

HASIL PENELITIAN

EKSPRESI GEN *CYP19* AROMATASE, ESTROGEN, ANDROGEN PADA PENDERITA PERIODONTITIS AGRESIF

Dahlia Herawati*, Sri Kadarsih**, Wayan T. Artama***, dan Suryono*

*Bagian Periodosia, FKG UGM

**Bagian Faal, FK UGM

***Bagian Bio Kimia, FKH UGM

ABSTRAK

Kepadatan tulang tubuh ditentukan oleh gen *CYP19* aromatase, hormon estrogen dan androgen. Pada periodontitis agresif terjadi perkembangan cepat kerusakan tulang alveolar, dan kerusakan tulang alveolar tersebut tidak diimbangi oleh regenerasi tulang. Tujuan penelitian ini adalah menunjukkan ekspresi gen *CYP19* aromatase, estrogen, androgen pada penderita periodontitis agresif agar dapat untuk menjadi pertimbangan pada saat melakukan perawatan periodontal.

Metode penelitian, pemeriksaan ekspresi gen aromatase *CYP19* berasal dari spesimen tulang alveolar menggunakan imunohistokimia, pengukuran hormon estrogen dan androgen dari serum menggunakan Vidas: Elfa.

Hasil penelitian ekspresi gene *CYP19* aromatase pada periodontitis agresif menunjukkan gambaran lebih rendah densitasnya dibandingkan pada nonperiodontitis. Estrogen dan androgen pada periodontitis agresif ada kecenderungan lebih rendah dibandingkan pada nonperiodontitis.

Kesimpulan regenerasi tulang alveolar pada periodontitis agresif terhambat karena sedikitnya gen *CYP19* aromatase dan hormon estrogen dan androgen yang berperan pada pembentukan tulang alveolar kurang memadai. *Maj Ked Gi*, Juni 2010; 17(1): 1-10

Kata kunci: Gen *CYP19* Aromatase, Estrogen, Androgen, Periodontitis Agresif

ABSTRACT

The body bone density is determined by the gene CYP19 of aromatase, estrogen hormone and androgen. the occurred of developments rapid has alveolar bone destruction at the aggressive periodontitis, and destruction of alveolar bone is not balanced by regeneration of bone. The purpose of this study is the expression gene CYP19 of aromatase, estrogen, androgen in patients with aggressive periodontitis for to be a consideration during doing periodontal treatment.

Research methods, examination of CYP19 aromatase gene expression derived from alveolar bone specimens using immunohistochemistry, estrogen hormone measurements and androgen from serum using the Vidas: Elfa.

The result of the research CYP19 aromatase gene expression at aggressive periodontitis showed lower density compare on nonperiodontitis. Estrogen and androgen in aggressive periodontitis have a lower tendency compare on nonperiodontitis.

Conclusion alveolar bone regeneration in aggressive periodontitis hampered due to by at least CYP19 aromatase gene and estrogen hormone and androgen that play a role at alveolar bone formation is inadequate. Maj Ked Gi, Juni 2010; 17(1): 1-10

Key words: Genes *CYP19* Aromatase, Estrogen, Androgen, Aggressive Periodontitis

PENDAHULUAN

Periodontitis adalah inflamasi pada periodontium yang meluas melalui gingiva dan menimbulkan kerusakan jaringan ikat pelekatan dengan gigi. Kerusakan periodontal jelas secara klinis selama dewasa atau awal masa dewasa dikenal sebagai periodontitis agresif.¹ Lesi periodontitis agresif sering ditandai oleh hilangnya pelekatan ligamen periodontal yang cepat. Kasus ini dideteksi secara klinis melalui kecepatan dan keparahan hilangnya tulang alveolar sesudah dilakukan perawatan periodontitis. Lepasnya pelekatan ligamen periodontal yang parah biasanya dihubungkan dengan terjadinya kedalaman probing sebesar 7 mm atau lebih, hilangnya tulang alveolar parah yang terjadi sampai pada furkasi atau kehilangan tulang alveolar secara radiografik lebih dari 50%, pada usia

muda.^{2,3} Pola kerusakan tulang alveolar berbentuk angular dan vertikal didapatkan sekitar molar pertama dan insisivus pertama. Kerusakan tulang yang terlokalisir pada tipe penyakit periodontal tersebut tidak diketahui penyebabnya.⁴

Periodontitis agresif dibedakan dari periodontitis kronis terutama pada:

- 1) kecepatan perkembangan penyakit meskipun individu sehat secara umum; 2) akumulasi plak dan kalkulus tidak banyak; dan 3) riwayat keluarga ada juga yang menderita penyakit periodontal agresif, hal ini kemudian mendukung adanya sifat genetik pada periodontitis agresif.⁵ Penyakit dengan kejadian bersamaan dalam suatu keluarga merupakan satu refleksi dari pengaruh genetik yang kuat. Sejumlah studi menunjukkan bahwa periodontitis agresif bisa terjadi lebih dari satu orang dalam satu keluarga.

Periodontitis agresif dibedakan menjadi lokal dan general.^{6,3} Periodontitis agresif general lebih banyak dijumpai di klinik seperti yang dilaporkan bahwa di Amerika prevalensi periodontitis agresif lokal dari populasi adolescent diperkirakan kurang dari 1%, prevalensi terendah sekitar 0,2%. Pada periodontitis agresif general di Sri Lanka didapatkan 8% dari populasi penyakit periodontal yang diperiksa.⁽⁷⁾

Bakteri plak pada periodontitis agresif general seperti *Porphyromonas gingivalis* dan *Prevotella* merupakan bakteri anaerob Gram-negatif, adapun *Actinobacillus actinomycetemcomitans* merupakan bakteri fakultatif Gram-negatif. Bakteri Gram-negatif melepaskan lipopolisakarida (LPS) berasal dari dinding sel dan dilepaskan saat bakteri lisis.⁸ Tindakan scaling & root planing merupakan tindakan awal dari fase terapi penyakit periodontal, yaitu tindakan non-bedah untuk menghilangkan deposit pada permukaan gigi. Tindakan tersebut untuk menghilangkan LPS sehingga dapat menghentikan kerusakan tulang alveolar.⁹

Tulang secara tetap mengalami proses remodeling. Dalam *remo-delung*, tulang diresorpsi terutama pada permukaan, dan diikuti dengan fase pembentukan tulang. Pada dewasa normal, ada keseimbangan antara sejumlah tulang yang diresorpsi oleh osteoklas dan sejumlah tulang yang dibentuk oleh osteoblas.¹⁰

Androgen dan estrogen merupakan hormon penting dalam mengatur homeostasis tulang, demikian juga pada dimorfisma seksual yang mempengaruhi pertumbuhan dan pemeliharaan tulang. Meskipun estrogen dan androgen dipercaya mempunyai efek langsung pada tulang, beberapa androgen diaromatisasi menjadi estrogen, menimbulkan asumsi bahwa efek skeletal yang sebelumnya diduga disebabkan oleh androgen sebenarnya disebabkan oleh estrogen.¹¹ Sebanyak 20-30% laki-laki tua mengalami defisiensi testosteron atau androgen dibandingkan lelaki muda.¹²

Biosintesis estrogen ekstrasgonadal berhubungan dengan metabolisme tulang. Aromatase suatu enzim sitokrom P450 terlibat dalam konversi steroid androgenik menjadi estrogen telah dibuktikan ada dalam tulang, dugaan kuat bahwa ekspresi aromatase dalam jaringan memainkan peran penting pada osteoporosis baik pada pasca menopausal maupun pada pria.¹³

Aromatase dikode oleh gen tunggal, *CYP19*, dapat dideteksi pada kultur osteoblas manusia dalam penelitian aromatase activity dan ekspresi gen *CYP19*. Beberapa studi menunjukkan bahwa penggunaan promotor dan pengaturan ekspresi gen aromatase dalam osteoblas adalah spesifik, berbeda pada tiap-tiap jaringan seperti plasenta, ovarium dan jaringan lemak. Pada penelitian didapatkan hasil, vitamin D dan deksametason adalah stimulator poten pada transkripsi *CPY19*.¹⁴

Pada proses remodeling terjadi mekanisme homeostasis tulang yang dilakukan oleh estrogen, androgen, gen *CYP19*, yang terdapat pada osteoblas dan estrogen dan androgen dalam darah. Pada periodontitis agresif general, kerusakan tulang alveolar pendukung gigi lebih dari 50% dan terjadi pada usia yang relatif muda. Stimulator paling poten terhadap gen *CYP19* pada kultur osteoblas adalah vitamin D dan deksametason.

Dari uraian di atas maka permasalahan yang diajukan adalah:

Bagaimanakah profil ekspresi gen *CYP19*, dari kultur osteoblas periodontitis Agresif general pada tanpa stimulasi dan setelah stimulasi menggunakan vitamin D, deksametason, vitamin D + deksametason?

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui suatu model mekanisme pengaturan homeostasis tulang alveolar yang melibatkan *CYP19*, estrogen, dan androgen pada periodontitis agresif
2. Mengetahui profil ekspresi gen *CYP19*, kadar estrogen, kadar androgen pada periodontitis agresif

Tujuan khusus penelitian adalah

Mengukur kepadatan gen *CYP19*, banyaknya estrogen, androgen pada periodontitis agresif general.

Dengan melakukan penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi:

Melengkapi informasi ilmiah mengenai peran *CYP19*, estrogen, dan androgen pada kehilangan tulang alveolar periodontitis agresif general, dan aplikasi klinis Untuk keperluan diagnosis dan perawatan periodontitis agresif.

TINJAUAN PUSTAKA

1. Periodontitis Agresif

Periodontitis didefinisikan sebagai penyakit inflamatori pada jaringan periodontal, yang disebabkan oleh mikroorganisme atau sekelompok mikroorganisme spesifik, akibatnya adalah terjadi kerusakan progresif pada ligamen periodontal dan tulang alveolar, dengan membentuk poket, resesi gingiva atau keduanya.⁵ Sekelompok mikroorganisme yang banyak dijumpai pada periodontitis kronis adalah *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *C. rectus*, *E. corrodens*, *F. nucleatum*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. micros*, *Treponema*, dan spesies *Eubacterium*.¹⁵ Pada bentuk umum periodontitis yaitu periodontitis kronis, kerusakan jaringan yang terjadi berkorelasi dengan banyaknya faktor penyebab lokal berupa plak, kalkulus gigi dengan berbagai macam bakteri.¹⁶

Plak merupakan bakteri dalam matriks glikoprotein saliva dan polisakarida ekstraseluler.¹⁵

Patogenesis periodontitis dimulai oleh bakteri yang melepaskan lipopolisakarida (LPS), selanjutnya LPS mengaktifkan sel inflamatori, berakibat pada pelepasan sitokin dan faktor lokal. Faktor-faktor ini dapat beraksi menstimulasi aktivitas langsung pada osteoklas dan preosteoklas, sehingga terjadilah peningkatan kelompok sel osteoklas yang berfungsi untuk meresorpsi tulang. Pada waktu yang sama, komponen bakteri dan mediator inflamatori beraksi langsung pada osteoblas atau progenitorinya, terjadilah penurunan fungsi osteoblas tersebut, akhirnya terjadi kehilangan pelekatan jaringan periodontal dan gigi, meliputi tulang alveolar dan jaringan ikat.¹⁰

Pada AAP (*American Academic of Periodontics*) *International Workshop for Classification of Periodontal Disease* tahun 1999, ditetapkan klasifikasi periodontitis menjadi periodontitis kronis, periodontitis agresif, dan periodontitis sebagai manifestasi penyakit sistemik.⁵ Perkembangan periodontitis bisa lambat sampai sedang, tapi dapat juga terjadi perkembangan yang cepat.¹⁶ Periodontitis yang berkembang cepat dan mengakibatkan kerusakan hebat pada usia muda disebut dengan periodontitis agresif. Serangan pada periodontitis agresif lokal seputar pubertas, sedangkan periodontitis agresif general pada usia kurang dari 30 tahun. Lain halnya periodontitis kronis paling sering pada usia dewasa meskipun bisa terjadi pada anak-anak, rata-rata usia lebih dari 35 tahun.⁶ Periodontitis kronis karena perkembangannya lambat biasanya gambaran klinis baru dimulai pada usia 30 tahun.⁷

Pasien dengan periodontitis agresif lokal pada pemeriksaan radiografis menunjukkan gejala hilangnya tulang alveolar pada daerah interproksimal, tidak lebih dari dua gigi permanen yaitu molar pertama dan insisivus. Kehilangan pelekatan pada interproksimal secara menyeluruh didapat pada pasien periodontitis agresif general, paling sedikit tiga gigi permanen selain molar pertama dan insisivus.^{6,3} Periodontal patogen pada periodontitis agresif lokal adalah *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, neutrofil berfungsi abnormal, antibodi serum menunjukkan respon kuat. Pada periodontitis agresif general sering dihubungkan dengan adanya *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan *Porphyromonas gingivalis*, serta fungsi neutrofil abnormal.¹⁸ Beberapa pasien yang pada diagnosis awal periodontitis agresif lokal pada pemeriksaan enam tahun kemudian menjadi periodontitis agresif general dan lainnya menjadi sehat.⁶

Hilangnya tulang alveolar dan pelekatan ligamen periodontal parah pada periodontitis agresif terjadi meskipun: 1) faktor penyebab lokal adalah minimal; 2) hilangnya tulang dan pelekatan ligamen periodontal sangat parah (50% pada gigi berakar lebih dari satu) meskipun hanya ada sedikit plak dan kalkulus; 3) usia pasien kurang dari 35 tahun; 4) ada

riwayat periodontitis terus berkembang meskipun sebelumnya telah dilakukan perawatan yang cukup memadai; 5) adanya faktor risiko sistemik seperti riwayat keluarga diabetes, lepasnya gigi lebih awal dan lain-lain.²

2. Resorpsi dan remodeling tulang alveolar

Di dalam tulang didapatkan dua tipe sel utama yaitu osteoblas dan osteoklas. Osteoblas berfungsi mensintesis komponen matriks organik dan mineralisasi, sedangkan osteoklas berfungsi meresorpsi mineral dan matriks organik. Rangkaian proses, remodeling dan pemeliharaan tulang berlangsung selamanya pada makhluk hidup.¹⁰ Osteoblas adalah sel yang menjadi posisi sentral dalam metabolisme tulang, mempunyai banyak fungsi yaitu mensintesis matriks organik dalam tulang dan berpartisipasi dalam mineralisasi. Oleh karena mempunyai fungsi ganda, osteoblas di bawah kontrol hormon seperti hormon paratiroid (PTH), 1,25-dihydroxyvitamin D3 [1,25-(OH)2D3], estrogen, hormon pertumbuhan, dan tiroksin.²

Tulang dibangun melalui pengaturan atau sebagai respon dari suatu rangsangan, yang mekanisme kerjanya ditentukan oleh efek hormon. Teori tersebut didasarkan atas sejumlah mekanisme yang digunakan tulang bisa meningkat atau menurun, signal endogenous dibangkitkan dalam tulang untuk menstimulasi pembentukan maupun resorpsi tulang.⁹

Remodeling tulang, diatur oleh hormon sistemik dan lokal, untuk mempertahankan massa tulang. Salah satu hormon, estrogen, mempengaruhi metabolisme tulang, terjadi baik pada wanita maupun pada pria.^{11,20}

3. Estrogen dan Androgen

Ovarium menghasilkan estrogen dan androgen.²¹ Sebagian besar estrogen disekresi oleh ovarium, meskipun demikian ada yang disekresi oleh korteks adrenal yaitu yang dibentuk dalam jaringan perifer androgen, dan sel *thecal ovarian*.²²

Estrogen berperan dalam homeostasis mineral tulang, melalui cara mempertahankan keseimbangan antara pembentukan dan resorpsi tulang baik pada laki-laki maupun wanita.²³ Peranan sentral estrogen dalam homeostasis skeletal didapatkan dari hasil penelitian bahwa defisiensi estrogen lebih menyebabkan gangguan skeletal pada *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) agonist dibandingkan defisiensi testosterone atau androgen.²⁴ Studi observasional mendemonstrasikan bahwa kadar estrogen dalam serum diprediksi lebih menaikkan densitas mineral tulang pada laki-laki daripada kadar testosterone serum.²⁵

Androgen tidak hanya menghambat osteoklastogenesis tetapi juga menaikkan pembentukan tulang kortikal dengan menstimulasi pembentu-

kan tulang periosteal. Pemberian testosteron natural secara intramuskular terlihat efektif untuk tulang manusia. Aromatisasi androgen menjadi estrogen dan stimulasi reseptor estrogen skeletal lebih penting untuk maturasi dan mempertahankan tulang pada manusia.²⁶ Androgen diubah menjadi estrogen oleh enzim aromatase, terbukti dalam suatu penelitian pemberian aromatase inhibitor menyebabkan hilangnya tulang dengan cara merendahkan kadar estrogen endogenous.²⁷

Sel *line* osteoblas memiliki enzim penting untuk sintesis dan metabolisme estrogen.²⁸ Dari hasil penelitian didapatkan bahwa sel osteoblastik mempunyai aktivitas aromatase yang diatur oleh glukokortikoid dan langsung mengubah androgen menjadi estrogen.²⁹ Tulang merupakan sumber ekstraseluler dari estrogen lokal yang memainkan peran penting dalam metabolisme mineral tulang melalui aksi aurokrin dan parakrin.²³ Serum adrenal androgen bisa berubah menjadi estrogen dalam organ perifer, terutama osteoblas dan menjadi steroid penting untuk mempertahankan BMD.³⁰

4. Gen *CYP19* Aromatase

Aromatase P450 dalam tulang merupakan enzim yang mengaromatisasi androgen menjadi estrogen.²⁶ Enzim aromatase mengubah androgen menjadi estrogen, dibuktikan dengan memberikan aromatase inhibitor menyebabkan hilangnya tulang dengan menurunkan kadar estrogen endogenous.²⁷

Enzim aromatase kompleks terdiri dari bentuk spesifik sitokrom P450 dan flavoprotein NADPH-reduktase yang mengkatalisis konversi dari Δ^4 -3-one ring A dari androgen menjadi ring A fenolik tipikal dari estrogen. Aktivitas enzim aromatase dan hubungannya dengan mRNA telah ditunjukkan dalam kultur sel *osteoblast-like* human dari tulang dewasa dan fetal, dengan asumsi bahwa estrogen dihasilkan secara lokal pada tulang. Glukokortikoid, $1\alpha,25$ -dihidroxyvitamin D_3 dan khemokin, mengontrol aktivitas aromatase dan mRNA dalam tulang. Dalam *osteoblast-like* dan osteoklas, promoter utama didapatkan pada exon 1.4. Pada jaringan yang berbeda menggunakan promoter yang berbeda pula.¹¹

Aromatase dikode oleh gen *CYP19*, *cytochrome pseudogene 19*, berlokasi pada kromosom 15q21.2.^{31,32} Enzim sitokrom P450 penting dalam metabolisme bersifat oksidatif, peroksidatif dan reduktif dari bermacam-macam senyawa seperti steroid.³² Aktivitas aromatase dan ekspresi gen *CYP19* dideteksi pada kultur osteoblas. Pada kultur *osteoblast human* transkrip *CYP19* meningkat pada stimulasi menggunakan vitamin D, deksametason, 17β -estradiol dan testosteron. Sementara interleukin 1β atau *tumor necrosis factor* menurunkan transkrip *CYP19*, menurut Enjuanes dkk. (2003). Vitamin D dan deksametason adalah stimulator kuat terhadap transkrips *CYP19*, sementara testosteron dan

17β -estradiol menstimulasi secara moderat.¹⁴

Penelitian *in vivo* menunjukkan bahwa aromatase dalam sel tulang berhubungan dengan osteoporosis pada wanita pasca menopausal dan didapatkan bukti kuat bahwa serum adrenal androgen bisa diubah menjadi estrogen dalam organ perifer, terutama pada osteoblas dan menjadi steroid penting untuk mempertahankan *bone mineral density* (BMD).³⁰

METODE PENELITIAN

Penelitian eksperimental mengukur kadar gen *CYP19* tulang alveoler, kultur osteoblas dan kadar estrogen, androgen, dari darah penderita periodontitis agresif general. Sebagai pembandingan dilakukan pengukuran yang sama pada kondisi normal/non-periodontitis. Jalan penelitian:

1. Pemilihan subjek penderita periodontitis agresif dan non periodontitis

Penderita periodontitis agresif general, pada Rontgen photo ada kerusakan tulang alveoler lebih 50% dari akar gigi, usia antara 20-35 tahun, 6 orang. Subjek non-periodontitis, usia antara 20-35 tahun, 6 orang, minimal satu orang memiliki gigi impaksi molar ketiga indikasi untuk dilakukan odontektomi.

2. Pembuatan kultur osteoblas dan stimulasi vitamin D, deksametason, vitamin D + deksametason.

Cara kerja

- 1) Serpihan tulang dari alveoler yang di bedah flap dikumpulkan, dicuci 3x menggunakan salin pada suhu kamar
- 2) Pada petridish tulang direndam dalam media Hams's F-12, yang ditambah dengan 12% FBS, penicillin, dan streptomycin sulfate (100 μ g/ml). Tulang dapat disimpan 1 malam dalam 4°C.
- 4) Keesokan harinya, cucilah tulang dengan Tyroide's solution, penicillin (100 μ /ml) dan Streptomycin sulfate (100 μ g/ml).
- 5) Diletakkan tulang di cawan petri, dan dengan scalpel dan forceps, lepaskan trabeculae dan letakkan di cawan petri yang lain.
- 6) Ditambahkan 10 ml larutan Tyrode sampai darah bersih dan lemak bersih/hilang.
- 7) Untuk merangsang explant, siapkan flask 25 cm² dengan pre inkubasi dari flask. Berisi 2 ml medium lengkap selama 20 menit, pH dibuat menjadi 7,2.
- 8) Trabeculae dipotong-potong 1-3 mm.
- 9) Ambil medium yang di preinkubasi dari flask, dan tambahkan 2.5 ml Ham.s F-12 medium ke dalam flask. Pindahkan antara 25 dan 40 fragmen + trabeculae ke dalam flask.
- 10) Dengan flask letak upright, bagikan eksplan rata

dalam cawan-cawan dengan melalui tepi flask.

- 11) Diamkan flask dalam berdiri dalam 37°C selama 15 menit.
- 12) Pelan-pelan flask didirikan secara horizontal. Eksplan akan menempel di dasar dari flask.
- 13) Biarkan flask dalam kedudukan horizontal dalam 37°C selama 5-7 hari. Setelah periode tersebut, cek perkembangan sel-sel yang diluar eksplan, dan ganti medium dengan medium baru. Untuk supaya eksplan tidak lepas, flask dibawa dengan vertikal dan pelan-pelan dari inkubator ke hood ataupun mikroskop.
- 14) Untuk kultur tetap tumbuh, ganti medium 2x seminggu.
- 15) Jika sudah konfluen eksplan diambil, dan lapisan sel dilapisi dengan tripsin, disentrifuge dan sel ditanam dalam sumuran atau flask.

3. Pemeriksaan *CYP19* menggunakan imunohistokimia :

a) Kultur Osteoblast

- 1) Kultur sel difiksasi metanol, dibilas aquadest, 2) direndam H₂O₂ 3% , 5-10 menit, 3) dicuci aquadest, 4) ditambah blocking normal serum dengan Background erase selama 10-15 menit, 5) dicuci dengan PBS, 6) ditambah antibodi primer dengan *CYP19*, 7) dicuci dengan PBS, 8) ditambah Trekkie universal/Biotin, inkubasi 20 menit, 9) dicuci dengan PBS, 10) ditambah TrekAvidin-HRP Label, inkubasi 10 menit, 11) dicuci dengan air kran, 12) ditambah substrat DAB, inkubasi selama 5 menit, 13) dicuci dengan air kran, keringkan di udara, 14) ditetesi dengan HE/Hematoxilin, inkubasi 1 menit, 15) dibilas dengan alkohol, dikeringkan di udara.

b) Melalui Tulang Alveoler

- a. Tulang alveoler dilunakkan, ditambahkan asam nitrat 10%, selama 2 jam, dicuci menggunakan air
- b. Ditambahkan buffer formalin 6 jam
- c. Dilanjutkan dengan proses menggunakan alkohol bertingkat, 50%-70%-80%, 95% masing-masing 1,5 jam sebanyak 2x
- d. dimasukkan dalam parafin, blok, dipotong-potong ditempelkan pada objek glass yang sudah diberi polietilen, pengecatan Imunohistokimia

Kepadatan gen *CYP19*, dinilai dengan densitas warna, kriteria:

- (-) : tidak terlihat adanya warna, diberi skor 1
- (+) : Terdapat densitas warna lemah, diberi skor 2
- (++) : Terdapat densitas warna sedang, diberi skor 3
- (+++): Terdapat densitas warna pekat, diberi skor 4

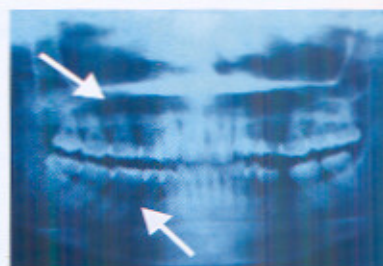
4. Pemeriksaan estrogen dan androgen dari serum

- a. 3 cc darah tepi ditempatkan dalam refrigerator
- b. Disentrifuge 3000 rpm selama 10 menit dilakukan 2x

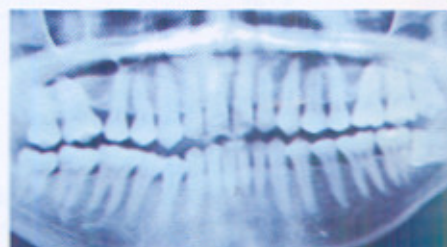
- c. Diambil serum 200 µl ditambah reagen masing-masing estrogen/testosteron dalam strep
- d. Dimasukkan dalam Vidas: Elfa
- e. Hasil dapat dibaca.

HASIL PEMBAHASAN

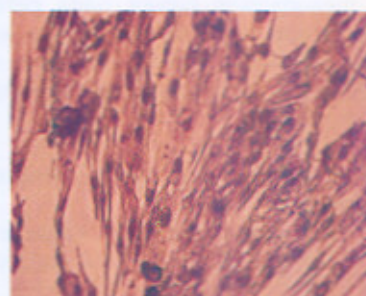
Hasil Penelitian



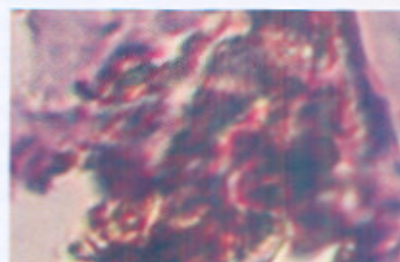
Gambar 1. Gambaran radiologis periodontitis agresif, tanda panah menunjukkan lokasi kerusakan tulang alveoler



Gambar 2. Tulang alveoler pendukung gigi pada nonperiodontitis



Gambar 3. Imunohistokimia gen *CYP19* periodontitis agresif dari kultur osteoblast; skor 2



Gambar 4. Imunohistokimia gen *CYP19* non-periodontitis; skor 4

Tabel 1. Hasil pemeriksaan Gen *CYP19*, estrogen, androgen darah perifer penderita periodontitis agresif dan nonperiodontitis

Periodontitis agresif			Non-Periodontitis		
Gen <i>CYP19</i>	Estro* pg/ml	Andro** mg/ml	Gen <i>CYP19</i>	Estro* pg/ml	Andro** mg/ml
Imuno-histo-kimia Osteoblas	Darah perifer		Imuno-histo-kimia Osteoblas	Darah perifer	
1. Sedikit, berpen-car : skor 2	-	-	Padat, meng-ger-ombol: skor 4	-	-
2. -	23,175 ± 8,54	-	-	30,92 ± 9,17	-
3. -	-	5,87 ± 1,99	-	-	7,29 ± 1,88

* Estradiol, n = <62 pg/ml

** Testosteron, n = 3,0-10,6 mg/ml

PEMBAHASAN

1. Profil ekspresi gen *CYP19* osteoblas periodontitis agresif general pada tanpa stimulasi.

Pemeriksaan ekspresi gen *CYP19* osteoblas diambil dari tulang alveoler penderita periodontitis agresif dan non periodontitis, diperiksa secara histokimia, menunjukkan bahwa pada periodontitis agresif ada gambaran bercak gelap yang jarang sedangkan pada nonperiodontitis gambaran ekspresi gen *CYP19* menggerombol dan padat yang berarti lebih banyak.

2. Profil kadar estrogen, androgen darah periodontitis agresif general.

Untuk mengetahui profil kadar estrogen, androgen darah periodontitis agresif perlu diperiksa juga profil kadar estrogen dan androgen tersebut pada non periodontitis. Pada pemeriksaan serum menggunakan Vidas, Elfa menunjukkan adanya kecenderungan baik kadar estrogen maupun androgen rendah pada periodontitis agresif dibandingkan pada nonperiodontitis (Rerata: estrogen pada periodontitis agresif = 25,54, nonperiodontitis = 29,72; androgen pada periodontitis agresif 5,14, nonperiodontitis = 7,23). Hal ini ada dua kemungkinan, pertama, estrogen darah telah diambil untuk kebutuhan kekurangan estrogen pada tulang dalam hal ini tulang alveoler. Kemungkinan kedua, kadar estrogen darah rendah pada penderita periodontitis agresif sudah terjadi sejak awal, sehingga kerusakan tulang alveoler yang disebabkan oleh bakteri, tulang alveoler tidak dapat

meregenerasi menggantikan yang rusak. Demikian juga halnya androgen, lebih rendah pada periodontitis agresif dibandingkan pada non periodontitis. Kemungkinan terlalu banyak androgen yang diubah menjadi estrogen untuk menghentikan atau meregenerasi tulang alveoler yang hilang, kemungkinan lain memang produksi androgen rendah sehingga tidak dapat meregenerasi tulang alveoler yang rusak secara optimal.

KESIMPULAN & SARAN

a. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa regenerasi tulang alveoler pada periodontitis terhambat karena

1. ekspresi gen *CYP19* lebih rendah densitasnya pada periodontitis agresif dibandingkan dengan nonperiodontitis.
2. hormon estrogen dan androgen serum ada kecenderungan darah lebih rendah pada periodontitis agresif dibandingkan pada nonperiodontitis.

b. Saran

Setelah pemeriksaan klinis, gambaran radiologis, imunohistokimia gen *CYP19*, serta pemeriksaan estrogen dan androgen dari serum darah perifer penderita maka perlu pemeriksaan lanjut yaitu estrogen dan androgen lokal yang dihasilkan oleh osteoblas kultur osteoblas untuk menguatkan hipotesis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Beck JD & Arbes SJ: Epidemiology of Gingival and Periodontal Disease. In: Newman MG, Takey HH, Klokke-vold PR, and Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology*. 10th ed. Saunders Elsevier. St Louis, 2006: 110-131.
2. Wilson TG & Kornman KS: *Fundamentals of Periodontics*. 2nd ed. Quintessence Publishing Co. Inc. Chicago, 2003: 44, 171-184, 312, 323.
3. Seiler JS & Herold RW: *The Use of Systemic Antibiotics in The Treatment of Aggressive Periodontal Disease*. *General Dentistry*. www.agd.org. 2005: 155-159.
4. Carranza FA & Takey HH: Bone Loss and Pattern of Bone Destruction. In: Newman MG, Takey HH, Klokke-vold PR, and Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology*. 10th ed. Saunders Elsevier. St Louis, 2006a: 452-466.
5. Novak MJ: Classification of Diseases and Condition Affecting the Periodontium. In: Newman MG, Takey HH, Klokke-vold PR, and Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology*. 10th ed. Saunders Elsevier, St Louis, 2006: 100-109.
6. Anonim: Periodontal Diseases in Children and Adolescent. Academy report. *J. Periodontol*, 2003; 74: 1696-1704.
7. Novak KF & Novak MJ: Aggressive Periodontitis. In:

- Newman MG, Takey HH, Klokkevold PR, and Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology*. 10th ed. Saunders Elsevier, St Louis, 2006b: 506-510.
8. Brooks GF, Butel JS, & Morse SA: Jawetz, Melnick, & Adelberg's. *Medical Microbiology*. 22nd ed., Lange Medical Books/McGraw-Hill, Medical Publishing Division, New York, 2001: 140-141.
 9. Carranza FA & Takei HH: The Treatment Plan. In: Newman MG, Takey HH, Klokkevold PR, and Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology*. 10th ed. Saunders Elsevier, St Louis, 2006b: 626-629.
 10. Schwartz Z, Goultschin J, Dean DD, & Boyan BD: Mechanism of Alveolar Bone Destruction in Periodontitis. *Periodontology* 2000, 1997; 14: 158-172.
 11. Masi L, Becherini L, Gennari L, Amodè A, Colli E, Falchetti A, Farci M, Silvestri S, Gonnelli S, & Brandi ML: Polymorphism of The Aromatase Gene in Postmenopausal Italian Women: Distribution and Correlation with Bone Mass and Fracture Risk. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001; 86: 2263-2269. [Dari joem.endojournals.org](http://www.endojournals.org) pada 21 September 2005.
 12. Vanderschueren D, Vandenput L, Boonen S, Van Herk E, Swinnen JV, & Bouillon R: An Aged Rat Model of Partial Androgen Deficiency: Prevention of Both Loss of Bone and Lean Body Mass by Low-Dose Androgen Placement. *Endocrinology*, 2000; 141: 1642-1647.
 13. Enjuanes A, Garcia-Giralt N, Supervia A, Naques X, Mellibovsky L, Carbonel J, Grinberg D, Balcells S, & Diez-Perez A: Regulation of *CYP19* Gene Expression in Primary Human Osteoblasts: Effects of Vitamin D and Other Treatments. *European Journal of Endocrinology*, 2003; 148: 519-526. <http://www.eje.org>.
 14. Enjuanes A, Garcia-Giralt N, Supervia A, Naques X, Ruiz-Gaspa S, Bustamante M, Mellibovsky L, Grinberg D, Balcells S, & Diez-Perez A: Functional Analysis of the I.3, I.6, pII and I.4 Promoters of *CYP19* (aromatase) Gene in Human Osteoblasts and Their Role in Vitamin D and Dexamethasone Stimulation. *European Journal of Endocrinology*. 2005; 153: 981-988. <http://www.eje.org>.
 15. Quirynen M, Teugels W, Haake SK, & Newman MG: Microbiology of Periodontal Diseases. In: Newman MG, Takey HH, Klokkevold PR, and Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology*. 10th ed. Saunders Elsevier, St Louis, 2006: 134-169.
 16. Nisengard RJ, Haake SK, Newman MG, & Miyasaki KT: In: Newman MG, Takey HH, Klokkevold PR, and Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology*. 10th ed. Saunders Elsevier, St. Louis, 2006: 228-250.
 17. Novak MJ & Novak KF: Chronic Periodontitis. In: Newman MG, Takey HH, Klokkevold PR, and Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology*. 10th ed. Saunders Elsevier, St Louis, 2006a: 494-499.
 18. Anonim: Parameter on Aggressive Periodontitis. Parameters of Care Supplement. *J Periodontol*, 2000; 71: 867-869. Down load 10 Agustus 2006.
 19. Garant PR: *Oral Cells and Tissues*. Quintessence Publishing Co, Inc. Chicago, 2003: 195-238.
 20. Zwemer TJ: *Boucher's Clinical Dental Terminology*. 4th ed. Mosby, Saint Louis, 1993: 261.
 21. Lea CK & Flanagan AM: Ovarian Androgen Protect Against Bone Loss in Rats Made Oestrogen Deficient by Treatment With ICI 182,780. *Journal of Endocrinology*, 1999; 160: 111-7.
 22. Guyton AC & Hall JE: *Textbook of Medical Physiology*. 11th ed., Elsevier Saunders. Philadelphia, 2006: 905-1026.
 23. Shozu M & Simpson ER: Aromatase Expression of Human Osteoblast-like Cells. *Mol Cell Endocrinol*, 1998; 139 (1-2): 117-29.
 24. Smith MR: Selective Estrogen Receptor Modulators to Prevent Treatment-Related Osteoporosis. *Rev Urol* 7(suppl 3), 2005: S30-S35.
 25. Taxel P, Kennedy DG, Fall PM, Willard AK, Clive JM, & Raisz LG: The Effect Aromatase Inhibition on Sex Steroids, Gonadotropins, and Markers of Bone Turnover in Older Man. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001; 86: 2869-2874.
 26. Vanderschueren D & Vandenput L: Androgens and Osteoporosis. *Andrologia*, 2000; 32: 125-130.
 27. Shapiro CL: Aromatase Inhibitors and Bone Loss: Risks in Perspective. *Journal of Clinical Oncology*, 2005; 23 (22): 4847-4849.
 28. Purohit A, Flanagan AM, & Reed MJ: Estrogen Synthesis by Osteoblast Cell Lines. *Endocrinology*, 1992; 131 (4): 2027-2029.
 29. Tanaka S, Haji M, Nishi Y, Yanase T, Takayanagi R, & Nawata H: Aromatase Activity in Human Osteoblast-like Osteo Sarcoma Cell. *Calcif Tissue Int*, 1993; 52 (2): 107-9.
 30. Nawata H, Tanaka S, Tanaka S, Takanayagi R, Sakai Y, Yanase T, Ikuyama S, & Haji M: Aromatase in Bone Cell: Association with Osteoporosis in Postmenopausal Women. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 1995; 53 (1-6): 165-74.
 31. Gennari L, Nuti R, & Bilezikian: Aromatase Activity and Bone Homeostasis in Men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004(a); 89: 5898-5907.
 32. Nelson DR, Koymans L, Kamataki T, Stegeman JJ, Feyereisen R, Waxman DJ, Waterman MR, Gotoh O, Coon MJ, Estabrook RW, Gunsalus IC, & Nebert DW: P450 Superfamily: Update on New Sequences, Gene Mapping, Accession Numbers and Nomenclature. *Pharmacogenetics* 6, 1996: 1-42.
 33. Santa Cruz Biotechnology Inc. 2007-2008. *Immunofluorescence Cell Staining*. Immunofluorescence Staining Protocol. www.scbt.com Down Load pada 14 Maret 2008.