

Efek vitamin C dan E terhadap sel goblet saluran nafas pada tikus akibat pajanan asap rokok

Hanslavina Arkeman dan David^a

Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti

ABSTRAK

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa pada perokok dengan bronkitis kronis dan penyakit paru obstruktif kronis (PPOK) terdapat hipersekresi mukus dan hiperplasia sel goblet pada saluran nafas. Beberapa penelitian lain juga menyatakan bahwa faktor utama yang menyebabkan hiperplasia sel goblet adalah pajanan asap rokok pada paru secara kronis. Penelitian ini bertujuan untuk menilai efek antioksidan vitamin C dan E terhadap sel goblet saluran nafas akibat asap rokok. Rancangan eksperimental *posttest only control group* digunakan pada 40 ekor hewan coba tikus dewasa jantan galur Sprague-Dawley dengan berat badan 200-250 gram. Keempatpuluh hewan coba secara acak dibagi menjadi empat kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok yang hanya diberikan asap rokok, kelompok yang diberikan asap rokok + vitamin C, dan kelompok yang diberikan asap rokok + vitamin E. Kelompok perlakuan diberi paparan asap rokok sebanyak 8 batang per hari dalam waktu 30 menit selama 20 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna jumlah sel goblet antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang hanya diberikan asap rokok ($p=0,000$), ini berarti bahwa terjadi hiperplasia sel goblet akibat asap rokok. Dan tidak terdapat perbedaan yang bermakna jumlah sel goblet antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan asap rokok + vitamin C dan E ($p=0,816$), ini menunjukkan adanya efek antioksidan yang menurunkan terjadinya hiperplasia sel goblet. Studi ini menunjukkan pemberian vitamin C dan E pada hewan coba yang diberi pajanan asap rokok mempunyai manfaat untuk mencegah terjadinya hiperplasi sel goblet.

Kata kunci: Hiperplasia, sel goblet, antioksidan, vitamin C, vitamin E, tikus

Effect of vitamin C and E on airway goblet cells in rat due to cigarette smoke exposure

ABSTRACT

Previous investigations showed hypersecretion of mucus and goblet cell hyperplasia of respiratory tract in smokers with chronic bronchitis and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is present. A number of other investigations suggest that the main factor causing goblet cell hyperplasia is chronic exposure to cigarette smoke. The aim of this investigation is to evaluate the effect of antioxidant vitamin C and E supplementation on goblet cell hyperplasia due to cigarette smoke exposure. Experimental posttest only control group design recruited 40 adult male Sprague-Dawley rats weighing 250–300 gram. The animals were randomized into four groups, control group, treated group without vitamin C and E, treated group with vitamin C, and treated group with vitamin E. Each animal in the treated group was exposed daily for 30 minute to 8 smoke cigarettes for 20 days. The result showed that there was a significant difference in the number of goblet cell hyperplasia between the control and the treated group ($p = 0.000$), due to cigarette smoke exposure; and was no significant difference in the number of cell goblet between the control and the treated group + vitamin C and E ($p = 0.816$), indicating the effect of antioxidants to reduce the occurrence of goblet cell hyperplasia. These findings suggest that administration of vitamins C and E in rats exposed to cigarette smoke may be beneficial in the prevention of goblet cells hyperplasia.

Keywords: Hyperplasia, goblet cell, antioxidants, vitamin C, vitamin E, rats

Korespondensi : ^aDavid

Bagian Histologi
Fakultas Kedokteran, Universitas Trisakti
Jl. Kyai Tapa No.260, Grogol Jakarta 11440
Tel. 021-5672731 eks. 2702, Fax. 021-5660706
E-Mail : davesaboch@yahoo.com

PENDAHULUAN

Walaupun merokok merupakan faktor penting untuk terjadinya obstruksi paru kronik (*chronic obstructive pulmonary disease/ COPD*), mekanisme untuk menjelaskan asap rokok sebagai penyebab terjadinya obstruksi paru-paru masih belum jelas. Sekitar 15–20% perokok akan mengalami COPD secara bermakna.⁽¹⁾ Merokok juga merupakan faktor risiko mayor untuk terjadinya bronkitis kronis, dan terdapat hubungan yang bermakna antara jumlah rokok yang dihisap dan insidens penyakit tersebut. Bronkitis kronis merupakan penyakit dengan gejala batuk berdahak yang berlangsung lebih dari 3 bulan. Batuk disebabkan adanya hipersekresi dari mukus yang dapat menimbulkan gangguan saluran pernafasan.⁽²⁾ Infeksi kronik merupakan penyebab penting meningkatnya radikal bebas. Kerusakan radikal bebas berkontribusi terhadap kerusakan sel pernafasan yang mengakibatkan timbulnya COPD.⁽³⁾ Asap rokok merupakan campuran lebih dari 4.700 senyawa kimia termasuk oksidan dengan konsentrasi tinggi yaitu 10^{14} molekul per hisapan.⁽⁴⁾ Walaupun paru-paru memiliki sistem pertahanan yang strategis dengan cara menghisap banyak oksigen pada saat inspirasi, meningkatnya asupan asap rokok dapat menyebabkan kerusakan jaringan paru-paru. Radikal bebas banyak didapatkan alam tar dan gas dari asap rokok. Gas dari asap rokok mengandung sekitar 10^{15} radikal per *puff*, terutama alkil dan peroksil.⁽⁵⁾ Pada saluran nafas perokok salah satu kelainan morfologi yang ditemukan adalah adanya hiperplasi sel goblet. Studi pada hewan coba menunjukkan asap rokok meningkatkan jumlah sel goblet.⁽⁶⁾

Peranan antioksidan sebagai agen penecegah terjadinya COPD banyak dikaitkan dengan hubungan antara oksidan dan kerusakan jaringan.⁽⁷⁾ Antioksidan total terdiri

dari antioksidan intrasel dan ekstrasel, secara alami terdapat dalam tubuh sebagai suatu sistem pertahanan terhadap pengaruh negatif radikal bebas. Secara garis besar antioksidan dibagi menjadi:⁽⁸⁾ i) antioksidan non-enzim misalnya vitamin A, tokoferol (vitamin E), asam askorbat (vitamin C) dan selenium; ii) antioksidan golongan enzim misalnya super okside dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GSH); dan iii) antioksidan yang bekerja sebagai pelindung ekstrasel, misalnya asam urat, β karoten dan albumin. Radikal bebas merupakan mediator dari timbulnya kerusakan jaringan pada penderita COPD, dan antioksidan vitamin (A, C dan E) sangat efektif untuk mencegah terjadinya kerusakan jaringan dan sel akibat radikal bebas.⁽⁹⁾

Berbagai macam rangsangan pada saluran nafas seperti asap rokok, sulfur dioksid, ozon, dan endotoksin menunjukkan adanya peningkatan sel goblet pada hewan percobaan.⁽¹⁰⁾ Tujuan penelitian ini adalah untuk menilai efek antioksidan vitamin C dan E terhadap pemulihan kelainan struktur epitel (hiperplasi sel goblet) saluran nafas hewan coba akibat pajanan asap rokok.

METODE

Rancangan Penelitian

Posttest only control group design digunakan untuk mencapai tujuan penelitian.

Sampel

Tikus dewasa jantan galur Sprague Dawley dengan berat badan 200–250 gram sebanyak 40 ekor. Besar sampel dihitung dengan rumus Federer⁽¹¹⁾

$$\begin{aligned} (n-1)(t-1) &> 15 \\ (n-1)(4-1) &> 15 \\ 3n &> 18 \\ n &> 6 (=10) \end{aligned}$$



Gambar 1. Metoda pajanan asap rokok (pompa dan kandang)

Intervensi

Sampel secara acak dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok I merupakan kelompok kontrol yang tidak diberi pajanan asap rokok, kelompok II diberi pajanan asap rokok 8 batang dalam waktu 30 menit setiap hari selama 20 hari, kelompok III diberi pajanan asap rokok 8 batang dalam waktu 30 menit dan diberikan suntikan vitamin C dosis 10 mg secara intramuskuler (setengah jam sebelum pengasapan) setiap hari selama 20 hari, dan kelompok IV diberi pajanan asap rokok 8 batang dalam waktu 30 menit dan vitamin E 5 IU (2 jam sebelum pajanan) perhari. secara oral setiap hari selama 20 hari.

Cara kerja

Keempat kelompok hewan coba diberi makan pelet dan minum air putih, pemajanan asap rokok dilakukan dengan menggunakan pompa dalam kandang tertutup berukuran 50 x 35 x 20 cm dengan ventilasi berukuran 20 x 10 cm (Gambar 1). Rokok yang dipakai adalah rokok kretek tanpa filter. Setelah 20 hari hewan

coba dibunuh dan organ diambil untuk pembuatan sediaan histologi dengan pewarnaan khusus *periodic acid-Schiff* (PAS).

Pengumpulan data

Perhitungan jumlah sel goblet dilakukan secara *double blind* memakai *counter* dan persentase sel goblet merupakan perbandingan jumlah sel goblet dengan total jumlah epitel trakea pada sediaan histologi menggunakan pewarnaan PAS. Seluruh perhitungan dilakukan pada pembesaran 400x.

Analisis data

Semua data disajikan dalam rata-rata \pm SD. *One-way analysis of variance* (ANOVA) digunakan untuk membandingkan persentase sel goblet antara keempat kelompok perlakuan dan tingkat kemaknaan yang digunakan besarnya 0,05. Bila terdapat perbedaan rata-rata persentase sel goblet yang bermakna antara keempat kelompok, analisis dilanjutkan dengan menggunakan *multiple comparison* dari Tuckey.

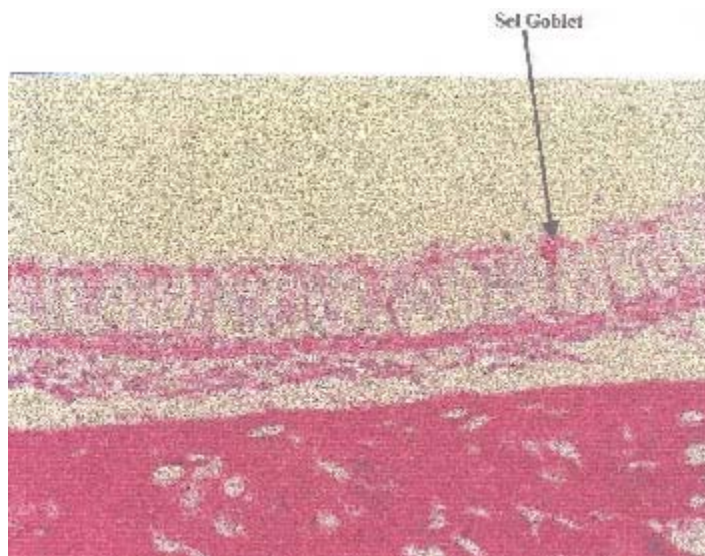


Gambar 2. Sel goblet trakea pada tikus kontrol

HASIL

Setelah diberikan pemajanan asap rokok selama 20 hari rata-rata persentase sel goblet pada keempat kelompok menunjukkan rata-rata persentase sel goblet pada kelompok kontrol besarnya $20,3 \pm 7,94$ (Gambar 2).

Kelompok yang hanya diberikan pemajanan asap rokok rata-rata persentase sel goblet besarnya $51,2 \pm 17,23$ (Gambar 3), sedangkan pada kelompok yang diberikan tambahan vitamin C dan E rata-rata persentase sel goblet masing-masing besarnya $21,4 \pm 4,99$ dan $19,7 \pm 7,27$ (Tabel 1).



Gambar 3. Hiperplasi sel goblet trakea pada tikus kelompok II (dipajan asap rokok saja)

Tabel 1. Rata-rata persentase sel goblet antara keempat kelompok perlakuan

Sel goblet	Kontrol (n=10)	Rokok (n=10)	Rokok + vitamin C (n=10)	Rokok + vitamin E (n=10)	P
Rata-rata %	20,3 ± 7,94	51,2 ± 17,23*	21,4 ± 4,99	19,7 ± 7,27	0,0000

* Berbeda bermakna dengan kelompok kontrol, kelompok rokok + vitamin C dan kelompok rokok + vitamin E

Hasil ANOVA menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata persentase sel goblet yang bermakna antara keempat kelompok ($p = 0,0000$). Analisis *multiple comparison* dari Tuckey menunjukkan rata-rata persentase sel goblet kelompok yang hanya diberikan asap rokok berbeda bermakna dengan kelompok kontrol, kelompok asap rokok + vitamin C dan kelompok asap rokok + vitamin E (Tabel 1). Rata-rata persentase sel goblet antara kelompok yang diberikan tambahan vitamin C dan vitamin E tidak berbeda secara bermakna ($p = 0,816$).

PEMBAHASAN

Studi ini menunjukkan pemberian asap rokok pada hewan coba tikus selama 20 hari rata-rata persentase sel goblet besarnya 51,2 ± 7,94. Rata-rata persentase sel goblet pada kelompok yang diberikan asap rokok jauh lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol. Hasil studi ini tidak berbeda dengan studi yang dilakukan Takeyama dkk,⁽¹²⁾ ternyata pemberian asap rokok (8 rokok per hari selama 5 hari) pada tikus dewasa jantan galur Sprague-Dawley dengan rata-rata berat badan 250-300 g menunjukkan peningkatan jumlah sel goblet dari 40 ± 19 menjadi 167 ± 19 sel/mm ($p < 0,001$). Pemajanan kronik pada *guinea pig* menunjukkan perubahan histologi pada jaringan paru berupa peningkatan sel goblet yang konsisten dengan hasil studi ini.⁽¹³⁾ Berbagai macam stimulus seperti alergen, bakteri, termasuk asap rokok menyebabkan perubahan epitel saluran nafas. Epitel saluran nafas pada individu normal hanya mengandung beberapa sel goblet dan akan meningkat bila secara kontinu terpajan asap rokok.⁽¹⁴⁾

Pemberian vitamin C dan E pada kelompok tikus yang terpajan asap rokok ternyata tidak terdapat peningkatan sel goblet. Rata-rata sel goblet pada tikus yang diberikan asap rokok + vitamin C dan E tidak berbeda dengan rata-rata sel goblet pada kelompok kontrol. Studi yang dilakukan pada penderita COPD menunjukkan pemberian vitamin antioksidan (vitamin A, C dan E) bermanfaat untuk mencegah dan mengobati gangguan pada penderita COPD.⁽¹⁵⁾ Suatu studi epidemiologi di masyarakat pada usia setengah tua (*middle-aged*) yang merokok menunjukkan pemberian vitamin E mampu mencegah terjadinya gangguan saluran pernafasan.⁽¹⁶⁾ Studi yang dilakukan Rautalahti dkk, menunjukkan hasil yang tidak berbeda, terdapat hubungan yang bermakna antara penurunan gejala-gejala saluran pernafasan dan meningkatnya jumlah vitamin E dan β-karoten yang dimakan.⁽¹⁷⁾ Analisis pada 1.616 penduduk berusia 35-79 tahun yang tidak menderita penyakit saluran pernafasan di New York USA menunjukkan antioksidan vitamin seperti vitamin E dan beta karotene berhubungan secara bermakna dengan fungsi paru-paru.⁽¹⁸⁾ Sebuah studi kohort yang bertujuan meneliti hubungan antara kadar vitamin C dalam plasma dan fungsi paru-paru pada 1.308 subjek menunjukkan penurunan kadar vitamin C dalam plasma berhubungan secara bermakna dengan menurunnya fungsi paru-paru.⁽¹⁹⁾ Namun penelitian pada perokok berusia 42-75 tahun yang sudah merokok >20 tahun menunjukkan pemberian vitamin E saja tidak dapat mengurangi gejala-gejala gangguan pernafasan.⁽²⁰⁾

Studi ini menunjukkan suplementasi vitamin C dan E pada tikus yang terpajan asap rokok mampu mencegah terjadinya hiperplasia sel goblet. Walaupun demikian suplementasi vitamin C dan E pada penderita COPD masih belum jelas. Diperlukan studi lebih lanjut dengan populasi yang lebih besar untuk menilai peran antioksidan vitamin A, C dan E terhadap perubahan fungsi paru pada penderita COPD yang merokok.

KESIMPULAN

Pemberian asap rokok secara kronik dapat merangsang hiperplasi sel goblet pada trakea tikus. Pemberian asap rokok secara kronik disertai antioksidan seperti vitamin C dan E dapat menekan hiperplasi sel goblet pada trakea tikus.

Daftar Pustaka

- Sethi JM, Rochester CL. Smoking and chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Chest Med* 2000; 21: 67-86.
- Vestbo J, Prescott E, Lange P. Association of chronic mucus hypersecretion with FEV1 decline and chronic obstructive pulmonary disease morbidity. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 1530-5.
- Pryor WA. Cigarette smoke and the role of free radicals in chemical carcinogenicity. *Environ Health Perspect* 1997; 105: 875-82.
- Hanrahan JP. Cigarette smoking and health. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 861-65.
- MacNee W. Oxidants/antioxidants and COPD. *Chest* 2000; 117: 303S-17S.
- Komori M, Inoue H, Matsumoto K, Koto H, Fukuyama S, Aizawa H, et al. PAF mediates cigarette smoke-induced goblet cell metaplasia in guinea pig airways *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280: L436-L41.
- MacNee W, Rachman J. Oxidant/antioxidant imbalance in smokers and chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1996; 51: 348-550.
- Halliwell B. Free radical antioxidants in human disease: curiosity, cause or consequence. *Lancet* 1994; 344: 721-4.
- Stahl W, Sies H. Antioxidant defenses: vitamin E and C and carotenoids. *Diabetes* 1997; 46 (Suppl 2): S14-8.
- Fukuyama S, Aizawa H, Hara N. PAF mediates cigarette smoke-induced goblet cell metaplasia in guinea pig airways. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280: L436-L41.
- Federer W. *Statistics and society: data collection and interpretation*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker; 1991.
- Takeyama K, Jung B, Shim JJ, Burgel PR, Dao-Pick T, Ueki F, et al. Activation of epidermal growth factor receptors is responsible for mucin synthesis induced by cigarette smoke. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280: L165-L72.
- Toward TJ, Broadley KJ. Goblet cell hyperplasia, airway function, and leukocyte infiltration after chronic lipopolysaccharide exposure in conscious guinea pigs: effects of rolipram and dexamethasone. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 302: 814-21.
- Nadel JA. Role of epidermal growth factor receptor activation in regulating mucin synthesis. *Respir Res* 2001; 2:85-9.
- Tug T, Karatas F, Terzi SM. Antioxidant vitamins (A, C and E) and malondialdehyde levels in acute exacerbation and stable periods of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Invest Med* 2004; 27: 123-8.
- Britton JR, Pavond ID, Richards KA, Knox AJ, Wisniewski AF, Lewis SA, et al. Dietary antioxidant vitamin intake and lung function in the general population. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1383-7.
- Rautalahti M, Virtamo J, Haukka J, Heinonen OP, Sundvall J, Albanes D, et al. The effect of alpha-tocopherol and beta carotene supplementation on COPD symptoms. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1447-52.
- Schunemann HJ, Grant BJ, Freudenheim SL, Muti P, Browne RW, Drake JL, et al. The relation of serum levels of antioxidant vitamin C and E, retinol and carotenoids with pulmonary function in the general population. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1246-55.
- Patel BD, Jakes RW, Welch AA, Bingham SA, Luben RN, Khan D, et al. Are smokers with low plasma vitamin C levels at particular risk of COPD. *Thorax* 2003; 58: 10-15.
- Habib MP, Tank LJ, Garewall HS. Effect of vitamin E on exhaled ethane in cigarette smokers. *Chest* 1999; 115: 684-90.