

TESIS

**PERBANDINGAN EKSPRESI *RUNT RELATED
TRANSCRIPTION FACTOR-2* DAN *OSTERIX* PADA KULTUR
HUMAN-UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELL
PASCA PAPARAN *SCAFFOLD FREEZE DRIED BOVINE
BONE* DAN *DEPROTEINIZED BOVINE BONE MINERAL***

(Penelitian Eksperimental Laboratoris)



Oleh :

**ANDREAS PRATAMA NUGRAHA
NIM: 021618016302**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK
JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

TESIS

**PERBANDINGAN EKSPRESI *RUNT RELATED*
TRANSCRIPTION FACTOR-2 DAN *OSTERIX* PADA KULTUR
HUMAN-UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELL
PASCA PAPARAN *SCAFFOLD FREEZE DRIED BOVINE*
BONE DAN *DEPROTEINIZED BOVINE BONE MINERAL***

(Penelitian Eksperimental Laboratoris)

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan
Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Surabaya**

Oleh :

**ANDREAS PRATAMA NUGRAHA
NIM: 021618016302**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK
JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

**TESIS INI TELAH DISETUJUI
27 Juni 2022**

Oleh :

Pembimbing Utama



Dr. Ni Putu Mira Sumarta, drg., SpBM(K)
NIP.197803292005012001

Pembimbing Serta



Prof. Dr. David B. Kamadjaja, drg., MDS., SpBM(K)
NIP.196502121991031003

**Mengetahui,
Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik
Jenjang Magister**



Prof. Dr. Irwanto, dr., SpA(K)
NIP.196502271990031010

PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama: Andreas Pratama Nugraha

NIM : 021618016302



Tanggal: 27 Juni 2022

PANITIA PENGUJI TESIS

Tesis ini diajukan oleh :

Nama : Andreas Pratama Nugraha
NIM : 021618016302
Program Studi : Magister Ilmu Kedokteran Klinik
Judul : Perbandingan Ekspresi Runt Related Transcription Factor-2 dan Osterix pada kultur Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell pasca paparan Scaffold Freeze Dried Bovine Bone dan Deproteinized Bovine Bone Mineral

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada

PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER

Universitas Airlangga

Hari : Senin

Pada Tanggal : 13 Juni 2022

PANITIA PENGUJI :

Ketua : Prof R.M Coen Pramono D, drg., S.U., SpBM(K),FICS

Anggota:

1. Penguji I : Dr. Ni Putu Mira Sumarta, drg., SpBM(K)
2. Penguji II : Prof. Dr. David B Kamadjaja, drg., MDS., SpBM(K)
3. Penguji III : Andra Rizqiawan, drg., Ph.D., SpBM(K)
4. Penguji IV : Prof. Dr. Anita Yuliati, drg., Mkes.

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGASAKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Airlangga, saya yang bertanda tangan di bawah ini;

Nama : Andreas Pratama Nugraha
NIM : 021618016302
Program Studi : Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister
Fakultas : Kedokteran
Jenis karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Airlangga, Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

PERBANDINGAN EKSPRESI *RUNT RELATED TRANSCRIPTION FACTOR-2* DAN *OSTERIX* PADA KULTUR *HUMAN-UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELL* PASCA PAPARAN *SCAFFOLD FREEZE DRIED BOVINE BONE* DAN *DEPROTEINIZED BOVINE BONE MINERAL*

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Airlangga berhak menyimpan mengalih media/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*data base*), merawat dan mempublikasikan tesis saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 13 Juni 2022
Yang menyatakan



Andreas Pratama Nugraha
NIM. 021618016302

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa atas segala berkat dan karunia-Nya sehingga Karya Tulis Akhir ini dapat diselesaikan.

Perkenankan saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Agung Sosiawan drg., M.H., M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi (FKG) Universitas Airlangga (Unair) Periode 2020-2025 dan Prof. Dr. R. Darmawan Setijanto, drg., M.Kes selaku Dekan FKG Unair periode 2015-2020 yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk dapat mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Magister dan Spesialis.
2. Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG(K) Selaku Dekan Fakultas Kedokteran (FK) Universitas Airlangga (Unair) periode 2020-2025 dan Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U (K) Selaku Dekan FK Unair periode 2015-2020 yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan jenjang magister di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
3. Prof. Dr. Irwanto., dr., Sp.A(K) sebagai Ketua Program Studi (KPS) Ilmu Kedokteran Klinik (IKK) jenjang Magister periode 2020-2025 dan Dr Aditiawarman, dr., Sp.OG (K) sebagai KPS IKK periode 2012-2020 yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh Pendidikan jenjang Magister Fakultas Kedokteran Unair.
4. M. Subhan Amir, drg., PhD., Sp.BM(K) selaku Ketua Program Studi (KPS) Bedah Mulut dan Maksilofasial (BMM) FKG Unair periode 2020-2025, Dr. Ni Putu Mira Sumarta, drg., Sp.BM(K) selaku KPS BMM periode 2017-2020 dan pembimbing utama tesis, serta Achmad Hariadi, drg., MS.,Sp.BM(K) selaku KPS BMM periode 2014-2017 yang telah memberikan kesempatan menempuh

studi Spesialis dan Magister, memberikan bimbingan, motivasi dan masukan sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

5. R. Aries Muharram, drg., M.kes., Sp.BM (K) sebagai Ketua Departemen (Kadep) Bedah Mulut dan Maksilofasial (BMM) FKG Unair periode 2017-2020, Prof. Dr. David B. Kamadjaja, drg., MDS., Sp.BM (K), sebagai Kadep BMM FKG Unair periode 2017-2020 dan sebagai dosen pembimbing dua, serta Roberto Manahan Yantje Simanjuntak, drg., MS., Sp.BM(K) selaku Kadep BMM FKG Unair Periode 2014-2017 yang telah memberikan banyak dukungan, masukan dan bimbingan selama penulisan Tesis dan selama menempuh studi.
6. Prof. Dr. Anita Yuliati, drg., M.kes sebagai Guru Besar Ilmu Biomaterial FKG Unair, pembimbing dan penguji Tesis yang telah memberikan bimbingan dan saran-saran yang sangat membangun dalam proses penulisan tesis.
7. Prof. R.M. Coen Pramono D., drg., SU., Sp.BM(K), FICS, selaku anggota penguji tesis, Staff dan Guru Besar Departemen BMM FKG Unair yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan, pengarahan dan bimbingan serta motivasi selama penulis menempuh masa studi Spesialis dan Magister.
8. Andra Rizqiawan, drg., PhD., Sp.BM(K) selaku anggota penguji Tesis dan Staff Departemen BMM FKG Unair yang telah memberikan kesempatan dan bimbingan selama menempuh Pendidikan Magister dan Spesialis.
9. Tim Pengembangan riset *Stem Cell Center* Universitas Airlangga, Dr. Purwati, dr., Sp.PD., FINASIM selaku ketua dan drh Nora Ertanti., M.Si serta Pak Eryck yang telah membantu kelancaran proses penelitian
10. Bu Rochmatus Sholihah dan Bu Desi Setya Puspitasari Staff Administrasi Departemen BMM Unair dan , serta pak Zilmi selaku Staff Administrasi IKK

Unair yang selalu membantu untuk kelancaran administrasi selama menempuh pendidikan Spesialis dan Magister.

11. Keluarga saya Ibu Dr. Florentina Joestandari drg., MT, ayah saya Ir. Bonifacius Suminto, adik saya Dr. Alexander Patera Nugraha, drg., M.Imun., M.kes, Albertus Putera Nugraha dan yang terkasih Yuliana Merlindika Sembadani, drg, yang senantiasa mendukung serta mendoakan selama menempuh Pendidikan.
12. Sahabat saya Nicco Marantson, Dion Sandro, Kharisma Nisa dan seluruh rekan-rekan PPDGS Bedah Mulut Unair yang senantiasa mendukung dan bekerja sama selama menempuh pendidikan Magister.

Surabaya, 27 Juni 2022

Penulis

ABSTRAK

PERBANDINGAN EKSPRESI *RUNT RELATED TRANSCRIPTION FACTOR-2* DAN *OSTERIX* PADA KULTUR *HUMAN-UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELL* PASCA PAPARAN *SCAFFOLD FREEZE DRIED BOVINE BONE* DAN *DEPROTEINIZED BOVINE BONE MINERAL*

Nugraha, Andreas Pratama

Latar Belakang : Tindakan rekonstruksi defek tulang di regio oral dan maksilofasial merupakan tantangan bagi ahli bedah mulut dan maksilofasial. *Autograft* yang merupakan *gold standard* untuk rekonstruksi defek menyebabkan *donor site morbidity*. Rekonstruksi menggunakan *Scaffold Xenograft* telah banyak dilakukan dengan *Deproteinized Bovine Bone Mineral* (DBBM) dengan kekurangan berupa potensi osteoinduktif yang masih diragukan. Pengembangan material *Freeze Dried Bovine Bone Scaffold* dengan atau tanpa deselularisasi (FDBB dan dc-FDBB) dilakukan karena memiliki potensi osteoinduktif.

Tujuan : Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan potensi osteoinduktif antara FDBB, dc-FDBB dan DBBM yang dipaparkan pada *Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell* (hUCMSC) melalui ekspresi gen RUNX2 dan OSX yang merupakan gen penanda aktivitas osteodiferensiasi

Metode : Jenis penelitian adalah eksperimental laboratoris dengan memaparkan kultur sel hUCMSC pada *conditioned medium* (CM) *scaffold* FDBB, dc-FDBB dan DBBM. Pembuatan CM dengan rasio *Scaffold* : medium normal adalah 3:7. Ekspresi gen OSX dan RUNX2 diamati secara kuantitatif menggunakan RT-PCR pada hari ke-6 dan hari ke-12. Analisis distribusi data menggunakan Kolmogorov-Smirnoff dan uji homogenitas dengan Levene's test. Analisis data parametrik selanjutnya menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dilanjutkan dengan uji post hoc Tuckey HSD ($p < 0.05$)

Hasil : Terdapat perbedaan signifikan pada ekspresi RUNX2 dan OSX pada seluruh kelompok penelitian ($p < 0.05$). Ekspresi RUNX2 pada FDBB meningkat secara signifikan pada hari ke-12 dibandingkan dc-FDBB dan DBBM ($p < 0.05$). Ekspresi OSX paling tinggi pada kelompok control positif dan lebih signifikan dibandingkan kelompok perlakuan ($p < 0.05$). Ekspresi OSX mengalami penurunan pada hari ke-12 tanpa ada perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan.

Kesimpulan : FDBB Memiliki potensi osteoinduktif lebih paling tinggi pada ekspresi RUNX2 tetapi tidak pada ekspresi OSX yang cenderung mengalami penurunan pada hari ke-12.

Kata Kunci : FDBB, DBBM, osteoinduktif, RUNX2, OSX.

ABSTRACT

***RUNT RELATED TRANSCRIPTION FACTOR-2 AND OSTERIX GENE
COMPARISON BETWEEN HUMAN-UMBILICAL CORD
MESENCHYMAL STEM CELL CULTURE EXPOSED WITH FREEZE
DRIED BOVINE BONE SCAFFOLD AND DEPROTEINIZED BOVINE
BONE MINERAL***

Nugraha, Andreas Pratama

Background : *Maxillofacial Bone defect reconstruction remains a challenge for Oral and Maxillofacial Surgeon. Autograft was the gold standard for such defect but it often resulting in donor site morbidity. Xenograft such as Deproteinized Bovine Bone Mineral (DBBM) was developed and widely used to compensated those handicap whereas it has lack of osteoinductive capacity. Freeze Dried Bovine Bone Scaffold (FDBB) with or without decellularization (dc-FDBB) was developed and became good candidate as ideal scaffold because it has good osteoinductive properties.*

Purpose : *This research aim to compare osteoinductive properties between FDBB, dc-FDBB dan DBBM imbued with Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell (hUCMSC). It was measured by RUNX2 and OSX as early marker of osteogenesis.*

Methods : *True experimental laboratory research was done by exposing hUCMSC cell culture to conditioned medium scaffold made by mixed it with normal medium with 3:7 ratio. RUNX2 and OSX gene expression was measured quantitatively with RT-PCR at 6th and 12th day. Data distribution analysis using Kolmogorov-Smirnoff and homogeneity test using levene's. Parametric data then analyzed by applying the analysis of variance (ANOVA) continued with post hoc Tuckey HSD test (p<0.05).*

Result: *RUNX2 and OSX expression were significantly different in all group (P<0,001). FDBB shows significant increase in RUNX2 compared to dc-FDBB and DBBM at 12th day (P<0,05). OSX expression was highest in Positive control group (P<0,05). OSX expression was downregulated in all of group at 12th day without significant difference between FDBB, dc-FDBB and DBBM*

Conclusion: *FDBB has superior osteoinductivity compared to dc-FDBB and DBBM scaffold in RUNX2 expression but not in OSX.*

Keyword : *FDBB, DBBM, osteoinduktif, RUNX2, OSX.*

DAFTAR ISI

Cover	i
Lembar Prasyarat	ii
Lembar Pengesahan... ..	iii
Orisinalitas Penelitian	iv
Penetapan Panitia Penguji	v
Lembar Publikasi.....	vi
Kata Pengantar	vii
Abstrak	x
Abstract	xi
Daftar Isi.....	xii
Daftar Tabel	xvi
Daftar Gambar.....	xvii
Daftar Singkatan.....	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Akademis	5
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tulang	6
2.1.1 Anatomi dan Histologi Tulang.....	6
2.1.2 Komposisi Tulang	8

2.1.3	Komponen Selular Tulang	8
2.1.3.1	Sel Osteoprogenitor.....	9
2.1.3.2	Osteoblast	9
2.1.3.3	Osteosit	10
2.2	Rekayasa Jaringan	11
2.2.1	Scaffold	13
2.2.2	jenis-jenis <i>Scaffold</i>	16
2.2.2.1	<i>Scaffold Autograft</i>	17
2.2.2.2	<i>Scaffold Allograft</i>	18
2.2.2.3	<i>Scaffold Xenograft</i>	19
2.2.2.4	<i>Scaffold DFDBB</i>	20
2.2.2.5	<i>Scaffold DBBM</i>	21
2.2.2.6	<i>Scaffold FDBB</i>	22
2.2.3	<i>Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell</i>	24
2.2.3.1	Kompartemen hUCMSC	26
2.2.3.2	Potensi Differensiasi hUCMSC	27
2.2.4	<i>Bone Morphogenetic Protein</i>	28
2.3	Aspek Biomolekular Osteogenesis	28
2.3.1	Faktor Transkripsi dan <i>Signaling Pathway</i> Osteoblas	31
2.3.1.1	<i>Runt Related Transcription Factor-2</i>	31
2.3.1.2	<i>Osterix</i>	32
2.3.2	Signalling Pathway pada Proses Osteoblastogenesis.....	34
2.3.2.1	Wnt β -Catenin <i>Canonical Pathway</i>	34
2.3.2.2	BMP-SMAD <i>Pathway</i>	36
2.3.2.3	<i>Notch Pathway</i>	37

2.3.2.4 Interaksi antar <i>Signalling Pathway</i>	38
2.4 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	39
2.4.1 Tahap <i>Polymerase Chain Reaction</i>	41
2.4.1.1 Denaturasi	41
2.4.1.2 <i>Annealing</i>	42
2.4.1.3 <i>Extension</i>	42
2.4.2 Beberapa jenis <i>Polymerase Chain Reaction</i>	42
2.4.2.1 PCR Konvensional.....	42
2.4.2.2 <i>Real Time PCR</i>	43
2.4.2.3 <i>Reverse Transcriptase PCR</i>	44
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	46
3.1 Kerangka Konseptual	47
3.2 Hipotesis Penelitian.....	49
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	50
4.1 Jenis Penelitian	50
4.2 Rancangan Penelitian... ..	50
4.3 Besar Sampel Penelitian.....	51
4.4 Variabel Penelitian	52
4.4.1 Variabel Bebas	52
4.4.2 Variabel Terikat	52
4.4.3 Variabel Terkendali.....	52
4.5 Definisi Operasional.....	52
4.6 Bahan dan Instrumen Penelitian.....	54
4.6.1 Bahan Penelitian.....	54
4.6.2 Instrumen Penelitian	55

4.7 Waktu dan Tempat Penelitian	56
4.8 Prosedur Penelitian... ..	56
4.8.1 Uji Kelaikan Etik.....	56
4.8.2 Isolasi dan Kultur, hUCMSC	56
4.8.3 Pembuatan <i>Conditioned Medium</i>	58
4.8.4. Pemaparan Sel pada <i>Scaffold Conditioned Medium</i>	59
4.8.5 Ekstraksi mRNA	61
4.8.6 Analisis Sintesa cDNA dan Pemeriksaan PCR.....	61
4.9 Skema Penelitian... ..	63
4.10 Analisis statistik	63
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	64
5.1 Tingkat ekspresi RUNX2.....	64
5.2 Tingkat ekspresi OSX	66
BAB 6 PEMBAHASAN	68
6.1 Ekspresi RUNX2	70
6.2 Ekspresi OSX	72
6.3 Perbandingan potensi osteoinduksi	75
BAB 7 PENUTUP	81
7.1 Kesimpulan	81
7.2 Saran	81
DAFTAR PUSTAKA	82
Lampiran	92

DAFTAR TABEL

- 1 Tabel 5.1 Deskripsi rerata, SD, Uji Beda antar *fold change* RUNX2.....64
- 2 Tabel 5.2 Deskripsi rerata, SD, Uji Beda antar *fold change* OSX66

DAFTAR GAMBAR

1. Gambar 2.1 Struktur tulang, osteon dan sistem havers	6
2. Gambar 2.2 Komponen selular tulang dan fungsinya	10
3. Gambar 2.3 Trias rekayasa jaringan	12
4. Gambar 2.4 <i>Bioactive scaffold</i>	16
5. Gambar 2.5 Klasifikasi bahan tandur tulang	17
6. Gambar 2.6 Gross spesimen <i>human umbilical cord</i>	25
7. Gambar 2.7 Ilustrasi anatomis <i>human umbilical cord</i>	27
8. Gambar 2.8 Proses differensiasi sel.....	30
9. Gambar 2.9 Marker pada tiap fase osteoblastogenesis	30
10. Gambar 2.10 Garis keturunan <i>stem cell</i>	31
11. Gambar 2.11 Struktur domain osterix.....	33
12. Gambar 2.12 Osteoblastogenesis teregulasi BMP-Wnt <i>pathway</i>	33
13. Gambar 2.13 <i>Canonical Wnt β-Catenin pathway</i>	35
14. Gambar 2.14 <i>BMP-SMAD signalling pathway</i>	36
15. Gambar 2.15 <i>NOTCH signalling pathway</i>	38
16. Gambar 2.16 Integrasi <i>Wnt β-Catenin, SMAD dan Notch Pathway</i>	39
17. Gambar 2.17 Cara kerja PCR dan proses amplifikasi.....	41
18. Gambar 2.18 Diagram skematis cara kerja RT-PCR.....	44
19. Gambar 3.1 Kerangka konseptual penelitian.....	46
20. Gambar 4.1 Skema rancangan penelitian	50
21. Gambar 4.2 Morfologi sel hUCMSC.....	58
22. Gambar 4.3 ICC hUCMSC.....	59
23. Gambar 4.4 Skema Pembagian kelompok <i>plate M6</i>	60

24. Gambar 4.5 Rumus <i>fold change</i> OSX dan RUNX2	63
25. Gambar 4.6 Skema penelitian.....	64
26. Gambar 5.1 Diagram rerata dan signifikansi RUNX2.....	65
27. Gambar 5.2 Diagram rerata dan signifikansi OSX.....	67

DAFTAR SINGKATAN

ALP	: <i>Alkaline Phospatase</i>
BHA	: <i>Bovine Hydroxyapatite</i>
BMPs	: <i>Bone Morphogenetic Protein</i>
BM	: <i>Basic Medium</i>
CM	: <i>Conditioned Medium</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DBBM	: <i>Deproteinized Bovine Bone Mineral</i>
dc-FDBB	: <i>Decellularized Freeze Dried Bovine Bone</i>
DFDBB	: <i>Demineralized Freeze Dried Bovine Bone</i>
ECM	: <i>Extracellular matrix</i>
EGF	: <i>Endothelial Growth Factor</i>
ESCs	: <i>Embryonic stemcell</i>
FDBB	: <i>Freezed Dried Bovine Bone</i>
FGF	: <i>Fibroblast growth factor</i>
GAPDH	: <i>Glyceraldehyde-3 Phospate Dehydrogenase</i>
hUCMSC	: <i>human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell</i>
IGF	: <i>Insuline-like Growth Factor</i>
LncRNA	: <i>Long non Coding Ribonucleic Acid</i>
MSC	: <i>Mesenchymal Stem Cell</i>
NME	: <i>Native Micro Environment</i>
NICD	: <i>Notch Intracellular Domain</i>
ODIR	: <i>Osteogenic Differentiation Inhibitory Regulator</i>
OM	: <i>Osteogenic Medium</i>
OPN	: <i>Osteopontin</i>
OSC	: <i>Osteocalcin</i>
OSX	: <i>Osterix</i>
PB	: <i>Peripheral Blood</i>
RNA	: <i>Ribonucleic acid</i>
RUNX2	: <i>Runt Related Transcription Factor-2</i>
RT-PCR	: <i>Real Time Polymerase Chain Reaction</i>
SDS	: <i>sodium duodecyl sulfate</i>
TGF- β	: <i>transforming growth factor-β</i>
VEGF	: <i>vascular endhothelial growth factor</i>
WJ-MSC	: <i>Wharton Jelly Mesenchymal Stem Cell</i>