

# EFEK RADIASI IONISASI TERHADAP EKSPRESI mRNA AQUAPORIN-5 KELENJAR SUBMANDIBULARIS DAN mRNA AQUAPORIN-3 GINGIVA

(Kajian pada *Rattus Norvegicus*)

Kwartarini Murdiastuti

Bagian Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada

## ABSTRAK

**Latar Belakang.** Aquaporin-5 (AQP5) di kelenjar submandibularis adalah salah satu anggota protein transmembran/aquaporins (AQPs) yang memfasilitasi gerakan saliva sehingga mampu melewati membran sel. Di gingiva juga terekspresi aquaporin-3 (AQP3) yang diperkirakan juga berperan penting untuk memfasilitasi cairan sulkus gingiva sehingga dapat melewati jaringan ini. Sampai saat ini masih sedikit sekali informasi tentang dampak penggunaan radiasi ionisasi terhadap ekspresi aquaporins (AQPs), yang mendasari terjadinya *xerostomia*.

Melalui pendekatan patologi molekuler, **penelitian ini bertujuan** untuk mengetahui efek radiasi ionisasi terhadap ekspresi mRNA *AQP5* pada kelenjar submandibula dan mRNA *AQP3* gingiva.

**Metodologi.** Penelitian dilakukan pada 20 *Rattus norvegicus* keturunan kedua, sehat, jantan, usia 3-4 bulan, berat badan  $\pm$  200 gr kemudian dibagi 2 kelompok, tanpa radiasi dan dengan radiasi  $^{60}\text{Co}$  dosis 10 gray pada ventral tikus. Pengambilan kelenjar submandibularis, dan gingiva dengan pembedahan. Seluruh sampel yang terkumpul dilakukan isolasi RNA dan dilanjutkan dengan pemeriksaan RT-PCR.

**Hasil.** Penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan gambaran ketebalan band/pita ketika dibatasi oleh primer untuk identifikasi ekspresi mRNA *AQP-5* kelenjar submandibularis tikus serta ekspresi mRNA *AQP3* gingiva tikus akibat radiasi ionisasi 10 Gy.

**Kesimpulan.** Terdapat penurunan ekspresi mRNA *AQP5* kelenjar submandibula dan mRNA *AQP3* gingiva akibat radiasi ionisasi ekspresi mRNA *AQP5* pada kelenjar submandibula dan mRNA *AQP3* gingiva. *Maj Ked Gi*, Juni 2011; 18(1): 15-20

**Kata kunci:** Xerostomia, Radiasi ionisasi, Aquaporin, Kelenjar submandibula, Gingiva

## ABSTRACT

**Back ground.** Aquaporin-5 (AQP5) in the submandiular gland, which is one member of the trans-membrane proteins/aquaporins (AQPs) that facilitates the movement of fluid that can pass through cells membrane. The gingiva is also expressed aquaporin-3 (AQP3) which are also expected to play an important role in the passage of fluid (gingival crevicular fluid/GCF) through that tissue. Up to now, there hasn't been a lot of information about irradiation effects on AQPs, primarily associated with the occurrence of xerostomia. The possibility of xerostomia will be better understanding by observe the molecular changing, that occur in exposed cells of radiation. Molecular changing that happen in salivary glands and gingiva may influence to the saliva secretion in oral cavity.

**The aim** of this study was to examine the effect of single dose irradiation ( 10 Gy) on expression of m RNA5 of submandibular gland and mRNA AQP3 of gingiva male rats.

**Methods.** For this study, an experimental laboratory technique was done. Ten male rats (200-300g) were irradiated using single dose (10 Gy) with their neck expose to the source. Ten control rats were not exposed. After irradiation, salivary glands and gingival tissues were carefully extirpated and analysed for mRNA AQP5 and mRNA 3 by using RT- PCR.

**The result** of this reseacrh showed there was defference of band density for primer to know the of mRNA AQP5 expression of submandibular gland and mRNA AQP3 exprssion level of gingiva rats.

**The conclusion** indicated that there were decreasing the level of mRNA AQP5 expression of submandibular gland and mRNA AQP3 exprssion level of gingiva rats. This Invention can be used for development of continuation research in xerostomia. *Maj Ked Gi*; Juni 2011; 18(1): 15-20

**Key words:** xerostomia, irradiation, aquaporins, submandibular gland, gingiva.

## PENDAHULUAN

Cairan mulut merupakan perlindungan alami yang fungsinya memelihara jaringan keras dan lunak rongga mulut agar tetap dalam keadaan fisiologis. Cairan rongga mulut normal tersusun atas saliva dan cairan sulkus gingiva disamping ada tambahan

komponen ekstrinsik lain seperti sisa makanan, mikrobiota dll<sup>1</sup>. Saliva disekresikan oleh kelenjar saliva dan cairan sulkus gingiva berasal dari sulkus gingiva<sup>2</sup>. Penggunaan radiasi ionisasi di bidang kesehatan bisa menimbulkan dampak negatif salah satunya adalah *xerostomia* atau kekeringan rongga mulut yang merupakan keluhan lebih 58% dari seluruh pa-

sien dengan terapi keganasan pada daerah kepala dan leher<sup>3,4</sup>. Beberapa studi menunjukkan bahwa aliran saliva pasien yang mendapat terapi radiasi untuk terapi radiasi untuk keganasan pada daerah kepala dan leher terjadi penurunan sekitar 50%<sup>5,6</sup>.

Penurunan sekresi saliva sebagai efek samping dari terapi radiasi ini menimbulkan keluhan pada rongga mulut pasien seperti rasa sakit, rasa terbakar, sukar bicara, kesulitan mengunyah dan menelan, kesulitan menggunakan protesa, penimbunan lendir, gangguan pengecapan, kerusakan jaringan lunak dan terjadinya pergeseran pertumbuhan mikroflora rongga mulut<sup>1,7</sup>. *Xerostomia* juga menyebabkan penurunan kesehatan rongga mulut yang lebih parah seperti peningkatan karies gigi, peradangan jaringan lunak rongga mulut (mukositis), dan peradangan jaringan periodontium<sup>7,8</sup>.

Efek samping ini menjadi masalah dalam terapi radiasi akibat semakin tingginya tuntutan peningkatan kualitas hidup pasien dan keadaan tersebut hingga saat ini masih sulit pengobatannya<sup>8,9</sup>. Oleh karena itu diperlukan penulisan yang dapat mengungkap mekanisme *xerostomia* akibat terapi radiasi ionisasi sehingga didapatkan cara penanganan yang tepat.

Didalam Kelenjar saliva terdapat aquaporin-5 (AQP5) yang merupakan salah satu anggota famili protein transmembran yang memfasilitasi perpindahan cairan sehingga dapat melewati membran sel atau yang disebut aquaporins/AQPs<sup>10</sup>. Saat ini terdapat 11 AQP cDNA yang telah selesai diklon pada tikus. AQP5 cDNA pertama diisolasi dari kelenjar ludah submandibular dan telah ditemukan di beberapa jaringan eksokrin lain seperti kelenjar sublingual, parotid, lakrimal, trachea, mata serta paru-paru<sup>11</sup>. Penulisan *knockout* AQP5 pada mencit menunjukkan bahwa saliva mencit ini menjadi hipertonik, viscous dan volumenya mengecil. Hal ini menunjukkan bahwa AQP5 mempunyai peran penting pada sekresi saliva<sup>12</sup>. Hasil analisis imunohistokemis pada kelenjar submandibular menunjukkan ekspresi protein AQP5 berlokasi pada membran plasma disebelah apikal dan basolateral sel acinar<sup>13</sup>. Pada gingiva juga dapat terlihat ekspresi AQP3,7, dan 10 yang diperkirakan juga berperan penting terhadap keluar masuknya cairan melalui jaringan tersebut<sup>14</sup>. Sampai saat ini belum banyak informasi mengenai efek radiasi ionisasi terhadap AQPs terutama dikaitkan dengan terjadinya *xerostomia*. Usaha untuk mendapatkan mekanisme *xerostomia* akibat ionisasi baru dimungkinkan bila diperoleh pemahaman yang lebih baik mengenai perubahan molekuler yang terjadi pada sel yang terpapar radiasi. Perubahan molekuler yang terjadi pada kelenjar saliva dan gingiva tentunya sangat berpengaruh terhadap sekresi cairan mulut.

Berdasar pada latar belakang ini akan dikaji melalui pendekatan patologi molekuler dengan mengidentifikasi ekspresi mRNA AQP5 pada kelenjar

saliva dan mRNA AQP3 gingiva akibat radiasi ionisasi yang diduga berperan terhadap proses terjadinya *xerostomia*. Identifikasi ekspresi mRNA AQP dilakukan dengan metode RT-PCR<sup>15</sup>.

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk mengungkap mekanisme *xerostomia* akibat radiasi ionisasi yaitu untuk membantu dalam penyempurnaan teori serta pencegahan *xerostomia* akibat radiasi ionisasi dengan membuktikan adanya penurunan ekspresi mRNA AQP5 kelenjar saliva dan mRNA AQP3, 7, 10 gingiva akibat radiasi ionisasi. Secara khusus penelitian ini baru pada pembuktian adanya penurunan ekspresi mRNA AQP5 kelenjar submandibula dan mRNA AQP3 gingiva akibat radiasi ionisasi sehingga dapat digunakan sebagai data dasar untuk penelitian molekuler lebih lanjut dan dapat digunakan untuk menyempurnakan teori tentang *xerostomia* tersebut.

## METODE PENELITIAN

Tikus (*rattus norvegicus*) yang diperoleh dari Pusat Pemeliharaan Hewan Percobaan – UGM dengan ketentuan : jantan, usia 3-4 bulan, berat badan sekitar 200 gr. Hewan coba ini merupakan hasil pengembangbiakan untuk memperoleh keturunan kedua, dengan harapan homogenitas sampel dapat dipertahankan dan dinyatakan sehat pada pemeriksaan fisik oleh dokter hewan. Pakan yang dipergunakan pada penulisan ini berupa pellet dan air minum yang digunakan berasal dari PDAM. Makanan dan minuman diberikan secara *ad libitum*.

Sebelum penelitian dimulai, dilakukan pengambilan tikus secara random dari populasi yang sesuai dengan kriteria yang telah ditentukan, dibagi 2 kelompok yaitu kelompok tanpa radiasi dan dengan radiasi serta diberi label A dan B. Masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor tikus. Tikus ditempatkan dalam kandang plastik yang dialasi sekam dan ditutupi jaring-jaring kawat.

Sebelum pemaparan radiasi, tikus difiksasi pada alat fiksasi yang didesain khusus. Tikus yang telah difiksir ditempatkan pada alat radiasi terapi. Pemaparan radiasi menggunakan Cobalt<sup>60</sup> dengan dosis 10 Gy<sup>16</sup> pada permukaan ventral leher tikus<sup>17</sup>.

Dosis radiasi diatur dengan dosimeter yang menjadi satu kesatuan dengan alat radioterapi. Untuk mencari waktu penyinaran yang sesuai dengan dosis yang dikehendaki digunakan tabel yang telah ditera sesuai dengan umur sumber radiasi Co<sup>60</sup> dengan melihat luas permukaan penyinaran, kedalaman penyinaran serta dosis yang dikehendaki dalam tabel, maka akan didapatkan waktu yang diperlukan untuk penyinaran. Kelompok A tidak diradiasi dan kelompok B diradiasi dengan dosis 10 Gy.

Tikus dikorbakan dengan cara *cervical dislokasi*. Proses pembedahan dan pengangkatan kelenjar submandibularis dan gingiva dilakukan

dengan hati-hati, dan selanjutnya sampel jaringan dibersihkan dari jaringan ikat dan lemak, dihaluskan dalam tri reagent. Setelah seluruh sampel jaringan terkumpul, kemudian dilakukan isolasi RNA dan dilanjutkan dengan pemeriksaan RT-PCR.

Untuk memisahkan RNA total, sampel jaringan diproses menggunakan *Tri Reagent Solution* sesuai dengan aturan yang disertakan produsen: jaringan seberat 50- 100 mg diletakkan pada mortar di atas es, kemudian ditambahkan *Tri Reagent Solution* sebanyak 1 ml dan dihaluskan. Setelah itu dipindahkan pada tabung eppendorf dan disimpan pada suhu ruang selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 0,2 ml Chloroform, dicampur di atas vortex selama 15 detik dan disimpan pada suhu ruang selama 2-15 menit. Selanjutnya disentrifuse pada 12.000 g selama 15 menit pada suhu 4°C, kemudian cairan tidak berwarna pada lapisan atas (aqueous phase) diambil dan ditambahkan dengan 0,5 ml isopropanol, lalu disimpan pada suhu ruang selama 5-10 menit. Setelah itu disentrifuse lagi pada 12.000 g selama 8 menit pada suhu 4-25° C dan larutan yang tersisa dibuang. Hasilnya lapisan putih pada sisi tube (RNA pellet), dicampur 1 ml etanol 75 % di atas vortex. Kemudian disentrifuse pada 7.500g selama 5 menit pada suhu 4-25° C, dan ditambah dengan 1 mL etanol 75%. Etanol diambil dan diuapkan dengan bantuan vacuum serta RNA pellet dibiarkan agak mengering. Selanjutnya dilarutkan dalam DEPC *treated water secara pipeting* dan diukur konsentrasinya dengan spektrofotometer.

Untuk RT-PCR dilakukan dengan menggunakan *Superscript™ one step RT-PCR kit* sesuai dengan aturan yang disertakan produsen: dalam tabung PCR (untuk volume akhir 25µl) dicampurkan reagen masing-masing 2x *Superscript™ one step RT-PCR kit* (12,5µl), primer sense 10µM (0,5µl), primer antisense 10µM (0,5µl), RT-Taq enzym mix (0,5µl), 1 µg/µl template RNA (0,5µM), dan DEPC water 10,5µl. Reverse Transcription (sintesis cDNA) dilakukan pada suhu 45° C selama 30 menit. Kemudian campuran tersebut diinkubasi pada suhu 95° C selama 2 menit untuk denaturasi cDNA yang terbentuk.

Penggandaan RNA dilakukan pada mesin PCR dalam 35 siklus, dimana tiap primer pada suhu 55° C selama 30 detik, dan pemanjangan rantai pada suhu 72° C selama 1,5 menit. Final extension pada suhu 72 °C selama 5 menit, kemudian reaksi diakhiri pada suhu 4° C.

Produk RT-PCR dianalisis menggunakan elektroforesis dengan di *running* pada 1,5%TAE agarose gel. Mesin elektroforesis bekerja pada 100V selama 30 menit. Gel distain di 2 µg/ml ethidium bromide dalam 1x TAE selama 5-10 menit, dan dilihat di *UV light transilluminator* serta didokumentasi deng-

an foto Polaroid. Marker Standard yang digunakan 100bp DNA leader.

## HASIL PENELITIAN

### Hasil RT-PCR pada Ekspresi mRNA AQP5 pada kelenjar submandibular

Keberadaan mRNA *AQP5* dideteksi dengan teknik RT-PCR yang bertujuan mendapatkan amplifikasi segmen RNA tertentu yang dibatasi oleh 2 oligonukleotida sintetik (2 primer) dengan urutan sebagai berikut: sense: 5'-CCCCAAGGCACCATGAAAAA-3', antisense: 5'-TCACGAATCTCTGAGGTCTG-3' (1073bp) dan primer dengan sense: 5'-GCCACATCAATCCAGCCATT-3', antisense : 5'-AAAGATCGGGCTGGGTTCAT-3' (383 bp)

Gambar 1 menunjukkan bahwa ekspresi mRNA *AQP5* kelenjar submandibularis kelompok kontrol berupa gambaran *band/pita* (1073bp dan 383 bp) ketika 5µl cDNA diaplikasikan. Selain itu dilakukan juga cek untuk ketiga sampel tersebut dengan primer kontrol internal yaitu  $\beta$ -actine, sense 5'-ACCC ACACTGTGCCCATCTA-3 dan antisense : 5'-CGGAACCGCTCATTGCC-3' (289bp), hasilnya adalah terlihat ekspresi mRNA  $\beta$ -actine.

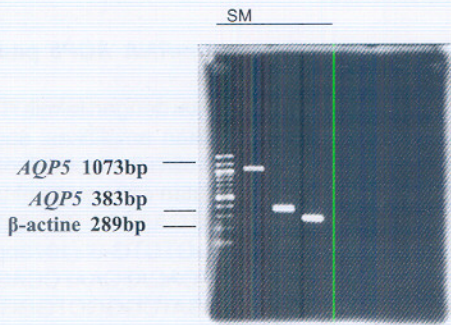
Pada Gambar 2 menunjukkan bahwa ekspresi mRNA *AQP5* kelenjar submandibularis tikus kelompok kontrol dan radiasi berupa gambaran *band/pita* ketika dibatasi oleh primer sense: 5'-GCCA CATCAATCAGCCATT-3', antisense: 5'-AAAGATCGGGCTGGGTTCAT-3' (383 bp). Selain itu dilakukan juga cek sampel kelenjar submandibular pada kelompok kontrol dan radiasi tersebut dengan primer kontrol internal/positif yaitu  $\beta$ -actine dan hasilnya terlihat gambaran *band/pita* (289bp). Hasil RT-PCR Gambar 2, pada kelompok tikus yang mendapat radiasi 10 Gy pada kelenjar submandibularis tampak terekspresi sangat lemah. Tingkat ekspresi mRNA *AQP5* kelenjar submandibularis tikus kelompok radiasi mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

### Hasil RT-PCR pada Ekspresi mRNA AQP3 pada gingiva

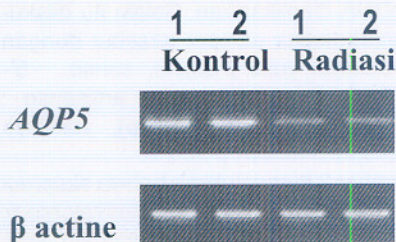
Pada gambar 3 menunjukkan bahwa ekspresi mRNA *AQP3* gingiva tikus kelompok kontrol berupa gambaran *band/pita* ketika dibatasi oleh primer-primer: sense: 5'-TCA ATG GCT TCT TTG ACC AGT TCA-3' antisense : 5'-CTT CAC ATG GGC CAG CTT CAC ATT-3' (AQP3: 389bp), selain itu dilakukan juga cek sampel gingiva kelompok kontrol dengan primer kontrol internal/positif yaitu  $\beta$ -actine dan hasilnya terlihat gambaran *band/pita* (289bp).

Hasil RT-PCR Gambar 4, pada kelompok tikus yang mendapat radiasi 10 Gy pada gingiva menunjukkan mRNA *AQP3* terekspresi lemah. Ting-

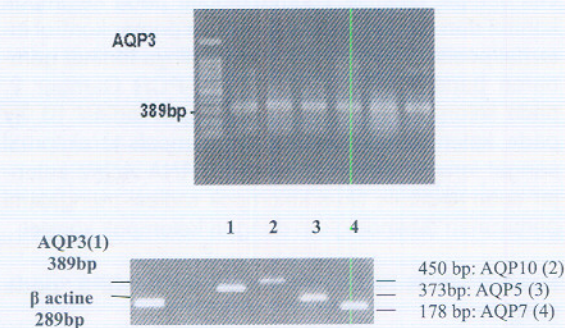
kat ekspresi mRNA *AQP3* gingiva tikus kelompok radiasi mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok kontrol.



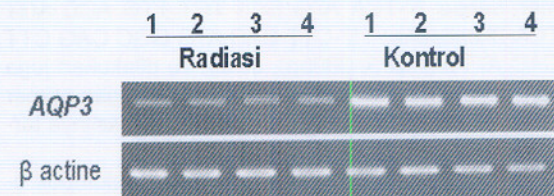
**Gambar 1.** Hasil ekspresi mRNA *AQP5* kelenjar submandibula(SM) tikus kelompok kontrol



**Gambar 2.** Hasil ekspresi mRNA *AQP5* kelenjar submandibula (SM) tikus kelompok kontrol dan radiasi



**Gambar 3.** Hasil ekspresi mRNA *AQP3* gingiva tikus kelompok kontrol



**Gambar 4.** Hasil ekspresi mRNA *AQP3* gingiva tikus kelompok kontrol dan radiasi

**PEMBAHASAN**

Pemilihan subjek pada penelitian ini didasarkan pada kenyataan bahwa tikus merupakan salah satu hewan percobaan yang dapat digunakan untuk menguji pengaruh /efek radiasi ionisasi, penanganannya mudah, biaya dan tempat pemeliharaannya relatif mudah. Digunakan tikus 3-4 bulan menurut<sup>18</sup>, tikus pada usia tersebut tidak mudah mati bila di-radiasi dibawah dosis lethal. Pada kelenjar submandibula tikus normal ternyata ada perbedaan ekspresi protein AQP5 dimana ada kelompok tikus yang dapat mengekspresikan protein AQP5 sangat banyak (*High producer of AQP5*) dan sangat sedikit<sup>13</sup>. Hasil tersebut akan kita peroleh juga pada saat nanti dilakukan pengamatan hasil *western blotting*, sehingga dalam penelitian ini dilakukan perkawinan tikus antar keluarga yang termonitor jalur keturunannya, dengan harapan bahwa apabila akan dilakukan pengamatan tentang ekspresi proteinnya akan menghasilkan data yang akurat.

**Efek radiasi terhadap ekspresi mRNA *AQP5* kelenjar saliva**

Radioterapi di area kepala dan leher yang melibatkan kelenjar saliva di area radiasinya akan mengakibatkan berbagai efek yang dihubungkan dengan terjadinya perubahan fungsi maupun kerusakan sel pada kelenjar tersebut<sup>19</sup>.

Analisis RT-PCR menunjukkan tingkat ekspresi mRNA *AQP5* yang dideteksi berupa *single band/pita* tunggal dengan ukuran 383bp. Pada kelompok kontrol (tanpa radiasi) menampilkan ekspresi mRNA yang tinggi dibandingkan dengan kelompok radiasi pada sampel kelenjar submandibula tikus. Hasil penelitian pada kelenjar submandibula kelompok tikus yang mendapat radiasi menampilkan penurunan tingkat ekspresi mRNA *AQP5* dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Kelenjar saliva yang paling banyak mengalami kerusakan akibat radioterapi adalah kelenjar dengan sel asinar serus yaitu kelenjar parotis, sedangkan kelenjar submandibula dan sublingual tidak banyak mengalami kerusakan<sup>20</sup>. Hal ini disebabkan kelenjar submandibula bersifat seromukus yang lebih bersifat radioresisten, sehingga pita masih tampak meski mengalami penurunan ekspresi dan tidak hilang sama sekali. Sel-sel asinar yang serus lebih sensitif terhadap radiasi, sedangkan sel asinar yang bersifat mukus dan sel-sel penyusun duktus sekretori kelenjar saliva cenderung resisten terhadap radiasi<sup>21</sup>. Hal ini berarti fungsi dan berbagai proses yang terjadi di dalam duktus, seperti tahap modifikasi saliva tidak terganggu oleh radiasi.

AQP5 berlokasi pada membran plasma disebelah apikal dan basolateral sel acinar dari kelenjar saliva<sup>13</sup>. Pada kelenjar saliva, AQP5 merupakan aquaporin yang diekspresikan terbanyak pada apikal

membran sel asinar<sup>22</sup>. Padahal radiasi ionisasi mampu merusak sel asinar dan sel endotel pembuluh darah kelenjar saliva. Dengan rusaknya asinar sel, mempunyai arti bahwa AQP5 yang banyak terdapat di asinar sel juga ikut mengalami kerusakan terutama pada sel acinar serus, termasuk yang terdapat di kelenjar submandibula.

Efek radiasi terhadap ekspresi mRNA *AQP3* gingiva Radiasi yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari alat radioterapi merk Cirrus Cobalt-60. Radiasi pada lapang penyinaran depan kemungkinan besar mengenai kelenjar submandibularis, sublingualis, parotis dan gingiva. Keterlibatan kelenjar saliva dan mukosa mulut termasuk gingiva dalam area radiasi dapat menyebabkan terjadinya fibrosis, degenerasi lemak, atrofi sel-sel asinar, dan nekrosis sel-sel epitel dan kelenjar. Kerusakan pada sel-sel di area rongga mulut ini akan menyebabkan berkurangnya volume dan penurunan kecepatan aliran saliva. Seperti yang kita ketahui saliva adalah cairan tidak berwarna dan kompleks, yang secara terus menerus membasahi gigi dan mukosa mulut, berasal dari kelenjar saliva mayor, kelenjar saliva minor atau kelenjar aksesori, dan cairan sulkus gingiva.

AQP3 adalah AQPs dalam group pertama yang memfasilitasi transpot gliserol, urea dan air. Pada gingiva juga dapat terlihat ekspresi AQP3 yang diperkirakan juga berperan penting terhadap keluar masuknya cairan sulkus melalui jaringan tersebut<sup>14</sup>. AQP3 kemungkinan berlokasi di epitel gingiva sehingga pada saat dilakukan radiasi pada lapang penyinaran depan selain mengenai kelenjar submandibularis kemungkinan gingiva juga terlibat.

Secara langsung maupun tidak langsung radiasi ionisasi menyebabkan kematian sel dengan cara merusak konfigurasi DNA intraseluler dan fungsinya<sup>23</sup>. Kerusakan DNA dapat berupa kerusakan salah satu atau kedua rantai DNA, pembentukan ikatan silang antar pita DNA, kerusakan pada basa pembentuk DNA, atau putusannya ikatan hidrogen. Molekul DNA adalah sasaran yang paling sensitif terhadap radiasi<sup>24,25</sup>, oleh karena itu kerusakan DNA yang terjadi akibat radiasi akan mengakibatkan gangguan proses transkripsi. Perubahan jaringan atau sel karena radiasi ionisasi secara tidak langsung merupakan akibat dari ionisasi pada air yang membentuk radikal bebas yang akan menimbulkan kerusakan biokimia pada sel atau jaringan, serta terbentuknya peroksida yang merupakan racun dalam sel atau jaringan<sup>26</sup>.

Prinsip dasar yang digunakan dalam radioterapi adalah kemampuannya menimbulkan kerusakan pada setiap molekul yang dilewati melalui proses ionisasi dan eksitasi. Sel-sel yang terionisasi akan memancarkan elektron pada struktur ikatan kimia dan berakibat pecahnya molekul-molekul sel sehingga terjadi kerusakan sel<sup>27</sup>. Penyebab utama kematian sel adalah kerusakan DNA yang dapat berupa kerusakan salah satu atau kedua rantai DNA,

pembentukan ikatan silang antara pita DNA dalam satu heliks atau antara protein yang berlainan dalam pita DNA, atau putusannya ikatan hidrogen antara rantai DNA. Tipe kerusakan DNA tergantung pada tahap siklus sel ketika paparan radiasi. Kerusakan DNA menyebabkan sel tidak dapat melakukan pembelahan tahap berikutnya<sup>23</sup>.

Kerusakan akibat terjadinya ionisasi DNA disebut sebagai efek langsung, sedangkan efek tidak langsung timbul akibat terjadinya ionisasi molekul air yang terutama terdapat di sitoplasma. Kira-kira 95% efek radiasi ionisasi pada makromolekul sistem hidup terjadi karena aksi tidak langsung<sup>27</sup>. Pada efek tidak langsung tersebut, molekul air yang terkena radiasi pengion akan terurai menjadi ion H<sup>+</sup> dan OH<sup>-</sup>, serta atom-atom netral H dan OH yang merupakan radikal bebas<sup>26</sup>. Radikal bebas tersebut dapat terekombinasi ulang membentuk racun seluler hidrogen peroksida dan substansi racun radikal hidroperoksil. Agen racun ini sangat reaktif dan dapat teroksidasi dengan molekul lain, sehingga agen ini dapat menimbulkan kerusakan biologi sel<sup>27</sup>.

Dengan dilakukan radiasi pada lapang penyinaran depan tersebut kemungkinan gingiva juga terlibat, hal ini berarti bahwa AQP3 yang kemungkinan berlokasi di epitel gingiva, dimana sel epitel gingiva juga peka terhadap paparan radiasi akan mengalami kerusakan. Hal ini terbukti dengan adanya penurunan ekspresi mRNA *AQP3* yang terjadi.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Amerongen AVN, *Ludah dan Kelenjar Ludah, Arti bagi kesehatan gigi*, alih bahasa Abyono, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 1991.
2. Mandel LD and Robinovitch M, *Saliva: Periodontics in the tradition of Gottlieb and Orban*, 6<sup>th</sup> ed., The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1988: 135-146.
3. Rhodus NL and Bereuter J, Clinical evaluation of commercially available oral moisturizer in relieving signs and symptoms of xerostomia in postirradiation head and neck cancer patients and patients with Sjogren's syndrome, *Journal of Otolaryngology*, 2000; 29: 28-34.
4. Wu Q, Manning M, Schmidt-Ullrich R, Mohan R, The potential for sparing of parotids and escalation of biologically effective dose with intensity modulated radiation treatment of head and neck cancers: a treatment design study, *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2000; 46 (1): 195-205.
5. Epstein JB, Emerton S, Kolbinson DA, Le ND, Philips N, Stevenson-Morre P, Osoba B, Quality of life and oral function following radiotherapy for head and neck cancer. *Head and neck*, Jan, 2000; 21 (1): 1-11.
6. Eisburch A, Ten Haken RK, Kim HM, Marsh LH, Ship JA, Dose volume and function relation ship in parotid salivary gland following conformal and intensity modulated irradiation of head and neck cancer. *Int J Radiant Oncol Bio Phys* 1, 1999; 45(3): 577-87.
7. Almstahl A and Wikstrom M, Oral microflora in subjects with reduced salivary secretion. *Journal of Dental Research*, 1999; 78: 1410-1416.

8. Atkinson JC and Baum JB, *Enhancers*. Website: <http://www.lib.umich.edu/dentlib/nihcdc/abstracts/atkinson.html>. Diunduh pada 23/7/2003.
9. Guchelaar HJ, Vermmes A, Meerwaldt JH, Radiation induced xerostomia pathophysiology, clinical course and supportive treatment. *Support Care Cancer*, 1997; 5(4): 281-288.
10. King LS and Agre P, Pathophysiology of the aquaporins water channels. *Annu Rev Physiol*, 1996; 58: 619-648.
11. Lee MD, King LS and Agre P, The aquaporin family of water channel proteins in clinical medicine. *Medicine*, 1991; 76: 141-156.
12. Ma T, Song Y, Gillespie A, Carlson EJ, Epstein CJ, and Verkman AS, Defective secretion of saliva in transgenic mice lacking aquaporin-5 water channel. *J Biol Chem*, 1999; 274: 20071-20074.
13. Murdiastuti K, Miki O, Yao C, Parvin MN, Kosugi-Tanaka C, Akamatsu T, Kanamori N and Hosoi K, Divergent expression and localization of aquaporin 5, an exocrine-type water channel, in the submandibular gland of Sprague-Dawley rats, *Plügers Archives-European Journal of Physiology*, 2002; 445(3): 405-412.
14. Wang W, Hart PS, Plesco NP, Lu X, Gorry MC and Hart TC, Aquaporin expression in developing human teeth and selected orofacial tissues. *Calcif Tissue Int*, 2003; 72(3): 222-227.
15. Akamatsu T, Parvin MN, Murdiastuti K, Kosugi-Tanaka C, Yao C, Miki O, Kanamori N and Hosoi K, Expression and localization of aquaporins, members of water channel family, during development of the rat submandibular gland. *Plügers Arch Eur J Physiol*, 2003; 446: 641-651.
16. Funegard U, Johansson I, Franzen L, Ericson T, Nystroin H and Henriksson, Rat salivary gland functions after fractionated irradiation. *Acta Oncol*, 1997; 36(2): 191-198.
17. Delporte C, O'Connell BC, He X, Lancaster He, O'Connell AC, Agre P and Baum BJ, Increased fluid secretion after adenoviral-mediated transfer of the aquaporin-1 cDNA to irradiated rat salivary glands. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997; 94: 3268-3273.
18. Astuti EH, Efek Iradiasi Sinar  $\gamma$  Dosis Fraksinasi Terhadap Peroksidasi & Sekresi Saliva Tikus. *Majalah CERIL XVII FKG-UGM*, 2005.
19. Schreiber GJ (2005) Radiation Therapy, General Principles. <http://www.emedicine.com/topic247.htm>, Diunduh pada 19/9/2005.
20. Dawes C, Factor Influencing Salivary Flow Rate and Composition, in Edgar WM and O'Maullane DM, (eds.), *Saliva and Oral Health*, British Dental Association, London, 1996: 27-41
21. Anderson MW, Izutsu KT, Rice JC, Parotid Gland Pathophysiology After Mixed Gamma and Neutron Irradiation of Cancer Patients, *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, & Endodontics*, Nov. 1981; 52(5): 495-500.
22. Krane CM, Towne JE and Menon AG, Cloning and characterization of murine Aqp5: evidence for a conserved aquaporin gene cluster. *Mamm. Genome*, 1999; 10: 498-505
23. White SC and Pharoah MJ, *Oral Radiology Principle and Interpretation*, Mosby Inc, St. Louis, 2004: 25-51
24. BAPETEN, Materi Rekuafikasi I Petugas Proteksi Radiasi, Jakarta, 2005.
25. Lukman D, *Dasar-dasar Radiologi dalam Ilmu Kedokteran Gigi*, Ed. 2, Widya Medika, Jakarta, 1991.
26. Gabriel JF, *Fisika Kedokteran* (terj.), EGC, Jakarta, 1995: 286-307
27. Edwards C, Statkiewicz S, Ritenour ER, *Perlindungan Radiasi bagi Pasien dan Dokter Gigi* (terj.), Widya Medika, Jakarta, 1990:1-60

\_OO\_

