

BEBERAPA PENANDA (MARKER) PADA *EARLY CHILDHOOD CARIES* (ECC) DAN SEVERE *EARLY CHILDHOOD CARIES* (S-ECC) (SUATU TINJAUAN IMUNOLOGIS)

Eko Sri Yuni Astuti

Bagian Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Mahasaraswati Denpasar
E-mail: pedo_yuni@yahoo.co.id

ABSTRACT

Early childhood caries (ECC) is caries that affects children under the age of 6. According to the American Academy of Pediatric Dentistry (AAPD), ECC is defined as the presence of one or more teeth with caries (cavities or no cavities), missing teeth due to caries or the presence of restoration deciduous teeth in children under 71 months. If it occurred on the smooth surface of the tooth in children under 3 years of age, indicating severe early childhood caries (S-ECC). Streptococcus Mutans plays a role in the etiology of caries of preschool children, which is a contagious infectious disease, Streptococcus Mutans are acidogenic bacteria (can produce acid) and aciduric (can live in acidic environments). The occurrence of caries is a complex process of interaction between host factors (teeth), microorganisms, substrates (carbohydrates) and the environment, including saliva. Several markers related to ECC and S-ECC namely lysozyme, lactoferrin saliva, IL-8, CD63 salivary neutrophil.

Keywords: ECC, S-ECC, lysozyme, lactoferrin, IL-8, CD 63 salivary neutrophil

PENDAHULUAN

Karies adalah penyakit infeksi kronis yang mengenai jaringan keras gigi, dapat terjadi pada orang dewasa ataupun anak-anak. Karies yang menyerang anak - anak dibawah usia 6 tahun disebut dengan *Early childhood caries (ECC)*. Menurut American Academy of Pediatric Dentistry (AAPD), ECC diartikan adanya satu atau lebih gigi dengan karies (lesi dengan kavitas atau tanpa kavitas), gigi hilang karena karies atau adanya penambalan gigi sulung pada anak usia dibawah 71 bulan atau 6 tahun.¹ Apabila pada anak-anak usia di bawah 3 tahun terjadi karies pada permukaan halus gigi, menandakan severe early childhood caries (S-ECC). *ECC* dimulai dengan gambaran putih (white spot) pada gigi insisivus desidui/ sulung /susu rahang atas sepanjang margin gingiva, dan apabila karies berlanjut maka akan merusak seluruh mahkota gigi.^{2,3}

Prevalensi ECC di Negara berkembang mencapai 85% pada kelompok ekonomi lemah.⁴ Sedangkan American Academy of Pediatric Dentistry (AAPD) menemukan sebanyak 70% anak-anak usia 2-5 tahun mengalami karies. Di Indonesia prevalensi karies pada anak usia 5 tahun sebesar 67.3 %, dengan angka pengalaman karies sebesar ≥ 6 , hal ini termasuk kategori ECC yang berat.⁵

Faktor-faktor yang terlibat pada ECC adalah host yang mendukung, diet karbohidrat yang mudah difermentasi, dan plak gigi. Jumlah mikroorganisme

kariogenik *S Mutans* dan *S Sobrinus* merupakan mikroorganisme paling umum yang terkait dengan karies serta Laktobasilus yang berpartisipasi dalam pengembangan lesi karies.²

S mutans memainkan peranan pada etiologi karies anak-anak prasekolah yang merupakan penyakit infeksi menular. *S. mutans* merupakan bakteri asidogenik (dapat memproduksi asam) dan asidurik (dapat hidup pada lingkungan asam).⁶ Akuisisi awal *S mutans* merupakan kunci terjadinya penyakit karies, dapat terjadi melalui transmisi secara vertikal dan horizontal.⁷

Proses karies terjadi apabila aktifitas enzim bakteri (*S mutans*) dalam mulut melakukan fermentasi karbohidrat yang menempel pada permukaan gigi, sehingga terbentuk asam yang akan menyebabkan demineralisasi permukaan gigi.⁸ Jika proses demineralisasi lebih sering terjadi dari pada proses remineralisasi, maka karies terjadi.⁴ Proses terjadinya karies merupakan reaksi kompleks yang melibatkan beberapa faktor yang saling berinteraksi. Beberapa penelitian sudah dilakukan untuk mengetahui marker yang berhubungan dengan karies. Mass dkk menemukan hubungan antara rendahnya tingkat lizosim dengan menurunnya jumlah *S mutans*.⁹ Klissia et al menemukan hubungan lizosim dengan dmft dan hubungan laktoferin dengan jumlah gigi yang direstorasi pada anak sekolah. Jumlah

laktoferin dan lisozim memungkinkan sebagai penilaian yang berhubungan dengan status karies.¹⁰

Tujuan penulisan ini untuk mengetahui beberapa penanda (marker) yang berhubungan dengan karies pada masa anak-anak awal atau *Early childhood Caries (ECC)* dan *Severe- Early childhood Caries (S-ECC)*

LISOZIM

Lisozim merupakan protein saliva yang berperan penting pada *innate immunity* (sistem pertahanan tubuh non spesifik). Lisozim adalah protein dasar dengan berat molekul 14 kDa yang ditemukan pada sekresi beberapa cairan tubuh seperti plasma/serum, air mata, cairan amnion, saliva dan sedikit di urin, empedu dan CSF (*cerebrospinal fluid*). Enzim ini mempunyai kemampuan sebagai agen antibakteri dari gram positif. Pada rongga mulut, *lysozyme* disekresikan dari kelenjar saliva mayor dan minor, GCF (*Gingival Crevicular Fluid*), dan leukosit saliva. Lisozim mempunyai aktifitas muramidase, mampu menghidrolisis ikatan β -1,4-glikosida antara N-asetilmuramide acid dan N-asetylglucosamine pada peptidoglycan lapisan dinding sel bakteri. Lisozim menghidrolisis polisakarida dinding bakteri, sehingga terjadi hiposmolarisasi. Sebagai protein kationik yang kuat, lisozim menjadi media agregasi dan perlekatan bakteri untuk mengaktifkan autolisin bakteri sehingga merusak dinding sel bakteri.^{11,12}

LAKTOFERIN

Laktoferin merupakan protein saliva yang berperan penting pada *innate immunity* (sistem pertahanan tubuh non spesifik). Laktoferin adalah glikoprotein kationik dengan berat molekul 80 kDa, berupa protein saliva pengikat zat besi non-hem yang merupakan bagian dari keluarga protein transferrin. Laktoferin mempunyai afinitas tinggi pada *iron binding glycoprotein*. Peran pencegahan molekul ini adalah menarik *iron* dari bakteri.^{11,13}

Laktoferin terdapat pada saliva, air mata dan *secondary granule of leukocytes*. Disekresikan oleh sel-sel serous kelenjar saliva mayor dan minor, mempunyai *iron chelating property* yang menghilangkan bakteri dari elemen esensial. *Iron free lactoferrin (apolactoferrin)* mempunyai kemampuan antibakteri melalui ikatan langsung bakteri ke laktoferin dan aglutinasi *S mutans*, sehingga memudahkan penghilangan bakteri yang

teraglutinasi melalui aksi mekanis penelanan saliva. Laktoferin secara *in vitro* mempunyai aktivitas anti inflamasi dan beberapa domain nampak pada ikatan polipeptida yang menunjukkan efek antimikroba.^{14,15}

Penelitian hubungan konsentrasi laktoferin dan lisozim saliva yang tidak distimulasi pada ECC menunjukkan adanya hubungan. Konsentrasi laktoferin dan lisozim lebih tinggi pada group bebas karies daripada group ECC.¹⁵

Tingkat laktoferin dan lisozim menurun secara signifikan setelah 3 bulan perawatan gigi secara komprehensif pada kasus ECC.¹⁶

Akan tetapi studi lain menunjukkan kebalikannya, seperti studi Lertsirivorakul et al menunjukkan kenaikan tingkat lisozim saliva bersama kenaikan aktivitas lisozim pada anak prasekolah dengan S-ECC dibanding dengan grup bebas karies.¹⁷

INTERLEUKIN 8 (IL-8)

Neutrofil dalam saliva merupakan pertahanan pertama dari *immune cell* terhadap mikroba patogen, dapat mengenali permukaan terikat atau molekul bebas yang disekresikan bakteri termasuk *S mutans* seperti peptidoglikan, lipoprotein, asam lipoteikoat (LTA), lipopolisakarida, DNA yang mengandung CpG, dan flagelin. Molekul pathogen ini dikenal sebagai *pathogen associated molecular pattern (PAMPs)* berinteraksi langsung dengan sejumlah *pathogen recognition receptors (PRRs)* yang diekspresikan pada permukaan sel, termasuk *toll like receptor (TLRs)*.¹⁸

Interleukin -8 (IL-8) adalah anggota dari kemokin, keluarga CXC yang berfungsi sebagai aktivator kuat dan kemotaktan neutrofil. IL-8 merupakan mediator kunci dalam migrasi neutrofil ke lokasi peradangan dan infeksi.^{19,20}

Interleukin-8 (IL- 8) disintesis oleh leukosit polimorfonuklear (PMNs) dan beberapa sitokin, seperti TNF, IL-I, IL-6.²¹

Apabila ada stimulasi dari gugus mikroba, G-CSF atau GM-CSF, *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) atau interferon Tipe I dan II dalam jaringan yang mengalami inflamasi, neutrofil yang teraktifasi akan menghasilkan IL-8.²²

IL-8 disekresi oleh makrofag dan sel endothelial sebagai zat kimia penarik neutrofil, memelopori infiltrasi neutrofil. IL-8 secara invitro menghasilkan perekrutan neutrofil dan menaikkan pelepasan enzim lisosom melawan bakteri.^{23,24}

Penelitian Luthfi dkk, 2015 menjelaskan bahwa ekspresi IL-8 lebih rendah pada S-ECC (*savere early childhood caries*) daripada yang bebas karies. Ekspresi IL-8 pada neutrofil saliva S-ECC lebih rendah ini menyebabkan pembunuhan *S.*

mutans kurang efektif karena aktifitas oksidasi NADPH rendah, proses degranulasi juga kurang aktif sehingga pembunuhan dalam phagosome menurun, dengan demikian proses karies terus berlanjut.

Menurunnya ekspresi IL-8 pada neutrofil saliva mungkin menjadi salah satu penyebab meningkatnya jumlah *S mutans* pada S-ECC.²⁰

Azurophilic Granula (CD63) Neutrofil Saliva

Neutrofil merupakan sel-sel pada garis pertahanan pertama melawan bakteri patogen melalui proses fagositosis.

Granula primer (*azurophilic granules*) pada neutrofil saliva mengandung molekul antimikroba, seperti *defensin like human neutrophil peptide 1-3* (HNPI-3), elastase, cathepsin G dan proteinase 3, serta CD63. Granula-granula ini berhubungan dengan alat fagositosis yang melepaskan isinya dalam phagosome yang menyebabkan mikroba terfagositasi. Mikroba gram positif dan gram negatif, termasuk *S mutans* yang merupakan bakteri utama penyebab karies gigi.²⁵

Penelitian Luthfi, 2015 mengungkapkan bahwa ekspresi CD63 neutrofil saliva menurun pada S-ECC. Rendahnya ekspresi CD63 neutrofil saliva pada S-ECC disebabkan oleh *S mutans* yang sudah terinternalisasi oleh neutrofil melalui proses fagositosis yang dimediasi Fc α R (CD89) atau CR1 (CD35) yang dapat berkembang ke tiga strategi sistem pertahanan untuk menghindari pembunuhan intrasel, pertama meninggalkan phagosome, kedua blocking gabungan phagosome-lisosom, dan ketiga menggunakan mekanisme membiarkan kelangsungan hidup di phagolysosomes.²⁶

CD63 neutrofil saliva rendah pada S-ECC disebabkan juga oleh defisiensi protein elastase dan cathepsin G.²⁷ Kurangnya neutrofil aktif akan mengeluarkan lebih sedikit *extracellular traps* (NETs) yang bekerja untuk membunuh mikroba ekstraseluler karena NETs mengandung *lactoferrin*, *cathepsin* and *enzymes* yang merupakan toksik tinggi untuk mikroba, disamping memfasilitasi proses fagositosis.²⁸

Marker *azurophilic granules* (CD63) dan marker fagositosis (CFSE CD11c), pada penelitian Luthfi M. dkk, 2015 menunjukkan aktivitas yang menurun, hal ini merupakan salah satu penyebab pada S-ECC. Menurunnya ekspresi CD63 neutrofil saliva, memungkinkan naiknya tingkat *S mutans* pada S-ECC.^{29,30}

RINGKASAN

Beberapa penanda (marker) yang berhubungan dengan karies masa anak-anak awal (ECC / *Early Childhood Caries* ataupun S-ECC/

Savere-Early Childhood Caries) adalah lisozim, laktoferin, IL-8, CD63 neutrofil saliva.

REFERENSI

1. American Academy of Pediatric Dentistry. Reference manual 2002-2003. Policies on early childhood caries; Unique Challenges and Treatment Options. *Pediatric Dent* .2003(23):24-5
2. Anil S, Anand P.S. Early Childhood Caries: Prevalence, Risk Factors, and Prevention. *Frontiers in pediatrics*. 2017; 5:157.
3. Pinkham, J.R. *Pediatric Dentistry: Infancy through Adolescence*, 3rd Ed. WB Saunders Co., London, UK. 1999
4. Kawashita, Y. Kitamura, M., Saito, T. Early Childhood Caries. *International Journal of Dentistry*. 2011, Article ID 725320, 7 pages
5. Riskesdas 2018, Prevalensi Karies Dan Rata-Rata Karies Anak-Anak, Kementerian Kesehatan RI, 2018
6. Meyer F, dan Enax J. Early Childhood Caries: Epidemiology, Aetiology, and Prevention. *International Journal of Dentistry*. 2018: 1-7. <https://doi.org/10.1155/2018/1415873>
7. Berkowitz, R. J. Causes, Treatment and Prevention of Early Childhood Caries: A Microbiologic Perspective, *J Can Dent Assoc* 2003; 69(5):304-7
8. Finn, S.B. *Clinical Pedodontics*, 4th Ed., W.B Saunders. Co., Philadelphia. 2003
9. Mass E, Gadoth N, Harell D, Wolff A. Can salivary composition and high flow rate explain the low caries rate in children with familial dysautonomia? *Pediatr Dent* 2002;24:581-6.
10. Klíssia Romero Felizardo, Rafael Braga Gonçalves, Waleska Dias Schwarcz, Regina Célia Poli-Frederico, Sandra Mara Maciel d, Flaviana Bombarda de Andrade, An evaluation of the expression profiles of salivary proteins lactoferrin and lysozyme and their association with caries experience and activity, *Rev. odonto ciênc*. 2010;25(4):344-349)
11. Marsh P. and Martin, M.V. *Oral Microbiology*, 4th Ed. 2000. Reed Educational and Profesional Publishing Ltd. Oxford.
12. Felizardo KR, Gonçalves RB, SchwarczWD, Poli-Frederico RC, MacielSM, de Andrade FB, An evaluation of the expression profiles of salivary proteins lactoferrin and lysozyme and their association with caries experience and activity, *RevOdontoCiênc*. 25(4):344-349) (2010).
13. Gonzalez-Chaves SA, et al. Lactoferrin: Structure Function and Applications.

- International Journal of Antimicrobial Agents*. 2009
14. Giansanti F, Panella G, Leboffe L, Antonini G. Lactoferrin from Milk: *Nutraceutical and Pharmacological Properties*. *Pharmaceuticals (Basel)*. 9(4):1-15 (2016).
 15. Moslemi, M., Sattari M., Kooshki, F., Fotuhi, F., Modarresi, N. Relationship of Salivary Lactoferrin and Lysozyme Concentrations with Early Childhood Caries. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospect*. 2015; 9(2):109-114.
 16. Sharma A. Subramaniam P, Moiden S. Analysis of Salivary IgA, Amylase, Lactoferrin, and Lysozyme Before and After Comprehensive Dental Treatment in Children: A Prospective Study. *Contemporary Clinical Dentistry, October-December 2017*; 8 (4):526-530
 17. Lertsirivorakul J.et al. Salivary Lysozyme in Relation to Dental Caries among Thai Preschoolers. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 2015; 39(4):343-347
 18. Lehner T. *Imunologi Pada Penyakit Mulut*. Edisi 3.. Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta. 1995
 19. Baratawidjaya, K.G. & Rengganis, I. *Imunologi Dasar*. Edisi IX, cetakan ke-2. Badan Penerbit Fakultas Kedokteran UI, Jakarta. 2014. Hal 217-256; 257-283
 20. Luthfi, M., Indrawati,R., Arundina, I., Dachlan, Y.P., Korelasi Jumlah Streptococcus mutans (S. mutans) dan Level Ekspresi Interlukin 8 (IL-8) pada Severe Early Childhood Caries. *Maj Ked Gi Ind*. Desember 2015; 1(2): 142 – 148.
 21. Shinoda, I.,Takase, M., Fukuwatari, Y., Shimamura,S., Köller, M., & König, W. Effects of Lactoferrin and Lactoferricin® on the Release of Interleukin 8 from Human Polymorphonuclear Leukocytes. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 60:3, 521-523, DOI: 10.1271/bbb.60.521, publish on line 12 Jun 2014
 22. Baggiolini, M., Alfred Walz,A., and Kunkel, S.L. Neutrophil-activating Peptide-1/Interleukin 8, a Novel Cytokine That Activates Neutrophils. *J. Clin. Invest.*, October 1989 (84):1045-1049
 23. Abul KA, Andrew HL, Shiv P. *Cellular and Molecular Immunology*. 6th ed., Elsevier-Saunders, 2007: 245-269.
 24. Male D, Brostoff J, Roth B, Roitt I. *Immunology*. 7 ed., Mosby, New York, 2006:147-167.
 25. Skubitz KM. *Neutrophilic leukocytes*. In: Greer JP, eds. *Wintrobe's clinical hematology*. 12th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2009. p. 170-213.)
 26. Rosenberger, CM & Finlay, BB, 2003. Phagocyte sabotage: disruption of macrophage signalling by bacterial pathogens. *Nat Rev Mol Cell Biol*. May 2003.4(5):385-96)
 27. Urban CF, Lourido S, Zychlinsky A. How do microbes evade neutrophil killing?. *Cell Microbiol* 2006); 8(11): 1687–96.)
 28. Phillipson M, Kubes P. The neutrophil in vascular inflammation. *Nat Med* 2011; 17(11): 1381–90.
 29. Luthfi, M., Indrawati,R., Arundina, I., Dachlan, Y.P., Analyze Activation Marker of Azurophilic Granule (CD63) and CFSE CD11C Expressions of Salivary Neutrophils In severe Early Childhood Caries. *Proceeding Molecular and Cellular Life Sciences: Infectious Diseases, Biochemistry and Structural Biology (MCLS)* 2015. p. 54-60
 30. Luthfi, M. Expression Analysis of CD63 In Salivary Neutrophils and The increased Level of Stertococcus Mutans in Savere Early Childhood Caries. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. 2015 June; 48(2):89-93