

Efektivitas pemberian lisat dan sekretom sel punca mesenkimal asal jaringan adiposa rekombinan yang mengandung Bone Morphogenetic Protein-2 pada tikus sprague dawley dengan defek tulang kritis = Recombinant human Bone Morphogenetic Protein-2 derived from Genetically-Modified Adipose-Derived Mesenchymal stem cells as a novel treatment modality for Critical-Sized bone defects: A preclinical study in Sprague-Dawley rats

Anissa Feby Canintika, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920551353&lokasi=lokal>

Abstrak

Pendahuluan: Defek tulang kritis merupakan masalah yang menantang bagi ahli bedah ortopedi. Hingga saat ini, belum terdapat konsensus mengenai perlakuan tatalaksana terbaik untuk defek tulang kritis. Di antara berbagai solusi yang diusulkan, recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) adalah osteoinduktor yang paling poten, dan telah menunjukkan hasil yang menjanjikan. Penelitian sebelumnya seringkali menggunakan rhBMP-2 yang didapatkan dari sel ovarium hamster Cina. Namun, rhBMP-2 yang didapatkan dari sel ovarium hamster Cina ini memiliki berbagai kekurangan seperti biaya tinggi dan hasil produksi yang rendah. Baru-baru ini, rhBMP-2 yang berasal dari *Escherichia coli* semakin banyak digunakan karena hasil panen yang tinggi dan biaya yang rendah; namun, protein tersebut diekspresikan sebagai badan inklusi, yang memerlukan pemrosesan ekstensif untuk menghasilkan protein bioaktif. Untuk mengatasi kendala-kendala ini, diperlukan metode produksi rhBMP-2 yang efisien. Sampai saat ini, belum terdapat penelitian yang mengevaluasi penggunaan vektor adenovirus untuk transfer gen rhBMP-2 ke sel punca mesenkimal asal jaringan adiposa (SPM-AD) pada model defek tulang kritis pada tikus Sprague-Dawley. Penelitian ini adalah studi eksperimental yang mengevaluasi efektivitas rhBMP-2 yang berasal dari SPM-AD yang direkayasa secara genetik pada model defek tulang kritis pada tikus Sprague-Dawley.

Metode: Penelitian ini menggunakan tikus Sprague Dawley sebanyak 36 ekor. Dibuat cacat tulang berdiameter 5 mm terjadi pada diafisis femur pada setiap tikus. Hewan-hewan tersebut dibagi menjadi empat kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor tikus. Kelompok pertama mendapatkan rhBMP-2 yang berasal dari SPM-AD yang dimodifikasi secara genetik dengan granul hidroksiapatit (HA) (kelompok rhBMP-2), kelompok kedua mendapatkan sekretom SPM-AD dan granul HA (kelompok sekretom AD-MSC), kelompok ketiga mendapatkan granul HA (kelompok HA), dan yang keempat adalah kelompok kontrol. Adenovirus digunakan sebagai vektor transfer gen untuk mentransduksi rhBMP-2 ke SPM-AD. Larutan akhir yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari campuran lisat dan sekretom SPM-AD dengan perbandingan 2:1, dan konsentrasi akhir rhBMP-2 adalah 132,33 pg/mL. Tikus dikorbankan 8 minggu setelah operasi. Tulang femur dipanen dan diperiksa nilai protein Indian hedgehog (Ihh), parameter histomorfometri, dan load to failure.

Hasil dan Pembahasan: Selama periode pengamatan, masing-masing terdapat satu, dua, dan dua ekor tikus mati pada kelompok rhBMP-2, HA, dan kontrol. Kelompok rhBMP-2 memiliki protein Ihh lebih tinggi dibandingkan kelompok HA dan kontrol. Kelompok rhBMP-2 juga memiliki total area kalus dan nilai load to failure yang lebih tinggi dibandingkan ketiga kelompok lainnya. Proses penyembuhan yang unggul dari kelompok rhBMP-2 kemungkinan dihasilkan dari sifat rhBMP-2 itu sendiri yang mendorong diferensiasi sel

punca mensesimal menjadi osteoblas, sehingga menghasilkan regenerasi tulang.

Kesimpulan: Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan rhBMP-2 yang berasal dari SPM-AD yang dimodifikasi secara genetik berhasil menatalaksana defek tulang kritis pada tikus Sprague-Dawley.

.....Introduction: Critical-sized bone defects (CSBDs) remain challenging problem for orthopaedic surgeons. To date, there are no consensus regarding the best treatment for such entity.

Among various solutions proposed, recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) is the most potent osteoinductor, and it has shown promising results. Early orthopaedic studies used mammalian cell-derived rhBMP-2, especially Chinese hamster ovary (CHO) cells. However, CHO cell-derived rhBMP-2 presents disadvantages such as high cost and low production yield. Recently, Escherichia coli- derived rhBMP-2 has been increasingly used owing to the high yield and low cost; however, the protein is expressed as inclusion bodies, which need extensive processing involving isolation from cell, solubilization, refolding and purification to produce the bioactive proteins. To overcome these obstacles, an efficient method for producing rhBMP-2 is required. To date, there is no study that has evaluated the use of adenovirus vector for gene transfer of rhBMP-2 to adipose-derived mesenchymal stem cells (AD-
MSCs)

in CSBDs model in Sprague-Dawley rats. This is an experimental study that evaluated the efficacy of rhBMP-2 derived from genetically-modified AD-MSCs in CSBDs model in Sprague-Dawley rats.

Methods: A total of 36 Sprague Dawley rats were examined in this study. A bone defect of 5 mm in diameter was created in femoral diaphysis in each of the rat. The animals were divided into four groups of 9 rats each. The first group received rhBMP-2 derived from genetically-modified AD-MSCs with hydroxyapatite (HA) granules (rhBMP-2 group), the second received AD-MSCs secretome and HA granules (AD-MSCs secretome group), the third received HA granules (HA group), and the fourth was control group. Adenoviruses were used as gene transfer vectors to transduce rhBMP-2 to AD-MSCs. The final solution consisted of AD-MSCs lysate and their secretome with ratio of 2:1, and the concentration of rhBMP-2 was 132.33 pg/mL. The rats were sacrificed 8 weeks after the surgery. The femurs were harvested and submitted for Indian hedgehog (Ihh) protein, histomorphometric parameters, and load to failure analyses.

Results and Discussion: During the observation period, one, two, and two rats died in the rhBMP-2, HA, and control groups, respectively. The rhBMP-2 group had higher Ihh protein compared to HA and control groups. The rhBMP-2 group also had higher callus total area, and load to failure value compared to the other three groups. The superior healing process from the rhBMP-2 group might be due to the property of rhBMP-2 itself which promotes differentiation of mesenchymal stem cells into osteoblasts, resulting in bone regeneration.

Conclusion: The results of this study indicate that the use of rhBMP-2 derived from genetically-modified AD-MSCs could successfully treat CSBDs in Sprague-Dawley rats.