2003; Ungvari *et al.*, 2003)

Antioksidan adalah senyawa yang dapat melindungi sistem biologis di dalam tubuh. Aktivitas antioksidan di dalam tubuh merupakan suatu kesatuan sistem yang saling terkait dan saling mempengaruhi, contohnya Superoxide dismutase, katalase dan glutathion peroxidase. Kekurangan salah satu komponen ini dapat menyebabkan terjadinya penurunan status antioksidan secara menyeluruh dan mengakibatkan perlindungan terhadap serangan ROS menjadi lemah (Halliwell, 1991).

Perbaikan fungsi endotel dengan pemberian terapi antioksidan belum banyak diketahui. Vitamin E merupakan barisan pertama pertahanan terhadap proses peroksida asam lemak tak jenuh ganda (*General Adaptation Syndrome*, GAS) yang terdapat pada fosfolipid membran seluler. Tocopherol bertindak sebagai antioksidan pemutus rantai pada membran yang merupakan salah satu dari berbagai macam antioksidan. Efektivitas vitamin E dalam pencegahan stres oksidatif atau peroksidasi lipid masih perlu banyak dikaji. Hasil penelitian terbaru menunjukkan kemampuan vitamin E dalam menurunkan kadar kreatin kinase yang merupakan salah satu indikator stres oksidatif pada kerusakan otot, juga dapat menurunkan kadar Malondialdehyde (MDA), menurunkan kerusakan DNA dari sel darah putih serta dapat menurunkan produksi pentane dan produk peroksidasi lipid dari mitokondria (Acker *et al.*, 2003).

Dengan merujuk pada fakta di atas karena Vitamin E mempunyai potensi sebagai antioksidan

maka perlu dilakukan penelitian mengenai mekanisme molekuler antioksidan Vitamin E terhadap perlindungan pembuluh darah dengan melihat hambatan produksi *Reactive Oxygen Species* radikal Superoxid yang disebabkan oleh stresor renjatan listrik. Hasil yang diharapkan dari penelitian ini adalah peranan superoxide (O_2^-) sebagai salah satu *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam kerusakan pembuluh darah.

Metode Penelitian

Tahap persiapan

Pada tahap persiapan, hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*), jenis kelamin jantan umur tiga bulan, sehat dengan berat tubuh sekitar 200 gram diadaptasikan dengan kondisi lingkungan, pakan dan minum *ad libitum* selama satu minggu.

Tahap perlakuan

Seluruh hewan percobaan (21 ekor) dibagi secara acak dalam tiga kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari tujuh ekor tikus. Emulsi vitamin E diberikan secara oral dengan menggunakan sonde lambung sehari sekali pada pagi hari sebelum pemberian pakan dan 15 menit sebelum diberi stresor selama 14 hari. Stresor diberikan dengan *elektrik shock* (renjatan listrik) selama 14 hari. Perincian mengenai perlakuan terhadap masing-masing kelompok adalah sebagai berikut: kontrol negatif (Po_1) yaitu kelompok tikus yang hanya diberi perlakuan pelarut obat 3 ml, kontrol positif (Po_2) yaitu kelompok tikus yang diberi stresor *elektrik shock* (renjatan listrik) selama 14 hari dan pelarut obat 3 ml, kelompok perlakuan (P_1) yaitu kelompok tikus yang diberi stresor *elektrik shock* (renjatan listrik) selama 14 hari dan emulsi vitamin E dosis 400 IU 3ml.

Model pemberian stresor

Perlakuan stresor pada tikus dengan cara mengalirkan arus listrik melalui kawat tembaga didasar kotak kaca perlakuan, kotak kaca perlakuan berdinding kaca dengan rangka aluminium, bagian atas bertutup kaca, alas kotak diberi lempengan kawat tembaga untuk mengalirkan arus listrik. Kotak kaca perlakuan berukuran 50x40x30 cm. Renjatan listrik yang diberikan memiliki arus listrik sebesar 5,0-30,0mA (rerata 18 mA). Tegangan 220Volt dan Frekuensi 60Hz. Aliran arus listrik pada kaki akan mengejutkan tikus. Setiap renjatan diberikan interval empat menit untuk tiap sesi. Jumlah pemberian renjatan berpedoman pada penelitian Asnar (2001).

Tabel 1. Pemberian Stressor Renjatan Listrik pada Tikus Putih

Hari perlakuan	Banyak renjatan	Banyak sesi
Hari ke - 1	4 rejanan	2 sesi
Hari ke - 2	8 rejanan	2 sesi
Hari ke - 3	10 rejanan	3 sesi
Hari ke - 4	12 rejanan	3 sesi
Hari ke - 5	14 rejanan	4 sesi
Hari ke - 6	16 rejanan	4 sesi
Hari ke - 7	18 rejanan	5 sesi
Hari ke - 8	20 rejanan	5 sesi
Hari ke - 9	22 rejanan	6 sesi
Hari ke - 10	24 rejanan	6 sesi
Hari ke - 11	26 rejanan	7 sesi
Hari ke - 12	28 rejanan	7 sesi
Hari ke - 13	30 rejanan	8 sesi
Hari ke - 14	32 rejanan	8 sesi

Persiapan sampel serum

Sebelum pengambilan darah, hewan coba dipuasakan terlebih dahulu selama 12 jam tetapi air minum tetap diberikan, kemudian dianestesi dengan eter dan selanjutnya darah diambil dengan cara intra cardial sebanyak 6 ml, darah didiamkan selama setengah jam. Dipindahkan dalam tabung sentrifus dan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Serum darah diambil kemudian dimasukkan dalam vial dan disimpan dingin sebelum dilakukan percobaan selanjutnya yaitu pemeriksaan superoxid (O₂⁻).

Pemeriksaan superoxid

Mikroplat U disiapkan dan tempat sampel yang akan dimasukkan ditandai. Pengenceran p-Nitro Blue Tetrazolium Chlorida (NBT) sebanyak 2 mg/ml dalam Hank's Balanced Salts Solution (HBSS) bebas fenol red 0,9%. Ditambahkan pengenceran Super-oxide Dismutase (SOD) sebanyak 200 µg/ml ke dalam larutan HBSS bebas fenol red 0,9%. Sampel 100 µl dimasukkan ke dalam sumur mikroplat kemudian 100 µl Simoxan 150 µg/ml dimasukkan pada tiap sumuran yang terisi sampel dan diinkubasikan selama 10 menit. Terakhir 100 µl NBT dimasukkan pada setiap sumuran yang sudah terisi sampel. Mikroplat ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Langkah terakhir dilakukan pembacaan hasil menggunakan ELISA reader dengan panjang gelombang 450 nm dan diperoleh data nilai *Optical Density* (OD) dari kadar Superoxid (Ungvari *et al.*, 2003).

Analisis statistik

Hasil penelitian yaitu *optical density* (OD) dari superoxid dianalisis menggunakan uji ANOVA dan bila terdapat perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji LSD (Kusriningrum, 1989).

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian yang dilakukan dengan menggunakan 21 ekor tikus jantan yang terbagi dalam tiga kelompok perlakuan, didapatkan hasil nilai *optical density* (OD) dari pemeriksaan kadar superoxid seperti terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai *Optical Density* (OD) Superoxid

No	P0	P1	P2
1.	0,1070	0,1640	0,1175
2.	0,1145	0,1575	0,1310
3.	0,1105	0,1455	0,1175
4.	0,1110	0,1525	0,0745
5.	0,1225	0,1415	0,1200
6.	0,1170	0,1225	0,1580
7.	0,1150	0,1325	0,1235
Jumlah	0,7975	1,0160	0,8420
Rata-rata ± SD	0,1139 ^a ± 0,0504	0,1451 ^b ± 0,0144	0,1203 ^a ± 0,0246

^{a, b} Superskrip yang berbeda pada kolom berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata pada ($p < 0,05$); P0: Kontrol; P1: Kontrol Stressor; P2: Stressor + emulsi Vitamin E dosis 400 IU

Berdasarkan data hasil penelitian nilai OD kadar superoxid dengan pembacaan pada ELISA reader yang diperoleh, kemudian dianalisis dengan menggunakan ANOVA didapatkan F hitung lebih besar dari F tabel. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata di antara perlakuan. Kemudian dilanjutkan dengan uji LSD dengan taraf signifikansi 5% didapatkan bahwa perlakuan P0 (kontrol) memiliki kadar superoxid yang terendah yang berbeda nyata dengan kelompok P1 (stresor) ($p < 0,05$); sedangkan dengan perlakuan P2 (stresor + Vitamin E) tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Hasil penelitian ini bisa dijelaskan bahwa adanya perbedaan pada kelompok P0 (kontrol) dengan kelompok P1 (kontrol stresor) yang ditunjukkan dengan hasil nilai OD nya disebabkan karena pada keadaan stres baik yang disebabkan oleh latihan fisik yang berlebihan atau stres emosional dapat menyebabkan *sympatoadrenal discharge*, yang ditunjukkan dengan peningkatan kadar noradrenalin dan adrenalin yang sangat tinggi (Kestin *et al.*, 1993). Hasil penelitian Sozmen *et al.* (1998) juga menjelaskan bahwa katekolamine (noradrenalin dan adrenalin) sebagai sumber yang sangat penting dalam pembentukan radikal bebas oksigen yaitu dengan cara autooksidasi dalam reaksi yang sangat kompleks.

Adanya perbedaan pada kelompok kontrol dan kelompok stresor pada kadar superoxid sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan Maslachah, (2000) bahwa pada tikus yang diberi stresor dengan *swimming stress* dapat meningkatkan kadar Malondialdehyde (MDA) serta dapat meningkatkan *Circulaing endothel*. Hal ini menunjukkan bahwa pada pemberian stresor dengan *elektrik shock* (renjatan listrik) meningkatkan produksi radikal superoxid mempunyai efek sitotoksik yang akan menyebabkan peroksidasi membran fosfolipid sehingga akan meningkatkan malondialdehyde sebagai hasil peroksidasi lipid dan kerusakan jaringan serta menyebabkan disfungsi sel endotel yang ditunjukkan dengan peningkatan pelepasan endotel pada sirkulasi. Stres juga diketahui akan dapat mengurangi efektifitas pemanfaatan antioksidan di dalam tubuh sehingga menyebabkan ketidakseimbangan antara pembentukan radikal bebas dengan sistem *scavenger* akan timbul suatu keadaan yang disebut stres oksidatif dan hal ini dapat menyebabkan kerusakan sel.

Adanya disfungsi sel endotel dapat mengganggu keseimbangan antara faktor relaksasi dan kontraksi dari otot polos pembuluh darah. Gangguan pada endotel untuk melepaskan mediator vasodilatasi (NO) dapat disebabkan karena penurunan pembentukan, peningkatan degradasi, dan penurunan sensitivitasnya untuk membentuk NO. Adanya gangguan keseimbangan produksi NO dan peningkatan produksi radikal bebas seperti

superoksid akan menyebabkan gangguan pada spasme pembuluh darah. Superoksid dapat menginaktivasi NO dan menghambat sintesis prostasiklin sehingga dapat mengganggu keseimbangan antara faktor relaksasi dan kontraksi yang dilepaskan dari endotel dan dapat menyebabkan spasme arterial (Sozmen *et al.*, 1998). Hal ini menunjukkan bahwa endotel mempunyai peran yang sangat penting sebagai pengatur vaskuler, sebagai target dari peningkatan tekanan darah. Adanya peningkatan radikal superoxid pada tikus yang menerima stresor akan dapat mengganggu relaksasi yang tergantung endotel melalui inaktivasi *endothelium derived nitric oxide yang* akan mengakibatkan penurunan sintesis NO karena penurunan aktivitas ekspresi dari *endothelium Nitric Oxide Synthase* (eNOS). Mekanisme penurunan sintesis NO disebabkan karena penurunan aktivitas dan ekspresi eNOS, penurunan sensitivitas otot polos pembuluh darah pada NO dan peningkatan degradasi NO oleh reaktif oksigen spesies superoxid yang mekanisme semuanya ini memainkan peran penting pada penurunan sintesis NO pada atherosklerosis dan hiperkolesteolemia (Kawashima, 2004).

Peningkatan produksi superoxid dapat meningkatkan degradasi NO untuk menurunkan sintesis NO. Degradasi NO oleh superoksid merupakan mekanisme penting gangguan pada relaksasi yang tergantung endotel. Hasil penelitian yang lain juga menjelaskan bahwa fungsi endotel berhubungan dengan bioaktivitas dari NO yang tergantung interaksinya dengan ROS khususnya superoxid. Reaksi NO dengan superoxid akan dihasilkan peroxynitrit (ONOO-) yang merupakan reaktif nitrogen spesies. Peroksininitrit ini akan mengganggu fungsi endotel yang menyebabkan penurunan aktivitas eNOS. Reaksi dengan superoxid dapat menurunkan bioavailabilitas NO, gangguan fungsi vasomotor, peningkatan agregasi platelet dan peningkatan adhesi monosit dan leukosit pada endotel, proliferasi otot polos (Faraci 2003, Muzaffar *et al.*, 2003, Ungvari *et al.*, 2003, Kawashima, 2004). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Nicholas (2004) menunjukkan interaksi antara NO dan superoxid pada penelitian *in vitro* dan *in vivo* menghasilkan peroksininitrit yang dapat mengoksidasi tetrahidrobiopterin (BH4) yang merupakan kovaktor esensial untuk semua NO sintase dalam waktu singkat (menit) yang menimbulkan efek langsung pada aktivitas eNOS dan disfungsi endotel.

Pada hasil penelitian adanya perbedaan pada kelompok P1 (kontrol stresor) dengan kelompok P2 (stresor + emulsi vitamin E) dapat dijelaskan bahwa pemberian vitamin E pada tikus yang diberi stresor dengan *elektrik shock* (renjatan listrik) dapat menurunkan produksi radikal superoxid hal ini

disebabkan karena vitamin E mempunyai potensi sebagai antioksidan pemutus rantai pada membran yang dapat mencegah kerusakan sel oleh peroksidasi lipid dan menghambat pembentukan radikal bebas. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Thomas, 1995 bahwa pemberian antioksidan vitamin E dapat menurunkan akumulasi LDL secara nyata dari $3,25 \pm 0,53$ ng/menit/cm² menjadi $2,73 \pm 0,71$ ng/menit/cm². Disamping itu efektifitas vitamin E dalam mengikat atau bereaksi dengan radikal oksigen lebih cepat 5×10^4 kali dari pada dengan PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) sehingga vitamin E efektif sebagai antioksidan membran dalam menghambat outooksidasi PUFA yang mengandung lipid seperti fosfolipid. Efektivitas vitamin E dalam mencegah oksidatif stres juga ditunjukkan oleh hasil penelitian yang dilakukan Acker *et al.*, 2003 terhadap indikator stres oksidatif seperti pengukuran kerusakan DNA, Creatine Kinase (CK) *Thiobarbituric Acid Reacting Substance* (TBARS/MDA) dan Conjugate Dienes (CD) bahwa pemberian vitamin E dosis 400 IU selama 48 hari dapat menurunkan CK dan membantu menurunkan kerusakan otot oleh radikal bebas, produksi MDA menurun pada subyek yang mengkonsumsi 1200 mg vitamin E selama 14 hari akibat kelelahan (stres fisik), juga adanya penurunan kerusakan DNA pada sel darah putih akibat kelelahan. Vitamin E juga dapat menurunkan produksi pentane dan produk peroksidase dari mitokondria.

Tidak adanya perbedaan pada kelompok P0 (kontrol) dengan kelompok P2 (stresor + emulsi vitamin E) menunjukkan bahwa vitamin E mampu menghambat produksi radikal superoxid pada tikus yang menerima stresor seperti pada kelompok kontrol karena kemampuannya dalam memutus reaksi berantai pada tikus yang menerima stresor sehingga pembentukan radikal superoxid dihambat.

Kesimpulan

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian stressor dapat meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) radikal superoxid (O₂⁻) serum tikus putih. Pemberian vitamin E dosis 400 IU selama 14 hari dapat menurunkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) radikal superoxid (O₂⁻) serum tikus putih yang menerima stresor.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditunjukkan kepada Proyek DUE-Like BATH III yang telah membiayai melalui riset grand Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Daftar Pustaka

- Acker S, Koymansm LM, and Bast A. 2003. Molecular Pharmacology of Vitamin E : Structural Aspects of Antioxidant Activity. Ncbi.nlm.com. 213-217.
- Alwi I. 1996. Peran triad lipid pada penyakit jantung koroner. Medika. Desember No.12 Thn.XXII. 932-973.
- Asnar E. 2001. Peran Perubahan Limfosit Penghasil Sitokin dan Peptida Motilitas Usus Terhadap Modulasi Respon Imun Mukosal Tikus Yang Stres Akibat Stresor Renjatan Listrik. Disertasi. Program Pascasarjana. Universitas Airlangga .
- Atkinson RL. 1993. Introduction To Psychology 8th Ed. Harcourt BraceJavanovich. Inc. 222-237.
- Barone FC. 1992. Tumor Necrosis Factor & A Mediator of Focal Ischemic Brain Anjry. Stroke. 128: 1233-1244.
- Coveli V. 1992. What Is Stress. How Does It Correlated With The Immune System. In Stress And The Immune System. Annals New York. Acad. Sci: 212-215.
- Faraci FM. 2003. Hyperhomocysteinemia A Million Ways to Lose Control & in Arteriosclerosis. Trombosis and Vascular. Biologi 23 : 371-373.
- Halliwell B. 1991. Reactive oxygen species in living systems. Source biochemistry and role in human decease. Am J. Med. 91: 110-115
- Halliwell and Gutteridge JMC. 1999. Free Radicals in Biology and Medicine . 3rd Edition. Oxford University Press New York. 136-147.
- Kawashima S. 2004. Malfunction of vascular control in lifestyle related diseases. Endothelial nitric oxide (NO) synthase/NO system in atherosclerosis. J. Pharmacol. Sci. 96: 411-419.
- Kestin AS, Ellis PA, and Barnard MR. 1993. Effect of strenuous exercise on platelet activation state and reactivity. Circulation 88(1): 1502-1511.
- Kusriningrum R. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Maslachah L. 2000. Pengaruh antioksidan probucol terhadap kadar malondialdehyde (mda) dalam darah dan jumlah circulating endothel pada tikus yang menerima stressor. Thesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Airlangga.
- Muzaffar S, Jeremy, Angelin, Smith, and Shukla. 2004. Role of endothelium and nitric oxide synthases in modulating superoxide formation induced by endotoxin and cytokines in porcine pulmonary arteries. Thorax. 58: 598-604

Maslachah; Hambatan Produksi Reactive Oxygen Species Radikal Superoksida (O_2^-) oleh ...

- Nicholas K. 2004. Regulation of endothelial nitric oxide synthase by tetrahydrobiopterin in vascular disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24: 413-420
- Riley. 1981. Psychoneuroendocrinology on immune competence and neoplasia. *Science.* 212: 1100-1109.
- Sozmen B, Kozaz L, Taskiran D, and Tuzens. 1998. Effect of n dicycloprorylmethyl amino 2 oxazoline (S 3341) on antioxidant status and nitric oxide in hypertensive patients. *Current Medical Research and Opinion.* 14(2): 89-96
- Taniyama Y and Griendling K. 2003. Reactive oxygen species in the vasculature. Molecular and cellular mechanisms. *J. Hypertension.* 42: 1075-1081.
- Thomas MJ. 1995. The role of radical and antioxidants: how do we know that they are working? *Critical Review in Food Science and Nutrition.* 35(1&2): 21-29.
- Ungvari Z, Csiszar A, and Endwards JG. 2003. Increased superoxide production in coronary arteries in hyperhomocystemia. role of tumor necrosis factor α , NAD(P)H, oxidase and inducible nitric oxide synthase. *J. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23: 418-424.
- Wijaya A. 1996. Radikal bebas dan parameter status antioksidan. *Forum Diagnostikum Prodia. Diagnostics Educational Services.* 1-12.