

The Number of Pherivascular Mastocyt Associate with The Diameter of Blood Vessels in The Mesentery Rats

Mastosit Perivaskuler Berperan Sebagai Vasodilator Pembuluh Darah pada Mesenterium Tikus

Mohamad Nur Ibrahim*, Miftahu Soleh**, Edi Widjajanto***

*Jurusan Perikanan FPIK Universitas Haluoleo Kendari

** P4TKBOE / VEDC Malang

***Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

ABSTRACT

Mastocyt degranulated can cause vasodilatation of blood vessels, but it is unclear whether there is a relationship between the number of mastocyt with a diameter of blood vessels. This study aims to determine the relationship between the number of mastocyt pherivascular and diameter of blood vessels. This research is in vivo exploratory research in Wistar rat mesentery which was sensitized with ovalbumin. The diameter of blood vessels at mesentery preparate were measured microscopically using a micrometer scale standards. At large diameter of blood vessels (2.860 ± 0.348), the number of mastocyt was 12.3 ± 2.3 . At medium diameter of blood vessel (1.276 ± 0.198), the number of mastocyt was 4.4 ± 0.5 . Blood vessels with small diameter (0.961 ± 0.043), the number of mastocyt was 3.5 ± 1.3 . Calculations area on the microscope visual field was divided into four areas (counting area), there were zone 1, zone 2, zone 3 and zone 4. Statistical analysis showed that the correlation between the number of mastocyt at zone 1 and the diameter of blood vessels was 0,904 at 1% significance level. Similar to that at zone 2 ($r=0,892$), zone 3 and zone 4 ($r=0,940$). We conclude there was a significant relationship between the number of mastocyt and the diameter of blood vessels.

Keywords: mastocyt pherivascular, diameter of blood vessels

PENDAHULUAN

Mastosit adalah sel yang multifungsi, tidak hanya mencetuskan reaksi alergi melalui reseptor berafinitas tinggi (Fc-RI) tetapi juga memodulasi respon imun *innate* dan adaptif dengan melepaskan mediator dan sitokin. Mastosit berasal dari sel progenitor (*hematopoietic progenitor*) CD13⁺, CD 34⁺ dan CD117⁺ sumsum tulang. Secara struktur, fungsi, dan proliferasinya serupa dengan basofil, perbedaannya basofil ditemukan dalam sirkulasi darah, sedangkan mastosit hanya ditemukan dalam jaringan yang berhubungan dengan pembuluh darah (1).

Seperti sel lain di dalam tubuh, mastosit menerima signal *multiple* dari lingkungannya untuk mengatur pertumbuhan, diferensiasi dan kelangsungan hidupnya. Signal-signal tersebut menentukan jumlah dan tipe mastosit pada jaringan dan penyakit tertentu serta mengatur aktivitasnya. Aktivitas mastosit dipicu oleh beberapa agen kimia antara lain obat seperti antibiotik, sel yang dapat merangsang pelepasan histamin, sitokin, neurotensin, anafilatoksin, Ca²⁺ ionofor, antigen dan rangsangan fisis seperti panas, sinar matahari, dingin, dan tekanan (2,3). Aktivitas mastosit akibat agen-agen kimia ini dapat menyebabkan degranulasi melalui transduksi signal mastosit.

Degranulasi mastosit adalah keluarnya granul-granul di dalam sel setelah terjadi penepian ke membran. Granul-garanul ini berisi mediator-mediator antara

Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. XXV, No. 3, Desember 2009; Korespondensi: Mohamad Nur Ibrahim, Jurusan Perikanan FPIK Universitas Haluoleo Kendari, Tel. 0401-3194108, Email: imohamadnibrahim@yahoo.com

lain histamin, leukotrien, protanoid serta protease dan kebanyakan sitokin dan kemokin. Molekul-molekul yang disekresikan tersebut dapat menyebabkan vasodilatasi atau pelebaran pembuluh darah (3). Oleh karena itu aktivitas mastosit diduga berhubungan dengan pelebaran diameter pembuluh darah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari hubungan antara jumlah mastosit perivaskuler dengan diameter pembuluh darah pada mesenterium tikus.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif *in vivo* pada mesenterium tikus. Tikus dipapar alergen 3 kali selama 4 minggu pemeliharaan. Lima ekor tikus betina galur wistar dipersiapkan.

Penelitian dilakukan selama enam bulan, bertempat di laboratorium Farmakologi, laboratorium Anatomi Histologi, dan laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya (FKUB).

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih betina galur wistar dengan berat badan 140-150 gram yang berasal dari laboratorium Farmakologi FKUB. Setelah diadaptasikan 1 minggu, tikus disensitasi dengan pemberian ovalbumin intraperitoneal (ip) modifikasi metode peneliti sebelumnya (4). Metode tersebut terdiri dari 3 tahap, yaitu: 1) sensitisasi awal pada hari pertama melalui rute injeksi intraperitoneal dengan ovalbumin dosis 100 µg yang dilarutkan dengan PBS; 2) sensitisasi kedua dilakukan pada hari ke delapan melalui injeksi intraperitoneal dengan ovalbumin dosis 200 µg yang dilarutkan dalam PBS; 3) sensitisasi ketiga dilakukan pada hari ke dua puluh dua melalui oral dengan ovalbumin dosis 200 mg

yang dilarutkan dalam aluminium hidroksida dan PBS.

Kelima ekor tikus dibedah melalui pembiusan dengan eter. Setelah tikus benar-benar pingsan, kemudian dilakukan penyayatan. Penyayatan dimulai dari anus sampai ke bagian paru sehingga terlihat usus pada bagian perut, kemudian pangkalnya dipotong untuk mempermudah pengambilan mesenterium. Pengambilan mesenterium dipilih yang memiliki pembuluh darah sambil ditetesi dengan PBS (*Polyphenol Buffer Salin*).

Selanjutnya mesenterium direntangkan diatas gelas objek yang sudah diolesi dengan meyer albumin. Kemudian dicuci kembali dengan PBS. Beberapa saat kemudian dipapar dengan ovalbumin dengan konsentrasi 500 µg per 10 ml PBS. Kurang lebih 30 menit kemudian mesenterium ditetesi dengan toluidine blue sampai betul-betul kering (5,6). Selanjutnya dipotong sesuai ukuran penutup objek glass. Lalu di-mounting atau direkatkan dengan entelan balsem. Selanjutnya sediaan ditutup dengan penutup objek glass lalu dikering-anginkan.

Pengamatan mastosit dilakukan dengan mikroskop yang dilengkapi dengan kamera digital dan (di dalam lensa okuler) skala mikrometer yang telah dikalibrasi sebelumnya. Mikroskop yang digunakan adalah mikroskop cahaya, merk Olympus, seri CX21 yang telah dimodifikasi dengan menambahkan kamera digital merk NIKON seri COOLPIX 4500, 4.0 Mega Pixel, 4xZOOM. Perbesaran lensa okuler menggunakan 10x, sedangkan lensa objektif 4x.

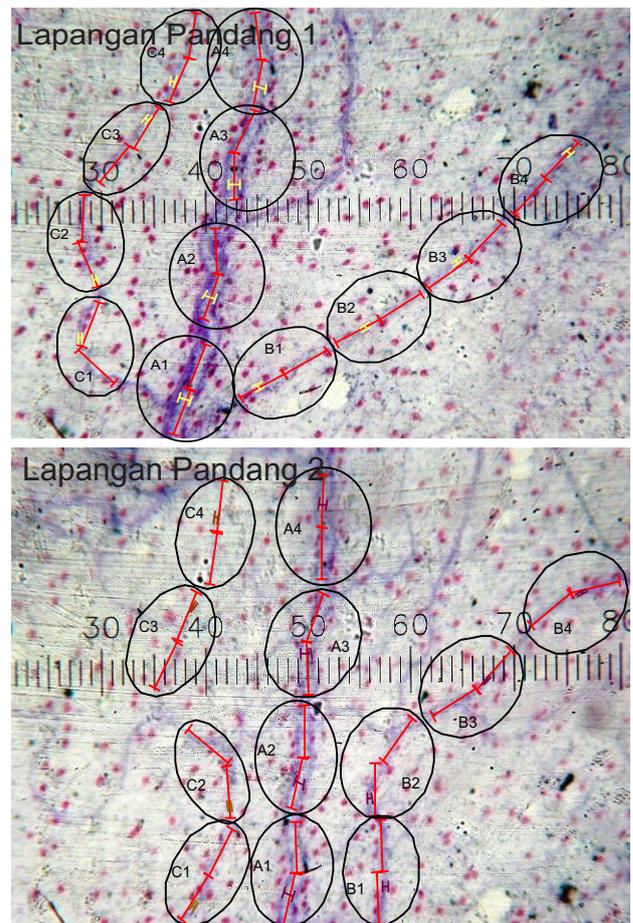
Di dalam lensa okuler ditempatkan mikrometer untuk mendapatkan ukuran skala milimeter yang melekat pada objek. Kalibrasi dilakukan dengan baik dan benar berdasarkan metode yang standar (7). Jadi setiap skala pada objek mikroskop bernilai 0,0027 mm.

Penghitungan jumlah mastosit dilakukan pada beberapa pembuluh darah dengan diameter yang berbeda-beda. Setiap 0.0135 mm satuan panjang dari pembuluh darah dihitung jumlah mastosit yang menempel pada pembuluh darah dan nampak dalam gambar dua dimensi. Pengukuran diameter pembuluh darah diukur menggunakan skala mikrometer yang ada dengan penghitungan antar titik koordinat yang dilakukan dengan bantuan software komputer *Micrograft Designer* 9.0.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan teknik korelasi Pearson dengan tingkat signifikansi 1%, untuk melihat tingkat korelasi jumlah mastosit dengan diameter pembuluh darah pada enam lapang pandang.

HASIL

Penelitian ini menunjukkan bahwa ditemukan mastosit yang menempel pada pembuluh darah, disamping ada juga yang berada di luar pembuluh darah. Mastosit tampak sebagai granul-granul yang berwarna ungu kecoklatan atau metakromatis (Gambar 1). Secara umum terdapat kecenderungan jumlah mastosit yang makin meningkat pada diameter pembuluh darah yang makin besar.



Gambar 1. Mastosit Perivaskuler pada Mesenterium Tikus dengan Pewarnaan Toluidine Blue dengan Pembesaran 40x.

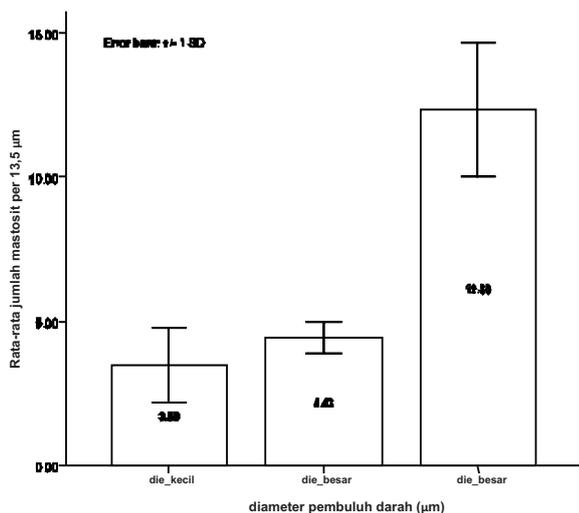
Keterangan :

H Ukuran satuan panjang dan diameter pembuluh darah dihitung berdasar skala mikrometer.

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa pada pembuluh darah dengan diameter besar disertai dengan jumlah mastosit yang lebih banyak yaitu $12,3 \pm 2,3$, pada pembuluh darah dengan diameter sedang disertai dengan jumlah mastosit lebih sedikit, yaitu $4,4 \pm 0,5$, dan pada pembuluh darah dengan diameter kecil disertai dengan jumlah mastosit yang lebih sedikit lagi, yaitu $3,5 \pm 1,3$ (Gambar 2).

Dari Tabel 1, menunjukan bahwa korelasi antara jumlah mastosit pada zona 1 (X1) dan diameter pembuluh darah (Y1) menunjukkan angka korelasi yang tinggi (0.904) dan tingkat signifikansi 0,01, demikian juga pada zona 2 (X2) dengan angka korelasi yang tinggi (0.892) dan tingkat signifikansi 1%, zona 3 (X3) dengan angka korelasi yang tinggi (0.971) dan tingkat signifikansi 0,01 dan pada zona 4 (X4) dan diameter pembuluh darah (Y4) menunjukkan angka korelasi yang tinggi (0.940) dengan tingkat signifikansi 0,01.

Secara umum dapat disimpulkan terdapat korelasi yang kuat antara jumlah mastosit dengan diameter pembuluh darah. Artinya makin banyak jumlah mastosit perivaskuler di sekitar pembuluh darah, maka makin lebar pula diameter pembuluh darah tersebut.



Gambar 2. Rerata Jumlah Mastosit dan Diameter Pembuluh Darah.

Tabel 1. Korelasi Jumlah Mastosit dengan Diameter Pembuluh Darah

Variabel Bebas (diameter pembuluh darah)	Pearson Correlations, N=17			
	Variabel Terikat (jumlah mastosit)			
	Y1	Y2	Y3	Y4
X1	0,930**	0,904**	0,831**	0,763**
X2	0,880**	0,892**	0,860**	0,804**
X3	0,945**	0,932**	0,971**	0,884**
X4	0,922**	0,910**	0,907**	0,940**

** . Korelasi signifikan pada level 0,01

Keterangan: Y1, Y2, Y3, Y4 : rata-rata diameter pembuluh darah pada setiap zona. X1, X2, X3, X4 : rata-rata jumlah mastosit pada setiap zona.

DISKUSI

Pewarnaan toluidine blue dapat mengidentifikasi distribusi mastosit di sekitar pembuluh darah pada jaringan mesenterium tikus (4,5,8). Paparan ulang ovalbumin pada jaringan mesenterium tikus menunjukkan bahwa mastosit tidak menggambarkan suatu sel yang homogenitas tunggal melainkan kumpulan sel yang memiliki reseptor membran yang berafinitas tinggi.

Ketika terjadi interaksi antara antigen-antibodi (IgE) dan reseptornya (Fc-RI) pada permukaan membran mastosit maka terjadi signal transduksi yang dapat menyebabkan degranulasi mastosit yaitu 1) pelepasan granula yang mengandung histamine dan protease, 2) produksi mediator inflamasi turunan lipid dan 3) sintesis sitokin. Oleh karena itu mastosit dikenal sebagai sel penghasil berbagai macam mediator, termasuk mediator yang berperan sebagai vasodilator (1).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah mastosit di sekitar pembuluh darah lebih banyak terlihat pada pembuluh darah yang berdiameter besar dibandingkan dengan pembuluh darah yang

berdiameter kecil. Hubungan antara jumlah mastosit dan diameter lebar pembuluh darah menunjukkan korelasi yang kuat. Ini membuktikan bahwa peran mastosit sebagai sel afektor dan sel efektor sangat penting karena berbagai jenis mediator yang disintesis dan disekresi oleh mastosit yang teraktivasi (9).

Sintesis mediator mastosit dapat terjadi dalam kondisi *resting* atau bisa juga dalam kondisi teraktivasi. Mastosit *resting* ditandai dengan sel yang kaya granula atau dalam kondisi utuh (intak) dan tidak terhambur. Mastosit aktif ditandai dengan sel terdegranulasi, granulanya terhambur, dengan sebaran granulasi hingga di sekitar inti sel. Mastosit menghasilkan berbagai macam mediator. Mediator tersebut ada yang terdapat di dalam granula dan atau di dalam sitoplasma di luar granula (9). Mediator mastosit ada yang telah tersedia dan bersifat siap pakai dan segera bisa berfungsi. Tetapi ada juga mediator yang siap segera disintesis ketika ada rangsangan (9).

Mastosit yang terdegranulasi juga mengisyaratkan bahwa mastosit sedang aktif melepaskan mediator, termasuk vasodilator (histamin). Vasodilator yang dihasilkan mastosit teraktivasi (terdegranulasi) menyebabkan pelebaran pembuluh darah. Dilatasi pembuluh darah menyebabkan perubahan hemodinamik sehingga aliran darah lambat, sel darah terakumulasi, interaksi lekosit-endotel meningkat serta aktifnya berbagai molekul adesi lekosit. Selain itu juga terjadi perubahan struktur endotel dan otot polos pembuluh darah sehingga meningkatkan permeabilitas. Selanjutnya hal ini diikuti oleh ekstravasasi plasma dan migrasi lekosit ke tempat proses infeksi (10,11,12,13).

Meskipun terdapat hubungan yang signifikan antara jumlah mastosit perivaskuler dengan diameter pembuluh darah, belum menunjukkan besar pengaruh jumlah mastosit terhadap pelebaran diameter pembuluh darah. Pelebaran pembuluh darah mencerminkan banyaknya jumlah mastosit perivaskuler. Oleh karena itu perlu untuk diteliti lebih lanjut tentang seberapa besar pengaruh jumlah mastosit perivaskuler terhadap pelebaran diameter pembuluh darah pada mesenterium tikus.

Berkaitan dengan aktivator mastosit, dikatakan banyak cara yang bisa menjadi aktivator, antara lain, rangsangan fisik, dan lain-lain (3). Dalam hal aktivator fisik dikenal adanya panas. Panas menyebabkan degranulasi mastosit (3). Sinar *far infrared* (FIR) merupakan sumber panas yang cocok bagi objek biologis karena memiliki panjang gelombang yang seirama dengan panjang gelombang yang dikeluarkan dari tubuh makhluk hidup (14). Apakah FIR dapat mengaktifkan mastosit melalui panas, sejauh ini belum begitu jelas, dan perlu untuk dikaji lebih lanjut.

KESIMPULAN

Jumlah mastosit mempunyai hubungan yang kuat dan signifikan dengan lebar pembuluh darah pada mesenterium tikus. Temuan ini mengindikasikan

Peran mastosit sebagai vasodilator melalui mediator yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Krishnaswamy G, Kelley J, Johnson D, *et al.* *The human mastosit: functions in physiology and disease*. Bioscience. 2001;6:D1109-27.
2. Baratawidjaja, KG. *Sistem Imun non Spesifik*. Di dalam: *Imunologi Dasar*. Jakarta: Gaya Baru, Edisi-7; 2006
3. Ibrahim MN, Widjajanto E, Rosita R. *Distribution of Mastosit in the Rat Mesentery*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2008. XXIV.(2): 53-97.
4. Soleh M, Ibrahim MN, Widjajanto E. *Kalibrasi Mikrometer pada Mikroskop Cahaya*. Unpublish. 2009.
5. Kubes P, Kanwar S, Xiao-fei N, Gaboury J. *Nitric oxide synthesis inhibition induces leukocyte adhesion via superoxide and mastosits*. *FASEB J*. 1993;7:1293-129 9.
6. Hsieh KY, Hsu CI, Lin JY, Tsai CC & Lin RH. *Oral administration of an edible-mushrom derived protein inhibit the development of food-allergic reaction in mice*. *Clin Exp Allergy*. 2003; 33: 1595-1602.
7. Widjajanto, E. *Hubungan antara mastosit dengan hiposelularitas sumsum tulang melalui mediator leukotrien B-4 (LTB-4) dan tumor nekrosis factor- α (TNF- α), Penelitian pada aspirat sumsum tulang dari penderita gangguan hematopoisis*. [Disertasi]. Surabaya: Program Pascasarjana Unair. 2001.
8. Serafin WE. *Drugs used in the treatment of asthma*. In : Hardman G, Limbird LE, Molinoff PB, *et al*, eds. *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*, 9th editio. New York. McGraw-Hill. 1996. 659-678.
9. Cotran RS, Kumar V, Robbins S. *Pathologic basis of disease*, 5th edition, Philadelphia : W.B. Saunders Company. 1994. 1-92.
10. Macsween RMN, Whaley K. *Muir's Textbook of Pathology*. 13th edition, London :ELBS. 1994. 112-146.
11. Dale MM, Foreman JC. *Histamin as a mediator of allergic and inflammatory reactions*. In : Dale, MM, Foreman JC, Fan TPD, eds. *Textbook of immunopharmacology*. Oxford : Blackwell Scientific Publications. 1994. 123-130.
12. Fan TPD. *Angiogenesis*. In : Dale MM, Foreman JC, Fan TPD, eds. *Textbook of immunopharmacology*. Oxford : Blackwell Scientific Publications. 1994. 123-130.
13. Sang W. *Reverse Aging*. Twentieth Printing. Miami-Florida; Jsp Publishing; 2006.