

## CLINICAL APPLICATION OF BONE MORPHOGENETIC PROTEIN ON FRACTURE HEALING PROCESS

Riko Febrian Kunta Adjie<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dokter Umum Internship RSUD Ben Mboi, Ruteng, Nusa Tenggara Timur

\*Korespondensi : Riko Febrian Kunta Adjie, Dokter Umum Internship RSUD Ben Mboi, Jln. DR. Soetomo No. 1, Ruteng, Kelurahan Watu, Kecamatan Langke Rembong, Kab. Manggarai 86511  
E-mail: rikokuntaadjie@gmail.com

### ABSTRAK

Pada proses penyembuhan fraktur, sering terjadi *delayed union* maupun *non-union*. Penggunaan *Bone Morphogenetic Proteins* (BMP) menjadi salah satu solusi untuk masalah ini. Beberapa penelitian membuktikan bahwa BMP membantu meningkatkan regenerasi penyembuhan fraktur dengan kasus sulit pada sejumlah pasien. Tinjauan pustaka ini membahas pengenalan BMP dan efisiensi daripada penggunaan klinis BMP. Saat ini, rhBMP-2 dan rhBMP-7 menunjukkan hasil klinis yang signifikan namun subfamili BMP lainnya masih dalam penelitian. Kata Kunci: *bone morphogenetic protein*, fraktur, *growth factor*, penyembuhan tulang

### ABSTRACT

Delayed union or non-union often occurs in bone healing fracture process. The clinical application of Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) has helped an increasing number of patients achieve bone regeneration in clinical area lacking simple solutions for difficult bone healing situations. Many researchs has proved that BMPs improved fracture healing regeneration. In this review article, introduction and current clinical issues are summarized on efficacy and function of BMPs. Currently, rhBMP-2 and rhBMP-7 have shown clinical significance but other subfamily members of BMPs still lacked of evidence.

Keyword: bone morphogenetic protein, fracture, growth factor bone, healing

### PENDAHULUAN

Secara umum, proses penyembuhan fraktur terjadi melalui penyembuhan tidak langsung ataupun langsung. Penyembuhan tidak langsung yaitu melalui serangkaian proses yang terjadinya formasi kalus. Sedangkan penyembuhan langsung terjadi tanpa terbentuknya formasi kalus. Kalus yang terkalsifikasi membungkus dua fragmen patahan yang pada tahap ini disebut *union*. Namun pada tahap *union*,

penyembuhan belum sempurna karena pergerakan fragmen masih dapat terjadi sehingga tidak aman untuk mendapatkan stres. Konsolidasi merupakan tahap penyembuhan yang sempurna, kalus sudah terosifikasi sehingga kekuatan tulang untuk menerima beban sudah kembali.<sup>1</sup>

Terkadang proses penyembuhan fraktur ini terganggu dan tulang terlambat menyatu (*delayed union*) atau mungkin gagal

menyatu atau disebut non-union. Komplikasi ini dapat masa hospitalisasi lebih panjang dan membutuhkan intervensi lebih disertai ketidaknyamanan dan biaya yang meningkat. Dalam hal ini faktor-faktor seperti suasana lingkungan sekitar sel yang memadai, growth faktor yang cukup, stabilitas mekanik dan pembentukan matriks mempengaruhi kecepatan penyembuhan fraktur. Sekitar 5-30% pasien kekurangan faktor ini, sehingga menyebabkan timbulnya komplikasi *delayed union* atau mungkin *non-union*.<sup>2</sup>

Tatalaksana *non-union* sendiri sebenarnya tergantung pada etiologi yang mendasarinya. *Non-union* hipertrofik dapat ditatalaksana dengan revisi pembedahan dengan mengkonstruksi ulang untuk mencegah pergerakan pada lokasi fraktur. Pasien dengan masalah metabolik atau endokrin dapat dilakukan pemeriksaan laboratorium untuk menentukan kadar serum kalsium, fosfat, alkaline fosfatase, vit. D, dan level hormon thyroid. Infeksi harus dapat disingkirkan melalui pemeriksaan laju endap darah dan CRP. Tatalaksana pada non-union terinfeksi terdiri dari debridemen dan antibiotik. Pada kasus *Non-union* atrofik dapat diberikan suplemental *bone graft*, termasuk *autograft*, *allograft*, *demineralized*

*bone matrix*, *BMP*, *synthetic bone graft*, dan *stem cells*.<sup>1</sup>

Penyembuhan fraktur dan waktu untuk mencapai union dapat ditingkatkan dengan stimulasi biofisika atau pemberian substansi biologik seperti *autolog bone grafts* atau *platelet rich plasma* (PRP). Studi terkini mengenai mekanisme penyembuhan fraktur menghasilkan penemuan-penemuan spesifik mengenai komponen penting dalam penyembuhan fraktur, sebagai contoh hormon parathyroid, *hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$*  (HIF-1 $\alpha$ ) dan *bone morphogenetic proteins* (BMPs).<sup>3</sup> BMP yang merupakan *growth factor* berhasil menarik perhatian peneliti-peneliti. Ditemukan oleh Marshall Urist<sup>4</sup> pada tahun 1964, sekarang dapat dimurnikan dari matriks tulang. Secara molekular, BMP menunjukkan kemampuan menginduksi diferensiasi sel progenitor menjadi tulang rawan yang kemudian menjadi tulang matur.<sup>1</sup> Pemberian BMP yang merupakan komponen aktif pada tulang secara *in vivo* dapat menginduksi pembentukan tulang *de novo* pada tempat ektopik. Artikel ini akan membahas penggunaan klinik BMP dalam proses penyembuhan fraktur.

## BMPs

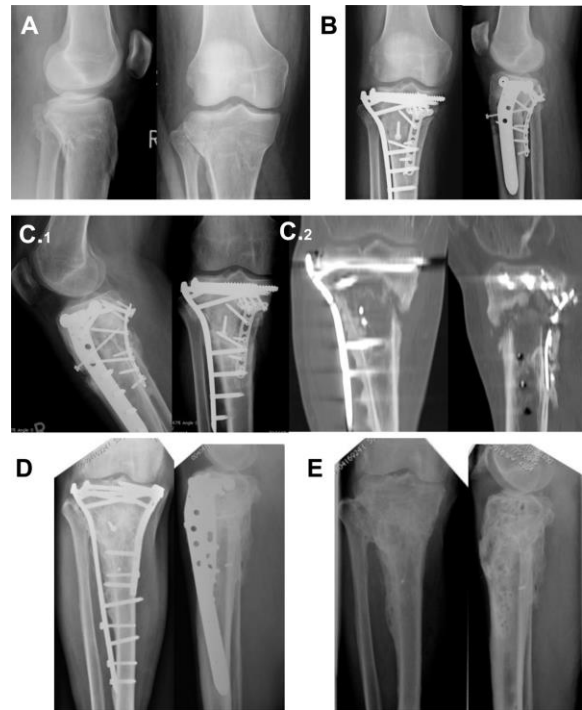
BMPs merupakan subfamili dari transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) superfamily. Selama ini telah ditemukan 20 protein yang berbeda dinamakan BMP dalam tubuh manusia, namun tidak semuanya bersifat osteogenik. BMP yang osteogenik dapat dibagi menjadi beberapa subgrup, menurut kesamaan rantai asam aminonya<sup>5,6</sup> : BMP-2 dan BMP-4 menjadi satu subgrup; BMP-5, BMP-6, BMP-7, BMP-8 pada subgrup yang kedua; BMP-9 dan BMP-10 membentuk subgrup yang ketiga. BMP family yang lain tidak memiliki kemampuan osteogenik.<sup>5,7</sup>

Pada tulang, BMPs diproduksi oleh sel osteoprogenitor, osteoblast, chondrocytes, dan platelet.<sup>8,9</sup> Setelah dilepas, matriks ekstraseluler menjadi tempat penyimpanan sementara BMP. Efek regulasi dari BMP bergantung pada tipe sel target, tahap diferensiasi, konsentrasi lokal BMP itu sendiri, dan interaksi dengan protein yang disekresi lainnya. BMP menginduksi sekuensial pembentukan chondrogenesis, osteogenesis, angiogenesis, dan kontrol sintesis matriks ekstraseluler.<sup>6</sup>

## Penggunaan Klinis BMP

Berdasarkan studi hewan dan trial preklinik, beberapa studi menunjukkan

efektivitas BMP dalam mempercepat regenerasi tulang dan penyembuhan tulang. Namun kerja BMP membutuhkan faktor lokal dan cara pemberian yang tepat. Selain itu waktu paruh BMP yang singkat juga perlu dipertimbangkan. Beberapa cara pemberian BMP telah dikembangkan untuk mengatasi keterbatasan ini.<sup>10-4</sup>



Gambar 1. Terapi sukses pada kasus non-union dengan rhBMP-2 (A) radiografi setelah fraktur; (B) Tatalaksana fraktur tanpa rhBMP-2; (C) Terjadi non-union (C.1) dengan CT-scan pada C.2; (D) Penyembuhan setelah revisi dengan re-osteosintesis dan rhBMP-2; (E) *Implant removal*.<sup>10</sup>

Penggunaan klinis rhBMP-2 (dibotermis alfa) dengan merk produk *InductOs* dan *InFuse*, produk ini dapat dilepas secara lambat. Govender et al mengevaluasi efek rhBMP-2 pada 450 pasien dengan fraktur terbuka tibia secara prospektif. Implantasi rhBMP-2 pada sponge kolagen menunjukkan angka union yang lebih tinggi, mempercepat union, penyembuhan luka lebih baik, menurunkan angka infeksi dan angka intervensi sekunder yang lebih rendah pada kelompok yang diterapi dengan rhBMP-2. Studi ini menyimpulkan penggunaan rhBMP-2 menghasilkan hasil yang menjanjikan.<sup>10</sup>

Penggunaan klinis lain BMP, yaitu rhBMP-7 dengan merk *Osigraft* dan *OP-1 Putty*, yang dikemas dalam 1 g kolagen *bovine*. Pada uji coba acak menunjukkan efek positif rhBMP-7 pada kasus non-union scaphoid dan defek fibular. Pemberian rhBMP-7 menunjukkan formasi tulang yang lebih baik dan terbentuk *bridging* pada defek segmental dibandingkan dengan kontrol. Giannoudis dan Tzioupis mengevaluasi indikasi dan efektivitas terapi rhBMP-7.<sup>12</sup> Penggunaan rhBMP-7 dapat digunakan pada kasus non-union, augmentasi pada kasus fraktur periprostesis dan osteotomi, mempercepat penyembuhan fraktur pada

kasus rekonstruksi acetabular, distraksi osteogenesis, *free fibular graft*, dan arthrodesis sendi. Persentase keberhasilan mencapai 82% (535 dari 653 kasus).<sup>12</sup> Ristiniemi et al mengintervensi 20 pasien dengan fraktur distal tibia yang distabilisasi dengan fiksasi eksternal dan rh-BMP-7 dalam kolagen bovine. Penyembuhan fraktur terjadi lebih cepat.<sup>17</sup>

Potensi rhBMP-2 dan rhBMP-7 dibandingkan secara *in vitro* dan *in vivo*.<sup>18</sup> *In vitro*, kedua agen ini meningkatkan produksi alkaline phosphatase yang mana mengindikasikan diferensiasi osteogenik. Produksi alkaline phosphates terlihat lebih tinggi pada kelompok rhBMP-2 daripada kelompok rhBMP-7. Namun, secara *in vivo* rhBMP7 memproduksi *ossicles* yang lebih besar, yang merupakan komponen mineral dan tulang. Studi *in vivo* lainnya menunjukkan rhBMP-2 lebih poten daripada rhBMP-7.<sup>20</sup> Hasil kontradiksi fakta ini mungkin dikarenakan mekanisme cara kerja BMPs yang berbeda dan cara pemberiannya.

Platelet juga memiliki komponen BMP dan pemberian PRP merupakan salah satu aplikasi BMPs. Namun Calori *et al* mengatakan bahwa pemberian rhBMP-7 masih lebih superior ketimbang penggunaan PRP.<sup>11</sup>

BMP-6 dan BMP-9 yang merupakan anggota famili BMP lainnya dikatakan lebih memiliki kemampuan osteogenik yang lebih baik bila dibandingkan dengan BMP-2 dan

BMP-7.61 namun hal ini masih terbatas dalam penelitian pada mencit, belum secara adekuat terbukti pada manusia.

### **Efek Samping BMPs**

Beberapa efek samping telah dikemukakan dalam penggunaan rhBMP. Terutama bila digunakan dalam dosis supra-fisiologis, pembentukan tulang ektopik dan stimulasi sel kanker masih dalam studi. Recombinant BMP-2 saat ini tidak menunjukkan adanya hubungan dengan kanker pankreas pada studi lebih dari 90.000 pasien. Terbentuknya tulang ektopik dikatakan dapat terjadi apabila digunakan dalam dosis sangat tinggi pada percobaan binatang. Namun BMP tetap menjadi modalitas terapi yang poten dalam menunjang kesembuhan fraktur dengan efek samping yang ringan apabila digunakan dengan benar.<sup>19</sup>

Selain itu beberapa efek samping negatif yang dilaporkan setelah penggunaan rhBMP-2 termasuk infeksi, osteolisis, ejakulasi retrograde, dan respon imun. Hal ini juga dilaporkan terkait dengan dosis supra-fisiologis. Beberapa uji coba menggunakan dosis rhBMP-2 dalam rentang dosis 10-12 mg pada terapi defek tulang panjang.<sup>21</sup>

Literatur saat ini menyarankan 1-2 mikrogram BMP/kg berat badan.<sup>22</sup>

### **Blok Antagonis BMPs**

Namun adanya BMP tidak menjamin efisiensi penyembuhan fraktur. Walaupun adanya BMP sangat penting dalam proses penyembuhan fraktur, BMP sangat bergantung dengan adanya faktor lokal baik inhibitor maupun stimulator yang mempengaruhi aktivitas BMP itu sendiri.<sup>20</sup>

Karena rhBMP masih memiliki kekurangan, pencarian terhadap alternatif lain masih dilakukan. Memblok antagonis BMP merupakan salah satu alternatifnya. Dengan menginhibisi antagonis BMP pada fase kalus penyembuhan fraktur. Hanya saja sangat sedikit literatur yang membahas mengenai manipulasi antagonis BMP untuk membantu penyembuhan fraktur pada manusia.<sup>20</sup>

## Kesimpulan

Efektivitas penggunaan BMPs dalam membantu penyembuhan fraktur terbukti menunjukkan efek positif. Beberapa penelitian uji coba acak telah menyimpulkan bahwa BMP membantu penyembuhan kasus *delayed* dan *non-union*.

BMP yang saat ini digunakan dalam proses penyembuhan fraktur adalah BMP-2 dan BMP-7. BMP lain seperti BMP-6 dan BMP-9 menunjukkan lebih poten dan mungkin lebih efektif dalam tatalaksana *delayed* dan *non-union*, namun hal ini masih terbatas dalam penelitian *in vivo*. Tidak

menutup kemungkinan bahwa di masa mendatang bila subfamili BMP osteogenik lain seperti yang telah dibahas, dapat digunakan dalam praktek klinis sehari-hari.

BMP juga memiliki beberapa efek samping, namun hal ini tidak terlalu mengkhawatirkan selama tidak digunakan dalam dosis berlebihan dan jangka panjang. Perlu diingat juga bahwa terdapat faktor lain yang mempengaruhi kerja BMP karena disebabkan adanya antagonis BMP itu sendiri dalam jaringan.

## Referensi

1. Salomon L, Warwick D, Nayagam S. Apley's System of Orthopaedics and Fractures. 9<sup>th</sup> ed. London: Hodder Arnold; 2010.
2. Dimitriou R, Tsiridis E, Giannoudis PV (2005) Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury* 36:1392–1404.
3. Komatsu DE, Warden SJ (2010) The control of fracture healing and its therapeutic targeting: improving upon nature. *J Cell Biochem* 109:302–311.
4. Urist MR (1965) Bone: formation by autoinduction. *Science* 150:893–899.
5. Li JZ, Li H, Sasaki T, Holman D, Beres B, Dumont RJ, Pittman DD, Hankins GR, Helm GA (2003) Osteogenic potential of five different recombinant human bone morphogenetic protein adenoviral vectors in the rat. *Gene Ther* 10:1735–1743.
6. Tsiridis E, Upadhyay N, Giannoudis P (2007) Molecular aspects of fracture healing: which are the important molecules? *Injury* 38 (Suppl 1):S11–S25
7. Miyazono K, Kamiya Y, Morikawa M (2010) Bone morphogenetic protein receptors and signal transduction. *J Biochem* 147:35–51.
8. Sipe JB, Zhang J, Waits C, Skikne B, Garimella R, Anderson HC(2004) Localization of bone morphogenetic proteins (BMPs)-2, -4, and -6 within megakaryocytes and platelets. *Bone* 35:1316–1322.
9. Pecina M, Vukicevic S (2007) Biological aspects of bone, cartilage and tendon regeneration. *Int Orthop* 31:719–720.
10. Govender S, Csimma C, Genant HK, Valentin-Opran A, Amit Y, Arbel R, *et al.* 2002. Recombinant human bone

- morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures: a prospective, controlled, randomized study of four hundred and fifty patients. *J Bone Joint Surg Am* 84-A:2123–2134.
11. Calori GM, Tagliabue L, Gala L, d'Imporzano M, Peretti G, Albisetti W (2008) Application of rhBMP-7 and platelet-rich plasma in the treatment of long bone non-unions: a prospective randomised clinical study on 120 patients. *Injury* 39:1391–1402.
  12. Giannoudis PV, Tzioupis C. (2005) Clinical applications of BMP-7: the UK perspective. *Injury* 36(Suppl 3):S47–S50
  13. Katayama Y, Matsuyama Y, Yoshihara H, *et al.* (2009). Clinical and radiographic outcomes of posterolateral lumbar spine fusion in humans using recombinant human bone morphogenetic protein-2: an average five-year follow-up study. *Int Orthop* 33:1061–1067.
  14. Varady P, Li JZ, Cunningham M, Beres EJ, *et al.* (2001). Morphologic analysis of BMP-9 gene therapy-induced osteogenesis. *Hum Gene Ther* 12:697–710.
  15. Yilgor P, Hasirci N, Hasirci V. (2010). Sequential BMP-2/BMP-7 delivery from polyester nanocapsules. *J Biomed Mater Res A* 93:528–536.
  16. Boerckel JD, Kolambkar YM, Dupont KM, Uhrig BA, *et al.* (2011). Effects of protein dose and delivery system on BMP-mediated bone regeneration. *Biomaterials* 32:5241–5251.
  17. Ristiniemi J, Flinkkilä T, Hyvönen P, Lakovaara M, Pakarinen H, Jalovaara P. (2007) RhBMP-7 accelerates the healing in distal tibial fractures treated by external fixation. *J Bone Joint Surg Br* 89:265–272.
  18. Barr T, McNamara AJ, Sándor GK, Clokie CM, Peel SA. (2010) Comparison of the osteoinductivity of bioimplants containing recombinant human bone morphogenetic proteins 2 (Infuse) and 7 (OP-1). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 109:531–540.
  19. Tazaki J, Murata M, Akazawa T, Yamamoto M, Ito K, Arisue M, Shibata T, Tabata Y. (2009) BMP-2 release and dose-response studies in hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate. *Biomed Mater Eng* 19:141–146.
  20. Dean DB, Watson JT, Moed BR, Zhang Z (2009) Role of bone morphogenetic proteins and their antagonists in healing of bone fracture. *Front Biosci* 14:2878–2888.
  21. A.L. Jones, R.W. Bucholz, M.J. Bosse, S.K. Mirza, T.R. Lyon, L.X. Webb, A.N. Pollak, J.D. Golden, A. Valentin-Opran, Group BMPEiSfTT-AS, Recombinant human BMP-2 and allograft compared with autogenous bone graft for reconstruction of diaphyseal tibial fractures with cortical defects. A randomized, controlled trial, *J. Bone Joint Surg. Am.* 88 (2006) 1431–1441.
  22. J.M. Wozney, V. Rosen, A.J. Celeste, L.M. Mitsock, M.J. Whitters, R.W. Kriz, R.M. Hewick, E.A. Wang, Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities, *Science* 242 (1988) 1528–1534.