

EKSPRESI *Nuclear Factor of Activated T cells c-1* (NFATc-1) DAN OSTEOKALSIIN PADA KERUSAKAN TULANG PERIAPIKAL AKIBAT INDUKSI BAKTERI *Enterococcus faecalis* (PENELITIAN EKSPERIMENTAL PADA TIKUS WISTAR)

***Nuclear Factor of Activated T cells c-1* (NFATc-1) AND OSTEOCALCIN EXPRESSION IN PERIAPICAL BONE DESTRUCTION DUE TO *Enterococcus faecalis* INDUCTION**

Arindah Hadi*, M.Roelianto ** Ari Subiyanto** Tamara Yuanita**

*Mahasiswa Spesialis Departemen Konservasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

** Staf Pengajar Departemen Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

ABSTRACT

Background. The main etiology of endodontic treatment failure is caused by bacteria that stay in the root canal. *E.faecalis* is a bacteria that is found as an etiology of endodontic treatment failure. Cell wall of this bacteria is containing Lipoteichoic acid (LTA). LTA can penetrate into the periradicular tissue, act as endotoxin in host and cause periradicular inflammation then lead to bone destruction. Bone destruction occurs due to the inflammation process that is mediated by immune system. The important cell in the process of bone destruction is osteoclast. Bone destruction is marked by the form of osteoclast that is called osteoclastogenesis. NFATc-1 and osteocalcin play important things in osteoclastogenesis. **Purpose.** The aim of this study is to know about the expression of NFATc-1 and osteocalcin during the periapical bone destruction due to induction of *E.faecalis*. **Method.** This study used laboratory experimental with the post test only control group design. A total of 54 male rats were randomly divided into 2 main groups, which each main group had 3 subgroups. Group A (control) : every tooth was induced only by sterile BHIb. Group A had 3 subgroups (A Control day 3, 10, and 21), group B : every tooth was induced by 10 μ l BHI-b *E.faecalis* ATCC212(10^6 CFU), it was contained 3 subgroups (B day 3,10, and 21). The animals were sacrificed based on their days scheduled group and prepared for histological examination of periapical bone, then we did the immunohistochemistry followed by calculation on the light microscope. **Result.** The analysis revealed that the expression of NFATc-1 and osteoclast increased significantly in group B when *E.faecalis* was induced. **Conclusion.** From this study we know that the expression of NFATc-1 and osteocalcin are increasing during the periapical bone destruction that induced by *E.faecalis*.

Keywords : NFATc-1, osteokalsin, *E.faecalis*, bone destruction

PENDAHULUAN

Infeksi sekunder saluran akar dapat terjadi karena kurangnya kontrol pada infeksi primer saluran akar saat dilakukan perawatan saluran akar. Anatomi yang kompleks pada sistem saluran akar sering menyebabkan preparasi saluran akar yang sempurna tidak dapat dilakukan. Tahap *cleaning and shaping* dengan menggunakan desinfektan tidak dapat mengeliminasi keseluruhan bakteri

terutama didaerah apikal saluran akar, sehingga dapat menyebabkan reinfeksi.¹

Pinheiro, 2003 membuktikan bahwa dalam perawatan saluran akar gigi yang mengalami kegagalan ternyata didapatkan bakteri *Enterococcus faecalis* (*E.faecalis*) sebagai spesies terbanyak yang ditemukan pada 20 dari 30 kasus infeksi endodontik yang persisten di gigi yang telah dirawat saluran akarnya. Pada

pemeriksaan PCR, *E.faecalis* ditemukan di saluran akar yang telah diobturasi dan mengalami kelainan periapikal sebesar 77%.³ *E.faecalis* merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit periapikal dengan faktor virulensi yang besar. Faktor virulen penting yang dimiliki *E.faecalis* adalah *Lipoteichoic acid* (LTA). LTA adalah unsur pokok utama dari *outer envelope* bakteri gram positif.² LTA dapat dikenali oleh molekul *signaling* spesifik pada permukaan sel host yang disebut *Toll-like receptors-2* (TLR-2) yang mengakibatkan stimulus dan menghasilkan respon imun.⁴

Adanya hubungan antara pulpa dengan daerah periapikal akan menyebabkan bakteri yang tertinggal dalam saluran akar menjadi penyebab proses inflamasi pada jaringan periapikal, kemudian perkembangan proses tersebut akan menyebabkan kerusakan tulang di daerah periapikal gigi. Keradangan dalam kerusakan tulang merupakan suatu proses regulasi kompleks yang melibatkan beberapa sitokin dan interaksi antara berbagai jenis sel. Sel utama yang berperan untuk resorpsi tulang adalah osteoklas.⁵ Kerusakan tulang pada periapikal gigi ditandai dengan adanya proses pembentukan osteoklas (osteoklastogenesis) pada tulang. Pada proses osteoklastogenesis terjadi reaksi ikatan *osteoclast differentiation factor* dengan reseptornya.⁶ Diferensiasi osteoklas dan resorpsi tulang diaktifkan oleh *Nuclear factor of activated T cells c-1* (NFATc-1). Aktivasi NFATc-1 akan menginduksi TRAP+ *osteoclast formation* sehingga terjadi osteoklas yang matang dan selanjutnya akan membentuk osteoklas aktif. Semakin banyak produksi osteoklas yang aktif maka penyerapan tulang yang terjadi akan semakin banyak pula.⁷ Osteokalsin merupakan protein non kolagen yang didapatkan dari tulang dan dentin. Osteokalsin berperan pada mineralisasi dan homeostasis ion kalsium. Osteokalsin merupakan salah satu

biomarker resorpsi tulang yang dapat dipakai sebagai parameter untuk mendiagnosis kehilangan tulang pada jaringan periodontal.⁸

Telah diketahui bahwa keradangan pada periapikal akan menyebabkan resorpsi tulang dan akan terjadi osteoklastogenesis, tetapi informasi tentang NFATc-1 yang berperan pada diferensiasi osteoklas serta osteokalsin yang merupakan marker yang baik untuk melihat adanya resorpsi tulang pada saat terjadinya kerusakan jaringan periapikal gigi masih belum jelas. Oleh karena itu, peneliti ingin melihat ekspresi NFATc-1 dan osteokalsin terhadap resorpsi tulang periapikal akibat induksi bakteri *E.faecalis*.

MATERI DAN METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris. Sampel penelitian menggunakan tikus jantan yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, dewasa, jantan, umur 8 - 12 minggu, berat badan antara 120 - 150 gram, dengan alasan perubahan berat badan selama penelitian relatif kecil, gigi molar sudah tumbuh sempurna, kondisi fisik sehat. Besar sampel yang digunakan tiap-tiap kelompok adalah sebanyak 9 ekor tikus Wistar sehingga total sampel yang digunakan sebesar 54 ekor tikus Wistar. Tindakan awal yaitu tikus difixir pada papan retraksi rahang kemudian dilakukan tindakan perforasi atap pulpa molar atas dengan menggunakan mata bur no ¼. Tikus yang telah memenuhi persyaratan dilakukan anestesi via intra peritoneal dengan injeksi ketamin 80 mg/kg dan xylazine 10 mg/kg berat badan.⁹ Setelah itu penutupan kavitas menggunakan resin GIC pasca penetrasi *E.faecalis* ATCC212 sebanyak 10⁶ CFU.

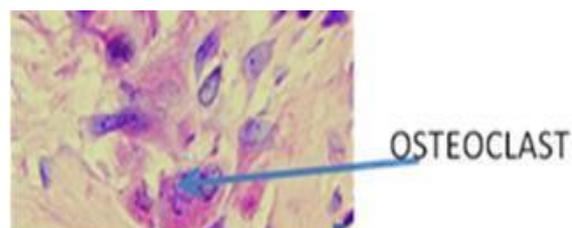
Ada dua kelompok penelitian: Kelompok Perlakuan A. Sebagai kelompok kontrol, dilakukan preparasi gigi

hingga terjadi perforasi atap pulpa, pada hewan coba kelompok ini dilakukan injeksi BHIb steril. Kelompok Perlakuan B dilakukan preparasi gigi hingga terjadi perforasi atap pulpa, pada hewan coba kelompok ini dilakukan injeksi 10 µl BHI-b berisi bakteri *E.faecalis* ATCC212 sebanyak 10⁶ CFU dengan mikropipet. Tiap – tiap kelompok, baik kelompok A maupun B memiliki 3 sub kelompok, yaitu A hari ke 3, 10, dan 21, serta B hari ke 3, 10, dan 21. Lalu hewan coba dikorbankan sesuai dengan kelompok masing-masing harinya, yaitu hari ke 3, 10, dan 21. Tahap selanjutnya yaitu pemotongan jaringan dengan langkah-langkah sebagai berikut, euthanasia pada tikus dilakukan dengan dislokasi servikal, lalu tikus difiksasi pada meja kerja lalu dilakukan dekaputasi serta pemisahan cranium dengan mandibula. Masing-masing potongan rahang difiksasi pada 10% buffer formalin netral selama 24 jam dan didekalsifikasikan pada EDTA 4% selama 30 hari kemudian dilakukan pembuatan sediaan blok parafin. Kemudian dilakukan pembuatan sediaan HPA (preparat) sehingga dapat dilihat adanya kerusakan tulang periapikal. Setelah dipastikan telah terjadi kerusakan maka selanjutnya dilakukan pengecatan imunohistokimia menggunakan antibodi anti NFATc-1 dan osteokalsin agar dapat dilihat dengan perbesaran 1000x pada 20 lapang pandang dalam mikroskop cahaya untuk selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan NFATc-1 dan osteokalsin di periapikal. Untuk kebutuhan inferensial, maka data yang diperoleh dari hasil penelitian ini dianalisa dengan uji statistik, yaitu: Uji normalitas untuk melihat apakah mempunyai distribusi yang normal dilakukan dengan uji Kolmogorov-Smirnov Test, Uji homogenitas untuk melihat homogenitas variant berdasarkan populasi berat badan umurnya dengan uji Levene Test, dan Uji t-test satu arah untuk melihat adanya pengaruh induksi *E.faecalis* terhadap perbedaan jumlah sel NFATc-1 dan osteokalsin pada setiap

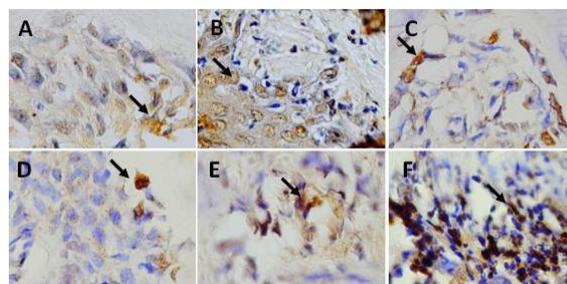
kelompok kontrol (A) dan kelompok perlakuan (B). Data dikatakan tidak ada beda bila $p > 0,05$ dan ada beda bila $p < 0,05$.

HASIL DAN DISKUSI

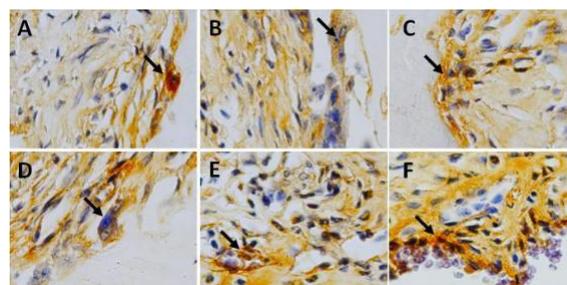
Hasil gambaran secara histopatologis pada kelompok penelitian dengan induksi *E.faecalis* tampak sel-sel osteoklas pada daerah tulang periapikal.



Hasil gambaran imunohistokimia pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan tampak ekspresi NFATc-1 dan osteokalsin pada daerah tulang periapikal.



Gambar 1. Gambaran ekspresi NFATc-1 (warna coklat) pada preparat imunohistokimia gigi molar RA tikus wistar A) Kontrol 3, B) Kontrol 10, C) Kontrol 21, D) Perlakuan 3, E) Perlakuan 10, F) Perlakuan 21 (Pembesaran 20x per 1000 lapang pandang). Tampak ekspresi NFATc-1 semakin meningkat dari hari 10 pada kelompok kontrol lalu menurun pada hari ke-21, sedangkan pada kelompok perlakuan ekspresi NFATc-1 semakin meningkat terus dari hari ke hari sampai hari ke 21.



Gambar 2. Gambaran ekspresi Osteokalsin (warna coklat) pada preparat imunohistokimia gigi molar RA tikus wistar A) Kontrol 3, B) Kontrol 10, C) Kontrol 21, D) Perlakuan 3, E) Perlakuan 10, F) Perlakuan 21 (Pembesaran 20x per 1000 lapang pandang). Tampak ekspresi Osteokalsin semakin meningkat dari hari 10 pada kelompok kontrol lalu menurun pada hari ke-21, sedangkan pada kelompok perlakuan ekspresi NFATC-1 semakin meningkat terus dari hari ke hari sampai hari ke 21.

Dari hasil penelitian dan analisis penelitian peningkatan jumlah ekspresi NFATc-1 dan osteokalsin akibat induksi bakteri *E.faecalis* pada kerusakan tulang periapikal yang dibagi dalam dua kelompok, kelompok kontrol dan kelompok perlakuan induksi didapatkan hasil seperti pada tabel di bawah ini :

Tabel 1. Hasil Rerata Ekspresi NFATc-1 pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan

Kelompok penelitian	N	Ekepresi NFATc-1		
		X	SD	
1	K 3	9	2,67	1,000
2	K 10	9	10,56	1,810
3	K 21	9	6,22	0,833
4	P 3	9	5,67	1,000
5	P 10	9	15,22	3,073
6	P 21	9	19,89	1,269

Tabel 2. Hasil Rerata Ekspresi Osteokalsin pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan

Kelompok penelitian	N	Ekepresi Osteokalsin		
		X	SD	
1	K 3	9	3,33	0,707
2	K 10	9	9,11	2,088
3	K 21	9	6,44	1,236
4	P 3	9	5,33	0,866
5	P 10	9	14,67	2,500
6	P 21	9	20,89	1,965

Berdasarkan data tersebut dapat dilihat adanya peningkatan ekspresi baik NFATc-1 maupun osteokalsin bila dibandingkan antara kelompok kontrol (A) dengan kelompok perlakuan (B).

Sebelum dilakukan uji beda peningkatan jumlah osteoklas

antarkelompok perlakuan terlebih dahulu pada masing-masing kelompok dilihat distribusi data dengan uji statistik normalitas Kolmogorov-Smirnov test dan homogenitas variansnya dengan uji statistik Levene test. Hasil dari uji statistik Komlogorov Smirnov Test dan Levene Test dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 3. Hasil Uji Kolmogorof Smirnof dan Levene Test NFATc-1

Kelompok penelitian	Hari	Signifikansi Normalitas	
		NFATc-1	
Kelompok kontrol	3	0,909	P : 0,014
	10	0,528	
	21	0,807	
Kelompok Perlakuan	3	0,576	
	10	0,629	
	21	0,608	

Tabel 4. Hasil uji Kolmogorof Smirnof dan Levene test Osteokalsin

Kelompok penelitian	Hari	Signifikansi Normalitas	
		Osteokalsin	
Kelompok kontrol	3	0,815	P : 0,401
	10	0,564	
	21	0,733	
Kelompok Perlakuan	3	1,005	
	10	0,571	
	21	0,894	

Dari tabel di atas hasil uji normalitas *Kolmogorof Smirnof* menunjukkan bahwa data yang didapat pada keseluruhan kelompok penelitian untuk ekspresi osteokalsin berdistribusi normal. Uji homogenitas yang diukur dengan *levене test* dengan tingkat kemaknaan sebesar 0,05, maka semua data bersifat homogen.

Untuk mengetahui perbedaan jumlah ekspresi NFATc-1 dan osteokalsin dilakukan uji independent t-test antara tiap-tiap kelompok kontrol dengan perlakuan. Hasil uji independent t-test dapat dilihat di bawah ini.

Tabel 5. Uji Independent T-test Ekspresi NFATc-1

NFATc-1	Kelompok	P
	Kontrol 3	0,000
	Perlakuan 3	
	Kontrol 10	0,001
	Perlakuan 10	
	Kontrol 21	0,000
Perlakuan 21		

Tabel 6. Uji Independent T-test Ekspresi Osteokalsin

Osteokalsin	Kelompok	P
	Kontrol 3	0,000
	Perlakuan 3	
	Kontrol 10	0,000
	Perlakuan 10	
	Kontrol 21	0,000
Perlakuan 21		

Dari tabel di atas semua nilai $p < 0,05$ sehingga terdapat beda yang signifikan jumlah ekspresi NFATc-1 dan osteokalsin antara kelompok kontrol dengan perlakuan sesuai dengan harinya pada kerusakan tulang periapikal akibat induksi *E.faecalis*.

Bakteri yang masih tertinggal saat perawatan saluran akar, adalah etiologi utama penyebab kegagalan perawatan endodontik. Bakteri yang tersisa tersebut akan menyebabkan peradangan pada jaringan periapikal. *E.faecalis* adalah bakteri yang sering menyebabkan kegagalan perawatan endodontik dan menyebabkan reinfeksi (Rocas *et al.*, 2004). Adanya hubungan antara saluran akar dengan apikal menyebabkan terjadinya peradangan di periapikal dan virulensi yang tinggi dari *E.faecalis* dengan adanya LTA akan menyebabkan suatu kerusakan tulang (Swardfager *et al.*, 2010). Kerusakan tulang pada periapikal gigi ditandai dengan adanya proses pembentukan osteoklas (osteoklastogenesis) pada tulang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekspresi dari NFATc-1 dan osteokalsin yang berperan penting terhadap suatu osteoklastogenesis yang menyebabkan suatu kerusakan tulang pada periapikal

gigi yang disebabkan oleh infeksi dari bakteri *Enterococcus faecalis* (*E.faecalis*).

Penelitian ini menggunakan tikus wistar karena tikus ini memiliki genom yang hampir mirip atau homolog dengan manusia, serta merupakan hewan model untuk penyakit periodontal (Dumitrescu, 2006). Waktu yang dipilih untuk penelitian ini adalah hari ke 3, 10, dan 21 sesuai dengan teori peradangan yaitu pada hari ke 0-7 terjadi *recognition phase* dan *activation phase*. Selanjutnya, pada hari 7-14 terjadi *activation phase* dan *efector phase*, dan pada hari 14-30 fase homeostasis yang merupakan fase perbaikan.¹⁰

Menurut hasil penelitian, ekspresi NFATc-1 pada kelompok kontrol mengalami peningkatan dari hari ke 3 sampai hari ke 10 lalu menurun di hari ke 21. Hal ini sesuai dengan pola peradangan normal tubuh, di mana pada hari ke 21 terjadi fase homeostasis yaitu tubuh dapat menyeimbangkan kerusakan yang terjadi sehingga ekspresi NFATc-1 yang merupakan kunci utama kerusakan tulang menurun. Sedangkan pada kelompok perlakuan dari hari ke 3 sampai hari ke 21 terjadi peningkatan yang signifikan, hal ini menunjukkan bahwa *E.faecalis* memiliki faktor virulensi yang kuat sehingga tubuh tidak mampu melakukan homeostasis sehingga ekspresi dari NFATc-1 sebagai faktor penting osteoklastogenesis terus meningkat. Secara statistik terdapat perbedaan yang signifikan hasil ekspresi NFATc-1 antara kelompok kontrol dengan perlakuan, di mana kelompok perlakuan ekspresinya lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol.

NFATc-1 yang terekspresi akan menginduksi TRAP+ *osteoclast formation* sehingga terjadi kematangan osteoklas yang selanjutnya akan membentuk osteoklas aktif (*ruffled border osteoclast*). Semakin banyak produksi osteoklas aktif akan terjadi semakin banyak penyerapan tulang.⁷ Setelah osteoklas aktif dan matang

selanjutnya akan dihasilkan osteokalsin. Osteokalsin adalah kalsium yang terkait dengan protein dalam tulang dan merupakan protein non kolagen yang banyak dan paling penting pada mineralisasi jaringan. Osteokalsin menunjukkan adanya aktivitas kemoatraktif sel progenitor osteoklas dan monosit, secara *in vitro* sintesis ini distimulasi oleh 1,25-dihydroxyvitamin D3. Hal ini juga ditunjukkan dengan meningkatkan resorpsi tulang dan menstimulasi diferensiasi sel progenitor osteoklas. Peningkatan osteokalsin dalam serum menunjukkan periode penurunan tulang secara cepat. Osteokalsin dalam serum menunjukkan marker yang *valid* untuk penurunan tulang ketika terjadi resorpsi dan pembentukan tulang secara bersamaan.⁸ Menurut hasil penelitian pada kelompok kontrol terjadi peningkatan ekspresi osteokalsin pada hari ke 3 sampai hari ke 10, kemudian ekspresinya menurun di hari ke 21, hal ini menunjukkan terjadi proses homeostasis tubuh. Sedangkan pada kelompok perlakuan terjadi peningkatan ekspresi osteokalsin terus-menerus dari hari ke 3 sampai hari ke 21, hal ini menunjukkan terjadinya kerusakan tulang periapikal pada gigi karena *E.faecalis*. Analisa hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ekspresi osteokalsin antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, di mana kelompok perlakuan ekspresinya lebih tinggi dibandingkan kontrol. Pada kelompok kontrol, terlihat hasil ekspresi dari NFATc-1 dan osteokalsin memiliki pola yang sama yaitu meningkat mulai hari ke 3 sampai 10 lalu menurun di hari ke 21, hal ini sesuai dengan konsep pola peradangan tubuh yang mencapai fase homeostasis. Fase homeostasis merupakan upaya tubuh untuk menyeimbangkan kerusakan yang terjadi dengan perbaikan, kerusakan pada tulang periapikal akan ditanggapi tubuh dengan mengeluarkan osteoblas yang berperan penting pada remodeling tulang.¹⁰ Osteoblas akan

osteoklastogenik, hal ini karena OPG merupakan suatu reseptor umpan yang berkemampuan mengikat RANKL sehingga dapat memblokir interaksi antara RANK-RANKL dan mencegah osteoklastogenesis.¹¹ Kemungkinan pada hari ke 21 tubuh menghasilkan osteoblas yang memproduksi OPG sehingga osteoklastogenesis terhambat dan ekspresi NFATc-1 dan osteokalsin yang menandai adanya osteoklastogenesis menurun. Hasil penelitian ekspresi NFATc-1 dan osteokalsin antara kelompok kontrol dengan perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan, di mana pada kelompok kontrol ekspresi kedua parameter kerusakan tulang lebih tinggi dibandingkan pada kelompok kontrol, hal ini sesuai dengan penelitian dari Park *et al.*, (2015) yang menyebutkan bahwa *E.faecalis* menghambat pembentukan osteoblas, selain itu hal ini juga didukung oleh penelitian dari Tjan Y *et al.*, (2013) yang membuktikan bahwa LTA dari *E.faecalis* menghambat proliferasi dari osteoblas dan menginduksi apoptosis dari *human-osteoblast-like cells* sehingga osteoblas menjadi tidak terbentuk, sehingga osteoklas yang dihasilkan tinggi dan kerusakan tulang pun menjadi lebih besar.^{12,13}

Hasil penelitian ekspresi NFATc-1 dan osteokalsin ini menunjukkan bahwa bakteri *E.faecalis* menyebabkan kerusakan pada tulang periapikal gigi, hal ini sesuai dengan penelitian Wang *et al.*, (2015) yang menyebutkan bahwa *E.faecalis* berkontribusi pada resorpsi tulang dalam periodontitis apikalis melalui peningkatan osteoklastogenesis dengan menaikkan regulasi ekspresi dari marker spesifik osteoklas, salah satunya adalah NFATc-1.¹⁴

KESIMPULAN

Dengan demikian, dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa jumlah sel pengeksresi NFATC-1 dan osteokalsin pada kerusakan tulang periapikal gigi tikus Wistar yang diinduksi

bakteri *E.faecalis* lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak diinduksi bakteri *E.faecalis*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bergenholtz G, Preben HB, Reit C. 2010. Apical Periodontitis in Text Book of Endodontology, 2nd ed. UK. Blackwell Publ Ltd. P 113-27.
2. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC and Souza EL. 2003. Microorganism from Canals of Root Filled Teeth with Periapical Lesions. Int Endod J. 36 (1) : 1-11.
3. Rocas IN, Siquera JF Jr, Aboim MC, Rosado AS. 2004. Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Analysis os Bacterial Communities Associated with Failed Endodontic Treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 98 : 741-49.
4. Swardfager W, Lanctôt K, Rothenburg L, Wong A, Cappell J dan Herrmann N 2010. A Meta-Analysis of Cytokines in Alzheimer's Disease. Journal Biology Psychiatry 68(10): 930-41.
5. Coon D, Gulati A, Cowan C, He J. 2007. The Role of Cyclooxygenase-2 (COX-2) in Inflammatory Bone Resorption. JOE. 35 (4) : 432-36.
6. Takayanagi H. 2007. The Role of NFAT in Osteoclast Formation. Ann NY Acad Sci. 116 : 227-37.
7. Asagiri M, Takayanagi H. 2009. The Molecular Understanding of Osteoclast Differentiation Bone. 40 : 251-64.
8. Aubin, J.E., Bonnelye E. 2000. Osteoprotegerin and Its Ligand a New Paradigm for Regulation of Osteogenesis and Bone Resorption. Osteoporos Int, 11(11) 905-13.
9. Stashenko et al., 2007. Th1 Immune Response Promotes Severe Bone Resorption Caused by Porphyromonas gingivalis. American Journal of Pathology. 170: Pp.203-13.
10. Abbas, A.K and Litchman, A.H. 2010. Cellular and Molecular Immunology. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company. P 235-69.
11. Lorenzo J, Horowitz M and Choi Y. 2008. Osteoimmunology : Interactions of The Bone and Immune System. Endocrine Rev. 29 (4) : 403-40.
12. Park OJ, Kim J, Yang J, Yun CH, and Han SH. 2015. Enterococcus faecalis Inhibits Osteoclast Differentiation and Induces Chemokine Expression. J Endod. Sep;41(9): 1480-5.
13. Tjan Yaguang. 2013. Effect of Enterococcus faecalis Lipoteichoic Acid on Apoptosis in Human Osteoblast like cells. Journal of endodontic Feb 15 : 761-8.
14. Wang S, Deng Z, Seneviratne CJ, Cheung GS, Jin L, Zhao B, and Zhang C. 2015. Enterococcus faecalis Promotes Osteoclastogenesis and Semaphorin 4D Expression. Innate Immun. Oct;21(7):726-35.