

## **DISERTASI**

# **PERUBAHAN SUBSELULER SEL KONDROID NUKLEUS PULPOSUS PADA DEGENERASI DISKUS INTERVERTEBRALIS**



Oleh :

Komang Agung Irianto S.

Program Studi S3 Ilmu Kedokteran

Program Pascasarjana

Universitas Airlangga

**SURABAYA**

2011

## **DISERTASI**

# **PERUBAHAN SUBSELULER SEL KONDROID NUKLEUS PULPOSUS PADA DEGENERASI DISKUS INTERVERTEBRALIS**



Oleh :

Komang Agung Irianto S.

NIM. 090810122 D

Program Studi S3 Ilmu Kedokteran

Program Pascasarjana

Universitas Airlangga

SURABAYA

2011


# LEMBAR PENGESAHAN

Naskah Disertasi ini telah disetujui

Pada tanggal 22 Desember 2011

Oleh :

Promotor



Prof., Dr.Djoko Roeshadi,dr.,SpOT.,FICS  
NIP.19411115 196701 1 002

Ko Promotor 1

Dr. I Ketut Sudiana,Drs.,M.S.  
NIP. 19550705 198003 1 005

Ko Promotor 2

Dr.F.M. Judajana,dr.,SpPK(K)  
NIP : 19490305 197802 1 00 1

**Disertasi ini telah diuji pada Ujian Doktor Tahap I (Tertutup)**

**Tanggal 7 November 2011**

---

Panitia Penguji Disertasi

Ketua : Dr. Sunarjo, dr.,M.S.,Msc

Anggota : 1. Prof. Dr. Djoko Roeshadi, dr, SpOT, FICS

2. Dr. F.M Judajana, dr., SpPK(K)

3. Dr. I Ketut Suidiana, M.S.

4. Prof. Retno Handajani, dr.,M.S., Ph.D

5. Prof. Dr. Achmad Sjarwani, dr., SpOT, FICS

6. Dr. Lutfi Gatam, dr., SpOT(K).

**Ditetapkan dengan Surat Keputusan**

**Rektor Universitas Airlangga**

**Nomor : 2166/H3/KR/2011**

**Tanggal 15 November 2011**

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama tama saya ucapkan puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan rahmat-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan disertasi ini.

Pada kesempatan ini, perkenankanlah saya menyampaikan ucapan terima kasih dan rasa hormat yang setulus-tulusnya kepada :

Prof. Dr. Djoko Roeshadi, dr., SpOT, FICS atas kesediaan beliau menjadi promotor yang dengan penuh kesabaran, ditengah kesibukan beliau, telah berkenan memberikan bimbingan, wawasan, pemikiran dan dorongan semangat yang sangat berharga selama saya menjalani program pendidikan doktor sampai dengan selesainya disertasi ini.

Dr. I. Ketut Sudiana, Drs., M.S atas kesediaan beliau menjadi ko-promotor yang dengan penuh kesabaran memberikan bimbingan dan dorongan semangat serta sumbangan-sumbangan pemikiran berharga selama saya mengikuti program pendidikan doktor sampai terselesaikannya disertasi ini.

Dr. F.M. Judajana, dr., SpPK(K) atas kesediaan beliau menjadi ko-promotor yang dengan kesabaran memberikan dorongan, bimbingan dan pemikiran-pemikiran berharga selama saya menjalani program pendidikan doctor sampai selesainya disertasi ini.

Perkenankanlah saya pada kesempatan ini menyampaikan ucapan rasa terimakasih kepada :

Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Fasichul Lisani, Apt, yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas untuk mengikuti, menyelesaikan Program Pendidikan Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Direktur Program Pascasarjana Prof. Dr. Hj. Sri Hajati, SH, MS dan mantan Direktur Program Pascasarjana Prof. Dr. Muhammad Amin, dr., SpP(K), Prof. Dr. Suhariningsih, Ir., selaku Wakil Direktur Bidang Akademik, dan Prof. Dr. H. R. Eddy Rahardjo, dr., SpAn.KIC, selaku mantan Asisten Direktur Bidang Akademik beserta seluruh pimpinan dan staff Program Pascasarjana Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya selama mengikuti dan sampai selesai Program Pendidikan Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr. SpA(K), SpJP, selaku Ketua Program Doktor Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga dan Prof. Dr. Harjanto JM, dr, AIFM selaku mantan Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. Agung Pranoto, dr. MKes. SpPD. K-EMD.FINASIM dan Prof. Dr. Muhamad Amin, dr, SpP(K), selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan kepada saya mengikuti pendidikan Doktor pada Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Direktur RSUD Dr. Soetomo, Dodo Anondo, dr, MPH, dan Dr. Slamet Riyadi Yuwono, dr, DTMH, MARS, selaku mantan Direktur RSUD Dr. Soetomo yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Doktor pada Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Ketua Departemen SMF Orthopedi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Dr. Ferdiansyah, dr, SpOT(K) dan Erwin Rahmawan, dr, SpOT(K) selaku mantan Ketua Departemen SMF Orthopedi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberi



kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Doktor pada Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Para staf Departemen S MF Orthopedi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD. Dr. Soetomo, Prof. Dr. Achmad Sjarwani, dr, SpOT(K); Prof. Dr. Bambang Prijambodo, dr, SpOT (K); Satrio, dr, SpOT(K), Bagyo S Winoto, dr, SpOT, Abdurrachman, dr, SpOT(K)(alm); Ketut Martiana, dr, SpOT(K); Zaim Chilmi, dr, SpOT(K); Tri Wahyu, dr, SpOT(K); Dwikora, dr, SpOT(K); Teddy dr, SpOT; Lukas, dr, SpOT, atas dukungannya kepada saya untuk mengikuti pendidikan Doktor pada Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Pada kesempatan ini ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada Prof. IP Sukarna, dr, SpOT(K); Prof. Soebroto Sapardan dr, SpOT(K)(alm); Dr. Lutfi Gatham, dr, SpOT(K); Dr. Agus Rahadian Rahim, dr, SpOT(K); Dr. Bambang Tiksnadi, dr, SpOT(K); Dr. Zairin Noor, dr, SpOT(K); Tjuk Risantoso, dr, SpOT(K), Dohar Tobing, dr, SpOT(K), Ifran Saleh, dr, SpOT(K), Azharrudin, dr, SpOT(K), Romaniyanto, dr, SpOT(K), Syafullah Amargani, dr, SpOT(K). Atas dukungannya kepada saya untuk mengikuti pendidikan Doktor pada Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Dr. Sunarjo, dr, MS, M.Sc, yang telah memberi bimbingan dan saran yang sangat berharga dalam bidang statistik, metoda penelitian, serta analisis data sampai penyelesaian penulisan disertasi ini.

Troef Soemarno, dr, SpPA(K), staf Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD. Dr. Soetomo; Sindrawati, dr, SpPA staf RS Onkologi yang

memberi saran dan bimbingan dalam bidang patologi anatomi hingga terselesaikan penulisan disertasi ini.

Estiningtyas, S KM, MARS, selaku di rektur RS. Onkologi Surabaya dan seluruh staff RS Onkologi Surabaya yang memberikan bantuan dan izin menggunakan peralatan untuk penelitian sehingga selesainya penulisan disertasi ini.

Semua anggota tim penguji ujian kualifikasi dan proposal, Prof. Dr, Djoko Roeshadi, dr, SpOT(K); Dr. I Ketut Sudiana, Drs M.S; Dr. FM Judajana, dr, SpPK(K); Prof. Dr. Sjarwani, dr, SpOT(K); Prof. Dr. Harjanto JM, dr, AIFM; Dr. Sunarjo, dr,MS; M.Sc; Prof. Retno Handajani, dr, MS, Phd; Prof. Dr. Putu Astawa, dr, SpOT(K); Dr Basuki, dr, MS. yang telah memberikan bimbingan dan pengetahuan yang sangat bermanfaat dalam penyusunan naskah disertasi ini.

Para dosen yang saya hormati, Prof Purnomo Suryohudoyo, dr, SpBK; Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr, MS; Prof DR. Zainuddin, Apt; Prof. Dr. Juliati Hood A, dr, MS, SpPA(K) MIAC; Prof. Dr. Lasiyo; Prof Dr. Laurentius Dyson P, Drs, MA; Dr Widodo, dr, MPH; Siti Pariani, dr, MS, Msc. Phd; Dr. Sunarjo, dr. MS MSc; Dr. F. Sustini, dr, MS; Dr. Basuki, dr, MS; Prof Glynska; Dr Tutik, SSos, MS dan semua staf pengajar pada Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah membimbing dalam ilmu dasar dan terapan yang sangat bermanfaat dalam penyusunan disertasi ini.

Seluruh guru dan dosen saya sejak pendidikan dasar sampai pendidikan keahlian hingga saat ini yang telah memberikan ilmu pengetahuan dan wawasan dengan ikhlas.



Seluruh rekan mahasiswa dan mahasiswi Program studi S3 Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga angkatan 2008 yang selalu membantu dan memotivasi untuk selesainya pendidikan ini.

Semua sekretaris dan pegawai di sekretariat Departemen /SMF Orthopedi, Suparti Dra, Suwignyo, Yuyun, Dian, Titik yang dengan tulus membantu sampai selesainya pendidikan ini.

Semua pegawai dan staf administrasi di Program Pascasarjana Universitas Airlangga bu Siswatin, bu Haryati, Bpk Chumaidy, atas semua bantuannya selama pendidikan hingga selesainya penulisan disertasi ini.

Akhirnya dalam kesempatan ini saya sampaikan rasa hormat dan kasih sayang saya kepada :

Orangtua saya ayahanda I Wajan Sidera, BA(alm) dan ibunda Endang Soehertien (alm) yang telah mengasuh, mendidik, mengayomi dan memberi tauladan yang baik hingga saat ini. Juga kepada mertua saya Oen Tandiono dan Lanviana yang telah membimbing dan memberi dorongan semangat dan doa sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini.

Para kakak dan adik kandung saya I Putu Indrawati S, dr; I Made Ferry S, ST; Ni Ketut Airmawati S; I Gede Airwin S, ST (alm); serta kakak dan adik ipar saya, Pinardi, Lilik Rahayu; Irawan beserta seluruh keluarga yang telah memberikan dorongan dan motivasi sehingga dapat menyelesaikan pendidikan ini.

Kepada istri Sindrawati, dan anak-anak saya tercinta, Laskar PK, Yudistira PK dan Nabila Ananda PK, yang dengan sabar, sangat pengertian memberi dukungan dan pengorbanan selama saya mengikuti pendidikan ini hingga selesai.

Rasa terima kasih saya kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah memberikan bantuan dan motivasi hingga disertasi ini dapat diselesaikan. Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas budi baik yang telah diberikan kepada saya.

Semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi umat manusia pada umumnya dan pengembangan ilmu kedokteran khususnya yang berdampak pada kemajuan dunia pendidikan kedokteran di Indonesia.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa melimpahkan rahmatNya kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan disertasi ini . Amin



## DAFTAR ISI

<b>SAMPUL DALAM</b> .....	<b>i</b>
<b>LEMBARAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xviii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xix</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	<b>xx</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>xxi</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>xxiv</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>xxvii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xxviii</b>
 <b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	6
1.3 Tujuan Penelitian .....	7

1.3.1	Tujuan Umum .....	7
1.3.2	Tujuan Khusus .....	7
1.4	Manfaat Penelitian .....	8
1.4.1	Manfaat Ilmiah .....	8
1.4.2	Manfaat Terapan .....	8
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>		
2.1	Anatomi Diskus Intervertebralis (DIV) .....	9
2.2	Embriologi Diskus Intervertebralis (DIV) .....	10
2.3	Segmen Pergerakan Mekanikal .....	12
2.4	Komposisi Biokimia Diskus Intervertebralis .....	14
2.4.1	Matriks Ekstraseluler .....	14
2.4.2	Komponen Seluler .....	16
2.5	Mikrostruktur .....	17
2.5.1	Nukleus Pulposus .....	17
2.5.2	Anulus Fibrosus .....	19
2.5.3	<i>Cartilagenous End Plate</i> .....	20
2.6	Nutrisi Diskus Intervertebralis .....	21

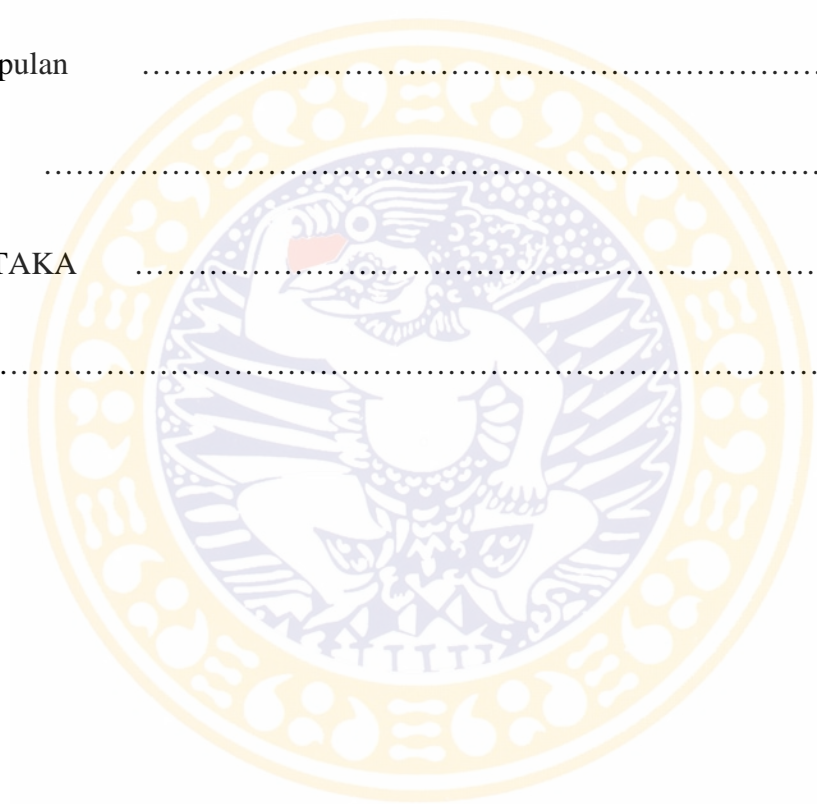
2.7	Proses Degenerasi Diskus Intervertebralis .....	22
2.7.1	Efek Perubahan Degenerasi pada Fungsi Diskus .....	28
2.7.2	Perubahan Biokimia pada Proses Degenerasi .....	30
2.7.3	Perubahan Biomolokuler pada Proses Degenerasi .....	32
2.7.3.1	Apoptosis .....	33
2.7.3.2	Adaptasi .....	35
2.8	Pulasan Imunohistokimia .....	39
<b>BAB 3</b>	<b>KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b>	
3.1	Kerangka Konseptual Penelitian .....	41
3.2	Penjelasan Kerangka Konsep .....	42
3.3	Hipotesis Penelitian .....	43
<b>BAB 4</b>	<b>METODA PENELITIAN</b>	
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian .....	44
4.2	Populasi dan Besar Sampel .....	45
4.3	Variabel Penelitian .....	45
4.4	Definisi Operasional .....	46
4.5	Alat, Bahan Penelitian dan Cara Pengambilan Bahan .....	50



4.6	Tempat dan Waktu Penelitian .....	52
4.6.1	Tempat Penelitian .....	52
4.6.2	Waktu Penelitian .....	52
4.7	Persyaratan Etik .....	52
4.8	Tempat Pengambilan Data .....	52
4.9	Cara Kerja .....	53
4.9.1	Metoda Pemrosesan Jaringan .....	53
4.9.2	Metoda Imunohistokimia .....	53
4.10	Kerangka Operasional Penelitian .....	53
4.11	Cara Pengolahan dan Analisis Data .....	54
<b>BAB 5</b>	<b>ANALISIS HASIL PENELITIAN</b>	
5.1	Karakteristik Kelompok Penelitian .....	55
5.2	Hasil Pemeriksaan Histopatologi & Imunohistokimia .....	56
5.2.1	Hasil Pemeriksaan Histopatologi DIV Kelompok Penelitian .....	56
5.2.2	Hasil Pemeriksaan Histopatologi Kelompok Pemanding .....	57
5.2.3	Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia HSP70 .....	57
5.2.4	Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia CD68 .....	58

5.2.5	Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia <i>Caspase-3</i> .....	59
5.2.6	Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia Pulasan Ganda CD68 & <i>Caspase-3</i> .....	59
5.2.7	Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia Kolagen Tipe I .....	60
5.2.8	Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia Kolagen Tipe II .....	61
5.3	Deskripsi Data Penelitian .....	61
5.4	Uji Normalitas .....	62
5.5	Uji Beda antar Variabel .....	63
5.5.1	Uji Beda Variabel dalam Kelompok Penelitian .....	63
5.5.2	Uji Beda Variable dalam Sel Klaster .....	64
5.5.3	Uji Beda variable antar Kelompok Penelitian dan Pembeding .....	65
5.6	Analisis Korelasi CD68 dengan <i>Caspase-3</i> .....	65
5.7	Peluang dan <i>Ratio Prevalance</i> .....	66
5.7.1	Peluang dan <i>Ratio Prevalance</i> Adaptasi .....	66
5.7.2	Peluang dan <i>Ratio Prevalance</i> Regenerasi .....	67
 BAB 6 PEMBAHASAN		
6.1	Sel Kondroid Nukleus Pulposus .....	68
6.2	HSP70 .....	70

6.3	CD68 & <i>Caspase-3</i> .....	71
6.4	Kolagen Tipe I & Kolagen Tipe II .....	76
6.5	Temuan Baru .....	79
6.6	Keterbatasan Penelitian .....	81
<b>BAB 7 PENUTUP</b>		
7.1	Kesimpulan .....	82
7.2	Saran .....	83
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....		84
Lampiran .....		97



**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1	: Gambar Potongan melintang nukleus pulposus NP dan <i>annulus fibrosus</i> ..	18
Gambar 2.2	: Gambar Serabut Kolagen Annulus Fibrosus .....	19
Gambar 2.3	: Gambar 4 macam bentuk HNP .....	29
Gambar 4.1	: Gambar Histopatologi jaringan DIV dengan pulasan H&E .....	46
Gambar 4.2	: Gambar Sel Kondroid dengan ekspresi HSP70 .....	47
Gambar 4.3	: Gambar Sel Kondroid dengan ekspresi <i>Caspase-3</i> .....	47
Gambar 4.4	: Gambar Sel Kondroid dengan ekspresi CD68 .....	48
Gambar 4.5	: Gambar Sel Kondroid dengan ekspresi Kolagen I .....	48
Gambar 4.6	: Gambar Sel Kondroid dengan ekspresi Kolagen II .....	49
Gambar 4.7	: Gambar Sel Kondroid dengan ekspresi gand CD68 & <i>Caspase-3</i> ...	50
Gambar 4.8	: Gambar Alat <i>Micro Endoscopy Dissectomy</i> METRX .....	51
Gambar 5.1	: Gambaran Mikroskopik Histopatologi Sel Kondroid Degenerasi .....	57
Gambar 5.2	: Gambaran Histopatologi DIV Kelompok Pembanding .....	57
Gambar 5.3	: Gambaran Mikroskopik Imunohistokimia HSP70 .....	58
Gambar 5.4	: Gambaran Mikroskopik Imunohistokimia CD68 .....	58
Gambar 5.5	: Gambaran Mikroskopik Imunohistokimia <i>Caspase-3</i> .....	59
Gambar 5.6	: Gambaran Mikroskopik Imunohistokimia CD68 & <i>Caspase-3</i> .....	60
Gambar 5.7	: Gambaran Mikroskopik Imunohistokimia Kolagen I .....	61
Gambar 5.8	: Gambaran Mikroskopik Imunohistokimia Kolagen II .....	61
Gambar 6.1	: Foto MRI Lumbosakral penderita HNP sebelum operasi .....	75
Gambar 6.2	: Foto polos penderita HNP setelah operasi .....	75
Gambar 6.3	: Foto MRI Lumbosakral penderita HNP sesudah operasi .....	76

## DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 : Diskripsi Umur Penderita HNP .....	55
Tabel 5.2 : Distribusi Sex Kelompok Penelitian dan Pemanding .....	56
Tabel 5.3 : Distribusi <i>Grade</i> HNP Kelompok Penelitian .....	56
Tabel 5.4 : Nilai Rerata dan <i>Standar Deviasi</i> Kelompok Penelitian Dan Pemanding pada Sel Tunggal dan Sel Kluster. ....	62
Tabel 5.5 : Hasil Uji Normalitas Data Hasil Penelitian .....	63
Tabel 5.6 : Hasil Uji Beda Variabel dalam Kelompok penelitian antara sel tunggal dan Kluster .....	64
Tabel 5.7 : Hasil Uji Beda Variable Caspase-3 dan CD68 dalam Kluster, antara satu ekspresi antibodi dan ekspresi dua antobodi terpulas ganda ( <b>DST</b> ) .....	65
Tabel 5.8 : Hasil Uji Beda antar Kelompok Penelitian dan Pemanding .....	66
Tabel 5.9 : Hasil Analisis Korelasi CD68 dan Caspase 3 Kelompok Penelitian Sel dalam Kluster .....	66
Tabel 5.10 : Kontijensi Tabel 2 x 2 Adaptasi dan Umur Penderita .....	67
Tabel 5.11 : Kontijensi Tabel 2 x 2 Regenerasi dan Umur Penderita .....	68



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 : Etik Penelitian .....	97
Lampiran 2 : Cara Kerja .....	98
Lampiran 3 : Data Penderita .....	113
Lampiran 4...: Data Kasar Penelitian.....	115
Lampiran 5: Uji Normalitas Data.....	123
Lampiran 6 : Uji Beda dan Uji Korelasi .....	124
Lampiran 7 : Penghargaan <i>Basic Science Research</i> .....	137



## DAFTAR SINGKATAN

AbM	: Antibodi Monoklonal
BMI	: <i>Body Mass Index</i>
Caspase	: <i>Cystein Aspartic Acid Protease</i>
CD68	: <i>Cluster Determinant</i>
CTGF	: <i>Connective Tissue Growth Factor</i>
DIV	: <i>Discus Intervertebralis</i>
Fas-L	: <i>Fas Ligand</i>
FLIP	: <i>Fas-ligand Immune Privilege</i>
Gb	: Gambar
H&E	: Hematoxylin & Eosin
HRP	: <i>Horse Radish Peroxidase</i>
HSP70	: <i>Heat Shock Protein 70</i>
HNP	: <i>Hernia Nucleus Polposus</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
MED	: <i>Micro Endoscopic Discectomy</i>
MMPs	: <i>Matrix Metallo Proteinase</i>
mRNA	: <i>Messenger RNA</i>
MRI	: <i>Magnetic Resonance Imaging</i>
NP	: <i>Nucleus Polposus</i>
RP	: <i>Ratio Prevalence</i>
TGF- $\beta$	: <i>Tumor Growth Factor</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrotic Factor-<math>\alpha</math></i>
SLRPS	: <i>Small Leucine Repeat Protein</i>
$\alpha$ -SMA	: <i><math>\alpha</math> Smooth Muscle Actin</i>

## RINGKASAN

Herniasi diski intervertebralis (DIV) yang paling banyak dikaitkan dengan nyeri tulang belakang, cenderung untuk di buang saat tindakan operasi karena dianggap sudah degenerasi. Kenyataannya angka kekambuhan operasi berkisar 28 %, bahkan 15% memerlukan operasi ulang karena nyeri semakin hebat. Penanganan yang hanya bersifat simptomatis saja tanpa didasarkan pada perubahan struktur biologi dan biokimia sel yang terjadi pada *Nucleus Pulposus* (NP) disebabkan belum jelasnya masalah mekanisme proses transformasi seluler pada degenerasi DIV.

Proses degenerasi DIV sampai sekarang belum seluruhnya jelas; sesungguhnya keseluruhan proses tersebut telah dimulai sejak janin 35 minggu. Proses dimulai dengan berkurangnya vaskularisasi pada *end plate*, dan sel notokord berkurang hingga menghilang pada awal usia pertumbuhan. Sel kondroid pada NP yang secara embriologis berasal dari sel notokord, pada perkembangan selanjutnya mengalami perubahan fenotip dan morfologi. Sel notokord beradaptasi terhadap keadaan keseimbangan baru menjadi sel kondroid yang lebih kecil, kehilangan vakuola pada sitoplasma dan cenderung mengelompok membentuk klaster.

Perubahan bentuk sel diduga ada kaitan dengan penyesuaian terhadap lingkungan mikro. Sel kondroid pada DIV telah terbiasa dalam keadaan hipovaskular, hiponutrisi dan hiperosmotik mempunyai mekanisme pertahanan diri melalui signal-signal sel dan matriks seluler yang ada. Sifat dan keadaan unik ini disebabkan tidak adanya vaskular sehingga reaksi radang yang memicu kerusakan jaringan menjadi terbatas, kemampuan pemulihan juga lambat dan terbatas.

Proses perubahan seluler membentuk struktur klaster belum sepenuhnya dapat dijelaskan. Pembentukan struktur klaster pada proses degenerasi merupakan proses menuju

kematian segera (apoptosis), ataukah berubah sifat, beradaptasi menjadi menyerupai sifat sel lain (mengekspresi CD68 seperti sifat fibroblast) untuk menghasilkan matriks yang lebih sesuai.

Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap perubahan subseluler sel kondroid NP penderita HNP pada degenerasi DIV. Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian observasional dengan rancangan *cross sectional* dengan menggunakan jaringan DIV penderita HNP. Masing-masing spesimen dilakukan pemeriksaan jumlah sel kondroid yang membentuk struktur klaster (pulasan H&E), yang mengekspresikan HSP70 (petanda adaptasi), CD 68 (petanda fagosit atau fibroblas), *Caspase-3* (petanda apoptosis), Kolagen I dan Kolagen II melalui metoda immunohistokimia. Untuk CD68 dan *Caspase-3* dilakukan pulasan ganda melihat kedua ekspresi tersebut bersamaan dalam satu slide sehingga menggambarkan keadaan sel yang akan apoptosis dan sel yang telah berubah sifat menjadi mengekspresi CD68.

Penelitian ini telah mendapat persetujuan Komisi Etik Penelitian LPPM UNAIR. Hasil penelitian dianalisis secara statistik deskriptif dan analitik dengan Uji t-berpasangan dan *Wilcoxon Sign Rank test* untuk uji beda dan Uji *Pearson* untuk analisis korelasi ( $p \leq 0,05$ ,  $r=0.734$ )

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada sel klaster terdapat dua macam ekspresi yaitu *Caspase-3* (eksekutor apoptosis) dan CD68 (petanda fagosit dan fibroblast), sedangkan sel tunggal tidak menunjukkan ekspresi ganda. Ekspresi HSP70 lebih banyak pada sel berstruktur klaster menunjukkan kecenderungannya terjadinya proses adaptasi dengan membentuk klaster. Ekspresi Kolagen II pada sel klaster lebih banyak daripada kolagen I menunjukkan matriks ekstraseluler yang masih sesuai untuk diskus. Pada DIV anak dengan *scoliosis* yang diamati, hampir tidak tampak sel berstruktur klaster, sebagian besar mengekspresi *Caspase-3* dan tidak

terdapat sel m engekspresikan CD68. Karenanya p endapat ba hwa ek spresi C D68 pada sel chondroid de wasa merupakan respons fagosit terhadap adanya ekspresi *Caspase-3* tidak tepat. Fenotip sel tersebut lebih menyerupai fibroblast daripada fagosit.

Kesimpulan penelitian ini adalah, bahwa tidak semua sel kondroid menyusun kluster akan menjadi a poptosis s eperti yang di perkirakan d alam pr oses de generasi selama i ni. T erdapat peluang 76,47% sel beradaptasi, sedangkan kemampuan regenerasi pada sel berstruktur kluster sebesar 71%. Kenyataan ini menunjukkan sel kondroid NP mempunyai kemampuan beradaptasi dan regenerasi tidak hanya degenerasi yang mengarah pada penuaan dan kematian.

Temuan baru mengenai kemampuan DIV yang beradaptasi dan regenerasi akan mengubah pandangan ba hwa tindakan pe mbedahan yang e kstensif m embuang ba gian diskus y ang mengalami he rniasi merupakan tindakan yang be rlebihan. S eleksi pe nderita s erta t eknik pembedahan dengan tujuan mengembalikan fungsi DIV melalui pendekatan Mekano-Bio-Kimia merupakan pilihan prosedur penanganan penderita HNP pada degenerasi DIV.



## SUMMARY

Degeneration of the intervertebral disc (IVD) which is defined as a process characterized by a cascade of cellular, biochemical, structural and functional changes; remains strongly impacted as a cause of low back pain. Referring to the fact that 80% adult will, at sometime in their lives, have back pain that impairs activity, render a significant socioeconomics loss. Current treatment strategies for disc degeneration typically address the symptoms without really treating the underlying cause or restoring mechanical function.

In cases which surgical intervention is warranted; either open surgery or using endoscopic splitting the muscle instead of cutting; are tending to do resection of the herniated portion in understanding that the degenerated IVD was useless, dying, and source of the pain. The recurrent cases afterward are 28 %, and 15 % needing another surgery. Therefore, there is a strong need of therapies that both alleviate painful symptoms and restore disc structure and mechanical function by directly addressing the underlying biological causes of disc degeneration.

The process of the degeneration has started as early as 35 weeks gestation when the vascular in endplates begin to recede, eventually leaving the disc as completely avascular, so resident cell must survive and function in an environment that is low nutrients and oxygen. These are unique condition of the largest avascular tissue in human body. The low nutrient environment might therefore induce the notochord-like cells into became apoptotic or transformed towards smaller, loss the vacuolated cytoplasm, bearing the chondrocyte like appearance. Concurrently the chondroid cells forming more clustering cells; which the process still unrevealed.

The aim of this study is to unveil the subcellular changes in the chondroid cells of degenerative IVD in Hernia Nucleus Pulposus (HNP) patients. The study is cross sectional

observational, using excised IVD tissue specimens obtained from HNP patient underwent Micro Endoscopic Discectomy (MED). For each specimen we evaluated the chondroid cells clustering, the protein expressions of HSP70 (the cellular adaptation marker), CD 68 (the fibroblast marker), Caspase-3 (the apoptotic marker), Collagen I, and Collagen II by Immunohistochemistry technique. We looked into the CD 68 protein as phagocyte also as the fibroblast cell marker (The fact is, normal usual chondrocyte cells and chondroid cells in young Nucleus Pulposus do not express CD68). Attempt to do the double staining with two protein in one Immunohistochemistry runs showed two different cell morphologies, the non apoptotic one express CD68 and the apoptotic one expressed Caspase-3; both in one cluster of chondroid cells.

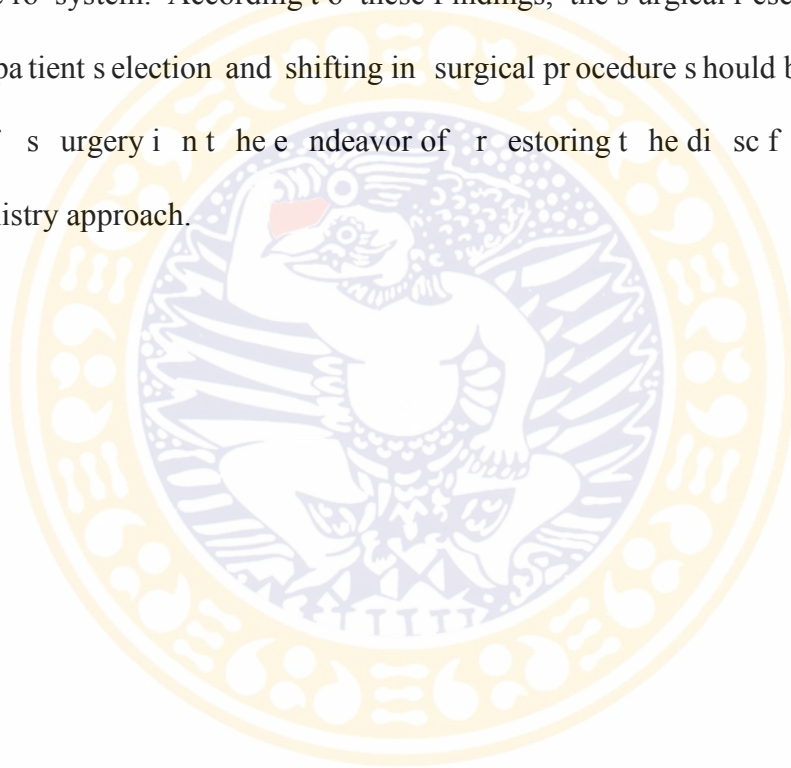
This study has been approved by the Ethical Commission of Airlangga University. The study result was analyzed descriptive and analytic using Paired t-test and Wilcoxon Sign Rank Test, and Pearson correlation test ( $p < 0.05$ ,  $r = 0.734$ ).

The result of this study showed significant correlation on these findings; cell clusters were significantly higher than the single formation. HSP70 expressed more in cluster assuming the adaptation process supervene the clustering changes. Both CD68 and Caspase-3 protein were expressed in the same clusters, both higher in cluster than in the single cells. Collagen II still higher than Collagen I correlate to the suitable extracellular matrix. There are 76,47% risk prevalence that the chondroid cells might lead to adaptation and 71% chances of regeneration for the chondroid cell cluster.

The evaluation of child IVD from scoliosis patient showed few cells clustering, do not expressed the CD68, but dominantly expressed Caspase-3. Hence the thinking that these CD68

chondroid cell in adult IVD expressed phagocyte as response to the apoptotic condition remained unanswered. The phenotype and the matrix they produced signifying the fibroblast line.

These study results open a new paradigm of degeneration process in NP cells; the CD 68 Caspase-3 protein expressions concurrency in chondroid cells of nucleus pulposus do not indicating a degenerate of praecox dying or a morphological changes only, yet these protein expressions in cell clustering persuade a adaptation changes into more tolerant cell in the different cell micro system. According to these findings, the surgical resection seems over treated. A strict patient selection and shifting in surgical procedures should be aroused as the initial choice of surgery in the endeavor of restoring the disc function through mechanobiochemistry approach.



**ABSTRAK****Perubahan Subseluler Sel Kondroid Nukleus Pulposus  
pada Degenerasi Diskus Intervertebralis****Komang Agung Irianto S**

**Latar Belakang Masalah:** Degenerasi diskus intervertebralis (DIV) selalu dianggap penyebab utama dari nyeri tulang belakang. Sekalipun demikian, seiring dengan bertambahnya usia, 80% orang pernah mengalaminya. Penanganan konservatif dan operatif belum memberikan hasil yang memuaskan. Proses degenerasi DIV merupakan perubahan struktur dan fungsi akibat perubahan sel kondroid di dalam diskus sebagai respon terhadap akselerasi beban progresif yang berlangsung terus menerus. Pada DIV degenerasi, sel kondroid yang biasanya hanya tersisa 1% dan banyak membentuk struktur klaster. Proses terjadinya perubahan subseluler dari sel kondroid ini belum jelas mekanismenya. Dengan memahami proses perubahan subseluler diskus degenerasi, diharapkan konsep penanganan nyeri tulang belakang akan lebih terarah sesuai dengan patologinya.

**Tujuan penelitian:** Menjelaskan perubahan subseluler sel kondroid nukleus pulposus pada degenerasi diskus intervertebralis.

**Bahan dan Metoda :** Lima puluh satu spesimen diskus dari bahan operasi penderita HNP dengan *Micro Endoscopy Discectomy* (MED) dan dua spesimen diskus anak dengan scoliosis, dilakukan pemeriksaan Histopatologi untuk menilai jumlah struktur klaster sel kondroid dan Immunohistokimia untuk ekspresi HSP70, CD68, *Caspase-3*, Kolagen I dan Kolagen II. Analisis statistik menggunakan Uji t berpasangan dan *Wilcoxon Sign Rank Test* untuk uji beda dan Uji *Pearson* untuk analisis korelasi ( $p \leq 0,05$ ).

**Hasil Penelitian :** Sel kondroid NP berstruktur klaster mengekspresikan HSP70, CD68, *Caspase3*, dan Kolagen II secara bermakna ( $p \leq 0,05$ ), sedangkan Kolagen I tidak. Terdapat hubungan yang kuat antara ekspresi CD68 dengan *Caspase-3* pada sel berstruktur klaster ( $p \leq 0,05$ ,  $r = 0,734$ ).

**Kesimpulan:** Pada penderita degenerasi DIV terjadi perubahan subseluler pada sel kondroid klaster yang menunjukkan adanya kemampuan beradaptasi dan beregenerasi. Kemampuan ini ditunjukkan oleh ekspresi HSP70, CD68, dan Kolagen II. Sedangkan ekspresi *Caspase-3* dan Kolagen I menunjukkan sel kondroid menuju proses degenerasi. Adanya hubungan ekspresi *Caspase-3* dan CD68 menunjukkan keseimbangan adaptasi dan apoptosis.

**Kata kunci:** diskus intervertebral, sel kondroid, CD68, *Caspase3*, proses adaptasi.



**ABSTRACT****Sub cellular Changes in Chondroid Cells of Nucleus Pulposus in Degenerative Intervertebral Disc****Komang Agung Irianto S**

**Back ground:** Degenerated intervertebral disc (IVD) has always been considered as the major cause of low back pain. These were aberrant cell-mediated response to progressive structural failure, combined with accelerated or advanced signs of aging. Eighty percent of the population ever experiencing such back pain once in the life time. The pathogenesis itself is remained unclear; intriguing to find out the starting point where the disc structures started to decrease the ability to resist the load. While these notochord-origin chondroid IVD cells lessen into 1% of population and mostly were forming clusters. Understanding the sub cellular changes would guide the right management of degenerative disc disease.

**Objective:** the aim of this study is to show the sub cellular changes of chondroid cells in the degenerative disc.

**Method:** Fifty one discus specimens sampled from MED (Micro Endoscopic Discectomy) of Herniation Disc patients and two child discus specimens from scoliosis patients were looked into proportional of chondroid cell clustering. Immunohistochemistry evaluated for protein expressions of HSP70, CD68, Caspase-3, Collagen I and Collagen II. Data analyzed statistic with Paired t-test and Wilcoxon Sign Rank Test, and Pearson correlation test ( $p \leq 0.05$ ).

**Results:** Chondroid cell clustering was significantly higher than the single cells in degenerative disc. There was strong correlation of HSP70, CD68, Caspase-3, and Collagen II in chondroid cell cluster, but not for Collagen I. There was strong correlation of CD68 and Caspase-3 in cell cluster ( $p \leq 0,05$ ,  $r=0,734$ )

**Conclusion:** The subcellular changes in IVD cell clustering showed adaptation and regeneration process by the expression of HSP70, CD68, and persist Collagen II. The Caspase-3 and Collagen I expressions showed degeneration process. The strong correlation of CD68 and Caspase-3 expressed equilibrium of adapting and apoptotic process.

**Key words:** Intervertebralis Disc,, CD68, Caspase3, Adaptation