

## PENGARUH RECOMBINANT HUMAN ERYTHROPOIETIN TERHADAP JUMLAH OSTEOLAS, OSTEOKLAS DAN KADAR HEMOGLOBIN PADA PENYEMBUHAN FRAKTUR TULANG MANDIBULA

### Studi Eksperimental pada Fraktur Mandibula Tikus Sprague-Dawley

Pedro Bernado\*, Rahardjo\*\* dan Poerwati Soetji Rahajoe\*\*

\*Program studi Bedah Mulut dan Maksilofasial Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

\*\*Departemen Bedah Mulut dan Maksilofasial, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

#### ABSTRAK

*Recombinant human erythropoietin (rHuEPO)* biasanya digunakan pada terapi anemia akibat penyakit ginjal tahap akhir, walaupun demikian reseptor *rHuEPO* juga ditemukan pada jaringan lain sehingga *rHuEPO* memiliki efek selain membentuk eritrosit. Manfaatnya dalam penyembuhan tulang masih diperdebatkan. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh *rHuEPO* terhadap jumlah osteoblas, jumlah osteoklas dan kadar hemoglobin pada penyembuhan fraktur mandibula. Dua puluh subyek tikus Sprague-Dawley dibuat fraktur inkomplet di simfisis mandibula. Sepuluh subyek kelompok perlakuan mendapatkan injeksi subkutaneus 40 IU *rHuEPO* selama tujuh hari sedangkan sepuluh subyek kelompok kontrol diinjeksi NaCl 0,9%. Hari ke 7 dan ke 14, lima subyek perlakuan dan lima subyek kontrol diperiksa kadar hemoglobinya, lalu didekapitasi dan dibuat preparat histologis. Pengamatan dan perhitungan jumlah angiogenesis

HE untuk dihitung jumlah osteoblas dan osteoklasnya. Uji *T-paired* dan ANOVA untuk analisis data berdasar hari pengamatan, sedangkan uji *T-Independent* untuk data berdasar kelompok. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) jumlah osteoblas dan osteoklas hari 7 dibandingkan hari 14. Uji berdasar kelompok diperoleh perbedaan signifikan jumlah osteoblas ( $p = 0,003$ ), jumlah osteoklas ( $p = 0,011$ ) hari 7 dan jumlah osteoklas ( $p = 0,001$ ) hari 14. Kadar hemoglobin hari 7 memiliki perbedaan signifikan dibandingkan hari 0 ( $p = 0,001^a$  dan  $p = 0,000^b$ ). Injeksi *rHuEPO* meningkatkan jumlah osteoblas dan osteoklas serta kadar hemoglobi hari 7, pada hari ke 14 hanya osteoklas meningkat bermakna sedangkan osteoblas tidak dan hemoglobin kembali ke nilai basal.

**Kata Kunci:** *recombinant human erythropoietin (rHuEPO)*, osteoblas, osteoklas, hemoglobin, fraktur mandibula

#### ABSTRACT

Recombinant human erythropoietin (rHuEPO) is usually used as treatment choice for anemia due to end stage renal disease, but rHuEPO has reseptor in other tissues, so it has non erythroid effect. Its benefits in bone healing is still debated. This study aims to determine the effect of rHuEPO on the number of osteoblasts, osteoclasts and hemoglobin level in mandible fracture healing model. A controlled incomplete fracture mandibular symphysis was created surgically in twenty subjects of Sprague-Dawley rats. Ten subjects treatment group receive subcutaneous injection of 40 IU rHuEPO alpha for seven days, while ten subjects control got NaCl 0.9%. Hemoglobin of five subjects treatment group and five control were examined, then decapitated for HE histological evaluation on 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> day respectively. ANOVA and Paired T-test for hemoglobin data analysis based on study day, while the T-Independent test for number osteoblasts and osteoclast data based on study group. There were a significant difference on number of osteoblasts and osteoclasts 7<sup>th</sup> day compared to 14<sup>th</sup> day ( $p < 0.05$ ). Based on group, it revealed a significant difference in the number of osteoblasts ( $p = 0.003$ ), osteoclasts ( $p = 0.011$ ) on 7<sup>th</sup> day, and osteoclasts number ( $p = 0.001$ ) 14<sup>th</sup> day. Hemoglobin on 7<sup>th</sup> day had a significant difference compared to day 0 ( $p = 0,001^a$  and  $p = 0,000^b$ ). Administration of rHuEPO enhance the number of osteoblasts and osteoclasts as well as hemoglobin on 7<sup>th</sup> day. On 14<sup>th</sup> day, only osteoclast number's had significant difference and hemoglobin returned to baseline.

**Keywords:** osteoblasts, osteoclasts, recombinant human erythropoietin (rHuEPO), hemoglobin, mandibular fractures

#### PENDAHULUAN

Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Kemenkes RI mengungkapkan bahwa secara nasional di Indonesia terdapat kecenderungan peningkatan prevalensi cedera dari 7,5 persen menjadi 8,2 persen<sup>14</sup>. Cedera yang terjadi bisa melibatkan beberapa bagian tubuh termasuk adanya cedera di daerah maksilofasial<sup>6,1</sup>. Fraktur

tulang mandibula merupakan kasus fraktur tulang maksilofasial terbanyak, hal ini diungkapkan oleh Budihardja dan Rahmat bahwa fraktur mandibula dapat mencapai hingga 70%<sup>5</sup>.

Pham-Dang *et al.* menyatakan bahwa fraktur mandibula paling banyak ditemui mengalami gangguan penyembuhan tulang<sup>23</sup>. Penyembuhan fraktur tulang menurut Giannoudis *et al.* dalam *diamond concept* terdapat empat faktor yang

mempengaruhi penyembuhan fraktur tulang yaitu lingkungan mekanis, sel-sel osteogenik, *scaffolds* osteokonduktif dan *growth factors* (hormon)<sup>10</sup>.

Rupani *et al.* mengungkapkan sesuai dengan *diamond concept* beberapa prosedur untuk meningkatkan penyembuhan fraktur tulang, seperti *cell-base therapy*, *tissue engineering* dan terapi farmakologis menggunakan hormon atau *growth factor*, setiap usaha tersebut mempunyai keuntungan dan keterbatasan, kombinasi aplikasi beberapa prosedur dapat memberikan terapi yang efektif. Hormon sudah dapat disintesis dengan teknologi DNA rekombinan yang memiliki sifat identik dengan hormon endogen. Hormon rekombinan banyak tersedia di pasar dengan harga terjangkau, mudah diaplikasikan, tidak memiliki sifat *donor site morbidity* seperti pada *cell base therapy*, dan aplikasinya lebih cepat dibandingkan *cell base therapy* maupun *tissue engineering*<sup>26</sup>.

*Erythropoietin* (EPO) umumnya dikenal sebagai hormon hematopoetik yang disekresikan ginjal dan hati pada mamalia dewasa sebagai respon terhadap kondisi hipoksia<sup>3</sup>. EPO dilepaskan ke sirkulasi perifer sebagai reaksi terhadap rendahnya kandungan oksigen dalam darah, EPO memicu proliferasi dan diferensiasi prekursor hematopoetik, hal itu akan meningkatkan produksi eritrosit<sup>8</sup>. Setelah ditemukan adanya reseptor EPO (EPO-R) di luar jaringan hematopoetik maka EPO dikaji untuk efek non-hematopoetik<sup>21, 22</sup>. Pengaruh EPO pada regulasi pemeliharaan dan regenerasi tulang masih kontroversial karena terdapat perbedaan hasil penelitian<sup>21</sup>.

EPO buatan telah dapat disintesis dengan teknologi DNA rekombinan yang dikenal dengan *recombinant human erythropoietin* (rHuEPO). Penelitian mengenai rHuEPO terhadap jaringan tulang masih menjadi perdebatan sampai saat ini. Beberapa peneliti mengungkapkan adanya efek positif rHuEPO pada jaringan tulang<sup>2, 12, 13, 9</sup>. Penelitian pengaruh rHuEPO terhadap jaringan tulang yang berbeda diungkapkan oleh Singbrant *et al.* menyatakan bahwa EPO menyebabkan penurunan tulang trabekula dan diungkapkan bahwa EPO berpengaruh negatif pada pengaturan homeostasis jaringan tulang<sup>27</sup>.

Proses penyembuhan tulang diatur oleh osteoblas, osteoklas, sitokin dan faktor-faktor pertumbuhan, pada kondisi fraktur proses tersebut terdiri atas proses resorpsi tulang oleh osteoklas dan penggantian jaringan tulang baru

oleh osteoblas<sup>28</sup>. Osteoblas dan osteoklas menarik untuk diamati karena dua sel utama tulang tersebut mempunyai interaksi yang penting untuk aktivasi, koordinasi, resorpsi dan formasi tulang. Adanya keseimbangan interaksi antara osteoblas dan osteoklas akan mempertahankan kondisi homeostasis jaringan tulang<sup>21</sup>.

Kondisi individu dengan kadar hemoglobin yang relatif rendah merupakan salah satu faktor signifikan pada gangguan proses penyembuhan tulang dengan dilaporkan terdapat 33% kasus *non-union*<sup>24</sup>. Proliferasi osteoblas dan osteoklas mengalami penurunan pada lingkungan dengan kadar oksigen yang relatif rendah (hipoksia)<sup>29</sup>.

Penelitian mengenai rHuEPO masih menjadi perdebatan, sehingga menarik untuk diteliti lebih lanjut mengenai pengaruh rHuEPO pada jaringan tulang, khususnya pada proses penyembuhan kasus fraktur tulang mandibula dengan melihat sel-sel utama dalam regulasi homeostasis jaringan tulang dan hemoglobin.

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut, apakah *recombinant human erythropoietin* berpengaruh terhadap jumlah osteoblas, jumlah osteoklas dan kadar hemoglobin pada proses penyembuhan fraktur mandibula pada tikus Sprague-Dawley.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dan mengkaji pengaruh *recombinant human erythropoietin* terhadap jumlah osteoblas, jumlah osteoklas dan kadar hemoglobin pada proses penyembuhan fraktur mandibula.

## METODE PENELITIAN

Tikus berjumlah 20 ekor dibagi dalam 2 kelompok. Setiap kelompok berjumlah 10 ekor tikus. Kelompok perlakuan dengan pemberian injeksi subkutan *recombinant human erythropoietin* alfa. Kelompok kontrol diberi injeksi subkutan larutan NaCl 0,9%.

Anestesi menggunakan injeksi intramuskuler ketamin dengan dosis 0,2 mg/kg berat badan pada subyek tikus *sprague dawley*, subyek yang telah teranestesi diambil darahnya 0,5 mL dari *retro-orbital plexus* (teknik *orbital puncture*) untuk diperiksa kadar hemoglobinnya menggunakan alat otomatis *hematology analyser*. Subyek kemudian diberikan injeksi intramuskuler profilaksis cefazolin 12,5 mg (dosis 50mg/kg bb) sebelum tindakan.

Prosedur pembuatan fraktur inkomplit simfisis mandibula. Diawali dengan prosedur pemberian antiseptik pada daerah operasi dengan povidon iodine 10%. Akses bedah dengan insisi intraoral dengan pisau bedah no.15 dengan insisi sepanjang 10 mm arah horisontal pada 2 mm dari servikal gigi insisivus sentralis subyek. Pembukaan *fullthickness mucoperiosteal flap* dengan raspatorium dilakukan dengan hati-hati mengurangi cedera jaringan lunak, fraktur mandibula dibuat dengan cara membuat frakturin komplit regio *median line* simfisis mandibula ukuran panjang x lebar x dalam = 2 x 1 x 2 mm yang dibuat dari basis mandibula menggunakan *round bur* diameter 1 mm ke arah superior dengan kecepatan 30.000 rpm disertai irigasi NaCl 0,9%. Flap defek fraktur tulang buatan ditutup dengan dijahit dengan teknik *interrupted* sebanyak satu jahitan dengan *vicryl 5/0* atraumatik.

Semua tikus penelitian dikembalikan ke kandang masing-masing kelompok penelitian, analgetik paracetamol syrup secara oral diberikan setelah subyek sadar dengan cara sondasi dengan dosis 10 mg/ kg berat badan tiap 8 jam selama tiga hari. Selama dipelihara hewan uji memiliki akses bebas pada makanan *pallet* lunak dan minuman air putih. Makanan dan minuman diganti tiap 24 jam. Pencatatan berat badan tikus dan observasi klinis perlukaan dilakukan tiap 24 jam sekali dengan melihat luka tertutup baik atau tidak, jahitan baik atau tidak dan ada tidaknya pus.

Sepuluh ekor tikus dari kelompok perlakuan diberikan injeksi subkutan *recombinant human erythropoietin alfa* dengan dosis 40 IU/ hari (pemberian dilanjutkan selama tujuh hari) sedangkan kelompok kontrol diberi injeksi subkutan larutan NaCl 0,9%. Pada hari ke-7, lima ekor tikus dari kelompok perlakuan dan kontrol diambil darahnya untuk dihitung kadar hemoglobinnya dan dilakukan dekapitasi. Daerah fraktur inkomplit tulang mandibula diambil dan direndam dalam larutan formalin 10% kemudian dibawa ke Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UGM Yogyakarta untuk dilakukan pemeriksaan histologis dengan menggunakan pengecatan hematoksilin eosin. Pengamatan dan perhitungan jumlah angiogenesis

Pada hari ke-14, lima ekor tikus dari kelompok kontrol dan perlakuan diambil darahnya untuk dihitung kadar hemoglobinnya, dilakukan dekapitasi dan prosedur yang sama untuk mem-

buat preparat histologis.

## HASIL

Dua puluh subyek penelitian yang dibagi dalam dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan perlakuan. Data observasi klinis, meliputi penimbangan berat badan dan observasi kondisi klinis yang dilakukan tiap 24 jam tampak luka tertutup baik, jahitan baik dan tak tampak adanya pus. Ada satu subyek yang masuk kriteria eksklusi yaitu subyek dari kelompok perlakuan dekapitasi hari ke 14 mengalami infeksi pasca prosedur pada hari ke lima yang ditandai dengan abses regio simfisis mandibula, secara klinis tampak sebagai pembesaran regio submental dengan fluktuasi positif pada palpasi dan adanya pus saat pungsi.

Selama penelitian berlangsung evaluasi kondisi umum subyek menggunakan parameter berat badan subyek, tampak berat badan subyek yang relatif stabil pada 150-200 gram, hal ini menunjukkan kondisi subyek yang sehat pada kelompok kontrol dan perlakuan.

Pemberian *recombinant human erythropoietin* dapat meningkatkan jumlah osteoblas dan jumlah osteoklas pada hari ke 7 pada model fraktur mandibula, pada hari ke 14 jumlah osteoklas meningkat dan jumlah osteoblas mengalami penurunan.

Pemberian *recombinant human erythropoietin* dapat meningkatkan kadar hemoglobin pada hari ke 7, pada hari ke 14 kadar hemoglobin kembali nilai basal.

Uji korelasi Pearson untuk melihat korelasi hubungan jumlah osteoblas dan hemoglobin, jumlah osteoklas dan hemoglobin pada kelompok kontrol dan perlakuan hari ke tujuh dan ke 14 diperoleh hasil korelasi yang tidak signifikan ( $\alpha > 0,05$ ).

## PEMBAHASAN

Perbedaan kadar hemoglobin kelompok kontrol dan perlakuan secara statistik bermakna ditemukan pada hari ke 7 dengan kecenderungan terjadi peningkatan rerata kadar hemoglobin kelompok perlakuan, hal ini membuktikan bahwa pemberian injeksi subkutan *recombinant human erythropoietin* (rHuEPO) dosis 200 IU/Kg/hari, diberikan setiap hari selama 7 hari untuk menambahkan eritropoietin (EPO) eksogen dapat

meningkatkan kadar hemoglobin. Elliot dan Sinclair menyatakan adanya peningkatan EPO akan meningkatkan rata-rata eritropoiesis, sehingga meningkatkan sel darah merah pada sirkulasi darah, eritropoiesis akan mencapai rata-rata maksimal pada konsentrasi EPO sekitar 0,1-1 U/mL. Kadar EPO yang rendah menyebabkan apoptosis sel-sel prekursor eritrosit sehingga terjadi penurunan jumlah sel darah merah pada sirkulasi darah perifer<sup>7</sup>.

Peningkatan kadar hemoglobin pada kelompok perlakuan di hari ke 7 sesuai dengan pendapat Lundby dan Olsen bahwa rHuEPO akan meningkatkan hemoglobin atau kandungan oksigenarteri dengan cara meningkatkan volume sel eritrosit dan menurunkan volume plasma darah<sup>18</sup>.

Kadar hemoglobin pada kelompok perlakuan mengalami penurunan rerata pada hari ke 14 pasca operasi dan kembali ke kondisi hemoglobin awal sebelum perlakuan. Menurut Lundby dan Olsen hal ini terkait efek rHuEPO pada metabolik, hormonal dan ginjal tidak melebihi batas fisiologis yang dapat diterima dan efeknya bersifat *reversible*, maka hemoglobin dan hematokrit yang meningkat akan kembali ke nilai dasar setelah periode pemberian rHuEPO dihentikan<sup>18</sup>. Seperti halnya EPO endogen, rHuEPO merangsang proliferasi dan diferensiasi sel-sel progenitor eritroid dalam sum-sum tulang, sehingga meningkatkan massa sel darah merah yang meningkatkan transpot dan pengiriman oksigen dengan peningkatan volume maksimal oksigen yang dapat diambil ( $VO_{2max}$ ) dan bertambahnya konsentrasi hemoglobin (Hb)<sup>19</sup>. Hemoglobin kaitanya dengan penyembuhan fraktur tulang adalah karena fungsi utamanya sebagai pembawa oksigen, pada proses penyembuhan fraktur tulang, oksigen memiliki peran yang penting, Lu *et al.* menyampaikan bahwa oksigen merupakan komponen esensial untuk banyak fungsi seluler yang terdapat pada kondisi normal atau pada proses perbaikan seperti penyembuhan fraktur tulang, peranannya yaitu pertama oksigen diperlukan untuk metabolisme aerob sel, yang memproduksi ATP untuk fungsi seluler yang normal. Penyembuhan fraktur tulang dapat terhambat jika kondisi kandungan oksigen yang rendah dalam jaringan (hipoksia) berlangsung lama yang akan memicu matinya sel, menghambat diferensiasi kondrogenik dan osteogenik<sup>16</sup>.

Penelitian ini mesimulasikan adanya fraktur inkomplit yang dibuat dengan pengeburan daerah simfisis mandibula hingga terdapat gap selebar 1 mm pada tulang mandibula bagian inferior dengan tetap meninggalkan bagian superiornya, pada kondisi tersebut maka tipe penyembuhan tulang yang terjadi adalah penyembuhan fraktur tulang sekunder, menurut Marsell dan Einhorn proses ini terdiri atas penyembuhan tulang secara endokondral dan intramembranosa. Penyembuhan fraktur membutuhkan suplai darah dan revaskularisasi yang dimulai sekitar hari ke lima pasca fraktur tulang, itu merupakan hal esensial untuk suksesnya penyembuhan fraktur tulang, pada penyembuhan fraktur secara endokondral maka tidak hanya cukup jalur angiogenik yang terlibat tetapi ditemui juga apoptosis kondrosit dan degradasi kartilago untuk membuang sel-sel dan matrik ekstraseluler yang diperlukan untuk memberi ruang pembuluh darah berkembang di daerah fraktur. Saat struktur tersebut terbentuk vaskularisasi diatur melalui dua jalur utama yaitu jalur *angiopoietin-independent* dan jalur *vascular endothelial growth factor (VEGF)-dependent*. Jalur *VEGF-independent* merupakan pengatur utama regenerasi vaskuler melalui proses angiogenesis dan vaskulogenesis<sup>20</sup>. Red-Horse *et al.* mengungkapkan bahwa ketersediaan oksigen yang adekuat membuat peningkatan proses angiogenesis menjadi terjamin sehingga terjadi peningkatan vaskularisasi pada jaringan tulang fraktur, hal ini penting karena selain memastikan adanya oksigen dan nutrisi saat proses penyembuhan fraktur tulang maka sel-sel endotel pembuluh darah juga menghasilkan *growth factor* yang berperan pada jaringan tulang yaitu mengatur rekrutmen, proliferasi, diferensiasi dan fungsi sel osteoblas dan osteoklas<sup>25</sup>.

Uji *T-Independent* untuk hari ke 7 terhadap jumlah osteoblas dan jumlah osteoklas memberikan nilai yang signifikan ( $p < 0,05$ ), ini menunjukkan rHuEPO mampu meningkatkan jumlah osteoblas dan osteoklas pada hari ke 7, yang berarti pemberian rHuEPO dapat meningkatkan proses osteoblastogenesis dan osteoklastogenesis pada satu minggu proses penyembuhan fraktur tulang mandibula, hal ini sesuai dengan pendapat Mcgee *et al.* peningkatan EPO dalam mikrosirkulasi tulang dapat mengaktifkan dan meningkatkan siklus *hematopoietic stem cell* (HSC) atau *hematopoietic progenitor cell* (HPC).



Ekspansi HPC akan meningkatkan pembentukan sel darah matur dan itu memulihkan kompartemen hematopoietik, pre osteoklas diaktifasi HPC menjadi osteoklas (osteoklastogenesis), ekspansi tersebut menggunakan kompartemen tulang yang diresobsi oleh osteoklas. Aktifasi EPO pada HSC/HPCs menginduksi sekresi *bone morphogenic proteins* (BMPs) yang kemudian menuju *mesenchymal stem cells* (MSCs) untuk menginduksi pembentukan osteoblas (osteoblastogenesis) sehingga jumlah osteoblas dan aktivitasnya bertambah<sup>21</sup>.

Peneliti lain, Kim *et al.* mengungkapkan bahwa EPO dapat menginduksi proses osteoblastogenesis dan osteoklastogenesis yang diatur oleh *mamalian target of rapamycin (mTOR) signaling*. EPO secara langsung dan tak langsung melalui induksi ekspresi BMP dari HSC menginduksi diferensiasi osteoblas dari MSCs dan mTOR dihambat oleh *rapamycin* yang menghalangi *EPO-dependent* dan *independent* pada diferensiasi osteoblas. EPO juga meningkatkan jumlah osteoklas dengan mengatur *nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic, calcineurin-dependent 1* (NFATc1) dan pada saat bersamaan mengatur *cathepsin K* untuk menurunkan aktivitas resopsi osteoklas. *mTOR signaling* berperan penting pada pembentukan tulang melalui jalur *EPO-dependent* dan *independent*<sup>12</sup>.

Pemberian rHuEPO terbukti dalam penelitian ini dapat meningkatkan kadar hemoglobin, meningkatkan jumlah osteoblas dan osteoklas. Peningkatan kadar hemoglobin sesuai yang disampaikan oleh Broxmeyer<sup>4</sup> dan adanya mekanisme osteoblastogenesis dan osteoklastogenesis yang meningkat akibat pemberian rHuEPO sesuai dengan teori yang disampaikan McGee *et al.*<sup>21</sup> sehingga secara obyektif tampak pada peningkatan jumlah osteoblas dan osteoklas. Hasil uji korelasi Pearson antara kadar hemoglobin terhadap jumlah osteoblas dan jumlah osteoklas menunjukkan hasil yang tidak signifikan ( $\alpha < 0,05$ ), ini berarti terdapat korelasi yang tidak kuat antara peningkatan kadar hemoglobin kelompok perlakuan dan peningkatan jumlah osteoblas dan osteoklas kelompok perlakuan yang ditandai koefisien korelasi Pearson yang lemah

Kondisi tersebut terjadi karena kenaikan hemoglobin yang ada pada penelitian ini terjadi pada subyek dengan kadar hemoglobin awal yang normal atau tidak anemia, sehingga kenaikannya dari nilai normal hemoglobin ke

nilai ambang maksimal yang masih bisa dicapai dengan pemberian rHuEPO memberikan nilai korelasi yang lemah jika dibandingkan dengan kenaikan jumlah osteoblas dan jumlah osteoklas. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk melihat korelasi hemoglobin pada subyek anemia terhadap jumlah osteoblas dan jumlah osteoklas pada penelitian selanjutnya.

Lemahnya korelasi antara kadar hemoglobin terhadap jumlah osteoblas dan jumlah osteoklas dapat dijelaskan dengan teori sebelumnya bahwa rHuEPO memiliki efek berbeda pada jaringan yang berbeda. RhuEPO memiliki efek *pleiotropic*, yaitu efek eritroid (pembentuk eritrosit) dan non-eritroid (selain pembentuk eritrosit) karena secara teori telah ditemukan reseptor EPO (EPO-R) di luar jaringan hematopoietik<sup>11, 21, 22</sup>. Kemampuan rHuEPO untuk meningkatkan proses osteoblastogenesis dan osteoklastogenesis pada proses penyembuhan tulang memiliki mekanisme tersendiri yang tidak secara langsung berkaitan dengan peningkatan hemoglobin karena memiliki reseptor eritropoietin masing-masing.

## KESIMPULAN

Pemberian *recombinant human erythropoietin* terbukti meningkatkan proses penyembuhan fraktur tulang mandibula yang ditandai dengan peningkatan osteoblastogenesis dan osteoklastogenesis yang tampak dari peningkatan jumlah osteoblas dan osteoklas.

*Recombinant human erythropoietin* dapat meningkatkan proses eritropoiesis yang dapat dinilai dari peningkatan kadar hemoglobin, hemoglobin yang bertambah akan mendukung proses penyembuhan fraktur tulang mandibula.

## SARAN

Bisa dijadikan penelitian mengenai pengaruh *recombinant human erythropoietin* terhadap jumlah osteoblas dan osteoklas pada proses penyembuhan fraktur mandibula pada kondisi anemia.

Perlu dipertimbangkan menjadi penelitian klinis mengenai pengaruh *recombinant human erythropoietin* pada manusia sehat dengan fraktur mandibula dengan gangguan penyembuhan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Arslan E.D., Solakogle A.G., Komut E., Kavalci C., Yilmaz F., Karakilic E., Durdu T. dan Sonmez M., 2014, Assessment of Maxillofacial Trauma in Emergency Department, *World Journal of Emergency Surgery* 9(13):1-7
2. Bozlar M., Kalaci A., Aslan B., Baktiroglu L., Yanat A.N. dan Tasci A., 2006, Effects of erythropoietin on fracture healing in rats, *Saudi Med J* 27(8):1267-9
3. Brines M., Grasso G., Fiordaliso F., Sfacteria A., Ghezzi P., Fratelli M., Latini R., Xie Q.W., Smart J., Su-Rick C.J., Pobre E., Diaz D., Gomez D., Hand C., Coleman T. dan Cerami A., 2004, Erythropoietin mediates tissue protection through an erythropoietin and common beta-subunit heteroreceptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 41:14907-14912
4. Broxmayer, 2013, Erythropoietin: multiple targets, actions, and modifying influence for biological and clinical consideration, *J. Exp. Med.* 210(2): 205-208
5. Budihardja A.S. dan Rahmat M., 2010, *Trauma Oral dan Maksilofasial*, EGC, Jakarta, h.54
6. Devadiga A. dan Prasad K., 2007, Epidemiology of maxillofacial fracture and concomitant injuries in a craniofacial unit: a retrospective study, *The International Journal of Epidemiology* 5(2):1-9
7. Elliott S. dan Sinclair A.M., 2012, The effect of erythropoietin on normal and neoplastic cells, *Biologic: Targets and Therapy* 6:163-189
8. Farrell F. dan Lee A., 2004, The erythropoietin receptor and its expression in tumor cells and other tissues. *The oncologist* 9(5):18-30
9. Garcia P., Speidel V., Scheuer C., Laschke M.W., Holstein J.H., Histing T., Pohlemann T. dan Menger M.D., 2011, Low dose erythropoietin stimulates bone healing in mice, *J Orthop Res.* 29(2):165-72
10. Giannoudis P.V., Einhorn T.A., dan Marsh D., 2007, Fracture healing: The Diamond Concept, *Injury Int. J. Care Injured* 38S4:S3-S6
11. Haroon Z.A., Amin K., Jiang X. dan Arcasoy M.O., 2003, A novel role for erythropoietin during fibrin-induced wound-healing response, *Am J Pathol* 3:993-1000
12. Holstein J.H., Menger M.D., Scheuer C., Meier C., Culemann U., Wirbel R.J., Garcia P. dan Pohlemann T., 2007, Erythropoietin (EPO): EPO-receptor signaling improves early endochondral ossification and mechanical strength in fracture healing, *Life Sci.* 80(10):893-900
13. Holstein J.H., Orth M., Scheuer C., Tami A., Becker S.C., Garcia P., Histing T., Mörsdorf P., Klein M., Pohlemann T. dan Menger M.D., 2011, Erythropoietin stimulates bone formation, cell proliferation, and angiogenesis in a femoral segmental defect model in mice, *Bone* 49(5):1037-45
14. Kemenkes RI, 2013, *Riset Kesehatan Dasar: Riskesdas 2013*, h. X, 100-8
15. Kim J., Jung Y., Sun H., Joseph J., Mishra A., Shiozawa Y., Wang J., Krebsbach P.H. dan Taichman R.S., 2012, Erythropoietin Mediated Bone Formation Is Regulated by mTOR Signaling, *Journal of Cellular Biochemistry* 113:220-228
16. Lu C., Saless N., Wang X., Sinha A., Decker S, Kazakia G., Hou H., Williams B., Swartz H.M., Hunt T.K., Miclau T. dan Marcucio R.S., 2013, The role of oxygen during fracture healing, *Bone Jan* 52(1):220-9
17. Lu C.Y., Miclau T., Hu D. dan Marcucio R.S, 2007, Ischemia leads to delayed union during fracture healing: a mouse model, *J. Orthop. Res.* 25:51-61
18. Lundby C. dan Olsen N.V., 2011, Effect of recombinant human erithropoietin in normal human, *J Physiol.* 589(6):1265-1271
19. Marie E.V., Gaudard A., Audran M. dan Bressolle F., 2003, Pharmacokinetik/ Pharmacodinamic of recombinant human erythropoietin in doping control, *Sports Med.* 33(4):301-315
20. Marsell R. dan Einhorn T.A., 2011, The biology of fracture healing, *Injury* 42(6): 551-555
21. Mcgee S.J., Havens A.M., Shiozawa Y., Jung U. dan Taichiman R.S., 2012, Effect of erythropoietin on the bone microenvironment, *Growth Factors* 30(1):22-28
22. Mennini T., De-Paola M., Bigini P., Mastrotto C., Fumagalli E., Barbera S., Mengozzi M., Viviani B., Corsini E., Marinovich M., Torup L., Van-Beek J., Leist M., Brines M., Cerami A. dan Ghezzi P., 2006, Non hematopoietic erythropoietin derivative prevent motoneuron degeneration in vitro and in vivo, *Mol Med* 7-8:153-160
23. Pham-Dang N., Barthelemy I., Orliaguet T., Artola A., Mondie J.M. dan Dallel R., 2014, Etiology, distribution, treatment modalities and complications of maxillofacial fractures, *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 19(3):e261
24. Poynton A.R. dan Lane J.M., 2005, *Bone healing and failure*, In: Petite H. dan Quarto R., eds., Engineered Bone, Landes Bioscience, Texas, h. 45-59
25. Red-Horse K., Crawford Y., Shojaei F. dan Ferrara N., 2007, Endothelium-microenvironment Interaction in the Eeveloping Embriyo and in The Adult, *Dev Cell* 12(2):181-194
26. Rupani A., Balint R. dan Cartmell S.H., 2012, Osteoblast and Their Applications in Bone Tissue Engineering, *Cell Health and Cytoskeleton* 4: 49-61
27. Singbrant S., Russell M.R., Jovic T., Liddicoat B., Izon D.J., Purton L.E., Sims N.A., Martin T.J., SankaranVG. dan Walkley C.R., 2011, Erythropoietin

- Couples Erythropoiesis, B-lymphopoiesis, and Bone Homeostasis within The Bone Marrow Microenvironment, *Blood* 21:5631–5642
28. Sinno H. dan Prakash S., 2013, *Complement and The Wound Healing Cascade: An Update Review in Plastic Surgery International*, editor Muemer G.M., Hidawi publishing Co., h.1-7, tersedia di <http://dx.doi.org/10.1155/2013/146764>, diakses pada 1 Mei 2014
29. Utting J.C., Robins S.P., Brandao-Burch A., Orriss I.R., Behar J. dan Arnett T.R., Hypoxia Inhibits the Growth, Differentiation and Bone-forming Capacity of Rat Osteoblast, *Exper. Cell Res.* 312:1693-1702