

## Profil Aktiviti Laktat Dehidrogenase, Asid Fosfatase Rintang Tartarat dan Alkalin Fosfatase pada Air Liur Semasa Rawatan Ortodontik

(Profiles of Lactate Dehydrogenase, Tartrate Resistant Acid Phosphatase and Alkaline Phosphatase in Saliva during Orthodontic Treatment)

SHAHRUL HISHAM ZAINAL ARIFFIN\*, MOHD FAIZ ELLIAS, ROHAYA MEGAT ABDUL WAHAB, YOSNI BAKAR & SAHIDAN SENAFI

### ABSTRAK

*Proses pergerakan gigi semasa rawatan ortodontik boleh dikelaskan kepada empat fasa iaitu pengaktifan (berkait inflamasi terhadap tisu serta kematian sel), penyerapan, proses berbalik dan pembentukan tulang. Pergerakan gigi ini berkait rapat dengan perubahan metabolik di sekitar mulut. Objektif kajian ini adalah untuk menentukan profil penanda biologi enzim di dalam air liur individu yang menerima rawatan ortodontik iaitu laktat dehidrogenas (LDH) bagi proses inflamasi, asid fosfatase rintang tartarat (TRAP) bagi proses penyerapan tulang dan alkali fosfatase (ALP) bagi proses pembentukan tulang. Sampel air liur diambil daripada 6 individu yang menerima rawatan ortodontik. Aktiviti kesemua enzim diambil sebelum pendakap dipasang (aktiviti normal) diikuti dengan hari ke-3, 7, 10, 14, 17, 21, 24, 28 dan 31 selepas pengaktifan. Hasil kajian mendapati kesemua enzim (LDH, TRAP and ALP) menunjukkan peningkatan yang signifikan ( $p \leq 0.05$ ) selepas rawatan diberikan berbanding aktiviti normal. LDH didapati meningkat pada peringkat awal rawatan (hari ke-3, 7 dan 10), TRAP pada hari ke 14 dan 17 diikuti dengan ALP pada hari ke-17, 21 dan 24. Sebagai kesimpulan, profil enzim sepanjang rawatan ortodontik menunjukkan proses inflamasi berlaku di peringkat awal rawatan diikuti proses penyerapan dan pembentukan tulang. Selain itu, keseluruhan fasa inflamasi, penyerapan dan pembentukan tulang ortodontik didapati mengambil masa 24 hari.*

*Kata kunci : Air liur; enzim; ortodontik; pemodelan tulang*

### ABSTRACT

*During orthodontic treatment, the progress of tooth movements can be classified into four stages, i.e. activation (related to tissue inflammation or cells' death), resorption, reversal and restructuring of new bones. Tooth movement is related to metabolic changes around the mouth. The objective of this study was to determine enzymes profiles from patient's saliva during orthodontic tooth movement, i.e., lactate dehydrogenase (LDH) for inflammation, tartrate resistant acid phosphatase (TRAP) for bone resorption and alkaline phosphatase (ALP) for bone formation. Saliva samples were collected from 6 orthodontic patients. Activities of all enzymes were measured before placement of orthodontic fixed appliances (normal activity) followed with day 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24, 28 and 31 after the braces were activated. All enzymes (LDH, TRAP and ALP) showed significantly ( $p \leq 0.05$ ) higher specific activities as compared to normal. LDH showed the increment at the early phase of treatment (day 3, 7 and 10), TRAP at day 14 and 17 followed by ALP at day 17, 21 and 24. As a conclusion, the profiles of enzymes activities showed that inflammation occurred during early phase of treatment followed by bone resorption and bone formation. In addition, the inflammations, resorption and bone formation phases in orthodontic treatment were found to be completed within 24 days.*

*Keywords : Bone remodeling; enzymes; orthodontic; air liur*

### PENGENALAN

Rawatan ortodontik merupakan rawatan yang digunakan untuk memperbaiki struktur gigi yang tidak teratur. Sebelum rawatan ortodontik dilakukan, penentuan terhadap tahap kestabilan tulang gigi pesisakit adalah penting. Begitu juga keaktifan dalam proses penyerapan dan pembentukan sesuatu tulang gigi dalam suatu jangka masa tertentu turut diambil kira. Rawatan ortodontik ini melibatkan

pergerakan gigi yang dipengaruhi oleh perubahan kadar metabolisme tisu di sekitar mulut (Perinetti et al. 2005; Serra et al. 2003). Oleh itu, perubahan struktur gigi adalah berkait rapat dengan perubahan kandungan protein di sekitar mulut. Namun begitu, kajian terkini menunjukkan proses yang berlaku lebih kompleks daripada yang dijangkakan. Tekanan mekanikal yang dikenakan semasa rawatan ortodontik ini turut melibatkan perubahan tindak balas biokimia pada tisu mulut serta perubahan struktur tisu

ligamen periodontal. Proses permodelan berbalik tulang ini terdiri daripada beberapa peringkat iaitu pengaktifan, penyerapan tulang, fasa berbalik serta pembentukan tulang baru (Perinetti et al. 2002).

Inflamasi merupakan salah satu proses dalam pemodelan semula tulang tertutamanya pada fasa pengaktifan. Berdasarkan kajian terdahulu, beberapa enzim yang telah dikenal pasti sebagai berpotensi untuk dijadikan penanda biokimia bagi memberi gambaran yang lebih terperinci terhadap proses yang berlaku sepanjang rawatan ortodontik ini.

Laktat dehidrogenase (LDH) merupakan enzim yang penting dalam diagnosis penyakit seperti penyakit hati dan penyakit jantung (Wang et al. 2003). Dalam pergerakan gigi ortodontik, Atici et al. (1998) mendapati aktiviti LDH di dalam cecair krevis gingiva (GCF) iaitu sejenis cecair yang terdapat di antara gusi dan gigi akan meningkat semasa tisu di dalam mulut mengalami inflamasi seperti kerosakan tisu contohnya semasa periodontitis (penyakit gusi). Sebaliknya, aktiviti LDH juga didapati berkurangan pada individu yang menjalani proses pembersihan gigi (Numabe et al. 2004) apabila inflamasi didapati berkurangan hasil daripada proses pembersihan ini. Ini menunjukkan LDH berkait rapat dengan proses inflamasi yang berlaku di sekitar gigi. Sementara itu, asid fosfatase rintang tartarat (TRAP) merupakan sejenis isoenzim asid fosfatase yang mempunyai kerintangan terhadap bahan kimia tartarat. Intan Zarina et al. (2008) mendapati aktiviti TRAP meningkat secara signifikan pada sel mononuklear yang membeza kepada sel osteoklas secara *in vitro*. Penemuan ini dikukuhkan lagi dengan kajian lain yang turut menunjukkan TRAP terlibat secara langsung di dalam proses penyerapan tulang oleh sel osteoklas (Janckila et al. 2003; Halleen et al. 2006). Oleh itu, enzim TRAP ini berupaya bertindak sebagai penanda kepada kehadiran sel osteoklas dan secara langsung dapat dijadikan sebagai penanda biokimia terhadap kehadiran proses penyerapan tulang.

Alkalin fosfatase (ALP) pula merupakan enzim yang memangkinkan tindak balas hidrolisis ester fosfatase. Semasa proses pembentukan tulang baru, aktiviti ALP didapati meningkat di dalam cecair GCF (Perinetti et al. 2002). Kajian oleh Asma et al. (2008) juga menunjukkan aktiviti enzim ALP meningkat dalam GCF setelah sebulan menjalani pengaktifan gigi ortodontik. Peningkatan aktiviti ALP ini merupakan penanda kepada kehadiran sel osteoblas aktif (Stucki et al. 2001). Proses pembentukan semula tulang merupakan satu proses yang kompleks. Ringkasnya, ia terdiri daripada pembezaan sel progenitor osteoblas daripada sel mesenkima primitif kepada sel osteoblas dan akhir sekali pembentukan matrik yang diikuti dengan proses mineralisasi oleh osteoblas (Krishnan & Davidovitch 2006).

Walau bagaimanapun, pengetahuan terhadap pembentukan dan pengaktifan osteoblas daripada sel progenitor masih terhad (Gunther & Shinke 2000). Dalam proses pembentukan tulang gigi, sel progenitor osteoblas turut terlibat. Kajian oleh Eni et al. (2009) menunjukkan

kehadiran gen osteokalsin yang merupakan penanda molekul bagi sel osteoblas yang sudah matang di dalam tisu pulpa gigi manusia tanpa rawatan ortodontik. Ini menjelaskan dalam keadaan tanpa rawatan ortodontik, proses pembentukan tulang masih berlaku tetapi mungkin pada kadar yang rendah. Oleh yang demikian, pengesanan terhadap aktiviti ALP ini adalah penanda biologi bagi mengesan kewujudan proses pembentukan tulang yang berlaku semasa rawatan ortodontik hasil aktiviti osteoblas matang.

Berdasarkan kepada bukti dan kajian yang telah dijalankan, adalah penting bagi menjalankan kajian terhadap tiga enzim utama yang terlibat secara langsung di dalam mekanisme pergerakan gigi ortodontik ini iaitu LDH, TRAP dan ALP. LDH merupakan penanda biokimia kepada proses inflamasi (Serra et al. 2003), TRAP sebagai penanda biokimia proses penyerapan tulang (Janckila et al. 2003; Halleen et al. 2006; Intan Zarina et al. 2008) dan akhir sekali ALP sebagai penanda biokimia proses pembentukan tulang baru (Asma et al. 2008; Intan Zarina et al. 2008; Perinetti et al. 2002). Memandangkan penggunaan sampel GCF dalam kajian pergerakan gigi ortodontik ini memerlukan bantuan tenaga pakar serta kandungan sampel yang terhad, maka satu pendekatan menggunakan sampel air liur telah dilakukan. Berbanding GCF, pengambilan sampel air liur lebih mudah dan tidak menyakitkan. Sampel air liur juga boleh diperolehi dalam kandungan yang banyak, kos pengambilan yang rendah serta kurang merbahaya berbanding pengambilan cecair tubuh yang lain. Oleh yang demikian, dalam kajian ini, perubahan enzim spesifik iaitu LDH, TRAP dan ALP yang terlibat secara langsung semasa proses pergerakan gigi ortodontik dilakukan menggunakan sampel air liur. Ini diharapkan dapat diaplikasikan sebagai suatu kaedah tidak invasif bagi pengesanan proses pergerakan gigi semasa rawatan ortodontik ini.

#### BAHAN DAN KAEDAH

Bagi pengesanan aktiviti enzim, sampel air liur dalam kajian ini diperolehi daripada individu yang mendapat rawatan ortodontik menggunakan *Straight-wire Orthodontic brackets* 0.056 cm × 0.071 cm (MBT, Ormco, America) di Klinik Pakar Ortodontik, Fakulti Pergigian, Universiti Kebangsaan Malaysia Kuala Lumpur. Kajian ini telah didaftarkan di bawah percubaan klinikal dengan identiti rujukan ISRCTN 47483728 yang disahkan oleh Kesatuan Kesihatan Sedunia (WHO). Kajian ini juga telah diluluskan oleh Sekretariat Penyelidikan dan Etika, Fakulti Pergigian, Universiti Kebangsaan Malaysia, Malaysia. Sebanyak enam individu berlainan jantina (20 - 25 tahun) terlibat dalam kajian ini. Sampel air liur bagi kesemua individu diambil sebelum rawatan dijalankan bertujuan sebagai kawalan (normal). Seterusnya, sampel diambil untuk pengaktifan pertama rawatan ortodontik pada hari tertentu sepanjang tempoh pengaktifan pertama iaitu selama 31 hari. Individu yang terlibat dalam kajian ini mestilah memenuhi

kriteria seperti berikut: memerlukan rawatan ortodontik, mempunyai tahap kesihatan umum dan gigi yang baik, tidak mengambil sebarang dadah anti keradangan, wanita tidak mengandung, mendapat kebenaran pesakit atau penjaga untuk menyertai kajian ini. Setiap sampel air liur yang diperolehi, diempar pada kelajuan 1000 g selama 10 minit bertujuan mengasingkan partikel-partikel asing dan molekul-molekul besar. Supernatan yang terhasil seterusnya diasingkan dan dialikoutkan sebanyak 500  $\mu$ L ke dalam tiub pengempar mikro 1.5 mL yang steril dengan penambahan bahan penstabil iaitu 2.5 mM EDTA dan disimpan pada 30°C bagi sampel LDH dan ALP manakala 4°C bagi sampel TRAP. Kaedah Bradford (1976) yang telah diubah suai digunakan untuk menentukan kandungan protein bagi setiap sampel yang diambil.

#### PENGASAIAAN ENZIM

Aktiviti enzim air liur ditentukan melalui pengasaian enzim menggunakan substrat yang spesifik terhadap enzim tertentu. Aktiviti spesifik setiap enzim dipaparkan dalam unit/mg protein. Satu unit enzim merupakan amaun enzim yang membolehkan pertukaran 1  $\mu$ mol substrat dalam 1 min;  $\mu$ molmin<sup>-1</sup>. Aktiviti spesifik pula ialah jumlah unit enzim bagi jumlah protein (mg) di dalam sampel. Oleh itu, aktiviti spesifik ialah  $\mu$ molmin<sup>-1</sup>mg<sup>-1</sup> dan diringkaskan sebagai unit/mg.

#### LAKTAT DEHIDROGENAS (LDH)

Aktiviti enzim LDH dalam air liur diukur menggunakan kaedah spektrofotometer (Model Shimadzu UV-160A) pada suhu 30°C ( $\pm 0.5^\circ\text{C}$ ). Sampel air liur diasai di dalam substrat yang mengandungi 16.2 mM piruvat, 0.2 mM nikotinamida adenosina dinukleotida terturun (NADH) and 54.0 mM penimbal fosfat (pH 7.5  $\pm$  0.1) dengan isipadu akhir 2.0 mL selepas 5 minit eraman pada 30°C. Dengan kehadiran LDH yang aktif, piruvat akan terturun kepada L-laktat serentak dengan pengoksidaan NADH. Kadar penurunan pencerapan optik pada 340 nm menunjukkan pengurangan NADH dan secara tidak langsung menunjukkan aktiviti LDH yang terdapat pada sampel.

#### ASID FOSFATASE RINTANG TARTARAT (TRAP)

Aktiviti TRAP juga diasai dan diukur secara spektrofotometri menggunakan p-nitrofenil fosfat (pNPP) sebagai substrat.

Sampel air liur dimasukkan ke dalam campuran tindak balas yang mengandungi 100 mM pNPP, 0.1 mol/L penimbal asetat (pH 5.8), 1.5 mol/L KCl, 1% Triton X-100, 100 mM sodium tartarat serta agen penurutan 10 mM asid askorbik dan 1 mM FeCl<sub>3</sub>. Selepas eraman selama 60 minit pada 37°C, p-nitrofenol yang terhasil ditukar kepada p-nitrofenilat dengan penambahan 1 mL 0.9 mol/L NaOH. Seterusnya amaun p-nitrofenilat ini diukur pada panjang gelombang 405 nm.

#### ALKALIN FOSFATASE (ALP)

Aktiviti ALP diasai secara spektrofotometri menggunakan pNPP sebagai substrat. Sampel air liur diasai pada 30 °C ( $\pm 0.5^\circ\text{C}$ ) selama 30 minit di dalam campuran mengandungi 10 mM pNPP, penimbal karbonat (pH 9.8  $\pm$  0.5), 200 mM manitol dan 3 mM MgCl<sub>2</sub> pada isipadu akhir 2.0 mL. ALP menghidrolisis pNPP kepada p-nitrofenol dan sebatian fosfat bukan organik. Selepas 30 minit eraman pada 30 °C, p-nitrofenol yang terhasil ditukar kepada p-nitrofenilat dengan penambahan 1 mL 4.0 mol/L NaOH. Seterusnya kandungan p-nitrofenilat ini diukur pada panjang gelombang 405 nm. Analisis statistik bagi hasil kajian ini dilakukan menggunakan analisis *Repeated Measure* melalui program SPSS 15.0.

#### HASIL DAN PERBINCANGAN

Berdasarkan aktiviti spesifik enzim LDH, ALP dan TRAP yang telah diperolehi, didapati purata setiap enzim yang dikaji mempunyai aktiviti yang berbeza di antara satu sama lain (Jadual 1). Ini menunjukkan enzim-enzim yang dikaji mempunyai aktiviti spesifik yang berbeza di dalam air liur. Dalam kajian ini, aktiviti enzim diambil sebelum (normal) dan semasa rawatan dijalankan.

Dalam rawatan ortodontik, individu menjalani beberapa peringkat sebelum pendakap dikenakan pada gigi mengikut keperluan seperti cabutan, tampalan dan pembersihan gigi. Setelah pendakap dipasangkan, individu menjalani beberapa kitar pengaktifan sehinggalah gigi tersusun dengan baik. Jangka masa setiap kitar pengaktifan adalah pada lebih kurang setiap 4 minggu.

Dalam kajian ini, aktiviti enzim dalam air liur sebelum pendakap dipasang digunakan sebagai aktiviti enzim normal. Setelah pengaktifan dijalankan, aktiviti enzim akan diukur pada hari tertentu sepanjang kitaran

JADUAL 1. Purata aktiviti spesifik enzim (unit/mg) di dalam saliva dan ujian statistik sub subjek (*Helmert Contrast*) di antara aktiviti Normal dan Rawatan (n=6)

Enzim	Normal ( $\times 10^{-3}$ )	Rawatan ( $\times 10^{-3}$ )	Nilai p
LDH	3.11 $\pm$ 1.05	5.73 $\pm$ 2.71	0.038*
TRAP	5.98 $\pm$ 1.32	11.07 $\pm$ 4.94	0.050*
ALP	0.52 $\pm$ 0.23	1.01 $\pm$ 0.27	0.021*

\* Analisis statistik memberikan perbezaan nilai yang signifikan ( $p \leq 0.05$ )

pertama pengaktifan. Seterusnya, perbandingan antara aktiviti enzim sebelum rawatan dan purata aktiviti enzim selepas rawatan dilakukan. Analisis yang digunakan dalam menentukan perbezaan ini adalah dengan menggunakan analisis antara sub subjek iaitu ujian kontras Helmert. Ujian ini digunakan bagi membandingkan aktiviti purata sebelum rawatan dengan hari berikutnya iaitu purata aktiviti selepas rawatan. Hasil analisis mendapati purata aktiviti spesifik enzim LDH, ALP dan TRAP meningkat secara signifikan ( $p \leq 0.05$ ) selepas rawatan berbanding sebelum rawatan (Jadual 1). Peningkatan aktiviti enzim ini adalah diakibatkan oleh tekanan yang diberikan kepada tulang alveolar apabila pendakap diaplikasikan pada gigi semasa rawatan ortodontik ini dijalankan.

Semasa rawatan ortodontik, proses inflamasi berlaku akibat dari tekanan mekanikal yang dikenakan pada gigi. LDH akan dibebaskan apabila sel lisis semasa proses inflamasi berlaku (Serra et al. 2003). Proses inflamasi yang berlaku semasa rawatan ortodontik ini akan menyebabkan kematian sebahagian sel akibat daripada tekanan mekanikal yang seterusnya menyebabkan enzim LDH dibebaskan. Jadual 3 menunjukkan peningkatan aktiviti spesifik LDH yang signifikan ( $p \leq 0.05$ ) di dalam air liur selepas rawatan dijalankan berbanding aktiviti normal. Selain daripada kajian melibatkan air liur, kajian terhadap GCF juga menunjukkan berlakunya peningkatan aktiviti LDH apabila wujudnya inflamasi sewaktu rawatan ortodontik diberikan (Serra et al. 2003). Oleh yang demikian, LDH dalam air liur sesuai untuk dijadikan penanda biologi bagi proses inflamasi yang berlaku semasa rawatan ortodontik dijalankan.

Selain proses inflamasi, tekanan mekanikal terhadap gigi juga menyebabkan tulang alveolar dan ligamen periodontal (PDL) pada gigi mengalami tekanan pada satu bahagian manakala bahagian yang satu lagi akan mengalami regangan. Menurut Melsen (1999), kawasan yang ditekan akan merangsang proses penyerapan tulang, sementara kawasan yang mengalami regangan akan mengaktifkan pembentukan tulang. Sel osteoklas dan osteoblas merupakan sel yang penting di dalam proses penyerapan serta pembentukan tulang. Kehadiran dan aktiviti kedua-dua sel ini dapat diukur menggunakan penanda biologi yang telah dikenalpasti iaitu enzim ALP dan TRAP. ALP didapati terlibat di dalam proses pembentukan tulang semasa pergerakan ortodontik (Perinetti et al. 2002) sementara TRAP pula digunakan sebagai penanda bagi proses penyerapan tulang, hasil daripada aktiviti sel osteoklas (Janckila 2001). Hasil analisis menunjukkan peningkatan aktiviti ALP dan TRAP secara signifikan ( $p \leq 0.05$ ) sepanjang rawatan ortodontik berbanding sebelum rawatan dijalankan (Jadual 1). Ini menunjukkan bahawa kedua-dua proses penyerapan dan pembentukan tulang adalah aktif semasa rawatan ini dijalankan.

Proses permodelan semula tulang sewaktu rawatan ortodontik terdiri daripada beberapa peringkat iaitu pengaktifan, penyerapan tulang, fasa berbalik dan pembentukan tulang baru (Perinetti et al. 2002). Sepanjang tempoh pengaktifan, kesemua proses ini akan memainkan

peranan tertentu dalam memastikan keberkesanan proses permodelan tulang. Dalam tempoh pengaktifan, proses pertama yang berlaku adalah inflamasi. Diikuti pula oleh proses penyerapan dan pembentukan tulang masing-masing yang merupakan proses utama dalam tempoh penyerapan tulang serta pembentukan tulang baru. Kedua-dua proses ini adalah saling antagonis antara satu sama lain.

Bagi melihat proses ini secara lebih terperinci, perbandingan berpasangan di antara hari-hari rawatan telah dilakukan. Perbandingan berpasangan merupakan perbandingan di antara kesemua min kumpulan yang tidak bersandar di antara satu sama lain. Analisis statistik aktiviti spesifik LDH mendapati peningkatan yang signifikan ( $p \leq 0.05$ ) pada hari ke-3, 7 dan 10 (Jadual 2 (a)). Fenomena ini menunjukkan proses inflamasi berlaku 3 - 10 hari selepas rawatan mula diberikan. Sementara itu, perbandingan berpasangan di antara hari rawatan berbeza pada enzim TRAP menunjukkan peningkatan aktiviti spesifik pada hari 7, 14 dan 17 (Jadual 2 (b)) berbanding aktiviti spesifik TRAP sebelum rawatan. ALP pula menunjukkan peningkatan aktiviti spesifik secara signifikan ( $p \leq 0.05$ ) pada hari ke 3, 7, 17, 21 dan 24 (Jadual 2 (c)) berbanding sebelum rawatan.

Oleh yang demikian, profil aktiviti TRAP yang diperolehi menunjukkan proses penyerapan oleh sel osteoklas adalah aktif pada hari ke-14 dan 17. Pada fasa ini proses penyerapan oleh osteoklas melibatkan degradasi unsur organik dan mineral di dalam matriks tulang (Hill 1998). Seterusnya, proses pembentukan semula tulang akan mengambil alih peranan dalam melengkapkan kitaran pemodelan tulang semasa rawatan ortodontik. Fenomena ini dapat dilihat apabila aktiviti ALP yang digunakan sebagai penanda kehadiran sel osteoblas aktif meningkat pada hari ke-17, 21 dan 24 selepas peningkatan TRAP atau aktiviti osteoklas. Kajian yang hampir sama juga ditunjukkan oleh Perinetti et al. (2002) menunjukkan aktiviti ALP meningkat pada GCF setelah 7 hari rawatan ortodontik dikenakan pada pesakit.

Walau bagaimanapun, terdapat peningkatan pada aktiviti TRAP dan ALP di peringkat awal rawatan iaitu TRAP pada hari ke-7 (Jadual 2 (b)) dan ALP pada hari ke-3 dan 7 (Jadual 2 (c)). Ini disebabkan semasa permulaan pengaktifan rawatan ortodontik, berlakunya penyerapan tulang secara tak langsung dari kawasan ruang sumsum untuk melemahkan integriti struktur tulang sebelum proses sebenar penyerapan dan pembentukan tulang bagi pergerakan gigi berlaku. Aktiviti penyerapan tulang secara tak langsung ini dilakukan oleh sel osteoklas matang yang seterusnya menyebabkan aktiviti TRAP pada air liur meningkat pada hari ke-7 (Jadual 2(b)). Di samping itu berlaku juga proses pembentuk tulang semasa permodelan semula tulang alveolar dari ruang sumsum. Proses pembentukan tulang ini dilakukan oleh sel osteoblas matang yang menyebabkan peningkatan aktiviti ALP pada permulaan pengaktifan ortodontik iaitu pada hari ke-3 dan 7 (Jadual 2 (c)).

Berdasarkan profil aktiviti enzim LDH, TRAP dan ALP, didapati proses pergerakan gigi yang melibatkan ketiga-

JADUAL 2. Perbandingan berpasangan antara hari-hari rawatan

## (a) Laktat dehidrogenase (LDH)

(I) Hari	(J) Hari	Beza Purata ( $\times 10^{-3}$ )[J-I]	Ralat Piawai ( $\times 10^{-3}$ )	Nilai p <sup>a</sup>
<sup>a</sup> Normal	3	3.23	0.75	0.012*
	7	2.10	0.54	0.018*
	10	3.15	0.76	0.014*
	14	3.29	1.81	0.143
	17	5.74	2.41	0.075
	21	3.65	2.18	0.170
	24	1.55	1.29	0.295
	28	0.31	1.29	0.822
	31	0.54	0.72	0.497

<sup>a</sup>Perbandingan adalah berdasarkan purata aktiviti enzim (n=6); \*Signifikan ( $p \leq 0.05$ )

## (b) Asid fosfatase rintang tartarat (TRAP)

(I) Hari	(J) Hari	Beza Purata ( $\times 10^{-3}$ )[J-I]	Ralat Piawai ( $\times 10^{-3}$ )	Nilai p <sup>a</sup>
Normal	3	11.1	5.39	0.108
	7	6.31	2.27	0.050*
	10	3.33	1.41	0.078
	14	2.66	0.87	0.038*
	17	7.74	2.74	0.047*
	21	3.55	1.72	0.108
	24	5.68	2.23	0.064
	28	1.55	2.05	0.490
	31	3.86	1.94	0.108

<sup>a</sup>Perbandingan adalah berdasarkan purata aktiviti enzim (n=6); \*Signifikan ( $p \leq 0.05$ )

## (c) Alkaline fosfatase (ALP)

(I) Hari	(J) Hari	Beza Purata ( $\times 10^{-3}$ )[J-I]	Ralat Piawai ( $\times 10^{-3}$ )	Nilai p <sup>a</sup>
Normal	3	0.39	0.14	0.049*
	7	0.83	0.26	0.033*
	10	0.40	0.18	0.090
	14	0.42	0.15	0.054
	17	0.95	0.28	0.027*
	21	0.48	0.05	0.001*
	24	0.40	0.05	0.001*
	28	0.14	0.13	0.345
	31	0.46	0.24	0.125

<sup>a</sup>Perbandingan adalah berdasarkan purata aktiviti enzim (n=6); \*signifikan ( $p \leq 0.05$ )



tiga proses inflamasi, penyerapan tulang dan pembentukan tulang baru berlaku sehingga hari ke-24. Oleh yang demikian, pengaktifan gigi bagi rawatan ortodontik ini mungkin dapat disingkatkan daripada sekurang-kurangnya 30 hari tempoh rawatan kepada 25 hari sahaja bagi setiap pengaktifan. Ini seterusnya dapat mempercepatkan sehingga 25% daripada tempoh keseluruhan rawatan ortodontik.

#### KESIMPULAN

Berdasarkan purata aktiviti spesifik enzim LDH, TRAP dan ALP; aktiviti spesifik enzim selepas rawatan meningkat secara signifikan menunjukkan corak berlakunya proses inflamasi, penyerapan dan diikuti pula dengan pembentukan tulang yang aktif. Aktiviti enzim pada hari tertentu rawatan pula menunjukkan proses inflamasi berlaku diperingkat awal rawatan (hari ke-3, 7, dan 10) dengan peningkatan aktiviti LDH. Namun, berlaku juga peningkatan aktiviti TRAP serta ALP di peringkat awal pengaktifan ortodontik disebabkan oleh aktiviti awal dari kawasan ruang sumsum yang akan melemahkan integriti struktur tulang sebelum proses seterusnya. Seterusnya, proses penyerapan tulang berlaku pada hari ke-14 dan 17 diikuti proses pembentukan tulang baru pada hari ke-17, 21 dan 24. Keseluruhan fasa inflamasi, penyerapan dan pembentukan tulang gigi ortodontik juga didapati berakhir pada hari ke-24.

#### PENGHARGAAN

Rohaya Megat Abdul Wahab (RMAW), Shahrul Hisham Zainal Ariffin (SHZA), Mohd Faiz Elias (MFE), Yosni Bakar (YB) dan Sahidan Senafi (Sse) menyumbang peranan yang sama di dalam penerbitan makalah ini. Setiap mereka merupakan penulis pertama bagi makalah ini. SHZA adalah ketua projek kajian ini yang terlibat dalam reka bentuk eksperimen dan penyelia kepada MFE dan merupakan pengarang utama untuk reka bentuk eksperimen. RMAW merupakan ketua projek bahagian klinikal, penyelia bersama MFE, terlibat dalam rancangan klinikal bagi kajian ini dan merupakan pengarang utama untuk bahagian klinikal. SSe juga penyelia bersama MFE dan terlibat dalam pengoptimuman pengasaian ketiga-tiga enzim juga pengarang utama untuk bahagian analisis enzimologi. Penulis juga ingin merakamkan terima kasih kepada pelajar prasiswazah di bawah penyeliaan SHZA dan SSe juga pelajar siswazah klinikal dibawah penyeliaan RMAW dalam membantu menghasilkan beberapa data profil enzim untuk kajian ini. Penyelidikan ini telah di biyai oleh peruntukan UKM-GUP-BTK-05-17-197 dan Geran Prasiswazah Pusat Pengajian Biosains dan Bioteknologi daripada Universiti Kebangsaan Malaysia, UKM - DD - 03 - FRG50030 - 2010 daripada Kementerian Pengajian Tinggi, Malaysia

#### RUJUKAN

- Asma, A.A.A., Rohaya, M.A.W. & Shahrul Hisham, Z.A. 2008. Crevicular Alkaline Phosphatase Activity During Orthodontic Tooth Movement: Canine Retraction Stage. *Journal of Medical Sciences* 8(3): 228-233.
- Atici, K., Yamalik, N., Eratalay, K. & Etikan, I. 1998. Analysis of gingival crevicular fluid intracytoplasmic enzyme activity in patients with adult periodontitis and rapidly progressive periodontitis. A longitudinal study model with periodontal treatment. *Journal of Periodontology* 69: 1155-1163.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254
- Eni Juliana, A., Rohaya M.A.W., Sahidan, S., Nik Marzuki, S. & Shahrul Hisham, Z.A. 2009. Molecular Existence of Mature Odontoblast and Osteoblast Cells In Adult Human Pulp Tissues. *Asian Journal of Biochemistry* 4(2): 36-44
- Gunther, T. & Shinke, T. 2000. Mouse genetics have uncovered new paradigm in bone biology. *TEM* 11: 189-193.
- Halleen, J.M., Alatalo, S.L., Suominen, H., Cheng, S., Janckila, A.J. & Vaananen, H.K. 2000. Tartrate-Resistant Acid Phosphatase 5b: A Novel Serum Marker of Bone Resorption. *Journal of Bone and Mineral Research* 15: 1337-1345.
- Hill, P.A. 1998. Bone remodeling. *British Journal of Orthodontics* 25: 101-107.
- Intan Zarina, Z.A., Shahrul Hisham, Z.A., Rohaya, M.A.W., Sahidan, S. & Zaidah, Z.A. 2008. Osteoclast and Osteoblast Development of *Mus musculus* Haemopoietic Mononucleated Cells. *Journal of Biological Sciences* 8(3): 506-516.
- Janckila, A.J., Nakasato, Y.R., Neustadt, D.H. & Yami, L.T. 2003. Disease-Specific Expression of Tartrate-Resistant Acid Phosphatase Isoforms. *Journal of Bone and Mineral Research* 18: 1916-1919.
- Krishnan, V. & Davidovitch, Z. 2006. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 129: 469e.1-460e.32
- Melsen, B. 1999. Biological reaction of alveolar bone to orthodontic tooth movement. *Angle Orthodontic* 69: 151-158.
- Numabe, Y., Hisano, A., Kamoi, K., Yoshic, H., Ito, K., Karihara, H. & Nomura, Y. 2004. Analysis of air liur for periodontal diagnosis and monitoring. *Periodontology* 40: 115-119.
- Perinetti, G., Paolantonio, M., D'Attilio, M., D'Archivio, D., Tripodi, D. & Festa, F. 2002. Alkaline phosphatase activity in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 122: 548-556.
- Perinetti, G., Serra, E., Paolantonio, M., Bruè, C., Di Meo, S., Filippi, M.R., Festa, F., & Spoto, G. 2005. Lactate dehydrogenase activity in human gingival crevicular fluid during orthodontic treatment: A controlled, short-term longitudinal study. *Journal of Periodontology* 76(3): 411-417.
- Perinetti, G., Varvara, G., Salini, L. & Tetè, S. 2005. Alkaline phosphatase activity in dental pulp of orthodontically treated teeth. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 128: 492-496.

- Serra, E., Perinetti, G., D'Attilio, M., Cordella, C., Paolantonio, M., Festa, F. & Spoto, G. 2003. Lactate dehydrogenase activity in gingival crevicular fluid during orthodontic treatment. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 124(2): 206-211.
- Stucki, U., Schmid, J., Hammerle, C. & Lang, N. 2001. Temporal and local appearance of alkaline phosphatase activity in early stages of guided bone regeneration. *Clinical Oral Implants Research* 12: 121-127.
- Wang, W., Sun, X. & Jin, W. 2003. Determination of lactate dehydrogenase in human erythrocytes by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Journal of Chromatography B* 798: 175-178.

Shahrul Hisham Zainal Ariffin\*, Mohd Faiz Ellias & Sahidan Senafi  
 Pusat Pengajian Biosains dan Bioteknologi  
 Fakulti Sains dan Teknologi  
 Universiti Kebangsaan Malaysia  
 43600 Bangi, Selangor D.E.  
 Malaysia

Rohaya Megat Abdul Wahab  
 Jabatan Ortodontik  
 Fakulti Pergigian  
 Universiti Kebangsaan Malaysia  
 50300 Kuala Lumpur  
 Malaysia

Yosni Bakar  
 Pusat Pengajian Sains Sekitaran dan Sumber Alam  
 Fakulti Sains dan Teknologi  
 Universiti Kebangsaan Malaysia  
 43600 Bangi, Selangor, D.E.  
 Malaysia

\*Pengarang untuk surat-menyurat email: [hisham@ukm.my](mailto:hisham@ukm.my)

Diserahkan: 14 Julai 2009  
 Diterima: 7 Januari 2010