

INTISARI

ANALISIS HASIL PEMBERIAN INJEKSI EKSTRAK MEDIA PENUMBUH SEL PUNCA MESENKIMAL TERHADAP KESEMBUHAN FRAKTUR FEMUR TIKUS DAN IMUNOLOKALISASI *TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β* PADA KESEMBUHAN FRAKTUR

Marla Anggita
16/403512/PKH/593

Ekstrak media Penumbuh Sel Punca Mesenkimal (EMPSPM) merupakan ekstraksi dari media tumbuh sel punca yang banyak mengandung substansi biologis termasuk *growth factor* dan sitokin, salah satunya adalah *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β), yang berperan dalam pembentukan tulang dan kesembuhan fraktur. Penelitian ini bertujuan untuk melihat hasil pemberian EMPSPM asal tali pusat manusia terhadap kesembuhan fraktur pada tikus (*Rattus norvegicus*) secara injeksi dan imunolokalisasi TGF- β pada tiap fase kesembuhan fraktur. Fraktur os femur dexter pada 54 ekor tikus dibuat dengan operasi sesuai prosedur dalam kondisi steril. Selanjutnya tikus dibagi menjadi 2 kelompok masing-masing 27 ekor. Injeksi NaCl fisiologis 0,1 ml/kg BB IM pada kelompok kontrol dan injeksi EMPSPM 0,1 ml/kg BB IM pada kelompok perlakuan dilakukan pada hari ke-1, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 dan 56 pasca operasi. Pengambilan foto rontgen dilakukan pada minggu ke-0, 1, 2, 3, 4, 5, dan hari ke-60, sedangkan koleksi sampel os femur dexter dilakukan pada hari ke-1, 2, 3, 7, 14, 21, 28, 35, dan 60. Sampel tulang kemudian difiksasi dalam larutan *Bouin*. Pembuatan preparat histologi dilakukan dengan metode parafin, blok jaringan dipotong dengan ketebalan 5 μ m, kemudian dilakukan pewarnaan *Hematoksilin-eosin*, *Mallory anniline blue*, dan pewarnaan imunohistokimia dengan antibodi primer *rabbit anti-TGF- β* (*Bioss, Massachusetts, USA*) dan kit *Starr Trek Universal HRP Detection System* (*Biocare Medical, California, USA*). Hasil foto rontgen dan pewarnaan jaringan kemudian dianalisis secara deskriptif dan kuantitatif. Pembentukan *soft callus* diikuti pembentukan *hard callus* terjadi lebih cepat dan luas pada kelompok injeksi EMPSPM dibanding kelompok kontrol. Imunoreaktivitas TGF- β terdeteksi pada fibroblast, fibrosit, kondroblas, kondrosit, osteoblast, osteosit, dan matriks ekstraseluler tulang yang terdistribusi pada seluruh area fraktur. Terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah sel imunoreaktif TGF- β antara kelompok kontrol dengan injeksi EMPSPM pada hari ke-1, 3, 21, 28, dan 35 pasca operasi. Terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok pada jumlah osteoblas hari ke-28, 35, dan 60, jumlah osteoklas pada hari ke-14, 21, dan 28, serta jumlah sel radang pada hari ke 1 pasca operasi. Pemberian injeksi EMPSPM pada kasus fraktur os femur tikus mampu mempercepat kesembuhan fraktur melalui percepatan pertumbuhan kalus. *Transforming Growth Factor- β* terdistribusi pada seluruh fase kesembuhan fraktur dengan intensitas yang kuat pada kelompok injeksi EMPSPM dibanding kontrol.

Kata kunci: Fraktur, EMPSPM, Kalus, Imunohistokimia, TGF- β

ABSTRACT

THE ANALYSIS RESULT OF MESENCHYMAL STEM CELL CONDITIONED MEDIUM INJECTION ON THE HEALING FRACTURE OF RATS FEMUR AND IMMUNOLocalIZATION OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β ON THE HEALING RATE

Marla Anggita
16/403512/PKH/593

Mesenchymal stem cell conditioned medium (MSC-CM) is an extraction from stem cell's medium that contains many biological substances including growth factors and cytokines, one of which is transforming growth factor- β (TGF- β) that plays a role in bone formation and fracture healing. The aims of this study is to see the result of administration of human umbilical cord MSC-CM (hUC-MSC-CM) injection on the fracture healing rate in rats (*Rattus norvegicus*) and immunolocalization of TGF- β in fracture healing. Fracture of the os femur dexter in 54 male rats was made by surgery according to procedure under sterile conditions. Furthermore, rats were divided into 2 groups of 27 each. Injection in the control (0,1 ml/kg body weight NaCl intramuscular) and hUC-MSC-CM injected group (0,1 ml/kg body weight hUC-MSC-CM intramuscular) were performed on days 1,7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, and 56 post surgery. Radiographic images were taken on week-0, 1, 2, 3, 4, 5, and days-60 post surgery, while the femur bone samples were collected on days-1, 2, 3, 7, 14, 21, 28, 35, and 60 post surgery. Bone samples then fixed in Bouin solution. Histologic preparations were done by paraffin method, the tissue blocs were cut with 5 μ m thickness then were stained with hematoxylin-eosin staining, mallory anniline blue staining, and immunohistochemical staining using rabbit anti-TGF- β primary antibody (Bioss, Massachusetts, USA) and kit Starr Trek Universal HRP Detection System (Biocare Medical, California, USA). The results were then analyzed descriptively and quantitatively. Soft callus formation followed by hard callus formation occurred rapidly and wider in the hUC-MSC-CM injected group than control group. Transforming growth factor- β immunoreactivity is detected in fibroblasts, fibrocytes, chondroblasts, chondrocytes, osteoblasts, osteocytes, and bone extracellular matrix that distributed throughout the fracture area in both groups. There were significant differences in the number of TGF- β immunoreactive cells on day 1, 3, 21, 28, and 35 post surgery with hUC-MSC-CM injected group have the higher number than control group. There were significant differences between control and hUC-MSC-CM injected group in the number of osteoblast on day 28, 35, 60, the number of osteoclast on day 14, 21, 28, and the number of inflamatoric cell on day 1 post surgery. The administration of hUC-MSC-CM injection to femur fracture case in rats was capable to accelerate the bone healing process by accelerating the callus formation. TGF- β distributed in all bone healing phases with strong intency in hUC-MSC-CM group than control group.

Keyword: Fracture, EMPSPM, Callus Immunohistochemistry, TGF- β