

Pengaruh Gaya Ortodonsi Terhadap Ekspresi Tumor Necrosis Factor- α Tulang Alveolar Pada Model Tikus Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin (Kajian *in vivo* pada tikus Wistar)

Amandia Dewi Permana Shita

Bagian Biomedik Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

E-mail: shita.drg@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Pada kondisi hiperglikemia yang sudah kronis, perawatan ortodonsi seringkali menjadi kontraindikasi, oleh karena manifestasinya pada jaringan periodontal akan mempengaruhi keberhasilan perawatan. Aplikasi gaya ortodonsi akan menginduksi respon inflamasi. Sel-sel imun yang bermigrasi bersama dengan sejumlah sel osteoblas akan menghasilkan sitokin-sitokin proinflamasi, salah satunya yaitu TNF- α . Sitokin tersebut dapat mempengaruhi *remodeling* tulang alveolar dengan cara menstimulasi RANKL di osteoblas untuk menginduksi osteoklastogenesis. Osteoklastogenesis diperlukan untuk proses *remodeling* tulang alveolar yang bermanfaat untuk proses pergerakan gigi secara ortodonsi. **Tujuan:** mengetahui pengaruh aplikasi gaya ortodonsi yang berbeda terhadap ekspresi TNF- α di sel osteoblas tulang alveolar pada model tikus diabetes tahap awal 7 hari. **Metode:** 24 tikus wistar jantan dibagi menjadi 3 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Induksi diabetes dilakukan dengan menyuntikkan Streptozotocin menggunakan dosis bertingkat (40, 35, 30, 25 dan 20 mg/KgBB) selama 5 hari berturut-turut. Selanjutnya tikus diinkubasi selama 7 hari. Tikus dengan diabetes ditandai dengan Kadar Glukosa Darah ≥ 300 mg/dl. Setelah tikus positif diabetes, alat ortodonsi dipasang selama 7 hari. Kedua gigi insisif rahang atas dari setiap kelompok perlakuan dipasang alat ortodonsi dengan gaya yang berbeda, yaitu 10, 20 dan 30 grF. **Kesimpulan:** gaya ortodonsi berkorelasi positif dengan ekspresi TNF- α di osteoblas. Pemberian gaya ortodonsi yang paling kecil (10 grF) pada kelompok tikus diabetes tahap awal 7 hari dalam penelitian ini menyebabkan ekspresi TNF- α yang lebih tinggi daripada kelompok kontrol negatif (tikus normal) yang diberi gaya 30 grF. Sehingga alat ortodonsi dengan gaya 10 grF pada tikus diabetes tahap awal 7 hari tidak dapat diaplikasikan.

Kata Kunci: TNF- α , Diabetes Mellitus, pergerakan gigi secara ortodonsi, *remodeling*

PENGARUH GAYA ORTODONSI TERHADAP EKSPRESI *TUMOR NECROSIS FACTOR- α* TULANG ALVEOLAR PADA MODEL TIKUS DIABETES YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN (Kajian *in vivo* pada tikus *Wistar*)

Amandia Dewi Permana Shita

Bagian Biomedik Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

E-mail: shita.drg@gmail.com

Abstract

Application of orthodontic force will induce inflammatory response, where immigration of immune cells together with a number of osteoblast cells will produced inflammatory cytokines, one of which is TNF- α . These cytokine may affected alveolar bone remodeling by stimulating RANKL on osteoblast cells in order to induce osteoclastogenesis. Osteoclastogenesis required for alveolar bone remodeling process was beneficial to the process of orthodontic tooth movement. High glucose concentration within cell in diabetes condition will produce increasing of ROS, oxidative stress, and AGEs accumulation, where results to increasing of TNF- α . For that reason, diabetic patients who applied with orthodontic appliance will possible to influence TNF- α expressions. Consequently, there is an alveolar bone remodeling modification presences in orthodontic tooth movement process on chronic diabetes condition. The aim of this study was to determine the effect of orthodontic force on the TNF- α expression in osteoblast cells in 7 days of early stage of diabetic condition. This research was experimental study. This study had agreement from ethic commission Dentistry Faculty of Gadjah Mada University, Yogyakarta. There were 6 groups, negative control groups with and without orthodontic appliance, control positive with diabetic rats without orthodontic appliance, and diabetic groups with orthodontic appliance 10, 20, 30 grF. Diabetic induction performs by Streptozotocin injection with stratified doses (40, 35, 30, 25 and 20 mg/KgBB) during 5 days, respectively. After that, rats were incubated for 7 days. When rats were positively diabetes, orthodontic appliance were set for 7 days. TNF- α expressions were calculated by immunohistochemical method. The result of this research proofed that different magnitude of orthodontic forces shown to be related to the expression of TNF- α on osteoblast cells, where an increasing of orthodontic force will be followed by an increasing expression of TNF- α . Orthodontic appliance with 10 grF in the 7 days of eraly stages of diabetic rats still can not be applied yet, because there were higher TNF- α expression than the negative control group (normal rats) were given 30 grF.

Key Words: TNF- α , IL-1 β , alveolar bone remodeling, diabetes melitus, orthodontic tooth movement

PENDAHULUAN

Perawatan ortodonti seringkali menjadi kontraindikasi pada kondisi diabetes kronis, oleh karena manifestasinya pada jaringan periodontal akan mempengaruhi keberhasilan perawatan. Namun penyakit ini jarang disadari oleh penderita hingga muncul gejala-gejala yang lebih spesifik. Manifestasinya di dalam rongga mulut akan terlihat lebih jelas ketika perjalanan penyakitnya telah memasuki tahap lanjut dan *oral hygiene* penderita relatif kurang baik. Penyakit ini perlu diwaspadai oleh dokter gigi karena terdapat peningkatan prevalensi diabetes melitus di seluruh dunia, terutama di negara berkembang seperti Indonesia. Kira-kira separuh dari penderita diabetes tidak terdiagnosa, khususnya diabetes tipe 2 yang biasanya onset penyakitnya baru muncul pertama setelah 40 tahun^{1,2}.

Dalam pergerakan gigi secara ortodonti, gaya mekanis dari alat ortodonti akan diteruskan ke seluruh jaringan pendukung gigi, sehingga terjadi proses *remodeling* yang akan memfasilitasi pergerakan gigi melalui tulang^{3,4}. Gaya ortodonti yang optimal akan mampu menggerakkan gigi ke posisi yang diinginkan tanpa menyebabkan rasa tidak nyaman dan kerusakan jaringan, serta akan menimbulkan respon biologi yang adekuat dari jaringan periodontal⁵. Gaya optimum yang dapat diaplikasikan pada gigi insisif tikus normal adalah berkisar antara 2-40 cN⁶ dan antara 0,10 N-0,35 N^{7,8}.

Dalam proses *remodeling* tulang alveolar membutuhkan mekanisme *coupling* antara resorpsi tulang oleh osteoklas dan pembentukan tulang oleh osteoblas. Sel osteoblas terbukti sebagai pengontrol differensiasi dan aktivasi sel osteoklas. Beberapa penelitian membuktikan bahwa sitokin-sitokin merupakan molekul pemberi sinyal yang penting dalam komunikasi diantara sel-sel tulang tersebut (Gianoukakis dan Smith, 2004). Aplikasi gaya ortodonti akan menginduksi respon inflamasi, dimana akan terjadi perubahan vaskuler yang diikuti oleh sintesis prostaglandin, sitokin dan *growth factor*. Beberapa mediator tersebut akan mengaktifasi *remodeling* tulang alveolar, yang digambarkan sebagai resorpsi tulang di daerah tekanan dan pembentukan tulang di daerah tarikan^{5,10}.

Salah satu sitokin yang diketahui sebagai mediator yang poten untuk metabolisme tulang adalah TNF- α yang berperan dalam menstimulasi resorpsi tulang dan menghambat pembentukan tulang¹¹. Pada konsentrasi yang relatif rendah, TNF- α berimplikasi dalam proses *remodeling* tulang melalui reseptor spesifik pada sel-sel tulang¹². Aplikasi gaya mekanis akan menyebabkan peningkatan sitokin proinflamasi tersebut, yang akan menginduksi osteoklastogenesis^{13,14}.

Kondisi hiperglikemia pada diabetes dapat menyebabkan stress oksidatif oleh karena peningkatan ROS (*reactive oxygen species*), peningkatan respon inflamasi, perubahan biokimiawi host yang bersifat akut dan *reversible* maupun kronis dan terakumulatif, serta perubahan vaskuler yang akan memberikan kecenderungan terjadinya komplikasi. Pada diabetes tahap lanjut akan terjadi akumulasi *advanced glycation end products* (AGEs)¹⁵, yang jika berinteraksi dengan RAGE (*receptor for AGE*) dapat menyebabkan makrofag memproduksi TNF- α dalam jumlah yang banyak, yang mengindikasikan terjadi perubahan fungsi imun¹⁶.

Diabetes akut/tahap awal terjadi antara 1 hingga 3 minggu setelah pemberian Streptozotocin (STZ)¹⁷. Berdasarkan penelitian histomorfometrik membuktikan bahwa pada model tikus diabetes tahap awal menunjukkan resorpsi tulang yang lebih rendah tanpa adanya kehilangan tulang¹⁸. Dengan mempertimbangkan hal-hal diatas, pada penelitian ini digunakan model tikus diabetes yang diinduksi STZ yang memasuki tahap awal penyakit, yaitu diabetes tahap awal 7 hari yang diaplikasikan alat ortodonsi dengan gaya sebesar 10, 20 dan 30 grF.

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat disusun permasalahan bagaimana pengaruh gaya ortodonsi terhadap ekspresi TNF- α di sel osteoblas tulang alveolar pada model tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin yang memasuki tahap awal penyakit. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai tambahan informasi bagi para klinisi yang akan melakukan perawatan ortodonsi pada penderita diabetes untuk menentukan gaya ortodonsi yang optimal tanpa merusak jaringan dan memastikan apakah perawatan ortodonsi dapat dilakukan pada penderita diabetes.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh gaya ortodonsi terhadap ekspresi TNF- α di sel osteoblas tulang alveolar pada model tikus diabetes tahap awal 7 hari.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini merupakan eksperimental laboratoris, dengan subyek penelitian tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar*, terdiri dari 24 ekor tikus, dibagi menjadi 3 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Penelitian ini mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, serta Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Setelah diaklimatisasi selama satu minggu, hewan coba dipuasakan selama 8 jam. Hewan coba ditimbang berat badannya, diukur Kadar Glukosa Darahnya (KGD), kemudian disuntikkan Streptozotocin (STZ) secara *intraperitoneal* pada pagi hari, dimulai dengan dosis 40 mg/KgBB pada hari pertama, kemudian pada hari kedua hingga kelima berturut-turut diberikan dosis 35, 30, 25 dan 20 mg/kgBB. Hewan coba dimasukkan dalam kandang, dan diinkubasi selama 7 hari. Selama inkubasi, hewan coba diobservasi kadar glukosa darahnya yang diambil dari vena ekor tikus. Tikus dengan diabetes ditandai dengan Kadar Glukosa Darah (KGD) ≥ 300 mg/dl.

Setelah positif mengalami diabetes, hewan coba dipasang kawat ortodonsi pada kedua gigi insisif rahang atasnya selama 7 hari. Sebelum pemasangan, hewan coba dibius menggunakan *Ketamine HCl* dengan dosis 10 mg/Kg berat badan secara intraperitoneal. Stabilisasi alat ortodonsi menggunakan semen glass ionomer tipe IX. Besar gaya mekanis yang dibebankan pada hewan coba sebesar 10, 20, dan 30 gram *force* (grF).

Pada hari ke-7 setelah pemasangan alat ortodonsi, hewan coba dieuthanasia menggunakan anastesi ketamin dosis lethal (60-75 mg/kgBB). Dilakukan pemotongan pada bagian kepala dan dilanjutkan separasi rahang atas dengan menggunakan pisau bedah, gunting dan bur. Pemotongan bagian regio gigi yang dipasangi kawat ortodonsi dilakukan dengan menggunakan bur, selanjutnya sampel difiksasi dalam larutan formalin 10% selama 24 jam. Spesimen dilakukan dekalsifikasi menggunakan EDTA 14 % selama 30 hari. Selanjutnya dilakukan prosedur hingga didapatkan blok paraffin yang telah berisi potongan jaringan yang siap untuk dipotong untuk pengamatan imunohistokimia.

Pengamatan ekspresi TNF- α di sel osteoblas dilakukan dibawah mikroskop pada perbesaran 400x. Pengamatan dilakukan pada sel-sel osteoblas tulang alveolar di daerah tekanan dan tarikan dari gigi yang digerakkan.

Untuk mengetahui perbandingan dan perbedaan ekspresi TNF- α pada tiap-tiap kelompok kontrol maupun perlakuan, dilakukan uji *t*. Sedangkan untuk mengetahui hubungan antar gaya ortodonsi dengan ekspresi TNF- α dilakukan uji korelasi Pearson atau Speraman menggunakan software SPSS versi 20.0.

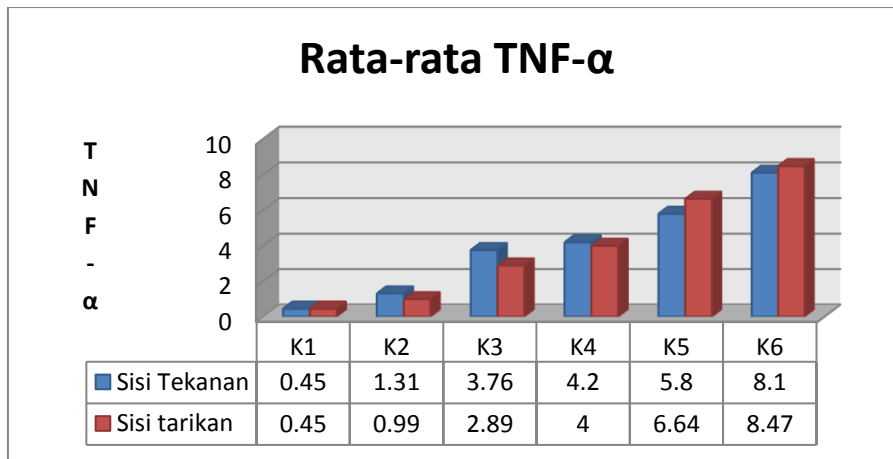
HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 5.1. Rata-rata Ekspresi TNF- α di Sel Osteoblas pada Daerah Tekanan dan Tarikan

Kelompok	N	Besar Gaya (grF)	Ekspresi TNF- α (Mean \pm SD) (%)		
			Tekanan	Tarikan	
Kelompok Kontrol	K1	16	-	0,45 \pm 0,05	0,45 \pm 0,05
	K2	16	-	1,31 \pm 0,24	0,99 \pm 0,22
	K3	16	30	3,76 \pm 0,52	2,89 \pm 0,33
Kelompok Perlakuan DM 7 hari	K4	16	10	4,20 \pm 0,47	4 \pm 0,69
	K5	16	20	5,80 \pm 0,74	6,64 \pm 0,71
	K6	16	30	8,10 \pm 1,30	8,47 \pm 1,04

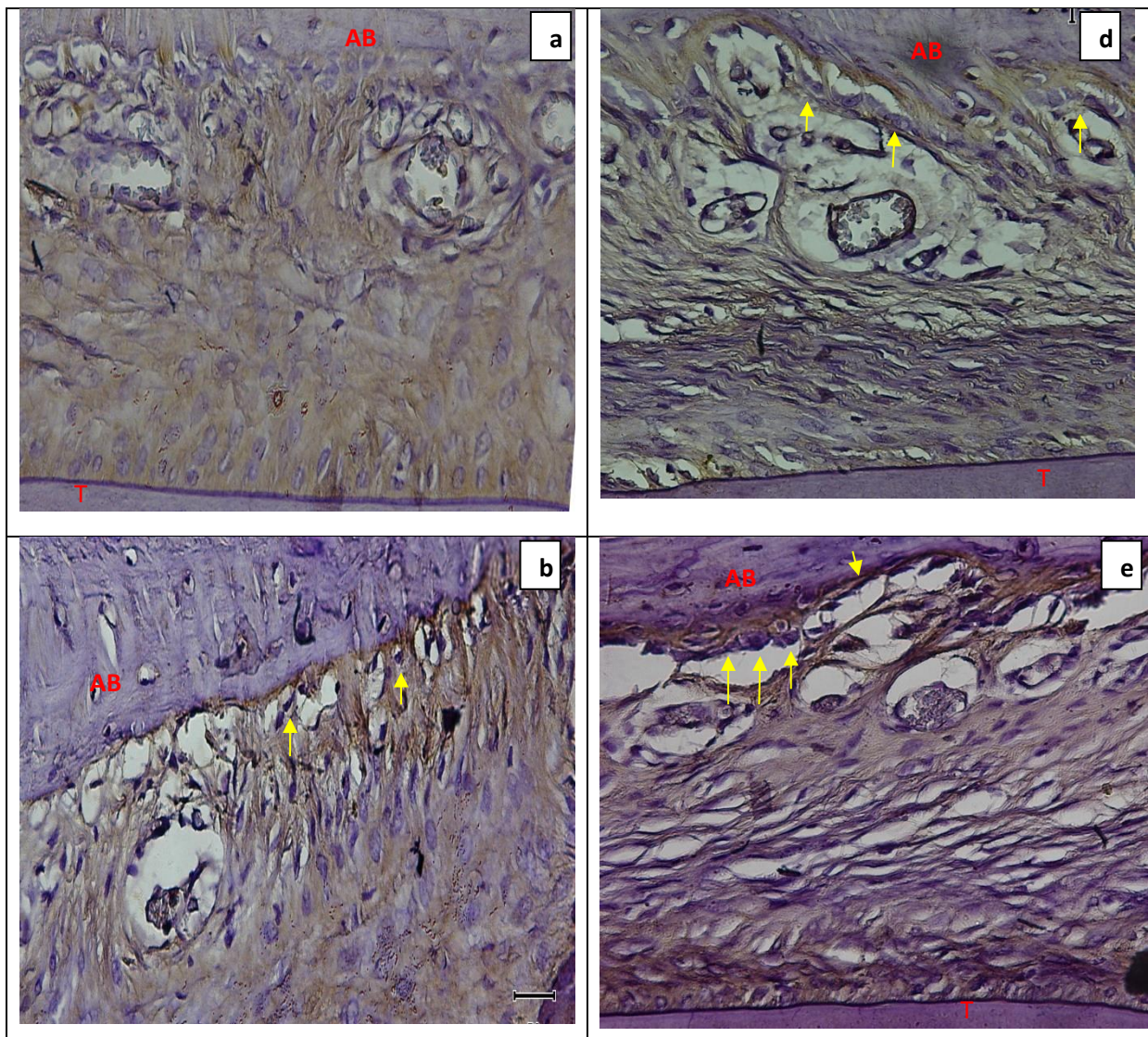
Keterangan:

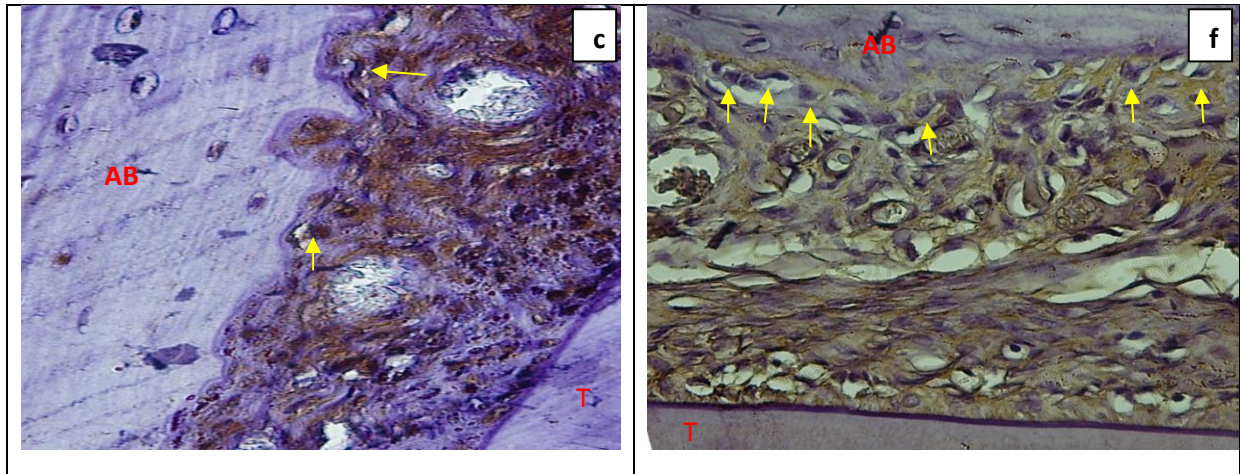
- K1 : Kelompok kontrol negatif, tikus normal tanpa diberi alat ortodonsi
- K2 : Kelompok kontrol positif, tikus diabetes tanpa diberi alat ortodonsi
- K3 : Kelompok control positif, tikus normal yang diberi alat ortodonsi 30 grF
- K4 : Kelompok perlakuan, tikus diabetes yang diberi alat ortodonsi 10 grF
- K5 : Kelompok perlakuan, tikus diabetes yang diberi alat ortodonsi 20 grF
- K6 : Kelompok perlakuan, tikus diabetes yang diberi alat ortodonsi 30 grF



Gambar 5.2 Rata-rata prosentase ekspresi TNF- α di sel osteoblas di sisi tekanan dan tarikan

Gambaran imunohistokimia ekspresi TNF- α di sel osteoblas ditampilkan pada Gambar 5.3 dibawah ini.





Gambar 5.3. Gambaran imunohistokimia ekspresi TNF- α di osteoblas pada (a) K1; (b) K2; (c) K3; (d) K4; (e) K5; (f) K6. Garis panah kuning menunjukkan sel osteoblas yang mengekspresikan TNF- α . PDL: ligamen periodontal; T: gigi; AB: tulang alveolar

Untuk mengetahui perbedaan dari tiap-tiap kelompok kontrol maupun perlakuan, maka dilakukan uji t , yang hasilnya disajikan pada Tabel 5.2 dibawah ini.

Tabel 5.2. Hasil Uji t dan Mann-Whitney U Ekspresi TNF- α di Sel Osteoblas pada Sisi Tekanan dan Tarikan

Kelompok	Ekspresi TNF- α	
	p value	
	Tekanan	Tarikan
K1 vs K2	0.000*	0.000* [#]
K3 vs K6	0.000* [#]	0.000* [#]
K3 vs K4	0.016*	0.000*
K3 vs K5	0.000*	0.000*
K4 vs K5	0.000*	0.000*
K4 vs K6	0.000* [#]	0.000* [#]
K5 vs K6	0.000* [#]	0.000* [#]

Keterangan: * : $p \leq 0.05$ = terdapat perbedaan bermakna; #: Mann-Whitney U

Dari hasil uji t dan Mann-Whitney pada Tabel 5.2 diatas, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna ($p < 0.05$) dari ekspresi TNF- α pada keseluruhan kelompok kontrol dan perlakuan, baik pada daerah tekanan maupun tarikan. Pada kelompok DM awal 7 hari, untuk setiap penambahan gaya ortodonsi menunjukkan perbedaan ekspresi TNF- α yang bermakna. Uji t pada kelompok kontrol K3 (gaya 30 grF) dengan kelompok perlakuan K4

(gaya 10 grF) menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0.016$). Hal ini berarti bahwa aplikasi alat ortodonsi dengan gaya yang paling rendahpun (10 grF) pada tikus yang mengalami diabetes ternyata memiliki ekspresi TNF- α yang berbeda bermakna dengan tikus normal (sehat) yang diberi alat ortodonsi dengan gaya 30 grF.

Aplikasi gaya ortodonsi akan mempengaruhi ekspresi TNF- α di osteoblas, baik pada daerah tekanan maupun tarikan. Oleh karena itu dilakukan uji korelasi dan regresi antara besar gaya ortodonsi yang berbeda dengan ekspresi TNF- α di osteoblas, pada daerah tekanan dan tarikan. Hasil uji tersebut dirangkum pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3. Hasil Uji Korelasi dan Regresi Antara Gaya Ortodonsi dengan Ekspresi TNF- α di Osteoblas pada Daerah Tekanan dan Tarikan

Kelompok	Daerah Tekanan			Daerah Tarikan		
	r	R ²	p value	r	R ²	p value
DM Awal 7 Hari	0.954	0.906	0.000	0.953	0.930	0.000

Keterangan: * = korelasi yang bermakna jika $p \text{ value} \leq 0,05$

r = koefisien korelasi

R² = R square (koefisien determinasi)

Dari Tabel 5.3 diatas menunjukkan bahwa gaya ortodonsi berkorelasi positif yang bermakna dan sangat kuat dengan ekspresi TNF- α di osteoblas. Hal tersebut berarti bahwa pemberian gaya ortodonsi yang semakin besar akan meningkatkan ekspresi TNF- α di osteoblas.

Keberhasilan pergerakan gigi pada perawatan ortodonsi membutuhkan *remodeling* jaringan periodontal, khususnya tulang alveolar. Pergerakan gigi secara ortodonsi diperoleh melalui proses *remodeling* tulang alveolar dalam merespon adanya gaya mekanis, yaitu proses resorpsi tulang yang berulang pada daerah tekanan dan pembentukan tulang yang baru pada daerah tarikan^{8,19}. Ketika suatu gaya yang optimal diaplikasikan selama periode tertentu, maka akan terjadi respon inflamasi di dalam periodonsium. Mediator inflamasi akan memicu proses biologi yang berkaitan dengan resorpsi dan aposisi tulang tulang alveolar yang mengakomodasi pergerakan gigi²⁰. TNF- α merupakan sitokin inflamasi yang berperan dalam *remodeling* tulang alveolar. Pengaruh ekspresi sitokin ini penting pada *remodeling*

tulang, karena derajat pergerakan gigi berkorelasi dengan efisiensi proses *remodeling* di tulang alveolar⁸.

Alat ortodonsi yang digunakan pada penelitian ini diaplikasikan pada gigi tikus dengan beberapa gaya yang berbeda, mulai dari 10, 20 sampai 30 grF. Penelitian ini membuktikan bahwa aplikasi alat ortodonsi dapat menginduksi ekspresi TNF- α di sel osteoblas, sehingga dapat mengonfirmasi kembali bahwa sitokin ini berperan penting pada kontrol fisiologis tulang. Metode imunohistokimia yang digunakan pada penelitian ini efektif untuk menunjukkan ekspresi sitokin tersebut di sel osteoblas selama pergerakan gigi secara ortodonsi. Diabetes dengan durasi 7 hari dapat dianalogikan dengan diabetes pada manusia yang telah berlangsung selama kira-kira 8 bulan²¹.

Fase awal dari pergerakan gigi secara ortodonsi melibatkan respon inflamasi akut yang ditandai dengan vasodilatasi di jaringan periodontal dan migrasi leukosit keluar dari kapiler-kapiler ligamen periodontal ke dalam jaringan periodontal yang diinduksi oleh sinyal-sinyal biokimia untuk mensintesis dan mensekresikan beberapa sitokin pro-inflamasi dan kemokin, *growth factor* dan enzim-enzim^{22,23}. Adanya aplikasi gaya ortodonsi akan mengaktifkan osteosit yang beraksi sebagai mekanosensor, dan meresponnya dengan cara menyampaikan sinyal ke osteoblas. Selanjutnya osteoblas akan memproduksi TNF- α yang berperan dalam menginduksi osteoklastogenes^{12,24}. Dalam kondisi penyakit sistemik seperti pada diabetes, gangguan pada tubuh akan mempengaruhi reaksi inflamasi pada pergerakan gigi. Peningkatan aktivitas sel-sel inflamasi yang ada pada kondisi diabetes akan menyebabkan keseimbangan yang tidak adekuat antara resorpsi dengan pembentukan tulang alveolar¹.

Ekspresi mRNA TNF- α terdeteksi pada tikus pada hari ke-3, 7 dan 10 setelah aplikasi gaya ortodonsi²⁵. TNF- α memiliki peran yang menonjol dalam mekanisme pengontrolan munculnya osteoklas pada daerah tekanan^{26,27}. Terjadi peningkatan ekspresi TNF- α pada hari pertama dan ketiga proses pergerakan gigi secara ortodonsi di daerah tekanan dan tarikan, yang dilihat pada gambaran imunohistokimia. Setelah 3 hari penelitian pergerakan gigi tersebut, ekspresi sitokin ini lebih meningkat lagi secara bermakna pada daerah tekanan daripada tarikan. Level sitokin tersebut tetap signifikan meningkat pada hari ke-7 setelah aplikasi gaya ortodonsi²⁸. Hal tersebut menggambarkan bahwa lebih banyak *resorptive microenvironment* yang terdapat di daerah tekanan^{29,30,31}.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ekspresi TNF- α di osteoblas pada kelompok perlakuan DM awal 7 hari semakin meningkat seiring dengan penambahan besarnya gaya ortodonsi. Nampak bahwa ekspresi TNF- α di osteoblas pada daerah tekanan cenderung lebih tinggi daripada tarikan. Ekspresi TNF- α yang lebih besar pada daerah tekanan daripada tarikan memberikan adanya fakta bahwa fenomena reorganisasi jaringan selama pergerakan gigi secara ortodonsi terjadi pada daerah tekanan³².

Hasil uji korelasi pada Tabel 5.3 menunjukkan bahwa gaya ortodonsi memiliki korelasi positif yang bermakna dan sangat kuat dengan ekspresi TNF- α di osteoblas. Gaya dan alat fungsional berpengaruh secara langsung pada ekspresi TNF- α ³³. Terdapat peningkatan ekspresi TNF- α pada daerah tekanan dan tarikan pada tikus yang diberi gaya dibandingkan dengan yang tanpa gaya, namun ekspresi tersebut lebih tinggi pada daerah tekanan daripada tarikan^{34,35}. Masih belum ditemukan mekanisme yang jelas tentang hubungan besarnya gaya ortodonsi ini terhadap peningkatan ekspresi TNF- α di osteoblas. Namun diasumsikan bahwa adanya tekanan dengan gaya yang besar akan menyebabkan sel-sel monosit dan limfosit lebih teraktivasi untuk mengeluarkan sitokin proinflamasi, salah satunya adalah TNF- α . Penambahan besar gaya ortodonsi juga dapat memicu beberapa respon intraseluler dan hal ini biasanya diperantarai oleh *second messenger*, yaitu *cyclic AMP*, *inositol phosphate* dan kalsium intraseluler yang jumlahnya akan meningkat seiring dengan besarnya gaya ortodonsi. *Second messenger* tersebut akan menstimulasi respon nukleus untuk menghasilkan faktor-faktor yang bertanggung jawab pada rekrutmen dan aktivasi sel osteoklas, salah satunya adalah TNF- α ^{36,37}.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekspresi TNF- α di osteoblast pada kondisi diabetes tahap awal 7 hari mengalami peningkatan seiring dengan penambahan gaya ortodonsi. Gaya ortodonsi berkorelasi positif dan sangat bermakna dengan ekspresi TNF- α di osteoblast, baik pada sisi tekanan maupun tarikan. Gaya ortodonsi 10 grF yang diberikan pada tikus diabetes tahap awal 7 hari menyebabkan perbedaan ekspresi TNF- α yang bermakna dengan tikus normal yang diberi gaya 30 grF, dimana pada tikus diabetes ekspresinya jauh lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa dengan gaya yang paling rendahpun dalam penelitian ini, ekspresi TNF- α masih lebih tinggi daripada yang bisa ditoleransi untuk mendorong terjadinya remodeling tulang alveolar. Sehingga gaya ortodonsi 10 grF masih belum dapat diberikan pada kondisi diabetes tahap awal 7 hari.

DAFTAR PUSTAKA

1. Costella A.M.U and Saber M. 2013. Influences of Diabetes Mellitus on Orthodontic Treatment: A Literatur Review. *The Orthodontic cyber Journal*. May 2013
2. Suyono S. 2011. *Kecenderungan Peningkatan Jumlah Penyandang Diabetes*. Dalam Soegondo S., Soewondo P., dan Subekti I. *Penatalaksanaan Diabetes Melitus Terpadu*. Edisi Kedua. Pusat Diabetes dan Lipid RSUP Nasional Dr. Cipto Mangunkusumo. Fakultas Kedokteran UI. Jakarta. p. 3-14
3. Shetty S.K., Kumar M., Smitha P.L. 2011. Cytokines and Orthodontic Tooth Movement. *Journal of Dental Sciences and Research*. **2**(1): 132-141
4. Pudyani P.S. 2007. Peran Jaringan Tulang Dalam Menunjang Keberhasilan Perawatan Kelainan Dentofasial Secara Ortodontik. *Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar*. FKG. UGM. p. 10
5. Krishnan V and Davidovitch Z. 2006. Cellular, Molecular and Tissue-Level Reactions to Orthodontic Forces. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. **129**: 469.c1-469.c32
6. Ren Y., Maltha J.C., Jagtman M.K. 2004. The Rats as a Model For Orthodontic Tooth Movement- a Critical Review and Proposed Solution. *European Journal of Orthodontics*. **26**: 483-490
7. Huang S., Kaw M., Harris M.T., Ebraheim N., McInerney M.F., Najjar S.M., Lecka-Czernik B. 2009. Decreased Osteoclastogenesis and High Bone Mass in Mice With Impaired Insulin Clearance Due to Silver-Specific Inactivation to CEACAM 1. *Bone*: 1-8
8. Yoshimatsu M., Shibata Y., Kitaura H., Chang X., Moriishi T., Hashimoto F., Yoshida N., Yamaguchi A. 2006. Experimental Model of Tooth Movement by Orthodontic Force in Mice and Its Application to Tumor Necrosis Factor Receptot-Deficient Mice. *J Bone Miner Metab*. **24**: 20-27
9. Gianoukakis A.G and Smith T.J. 2004. The Role of Cytokines in the Pathogenesis of Endocrine Disease. *Canadian Journal of Diabetes*. **28**(1): 30-42
10. Cattaneo P.M., Dalstra M., Melsen B. 2005. The Finite Element Method: a Tool to Study Orthodontic Tooth Movement. *J Dent Res*. **84**: 428-33
11. Waddington R.J. and Embery G. 2001. Proteoglycans and Orthodontic Tooth Movement. *Journal of Orthodontics*. **28**: 281-290

12. Kaya F.A., Hamamci N., Basaran G., Dogru M., Yildirim T.T. 2010. TNF- α , IL-1 β and IL-8 Levels in Tooth Early Levelling Movement Orthodontic Treatment. *Journal of International Dental and Medical Research*. **3**(3): 116-121
13. Koyama Y., Mitsui N., Suzuki N., Yanagisawa M., Sanuki R., Isokawa K., Shimizu N., Maeno M. 2007. Effect of Compressive Force on The Expression of Inflammatory Cytokines and Their Receptor in Osteoblastic Saos-2 Cells. Abstracts Archives of Oral Biology 53: 488-496
14. Kitaura H., Fujimura Y., Yoshimatsu M., Eguchi T., Kohara H., Jang I., Marita Y., Yoshida N. 2009. An M-CSF Receptor c-Fms Antibody Inhibits Mechanical Stress-Induced Root Resorption During Orthodontic Tooth Movement in Mice. *Angle Orthodontist*. **79**(5): 835-841
15. Matthews D.C. 2002. The Relationship Between Diabetes and periodontal Disease. *J Can dent assoc*. **68**(3): 161-4
16. Graves D.T and Kayal R.A. 2011. Diabetic Complications and Dysregulated Innate Immunity. *Front Biosci PMC*. **13**: 1227-1239
17. Malder H., Ahren B., Sundler F. 1996. Islet Amyloid Polypeptide (Amylin) and Insulin are Differentially Expressed in Chronic Diabetes Induced by Streptozotocin in Rats. *Diabetologia*. **39**: 649-657
18. Verhaeghe J., Suiker A., Nyomba B., Visser W.J., Einhorn T.A., Dequeker J., Bouillon R. 2000. Bone Mineral Homeostasis in Spontaneously Diabetic Rats. II. Impaired Bone Turnover and Decreased Osteocalcin Synthesis. *Endocrinology*. **124**: 573-582
19. Braga S.M.G., Taddei S.R.D., Andrade I., Garlet G.P., Repeke C.E., Teixeira m.M, daSilva T.A. 2011. Effect of Diabetes on Orthodontic Tooth Movement in a Mouse Model. *European Journal of Oral sciences*. **119**: 7-14
20. Grieve W.G., Johnson G.K., More R.N., Reinhardt R.A., Dubois L.M. 1994. Prostaglandin E (PGE) and Interleukin-1beta (IL-1beta) Levels in Gingival Crevicular Fluid During Human Orthodontic Tooth Movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. **105**(4): 369-74
21. Rajashree R., Kholkute S.D., Goudar S.S. 2011. Effects of Duration of Diabetes on Behavioural and Cognitive Parameters in Streptozotocin-Induced Juvenile Diabetic Rats. *Malaysian J Med Sci*. **18**(4): 26-31
22. Domenico M.D., Dapuzzo F., Feola A., Cito L., Monsurro A., Pierantoni G.M., Berrino L., Rosa a.D., Polimeni A., Perillo L. 2012. Cytokines and VEGF Induction

in Orthodontic Movement in Animal Models. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. **2012**: 1-4

23. Patil A and Jayade V.P. 2006. Advances in Biology of Orthodontic Tooth Movement- A Review. *J Ind Orthod Soc*. **39**: 155-164
24. Wei S., Kitaura H., Zhou P., Ross F.P., Teitelbaum S.L. 2005. IL-1 Mediates TNF-Induced Osteoclastogenesis. *J Clin Invest*. **115**: 282-290
25. Alhashimi N., Frithiof L., Brudvik P., Bakhtec M. 2001. Orthodontic Tooth Movement and de Novo Synthesis of Proinflammatory Cytokines. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. **119**:307-312
26. Brezniak N and Wasserstein A. 2002. Orthodontically Induced Inflammatory Root Resorption. Part I: The Basic science aspects. *Angle Orthod*. **72**: 175-179
27. Meikle M.C. 2006. The Tissue, Cellular, and Molecular Regulation of Orthodontic Tooth Movement: 100 Years After Carl Sandstedt. *European Journal of Orthodontics*. **28**: 221-240
28. Bletsa A., Berggreen E and Brudvik P. 2006. Interleukin-1alpha and Tumor Necrosis Factor-Alpha Expression During the Early Phases of Orthodontic Tooth Movement in Rats. *European Journal of Oral Sciences*. **114**: 423-429
29. Suda T., Kobayashi K., Jimi E., Udagawa N., Takahashi N. 2001. The Molecular Basis of Osteoclast Differentiation and Activation. *Novartis Foundation Symposium*. **232**: 235-247
30. Yano S., Maentaverri R., Kanuparthi D., Bandyopadhyay S., Rivera a., Brown E.M., Chattopadhyay N. 2005. Functional Expression of β -Chemokine Receptors in Osteoblasts: Role of Regulated Upon Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted (RANTES) in Osteoblasts and Regulation of Its Secretion by Osteoblasts and Osteoclast. *Endocrinology*. **146**: 2324-2335
31. Yamashita T., Yao Z., Li F., Zang Q., Badell I.R., Schwarz E.M., Takeshita S., Wagner E.F., Noda M., Matsuo K., Xing L., Boyce B.F. 2007. NF-KappaB p50 and p52 Regulate Receptor Activation of NF-KappaB Ligand (RANKL) and Tumor Necrosis Factor-Induced Osteoclast Precursor Differentiation by Activating c-Fos and NFATc-1. *Journal of Biological Chemistry*. **282**: 18245-18253
32. Brudvik P. and Rygh P. 1993. The Initial Phase of Orthodontic Root Resorption Incident to Local Compression of The Periodontal Ligament. *Eur J Orthod*. **15**: 249-263

33. Milagres D., Rueff-Barroso C.R., Bolognese A.M., Costa A.M.A., Porto L.C. 2009. Immunohistochemical Localization of Tumor Necrosis Factor-alpha and Interleukin-6 During Orthodontic Movement in Rats. *Braz J Morphol Sci.* **26**(1): 42-48
34. Garlett T.P., Coelho U., Silva J.S., Garlet G.P. 2007. Cytokine Expression Pattern in Compression and Tension Sides of The Periodontal Ligament During Orthodontic Tooth Movement in Humans. Abstracts *Eur J Oral Sci* 115(5): 355-62
35. Lowney J.J., Norton L.A., Shafer d.M., RossomandoE.F. 1995. Orthodontic Forces Increase Tumor Necrosis Factor α in The Human Gingival Sulcus. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics.* **108**(5): 519-524
36. Roberts-Harry D and Sandy J. 2004. Orthodontics. Part 11: Orthodontic Tooth Movement. *British Dental Journal.* **196**(7): 391-394
37. Sibner J.A. 2012. The Inflammatory Origins of Periodontal Disease and Diabetes: A Framework for Understanding Clinical Outcomes. <http://www.ineedce.com>. The Academy of Therapeutics and Stomatology: 1-12