

Pengaruh Pemberian Teh Hijau (*Camellia sinensis*) terhadap Gambaran Histopatologi Paru-Paru Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Jantan Galur *Sprague Dawley* yang di Papar Uap Rokok Elektronik

Ni Putu Sari Widiyani¹, Susianti², Putu Ristyaning Ayu³

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Departemen Histologi Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

³Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Mudahnya rokok elektronik untuk didapat serta rasa lebih aman dibandingkan rokok konvensional membuat perokok mulai mengubah kebiasaannya dalam menggunakan rokok konvensional. Tren ini menyebabkan rokok elektronik semakin populer. Toksik yang terdapat pada rokok elektronik menyebabkan proses stres oksidatif yang memicu respon inflamasi dan menimbulkan gangguan pernapasan. Ekstrak teh hijau dipercaya sebagai antioksidan untuk menekan proses stres oksidatif. Penelitian menggunakan rancangan eksperimen murni menggunakan 30 tikus putih galur *Sprague Dawley*. Terdapat perubahan kerusakan histopatologi pada seluruh sampel dimana terjadi perbedaan yang signifikan pada kelompok kontrol, tetapi tidak signifikan pada nilai kontrol vape (K2) dengan kelompok perlakuan 1 (50 mg/kgBB) $p=0,163$. Konsumsi rokok elektronik mengarah ke peningkatan penanda sirkulasi stres oksidatif. Uap rokok elektronik menginduksi peningkatan spesies oksigen reaktif seluler yang pada gilirannya akan meningkatkan penanda inflamasi yang bersirkulasi. Polifenol teh hijau mencari spesies oksigen reaktif (ROS) dengan menghasilkan radikal fenolik yang lebih stabil. Efek perlindungan dikaitkan dengan kapasitas antioksidan sehingga mengurangi kerusakan jaringan paru-paru. Kesimpulannya terdapat pengaruh pemberian ekstrak teh hijau pada dosis 50 mg/kgBB namun terdapat pengaruh pemberian ekstrak teh hijau pada dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB terhadap perubahan gambaran histopatologis paru-paru tikus putih (*Ratus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang dipapar uap rokok elektronik.

Kata Kunci : Anti oksidan, Histopatologi, Paru-paru, Rokok Elektronik, Teh Hijau

The Effect of Green Tea (*Camellia sinensis*) on Histopathological Picture of the Lungs of Male White Rats (*Rattus novergicus*) Sprague Dawley Strain Exposed to Vapor of Electronic Cigarettes

Abstract

E-cigarettes are easy to obtain and feel safer than conventional cigarettes, making smokers begin to change their habits in using conventional cigarettes. This trend has made e-cigarettes increasingly popular. Toxic contained in e-cigarettes causes an oxidative stress process that triggers an inflammatory response and causes respiratory problems. Green tea extract is believed to be an antioxidant to suppress the oxidative stress process. The study used a pure experimental design using 30 white rats of the Sprague Dawley strain. There was a change in histopathological damage in all samples where there was a significant difference in the control group, but not significant in the value of the vape control (K2) with treatment group 1 (50 mg/kgBW) $p=0.163$. E-cigarette consumption leads to an increase in circulating markers of oxidative stress. E-cigarette vapor induces an increase in cellular reactive oxygen species which in turn increases circulating inflammatory markers. Green tea polyphenols seek reactive oxygen species (ROS) by generating more stable phenolic radicals. The protective effect is attributed to the antioxidant capacity thereby reducing lung tissue damage. The conclusion is that there is an effect of giving green tea extract at a dose of 50 mg/kgBW but there is an effect of giving green tea extract at a dose of 100 mg/kgBW and 200 mg/kgBW on changes in the histopathological picture of the lungs of white rats (*Ratus novergicus*) Sprague dawley strain exposed to steam. electronic cigarette.

Keywords: Anti-oxidant, Histopathology, Lung, Electronic Cigarette, Green Tea

Korespondensi: Ni Putu Sari Widiyani, alamat Jl. Soemntri Brojonegoro Pondok Kos Arbenta Bnadar Lampung, e-mail putusari58@gmail.com

Pendahuluan

Jumlah perokok di Indonesia menurut laporan *World Health Organization* (WHO) dalam epidemi tembakau tahun 2017 sebanyak 33,6% dari populasi Indonesia dimana 65,4%

nya adalah laki-laki. Jumlah yang begitu banyak menempatkan Indonesia di peringkat empat dunia sebagai perokok terbanyak. Data kementerian kesehatan menunjukkan rerata seseorang perokok dimulai dari usia 15 tahun.¹

Mudahnya rokok elektronik untuk didapat, iklan, dan berbagai macam rasa dari *e-liquid* serta rasa lebih aman dibandingkan rokok konvensional membuat perokok mulai mengubah kebiasaannya dalam menggunakan rokok konvensional. Tren ini menyebabkan rokok elektronik semakin populer di kalangan perokok dan non-perokok.²

Paparan uap rokok elektronik menyebabkan tingginya konsentrasi nikotin dan partikel serta menyebabkan peningkatan kadar plasma kotinin. Hal ini akan menyebabkan terjadinya inflamasi, stres oksidatif dan kematian sel-sel di alveolar. Paparan uap rokok elektronik menyebabkan terjadinya stres oksidatif dan respon inflamasi pada sel dan jaringan alveolar yang akan menyebabkan konsekuensi kesehatan.⁴⁻⁵ Pada studi eksperimental manusia, terdapat efek dari paparan uap rokok elektronik yang di observasi. Gangguan yang dapat terjadi di tubuh berupa gangguan sistem pernapasan (peningkatan resistansi paru, penurunan fungsi dan kapasitas paru, tingginya risiko terjadi penyakit paru obstruksi kronik dan asma), sistem kardiovaskular (seperti peningkatan tekanan darah) atau temuan lainnya.⁶ Pada Husari *et al* (2016), paparan uap rokok elektronik terhadap sel alveolar menunjukkan terjadinya inflamasi pada sel alveolar yang ditandai terdapatnya infiltrasi makrofag dan limfosit yang berada di bronkiolus dan parenkim paru alveolar, penebalan dinding alveolar, kongesti kapiler minimal dan edema paru minimal.⁷

Teh hijau merupakan salah satu sumber kaya polifenol, yang merupakan antioksidan yang terdapat di alam diantara beberapa jenis teh lainnya. Teh hijau terdiri dari monomer avanol atau disebut juga sebagai katekin. Katekin memiliki kemampuan dalam menangkap radikal bebas yang lebih efektif dibandingkan vitamin C dan vitamin E. Teh hijau memberikan keuntungan akan sifatnya sebagai anti oksidan pada hampir seluruh organ di tubuh berfungsi juga berfungsi sebagai antikarsinogenik, antimikroba, kesehatan gigi dan mulut, mengurangi terjadinya inflamasi, stress oksidatif, agregasi trombosit dan metabolisme lipid yang akan mengurangi risiko terjadi penyakit pulmo-kardiovaskular.⁸

Melihat tingginya angka penggunaan rokok elektronik dan kandungannya yang bersifat toksik, peneliti ingin mengetahui apakah terdapat dampak perubahan gambaran histopatologi pada paru-paru dibandingkan paru-paru kelompok kontrol dan kelompok yang diberikan rokok konvensional. Penelitian ini juga dilakukan untuk melihat kemungkinan peran ekstrak teh hijau sebagai antioksidan dalam mencegah terjadinya stres oksidatif yang dapat dilihat pada gambaran histologi paru-paru tikus putih yang dipapar dengan uap rokok elektronik dan diberikan ekstrak teh hijau dalam kurun waktu dan dosis tertentu.

Metode

Desain penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen murni dengan membandingkan kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Subjek penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang terdiri dari 30 tikus yang dibagi dalam 6 kelompok. Kelompok terdiri atas 3 kelompok kontrol 1 (tanpa paparan), 2 (paparan uap elektronik) dan 3 (paparan rokok konvensional). Pada kelompok perlakuan terdiri dari 3 kelompok yang masing-masing diberikan ekstrak teh hijau per intra peritoneal dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB.

Ekstrak teh hijau di dapatkan dari serbuk teh hijau sebanyak 250 g yang dimasukkan ke dalam maserator, yang ditambahkan etanol 80% sebagai pelarut dengan perbandingan 1:10 kali simplisia yaitu 2000 ml kemudian dilakukan pengadukan sampai homogen. Campuran dibiarkan termaserasi selama 24 jam dalam maserator tertutup dengan pengadukan terus menerus. Maserat disaring dari ampasnya dengan kertas saring, lalu diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 70⁰ dan tekanan 80 mBar sampai didapatkan ekstrak kental.

Perlakuan dilakukan selama 14 hari, dan pada hari ke-15, sampel dilakukan *euthanasia* dan diambil organ paru-paru yang di fiksasi dengan larutan formalin 10%. Selanjutnya preparat akan di bacakan oleh pakar pada perbesaran 400X dalam 5 lapang pandang. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran

Universitas Lampung dengan Nomor 255/UN26.18/PP.05.02.00/2019.

Hasil

Preparat trakea dianalisis di mikroskop dengan pembesaran 400X dan gambaran tersebut diinterpretasikan berdasarkan skoring destruksi septum alveolar, edem paru dan infiltrasi sel radang berdasarkan kriteria Hansel dan Barnes (2004). Skoring dari masing-masing parameter dijumlahkan dan dicari persentasi rerata kerusakan setiap parameter.

Kelompok 1 (K1) sebagai kelompok kontrol normal, dimana hanya diberi akuades per intraperitoneal. Kelompok 2 (K2) sebagai kelompok perlakuan coba, dimana hanya diberikan paparan uap rokok elektronik. Kelompok 3 (P1) sebagai kelompok perlakuan coba, dimana diberikan paparan uap rokok elektronik dan diikuti pemberian ekstrak teh hijau 50 mg/kgBB injeksi intra peritoneal (IP). Kelompok 4 (P2) sebagai kelompok perlakuan coba dengan pemberian paparan uap rokok elektronik dan diikuti pemberian ekstrak teh hijau 100 mg/kgBB IP, kelompok 5 (P3) sebagai kelompok perlakuan coba diberikan paparan uap rokok elektronik dan diikuti pemberian ekstrak teh hijau 200 mg/kgBB IP. Kelompok 6 (K3) hanya diberikan paparan asap rokok. Pada tabel berikut menunjukkan perubahan rerata kerusakan paru-paru.

Tabel 1. Rerata Kerusakan Paru-paru

Kelompok Uji	Rerata Kerusakan Paru-paru
K1	1,77
K2	62,66
K3	68,85
P1	60,00
P2	46,67
P3	33,33

Setelah mendapatkan hasil rata-rata skor derajat histopatologi trakea kemudian dianalisis kenormalan distribusi data menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk karena sampel yang digunakan terlalu sedikit yaitu kurang dari 50. Hasil yang didapatkan adalah $p > 0,05$ pada seluruh kelompok. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan uji Levene dan didapatkan nilai 0,172 ($p > 0,05$), yang

menunjukkan bahwa data homogen dan memenuhi syarat uji parametrik *Anova* dan dilanjutkan uji *Post-Hoc LSD*.

Tabel 2. Hasil Uji *Post-Hoc* antar Kelompok Uji

Kelo m-pok	K1	K2	P1	P2	P3	K3
K1		0,00 0*	0,00 0*	0,00 0*	0,00 0*	0,00 0*
K2	0,00 0*		0,16 3	0,00 0*	0,00 0*	0,00 0*
P1	0,00 0*	0,16 3		0,00 0*	0,00 0*	0,00 0*
P2	0,00 0*	0,00 0*	0,00 0*		0,00 0*	0,00 0*
P3	0,00 0*	0,00 0*	0,00 0*	0,00 0*		0,00 0*
K3	0,00 0*	0,00 0*	0,00 0*	0,00 0*	0,00 0*	

*bermakna jika $p < 0,05$

Pembahasan

Hipotesis 1 dan 2 dapat diterima, karena terdapat perbedaan antara pemberian paparan uap rokok elektronik terhadap perubahan struktur histologis paru-paru tikus putih (*Ratus novergicus*) galur *Sprague dawley* serta terdapat pengaruh pemberian ekstrak teh hijau terhadap perubahan struktur histopatologi paru-paru tikus putih (*Ratus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang dipapar uap rokok elektronik. Pada perokok dan bukan perokok tanpa penyakit kardiovaskular, baik tembakau dan rokok elektronik dikaitkan dengan peningkatan stres oksidatif dan disfungsi endotel dan dengan penurunan kadar vitamin E. Pada Carnevale *et al* (2016) juga menunjukkan bahwa konsumsi rokok elektronik mengarah ke peningkatan penanda sirkulasi stres oksidatif yang cepat dan akut dalam aktivitas NADPH oksidase 2 (NOX2). Nikotin adalah senyawa pro-oksidan yang dapat berkontribusi terhadap perubahan struktur paru-paru. Bahan aditif lainnya dan perasa pada rokok elektronik juga dapat menimbulkan efek berbahaya berupa meningkatkan respon inflamasi. Akhirnya, uap rokok elektronik dapat menginduksi peningkatan spesies oksigen reaktif seluler yang cukup untuk menginduksi reaksi peroksidasi lipid yang pada gilirannya akan meningkatkan penanda inflamasi yang bersirkulasi.³ Pada Husari (2015) ditemukan

pada pewarnaan hematoxylin dan eosin pada bagian paru-paru menunjukkan adanya infiltrasi sel-sel inflamasi (makrofag dan limfosit) di sekitar bronkiolus dan masuk ke parenkim paru, dinding alveolar edematosa dan menebal.⁶ Keadaan yang sama di dapatkan pada penelitian paru-paru mencit yang dipapar dengan uap rokok elektronik secara kontinyu selama 2 minggu. Pada mencit yang dipapar dengan uap rokok secara kontinyu, terlihat terjadinya kerusakan pada struktur mikroanatomi paru-parunya. Hal ini disebabkan telah terjadi perusakan sel-sel epitelium dan endotelium pada alveolus oleh toksik pada asap rokok.⁸

Pada gambaran kelompok kontrol 3 dibandingkan kelompok 2, tampak kerusakan yang lebih besar pada jaringan yang terpapar rokok konvensional, dimana paparan asap rokok menginduksi jaringan paru-paru dan merusak sistem pertahanan antioksidan. Kerusakan ini akibat konstituen rokok konvensional pada enzim antioksidan. Toksik pada rokok konvensional memiliki komponen berat molekular yang lebih kecil dibanding rokok elektronik sehingga kerusakan dapat secara langsung berpengaruh pada sel imun. Aktivasi sel imun meningkatkan kejadian inflamasi.⁹

Polifenol teh hijau mencari spesies oksigen reaktif (ROS) dengan menghasilkan radikal fenolik yang lebih stabil. Efek perlindungan dikaitkan dengan kapasitas antioksidan, dan kemungkinan karena sumbangan hidrogen oleh polifenol teh hijau. Ekstrak teh hijau juga mencegah kematian sel yang diinduksi H₂O₂. Selain meningkatkan aktivitas antioksidan plasma, polifenol teh hijau juga dapat menekan penanda stres oksidatif *in vivo*. Polifenol teh hijau juga menghambat penanda stres oksidatif yang bersifat sekunder terhadap respons peradangan. Polifenol teh hijau menghambat peradangan yang dimediasi neutrofil.¹⁰

Perubahan yang terjadi pada histopatologi paru-paru secara signifikan dapat dikurangi dengan pemberian ekstrak teh hijau. Sebagian besar efek menguntungkan dari teh hijau dikaitkan dengan kehadiran polifenol. Polifenol ini terutama terdiri dari katekin dan turunan katekin, termasuk epigallocatechin-3-

gallate (EGCG), epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC), epicatechin gallate (ECG) dan galocatechin gallate.¹¹ Polifenol teh hijau mempercepat reaksi pro-oksidan. Suntikan intraperitoneal dengan polifenol teh hijau, telah terbukti meningkatkan kadar enzim antioksidan fase II dalam hati tikus termasuk glutathione peroksidase dan reduktase, glutathione-S-transferase (GST), katalase, *quinone reduktase*, dan superoksida dismutase. Hal ini menyoroti kompleksitas mekanisme oksidatif *in vivo*, karena enzim antioksidan fase II merespons stres oksidatif yang disebabkan oleh polifenol untuk mengembalikan keseimbangan.^{10,12}

Pada Azza *et al* (2012) bagian paru-paru tikus yang diberikan paparan nikotin lalu diberikan ekstrak teh hijau setelah dua minggu perlakuan menunjukkan beberapa perbaikan dalam struktur paru-paru. Ini dimanifestasikan oleh penampilan yang hampir normal dari sebagian besar kantung udara dan septa interalveolar karena penurunan penebalan septa interalveolar dan sebagian besar kantung udara kembali ke bentuk dan ukuran normal.¹³ Fokus infiltrasi inflamasi pada septa interalveolar juga masih terdapat. Hal serupa ditemukan pada Chan *et al* (2009) bahwa Chinese green tea (Lung Chen) mungkin menangkap beberapa mekanisme berbahaya dari cedera paru-paru melalui perlindungan sel dan jaringan dari kerusakan oksidatif dengan mengikat radikal bebas oksigen yang dihasilkan dari paparan, dimana tampak penurunan aktivitas superoksida dismutase (SOD) dan katalase pada paru-paru mencit yang diberikan paparan rokok. Sama seperti penelitian ini, ekstrak teh hijau dapat memberikan pengaruh perubahan struktur histologi paru-paru pada tikus putih.¹⁴

Dibandingkan dengan morfologi normal hati, paru-paru, dan ginjal tikus pada kelompok kontrol, pemaparan jangka panjang pada tikus pada uap rokok elektronik, menghasilkan respon inflamasi pada paru-paru. Perubahan ini melibatkan peradangan interstitial yang melibatkan limfosit dan sel plasma di paru-paru. Dibandingkan dengan kelompok kontrol, pemberian teh hijau itu sendiri tidak menginduksi apoptosis di paru-paru tikus. Uap rokok hanya menyebabkan apoptosis di bagian

paru-paru.

Pada pemeriksaan jaringan paru-paru yang diberikan paparan uap rokok elektronik dan ekstrak teh hijau menunjukkan pada dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB secara signifikan mengurangi kerusakan jaringan paru-paru. Secara lebih spesifik, setiap dosis pun memperlihatkan perbedaan yang. Setelah diberikan perlakuan yaitu pemberian teh hijau dengan dosis 50 mg/kgBB, gambaran histopatologi paru-paru yang ditemukan adalah masih terdapat infiltrasi sel radang, destruksi septum alveolar masif dan masih ada edema paru meskipun minimal. Pemberian ekstrak teh hijau dengan dosis 100 mg/kgBB menunjukkan infiltrasi sel radang yang sudah berkurang, destruksi septum minimal, meskipun masih ada kongesti tidak terdapat lagi edema paru. Pada dosis 200 mg/kgBB, gambaran histopatologi paru tampak destruksi septum alveolar dan infiltrasi sel radang minimal dibandingkan kelompok P2 dan masih terdapat kongesti. Sehingga pada penelitian ini, tampak injeksi rutin ekstrak teh hijau dengan dosis 200 mg/kgBB menunjukkan efikasi yang lebih tinggi dibandingkan dosis lainnya.

Hal serupa terdapat pada El-Safty *et al* (2014), dilakukan penelitian terhadap tikus putih yang diinjeksikan bleomisin dan di berikan ekstrak teh hijau dengan dosis yang sama yaitu 50 mg/kgBB, 100 mg/kg BB dan 200 mg/kgBB selama 1 bulan memberikan efek protektif pada jaringan paru tikus putih dimana tidak terjadi fibrosis.¹⁵ Dosis teh hijau yang digunakan pada penelitian lain yaitu pada Shekarforoush *et al* (2013) tentang pemberian ekstrak teh hijau pada tikus wistar yang mengalami hepatotoksik akibat thioacetamid menggunakan ekstrak teh hijau dalam dosis rendah yaitu 50 mg/kgBB, 100 mg/kg BB dan 200 mg/kgBB didapatkan hasil yang signifikan dimana teh hijau bersifat protektif, pada dosis 200 mg/kgBB.¹⁶ Ekstrak teh hijau secara signifikan meningkatkan relaksasi otot jantung internal pada dosis 200 mg/kgBB yang injeksikan secara intraperitoneal selama 3 bulan (Wang *et al*, 2016).¹⁷ Hal ini tercermin pada hasil penelitian dimana pada dosis 200 mg/kgBB terdapat perubahan yang signifikan pada perubahan struktur paru-paru yang dipapar uap rokok elektronik.

Simpulan

Terdapat pengaruh pemberian paparan uap rokok elektronik terhadap gambaran histopatologis paru-paru tikus putih (*Ratus novergicus*) galur *Sprague dawley*. Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak teh hijau pada dosis 50 mg/kgBB namun terdapat pengaruh pemberian ekstrak teh hijau pada dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB terhadap perubahan gambaran histopatologis paru-paru tikus putih (*Ratus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang dipapar uap rokok elektronik.

Daftar Pustaka

1. World Health Organization. WHO report on the global tobacco epidemic 2017 Country profile: Indonesia. Retrieved from http://who.int/tobacco/surveillance/policy/country_profile/jpn.pdf?ua=1; 2017.
2. Villanti, A. C., et al. Flavored Tobacco Product Use in Youth and Adults: Findings From the First Wave of the PATH Study (2013–2014). *American Journal of Preventive Medicine*. 2017;53(2):139-51.
3. Carnevale, R., et al. Acute Impact of Tobacco vs Electronic Cigarette Smoking on Oxidative Stress and Vascular Function. *Chest*. 2016;150(3): 606–12.
4. Lerner, C. A., et al. Vapors produced by electronic cigarettes and E-juices with flavorings induce toxicity, oxidative stress, and inflammatory response in lung epithelial cells and in mouse lung. *PLoS ONE*. 2015;10(2): 1–26.
5. Pisinger, C. A systematic review of health effects of electronic cigarettes. *Preventive Medicine*. 2014;69: 248–60.
6. Husari, A., Shihadeh, A., Talih, S., Hashem, Y., El SaBBan, M., & Zaatari, G. Acute Exposure to Electronic and Combustible Cigarette Aerosols: Effects in an Animal Model and in Human Alveolar Cells. *Nicotine and Tobacco Research*. 2016;18 (5): 613–19.
7. Reygaert, W. An Update on the Health Benefits of Green Tea. *Beverages*. 2017;3 (1): 6.
8. Triana, N., Ilyas, S., & Hutahean, S. Gambaran Histopatologi Pulmo Mencit Jantan (*Mus musculus L.*) setelah Dipapari

- Asap Rokok Elektrik. *Saintia Biologi*. 2013;1(3): 1–7.
9. Al-Awaida, W., Akash, M., Aburubaiha, Z., Talib, W. H., & Shehadeh, H. Chinese green tea consumption reduces oxidative stress, Inflammation and tissues damage in smoke exposed rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2014;17(10): 740–46.
10. Forester, S. C., & Lambert, J. D. Antioxidant effects of green tea. *Mol Nutr Food Res*. 2013;55(6): 844–54.
11. Hsu, Y., Tsai, C., Chen, W., Huang, C., & Yen, C. A subacute toxicity evaluation of green tea (*Camellia sinensis*) extract in mice. *Food and Chemical Toxicology*. 2011;49(10): 2624–30.
12. Reddy, M. A., Kumar, B. K., Boobalan, G., M. Kasi Reddy, C. S. V., Kumar, S., Reddy, A. G., & Lakshman, M. Hepatoprotective Potential of Green Tea Extract against Experimental Hepatotoxicity in Rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2017; 79(1): 58–64.
13. Azza MG, Aliaa MI, Nahed SB, & Sherin MM. Role of green tea on nicotine toxicity on liver and lung of mice: Histological and morphometrical studies. *African Journal of Biotechnology*. 2012;11(8): 2013–25.
14. Chan, K. H., Ho, S. P., Yeung, S. C., So, W. H. L., Cho, C. H., Koo, M. W. L., Mak, J. C. W. Chinese green tea ameliorates lung injury in cigarette smoke-exposed rats. *Respiratory Medicine*. 2009;103(11): 1746–54.
15. El-Safti, F. A., Zolfakar, A. S., El-Sherif, N. M., & Alafify, A. S. A. Effect of Green Tea Extract on Experimentally Induced Lung Fibrosis in Adult Male Albino Rat. *Journal of American Science*. 2014;10(8): 234–47.
16. Shekarforoush, S., Aghababa, H., Azizi, M., Changizi-Ashtiyani, S., Zarei, A., et al. A Comparative Study on the Effects of Glutathione and Green Tea Extract (*Camellia sinensis* L.) on Thioacetamide-induced Hepatotoxicity in Male Adult Wistar Rats. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 2013;16(7): 21–5.
17. Wang, X., Zhang, Z., Wu, G., Nan, C., Shen, W., Hua, Y., & Huang, X. Green tea extract catechin improves internal cardiac muscle relaxation in RCM mice. *Journal of Biomedical Science*. 2016;23(51):1–8.