

KARYA AKHIR

*HISTON H3.3 (G34W) EXPRESSION
IN GIANT CELL TUMOR OF BONE*

EKSPRESI HISTON H3.3 (G34W)
PADA GIANT CELL TUMOR OF BONE

FUTRIANI

C107216205



PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp-1)
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI ANATOMI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022

**EKSPRESI HISTON H3.3 (G34W)
PADA GIANT CELL TUMOR OF BONE**

Karya Akhir

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Spesialis Patologi
Anatomi

Disusun dan diajukan oleh

FUTRIANI

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp-1)
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI ANATOMI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

KARYA AKHIR

EKSPRESI HISTON H3.3 (G34W) PADA GIANT CELL TUMOR OF BONE

Disusun dan diajukan oleh :

dr. Fitriani
C107216205

Telah dipertahankan di hadapan Panitia ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Ilmu Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 19 April 2022 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

dr. Upih A. Miskad, Ph.D, Sp.PA(K)
NIP. 19740330 200504 1 001

Pembimbing Pendamping

dr. Muhammad Phetrus Johan, Ph.D, Sp.OT(K)
NIP. 19821028 201404 1 001

Ketua Program Studi
Ilmu Patologi Anatomi

dr. Upih A. Miskad, Ph.D, Sp.PA(K)
NIP. 19740330 200501 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Hj. Haryani Ratih, M.Kes, Sp.PD(KGH), Sp.GK
NIP. 19680530 199603 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

NAMA : FUTRIANI

NIM : C107216205

PROGRAM STUDI : PPDS ILMU PATOLOGI ANATOMI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNHAS

Menyatakan dengan sebenarnya, bahwa Karya Akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan karya akhir ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 21 Juni 2022

Yang menyatakan,



Futriani

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah, senantiasa kami panjatkan kehadiran Allah SWT, atas berkah dan rahmat-Nya, sehingga karya akhir ini dapat diselesaikan dengan baik.

Penulisan karya akhir ini merupakan salah satu syarat penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu Ilmu Patologi Anatomi di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

Dalam penelitian dan penulisan karya akhir ini, penulis mendapat sangat banyak bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. **dr. Upik A. Miskad, PhD., Sp.PA (K)** sebagai pembimbing pertama dalam penelitian ini, atas segala bantuan, bimbingan, dan dorongannya dalam menyelesaikan penyusunan karya akhir ini.
2. **dr. Muhammad Phetrus Johan, Ph.D, Sp.OT(K)** sebagai pembimbing kedua dalam penelitian ini, yang membimbing dan mendorong penulis hingga penyusunan karya akhir dapat terselesaikan dengan baik.
3. **Dr.dr.Andi Alfian Zainuddin, MKM** sebagai pembimbing statistik dalam penelitian ini, yang membimbing dan membantu penulis dalam metodologi penelitian dan analisis statistik karya akhir ini.
4. Rektor dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, atas kesediaannya menerima penulis sebagai peserta didik pada Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu Ilmu Patologi Anatomi Universitas Hasanuddin Makassar.
5. Koordinator Program Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu Universitas Hasanuddin yang senantiasa memantau dan membantu kelancaran pendidikan penulis.
6. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia atas bantuan dana pendidikan melalui beasiswa Program Pendidikan Dokter Spesialis Berbasis Kompetensi sejak tahun 2017 sampai saat ini.

7. Seluruh staf pengajar di bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin tanpa terkecuali (khususnya **Prof. dr. Syarifuddin Wahid, Ph.D, SpPA(K), dr. Gunawan Arsyadi, SpPA(K), Prof. Dr. dr. Johanna M. Kandouw, SpPA(K), dr. Truly D. Djimahit, Sp.PA(K), dr. Cahyono Kaelan, Ph.D., SpPA(K), SpS., dr. Djumadi Achmad, Sp.PA(K), dr. Mahmud Ghaznawie, Ph.D., SpPA(K), dr. Ni Ketut Sungowati, SpPA(K), Dr. dr. Gatot S. Lawrence, SpPA(K), FESC., dr. Upik A. Miskad, Ph.D, SpPA(K), dan dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D, SpPA**) atas bimbingan selama penulis menjalani pendidikan maupun dalam penyusunan karya akhir ini.
8. Teman-teman sejawat residen Patologi Anatomi atas semua bantuan, dukungan, doa, dan persaudaraan yang diberikan selama penulis menjalani pendidikan hingga menyelesaikan karya akhir ini.
9. Seluruh teknisi dan pegawai laboratorium Rumah Sakit Universitas Hasanuddin, Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, Laboratorium Sentra Diagnostik Patologia Makassar, dan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.
10. Suami, **Sahabuddin**, anak-anak tercinta kami, **Ahmad Hisyam** dan **Aliyah Syakirah**, orang tua kami, beserta seluruh keluarga dan sahabat yang telah menjadi pemberi semangat terbesar bagi penulis selama menjalani pendidikan.
11. Semua pihak yang telah membantu penulis, yang tidak dapat disebutkan satupersatu.

Penulis berharap semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan Ilmu Patologi Anatomi di masa yang akan datang. Akhir kata, penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya atas segala khilaf mulai dari awal penelitian sampai akhir penulisan karya akhir ini.
Wassalamu Alaikum Wr.Wb,

Makassar, 21 Juni 2022

Futriani

ABSTRAK

Futriani, Upik A.Miskad, Muhammad Phetrus Johan, Andi Alfian Z, Djumadi Achmad, Ni Ketut Sungowati. *Ekspresi Histon H3.3 pada Giant Cell Tumor of Bone.*

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk Menilai ekspresi Histon H3.3 (G34W) pada Giant Cell Tumor of Bone.

Metode: Metode yang digunakan adalah studi observasi analitik dengan desain cross sectional. Spesimen diwarnai dengan prosedur imunohistokimia menggunakan antibodi monoklonal Histon H3.3 (G34W), kemudian kami mengevaluasi ekspresi imunohistokimia Histon H3.3 (G34W) berdasarkan intensitas warna.

Hasil: Hasil penelitian ini dianalisis dengan uji Chi-square dan uji Fisher, didapatkan nilai $p=0,183$ untuk ekspresi Histon H3.3 (G34W) pada GCTB, dan nilai $p= 0,001$ untuk ekspresi Histon H3.3 (G34W) pada Non-GCTB. Tidak terdapat perbedaan bermakna secara statistik kadar ekspresi Histon H3.3 (G34W) antara kelompok GCTB, serta terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok GCTB dan kelompok Non-GCTB ($p<0,05$).

Kesimpulan: Ekspresi Histon H3.3 (G34W) tidak memiliki perbedaan yang signifikan berdasarkan klasifikasi Giant Cell Tumor of Bone dan terdapat perbedaan bermakna ekspresi Histon H3.3 (G34W) berdasarkan Giant Cell Tumor of Bone dengan Non-GCTB.

Kata kunci: Giant cell tumor of bone (GCTB), Histon H3.3 (G34W), Non-GCTB

ABSTRACT

Futriani, Upik A.Miskad, Muhammad Phetrus Johan, Andi Alfian Z, Djumadi Achmad, Ni Ketut Sungowati. *Histon H3.3 Expression in Giant Cell Tumor of Bone.*

Objective: The purpose of this study is to determine the CD147 expression in the giant cell tumour of the bone (GCTB).

Methods: The method used is an analytical observation study with a cross sectional design. The specimens were stained by immunohistochemical procedure using CD147 mouse monoclonal antibody, then we evaluated the immunohistochemical expression of CD147 based on the stained area and colour intensity.

Results: The results of this study were analyzed by the Chi-square test and Fisher test, we obtained a value of $p=0,029$ for CD147 expression in recurrence GCTB, and a value of $p= 0,004$ for CD147 expression in GCTB with metastasis. There was a statistical significant difference level expression of CD147 between primary and recurrence groups, and also there was significant difference between primary and metastatic groups ($p<0,05$).

Conclusion: The expression of CD147 was correlated with risk of recurrence and metastatic, therefore CD147 could be an adequate marker for recurrence and metastatic potential of GCTB.

Keywords: Giant cell tumor of bone (GCTB), Histon H3.3 (G34W), Non-GCTB

DAFTAR ISI

SAMPUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I.....	1
I.1. Latar Belakang Masalah	1
I.2. Rumusan Masalah.....	4
I.3. Tujuan Penelitian	5
I.3.1. Tujuan Umum	5
I.3.2. Tujuan Khusus.....	5
I.4. Hipotesis	5
I.5. Manfaat Penelitian	5
BAB II.....	6
II.1 Anatomi dan Histologi	6
II.1.2 Perkembangan Tulang	10
II.1.3. Homeostasis dan Remodeling	11
II.2. Giant Cell Tumor of Bone.....	14
II.2.1. Definisi Giant Cell Tumor	14
II.2.2 Epidemiologi	14
II.2.3 Lokasi dan Gejala Klinik.....	15
II.2.4 Gambaran Radiologi	16
II.2.5 Makroskopik GCTB.....	17
II.2.6 Mikroskopik Giant Cell Tumor	18

II.2.7 Patogenesis GCTB	20
II.2.8 Rekurensi GCT	26
II.2.9 Potensi Metastatis	26
II.2.10 Malignant Giant Cell Tumor.....	27
II.2.11 Differential Diagnosis.....	27
II.2.12 Manajemen Giant-cell Tumor of bone	28
II. 3. HISTON H3.3 (G34W).....	29
II.3.1. Struktur	29
II. 3.2. Histon H3.3 (G34W) dan Giant Cell Tumor.	32
BAB III.....	38
KERANGKA KONSEP	38
BAB IV	39
IV.1. Desain Penelitian	39
IV.2. Tempat dan Waktu Penelitian	39
IV.3. Populasi Penelitian	39
IV.4. Sampel dan Cara Pengambilan Sampel	39
IV.5. Perkiraan Besar Sampel.....	40
IV.6. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	40
IV.6.1. Kriteria Inklusi.....	40
IV.6.2. Kriteria Eksklusi.....	41
IV.7. Cara Kerja.....	41
IV.7.1. Alokasi Subyek	41
IV.7.2. Prosedur Pewarnaan Hematoksilin-Eosin	41
IV.7.3. Prosedur Pewarnaan Imunohistokimia	43
IV.8. Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif	44
IV.8.1. Definisi Operasional.....	44
IV.8.2. Kriteria Obyektif.....	45
IV.9. Pengolahan dan Analisis Data.....	46
IV.10. Alur Penelitian	47
IV.11. Personalia Penelitian	47
BAB V	48

V.1. Hasil Penelitian	48
V.2. Pembahasan	57
BAB VI	65
VI.1 Kesimpulan	65
VI. 2 Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	66

DAFTAR TABEL

nomor		halaman
1.	Estimasi Insiden Giat Cell Tumor di beberapa Negara	15
2.	Distribusi Sampel Berdasarkan Karakteristik Demografi	48
3.	Distribusi Sampel Berdasarkan Lokasi	59
4.	Distribusi Sampel Berdasarkan Klasifikasi GCTB	60
5.	Ekspresi Histon H3.3 (G34W pada GCTB	63
6.	Ekspresi Histon H3.3 (G34W pada GCTB Benign dan GCTB Malignant	64
7.	Intensitas Warna pada GCTB	64
8.	Ekspresi Histon H3.3 (G34W pada GCTB dan Non-GCTB	65

DAFTAR GAMBAR

Nomor	halaman
1. Antomi Tulang Panjang	7
2. Komponen Seluler Tulang	9
3. Matriks Tulang	10
4. Mekanisme Molekuler Parakrin yang mengulasi Pembentukan Dan Fungsi Osteoklas	13
5. Foto X-Ray Giant Cell Tumor pada Distal Femur	16
6. Makroskopik Giant Cell Tumor	17
7. Karakteristik Patologi GCT	20
8. Pembentukan Multinucleated Giant Cells (MGCs)	21
9. Patofisiologi Giant Cell Tumor of Bone	24
10. Diagram Patogenesis Molekul dan Biologi Tumor	25
11. Nukleosom	31
12. Struktur Bagian Ekor Histone H3.3	35
13. Hipotesis Pembentukan dan Absorpsi Tulang di GCTB	35
14. Intenitas Pewarnaan Histon H3.3 (G34W)	61
15. Tumor non-GCTB	62

DAFTAR SINGKATAN

1. GCTB : Giat Cell Tumor of Bone
2. GCT : Giat Cell Tumor
3. G34W : Glycine 34 to-Tryptophan
4. H3F3A : Histon 3 Family member 3A
5. H3F3B : Histon 3 Family member 3B
6. DNA : Deoxyribonucleic acid
7. H.E. : Hematoksilin Eosin
8. BMP : Bone Morphogenic Protein
9. BMU : Bone Multiseluler Unit
10. RANK : Reseptor Transmembran NF- κ B
11. RANKL : Reseptor Transmembran NF- κ B Ligan
12. OPS : Osteoprotegerin
13. M-CSF : Macrophage Colony Stimulating Factor
14. CD68 : Cluster of Differentiation 68
15. ABC : Aneurysma bone cyst
16. MGCs : Multinucleated Giant Cells
17. SDF-1 : Stromal-derived factor 1
18. MCP-1 : Monocyte chemotactic protein-1
19. VEGFR1 : Vascular Endothelial Growth Factor Reseptor-1
20. VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor
21. TNF : Tumor Necrosis Factor

22. TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α
23. GCTSC : Giant Cell Tumor Stromal Cell
24. mRNA : messenger Ribonucleic acid
25. PTHrP : Parathyroid Hormone-related Protein
26. TGF- β 1 : Transforming Growth Factor-Beta 1
27. TGF- β : Transforming Growth Factor-Beta
28. MMP-2 : Matrix Metallo Proteinase-2
29. MMP-9 : Matrix Metallo Proteinase-9
30. IFN - γ : Interferon- γ
31. IFN - α : Interferon- α
32. IL-1 : Interleukin-1
33. CD14- : Cluster of Differentiation 14-
34. CD34+ : Cluster of Differentiation 34+
35. TP53 : Tumor Protein 53
36. HRAS : Harvey Rat Sarcoma
37. MFH : Malignant Fibrous Histiocytoma
38. PTM : Pasca Translasi Modifikasi
39. HMTs : Histone Methyl Transferase
40. HAT : Histone Acetyl Transferase
41. HDACs : Histone Deacetylases
42. G34R : Glycine 34 to-Arginine
43. ATRX : Alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked
44. K36 : Lysine 36

- 45. G34 : Glycine 34
- 46. SETD2 : SET Domain Containing 2
- 47. OPG : Osteoprotegerin
- 48. HRP : Horseradish Peroxidase
- 49. DAB : Diaminobenzidine

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: Data Sampel

Lampiran 2: Persetujuan Etik

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang Masalah.

Giant cell tumor of bone (GCTB) merupakan tumor jinak yang jarang ditemukan tetapi bersifat agresif secara lokal dan cenderung berkembang menjadi lokal rekuren, dapat bertransformasi maligna dan bermetastasis ke paru (Cheng et al., 2015; Noh & Park, 2018)

Kasus GCT pertama kali dilaporkan oleh Cooper pada abad ke-18. Meskipun jinak, tetapi secara lokal dapat bersifat agresif dan cenderung untuk mendestruksi tulang, rekuren lokal, dan mempunyai kemampuan untuk bermetastasis. Prevalensi kejadian GCTB sekitar 5% dari semua tumor tulang primer dan sekitar 20% dari tumor jinak pada tulang. (Rosenberg, 2019; Sobti et al., 2016)

GCTB sering ditemukan di Asia Timur dan Asia Tenggara dengan insiden kejadian sekitar 20% dibandingkan di Negara Barat sekitar 4-5%, khususnya di Cina dengan prevalensi yang cukup tinggi yaitu sekitar 20% dari seluruh tumor tulang primer. (David & Fajar, 2006; Siddiqui et al., 2014; Zheng et al., 2001)

Kejadian GCTB terutama terjadi pada usia antara 20-40 tahun dan lebih sering pada perempuan dibanding laki-laki. Sekitar 5% kasus terjadi pada dewasa muda. GCTB sering terjadi pada area epifisis ekstremitas tulang panjang dan dapat meluas ke metafisis, menerobos korteks,

menginvasi septa intramuskular bahkan meluas sampai ke sendi. (Cheng et al., 2015; He et al., 2017)

Penanganan utama pada GCTB adalah dengan reseksi luas dan kuret intralesi. Reseksi luas menunjukkan tingkat rekurensi yang rendah (0-12%) bila dibandingkan dengan kuretase intralesi yang menunjukkan tingkat rekurensi tinggi (12-67%). (He et al., 2017)

Meskipun istilah "Giant Cell Tumor" dan "osteoclastoma" dapat menyiratkan bahwa giant cell bertanggung jawab ataupun yang berkemampuan menjadi komponen neoplasma, terdapat bukti bahwa sel-sel seperti stroma, komponen utama dari populasi sel mononuklear, merupakan komponen neoplastik yang sebenarnya. Diagnosis dan manajemen terapi GCT konvensional merupakan hal yang menarik untuk dikaji. (Yamamoto et al., 2020; Zheng et al., 2001) (Unni. K, 2010)

Disebutkan dalam berbagai referensi bahwa terjadinya GCT rekuren dipengaruhi oleh banyak faktor, dari segi tindakan operasi, lokalisasi, gambaran radiologi, ukuran tumor, namun menentukan hubungan selular dan molekuler GCT terhadap rekurensi saat ini menjadi hal yang menarik untuk diperbincangkan karena dengan mengetahui lebih awal kemungkinan terjadinya rekurensi dan metastasis, sehingga dapat menentukan terapi yang tepat. (He et al., 2017)

Analisis profil ekspresi penting untuk memahami biologi tumor dan menemukan pola biomarker tumor yang terkait dengan rekurensi lokal. Hal ini memungkinkan identifikasi awal pasien dengan risiko tinggi dan

untuk mempertimbangkan rejimen pengobatannya lebih tepat. (Conti et al., 2011)

Kebanyakan dari kasus GCTB dihubungkan dengan mutasi gen H3F3A, khususnya p.G34W. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa >90% kasus GCTB terkait mutasi gen H3F3A. (Amary et al., 2017; Yoshida et al., 2019)

Histon H3.3 merupakan protein pada manusia yang dikodekan oleh gen H3F3A dan H3F3B yang memainkan peranan penting dalam menjaga integritas genom selama perkembangan manusia. Histon merupakan protein seluler yang bertanggung jawab untuk penyimpanan, organisasi dan aksestabilitas DNA pada inti.

Mutasi H3F3A ini merupakan molekul penanda yang spesifik untuk GCTB dan membedakan dengan tumor tulang jenis lain termasuk keganasan pada tulang. Mutasi ini hanya ditemukan pada sel stroma GCTB dan tidak terdapat pada sel osteoklast. (Behjati et al., 2013; Lübbehüsen et al., 2019)

Berdasarkan data di Makassar dari RS Wahidin Sudirohusodo, RS Universitas Hasanuddin, dan Sentra Diagnostik Patologia Makassar, didapatkan kasus Giant Cell Tumor dari tahun 2016 hingga 2020 sebanyak 48 kasus.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui ekspresi Histon H3.3 pada giant cell tumor. Behjati et al., 2013 mendapatkan hasil Histon H3.3 terwarnai pada inti sel stroma mononuklear. Dari 53 sampel GCTB, ekspresi H3.3 terwarnai lebih kuat pada 49 sampel. Ogura et al., 2017 melaporkan 96% kasus GCTB terkait mutasi gen H3F3A. Amary et al., 2017 melaporkan mutasi H3F3A (H3.3) yang melibatkan substitusi glisin 34 pada 96% GCTB.

Dengan mempertimbangkan hasil-hasil penelitian tentang adanya hubungan H3.3 dengan GCT, maka kami bermaksud untuk melakukan penelitian mengenai Histon H3.3 pada Giant Cell Tumor dengan menggunakan sampel Makassar. Penelitian ekspresi H3.3 pada Giant Cell Tumor di Makassar bahkan di Indonesia hingga saat ini belum pernah dilakukan, dengan demikian penelitian ini diharapkan dapat memberi data ilmiah maupun aplikasi klinis dalam penatalaksanaan giant cell tumor yang lebih baik ke depan.

I.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah tersebut, maka dapat dirumuskan suatu pertanyaan penelitian sebagai berikut:

Bagaimanakah ekspresi Histon H3.3 (G34W) pada Giant Cell Tumor of Bone.

I.3. Tujuan Penelitian

I.3.1. Tujuan Umum

Menilai ekspresi Histon H3.3 (G34W) pada Giant Cell Tumor of Bone.

I.3.2. Tujuan Khusus

1. Menentukan diagnosis Giant Cell Tumor of Bone dan lesi Non-GCTB berdasarkan pewarnaan H.E.
2. Menentukan ekspresi Histon H3.3 (G34W) pada Giant Cell Tumor of Bone.
3. Menentukan ekspresi Histon H3.3 (G34W) pada lesi Non-GCTB.
4. Membandingkan ekspresi Histon H3.3 (G34W) pada Giant Cell Tumor of Bone dan lesi Non-GCTB.

I.4. Hipotesis

1. Terdapat ekspresi positif dengan pewarnaan Histon H3.3 (G34W) pada Giant Cell Tumor of Bone.
2. Pewarnaan Histon H3.3 (G34W) tidak terekspresi/ ekspresi negatif pada Non-GCTB.

I.5. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk:

1. Memberi data ilmiah maupun aplikasi klinis dalam penatalaksanaan giant cell tumor yang lebih baik ke depan.
2. Memberikan kontribusi dalam menentukan akurasi diagnosis dalam penanganan pasien Giant Cell Tumor of Bone.
3. Dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Anatomi dan Histologi

Tulang merupakan jaringan ikat sebagai unsur pokok yang membentuk rangka manusia, sebagai tumpuan otot untuk kontraksi, berperan dalam memberikan dukungan biomekanik yang memungkinkan terjadinya gerakan, haematopoiesis dan homeostasis kalsium, dan juga melindungi organ dalam. (Gordon. J et al., 2017)

Tulang terdiri dari 4 klasifikasi yaitu:

1. Tulang panjang. Berfungsi sebagai pengungkit atau pengangkat beban. Terdapat pada tulang anggota gerak atas dan bawah.
2. Tulang pendek. Bentuk kuboidal. Contohnya pada tulang pergelangan tangan dan kaki.
3. Tulang pipih. Permukaan tulang ini luas dan biasanya berfungsi untuk melindungi organ dan tempat melekatnya otot. Contohnya tulang cranial, tulang bahu, tulang iga.
4. Tulang tidak beraturan. Bentuk, ukuran dan permukaan tulang ini bervariasi. Contohnya tulang belakang, sacrum, nasal.

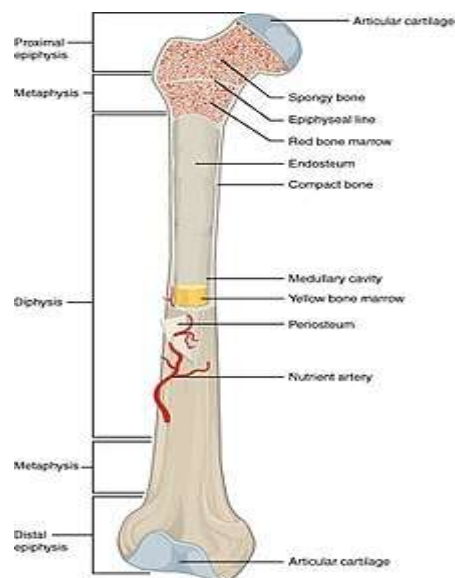
Jaringan tulang memiliki 2 komponen utama yaitu tulang muda (woven bone) dan tulang dewasa (lamellar bone). Kedua komponen tulang ini sama tetapi tulang muda memiliki serabut kolagen yang tersusun secara acak, sedang tulang sekunder tersusun secara teratur.

1. Jaringan tulang muda (Woven bone).

Jaringan tulang ini berupa anyaman sehingga disebut sebagai woven bone. Merupakan komponen muda yang tersusun dari serat kolagen yang tidak teratur pada osteoid. Tulang ini terbentuk pada saat osteoblast membentuk osteoid secara cepat seperti pada pembentukan tulang bayi dan pada tulang dewasa ketika terjadi pembentukan susunan tulang baru akibat keadaan patologis.

2. Tulang dewasa (Lamellar bone).

Disebut sebagai lamellar bone karena jaringan tulang ini terdiri dari ikatan parallel kolagen yang tersusun dalam lembaran-lembaran lamella yang sejajar satu sama lain dan melingkari konsentris saluran ditengahnya yang disebut kanalis havers.



Gambar 1. Anatomi Tulang Panjang (Biga., 2017)

Komponen selular dari tulang terdiri dari osteogenic precursor cell, osteoblas, osteoklas, osteosit, dan elemen hematopoietik dari sumsum tulang. Osteogenic precursor cell terdapat pada periosteum dan endosteum. Periosteum merupakan jaringan ikat yang menutupi tulang, kecuali pada permukaan persendian, yang terdiri atas lapisan luar dan lapisan dalam. Lapisan luar terdiri dari jaringan ikat padat yang iregular sedangkan lapisan dalam disebut juga osteogenic layer terdiri dari sel-sel osteogenic. Pada endosteum hanya terdapat selapis sel osteogenic dan tidak mengandung komponen jaringan ikat (Kalfas, 2001).

1. Osteoprogenitor.

Osteoprogenitor adalah sel punca yang belum berdiferensiasi dan berasal dari mesenkim jaringan ikat. Sel ini terletak di lapisan dalam jaringan ikat, periosteum, dan lapisan endosteum yang melapisi rongga sumsum, osteon serta kanalis perforans pada tulang. Fungsi utama periosteum dan endosteum adalah untuk memberikan nutrisi bagi tulang serta sebagai pemasok osteoblas baru untuk pertumbuhan dan perbaikan tulang. Sel-sel ini dapat mengalami proliferasi dengan mitosis dan memiliki potensi untuk berdiferensiasi menjadi osteoblast. (Mescher, 2011)

2. Osteoblast.

Osteoblast berasal dari osteoprogenitor dan berkembang dibawah pengaruh bone morphogenic protein (BMP). Osteoblast terlihat sangat jelas dibawah lapisan osteoid dimana tulang baru terbentuk.

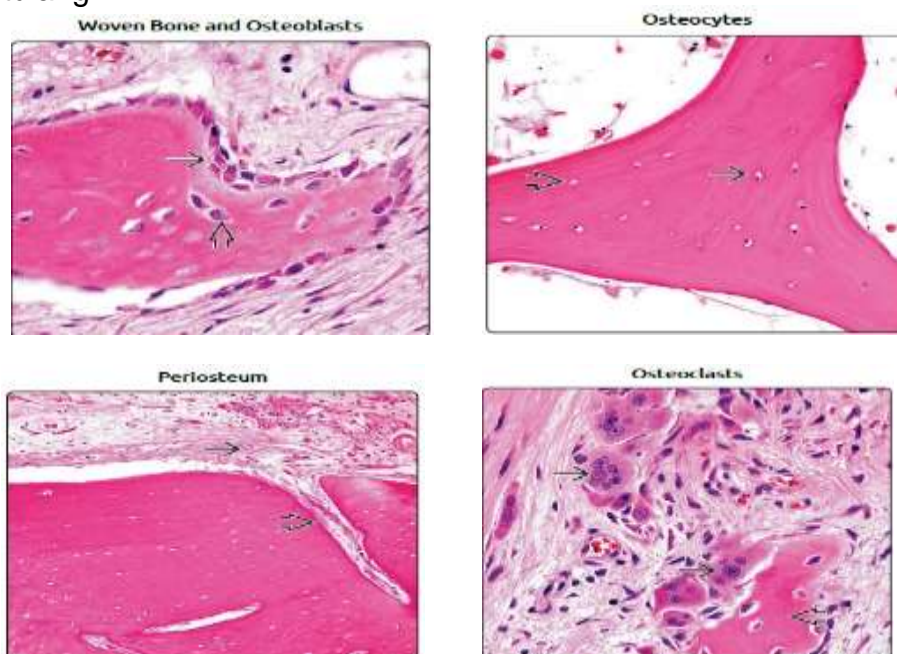
Osteoblast bertanggung jawab mensintesis protein organik dari tulang.

3. Osteosit.

Osteosit merupakan sel tulang matur dan sel utama pada tulang yang berperan dalam mengatur metabolisme. Osteosit berasal dari osteoblast yang berdiferensiasi dan terdapat didalam lacuna yang terletak diantara lamel-lamel matriks pada saat pembentukan lapisan permukaan tulang terbentuk.

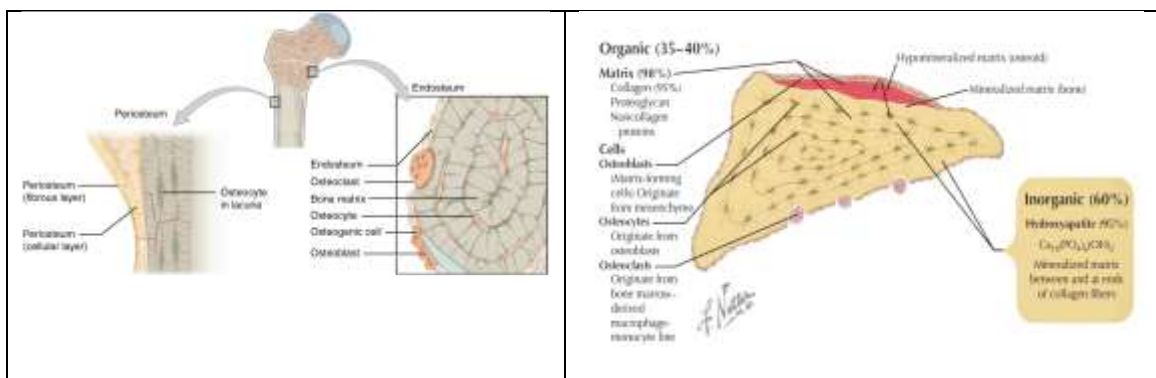
4. Osteoklas.

Osteoklas merupakan fusi dari beberapa monosit sehingga bersifat multinukleus. Osteoklas memiliki progenitor yang berbeda dari sel tulang lainnya karena tidak berasal dari sel mesenkim, melainkan dari jaringan myeloid yaitu monosit atau makrofag pada sumsum tulang.



Gambar 2: Komponen seluler tulang (Horvai. A, 2020)

Matriks tulang adalah komponen ekstraseluler tulang, terdiri dari komponen organik yang dikenal sebagai osteoid (35%) dan komponen inorganik yaitu mineral (65%). Komponen organik memungkinkan tulang menahan tegangan/regangan, sedangkan komponen mineral menahan tekanan. Komponen organik utama matriks tulang merupakan serat kolagen tipe I yang merupakan protein dominan. Komponen inorganik matriks tulang terdiri atas mineral, kalsium dan fosfat dalam bentuk kristal hidroksiapatit. (Eroschenko, 2014)



Gambar 3. Matriks Tulang (Thompson et al., 2012)

II.1.2 Perkembangan Tulang

Selama embriogenesis, kerangka terbuat dari tulang rawan yang secara bertahap mengalami proses ossifikasi. Ossifikasi merupakan proses pembentukan tulang baru dari sel osteoblast. Osteoblast dan matriks tulang merupakan dua elemen yang paling penting yang terlibat dalam pembentukan tulang. Proses ini terdiri dari ossifikasi intramembranosa dan ossifikasi endokondral. (Biga., 2017)

1. Ossifikasi intramembranous merupakan proses pembentukan tulang dari jaringan mesenkim menjadi jaringan tulang. Jaringan mesenkim berdifferentiasi menjadi osteoblast, kemudian osteoblast mensekresi matriks organik membentuk osteoid dan mengalami kalsifikasi. Osteoid membentuk tulang spongius dan berkondensasi menjadi periosteum.

Ossifikasi ini umumnya membentuk tulang pipih dan juga membantu pertumbuhan tulang pendek dan penebalan tulang panjang.

2. Ossifikasi endokondral merupakan proses pembentukan tulang dimana sel mesenkim berdifferentiasi menjadi kartilago kemudian menjadi jaringan tulang. Proses ossifikasi ini bertanggung jawab pada pemanjangan tulang dan pembentukan sebagian besar tulang manusia. Pada proses ini osteoblas aktif membelah dan muncul dibagian tengah dari tulang rawan yang disebut pusat ossifikasi. Osteoblast selanjutnya menjadi osteosit yang tertanam pada matriks tulang.

(Mescher, 2011)

II.1.3. Homeostasis dan Remodeling

Tulang merupakan struktur dinamis yang secara terus menerus diperbarui atau mengalami remodeling sebagai respon terhadap kebutuhan mineral tubuh, stres mekanis, penipisan akibat usia atau penyakit atau penyembuhan pada fraktur. Kalsium dan fosfat disimpan

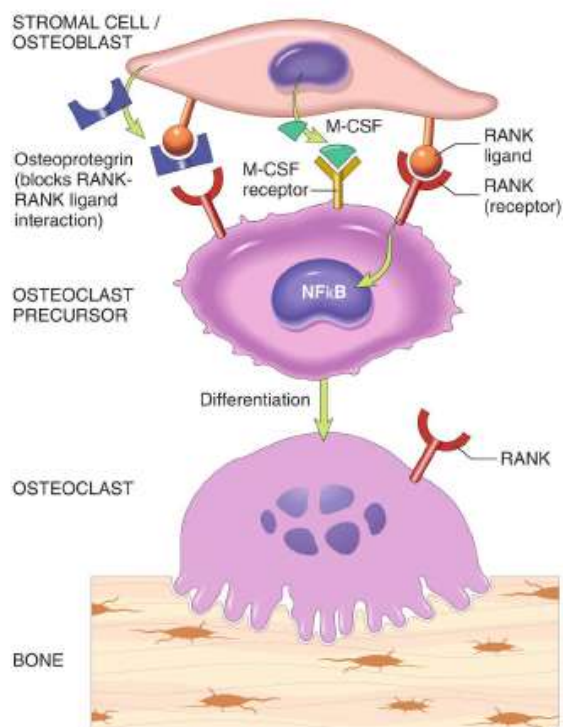
pada matriks tulang atau dibebaskan ke dalam darah untuk mempertahankan kadar yang sesuai. (Biga.,2017)

Hormon mengatur pelepasan kalsium ke dalam darah dan pengendapannya di tulang. Jika kadar kalsium dibawah normal, hormone paratiroid akan meningkatkan jumlah dan aktivitas osteoklast dengan merangsang osteoblast untuk memproduksi *osteoclast stimulating factor* yang memicu peningkatan penguraian matriks tulang oleh osteoklast dan pelepasan kalsium. (Biga., 2017)

Sekitar 10% dari kerangka itu diganti setiap tahun. Proses ini dapat memperbaiki kerusakan mikro atau mengubah bentuk tulang sebagai respons terhadap struktural dan tuntutan mekanis. Renovasi berlangsung secara mikroskopis dikenal sebagai unit multiseluler tulang (BMU), yang terdiri dari satu unit osteoblas yang berpasangan dan aktivitas osteoklas pada permukaan tulang. Urutan yang teratur dari perlekatan osteoklas, resorpsi, perlekatan osteoblast dan proliferasi dan akhirnya, sintesis matriks berlangsung di BMU. (Biga.,2017)

Kejadian di unit multiseluler tulang diatur oleh interaksi sel-sel dan sitokin. Mekanisme kontrol tidak diketahui sepenuhnya, tetapi beberapa jalur pensinyalan yang sangat penting telah muncul. Salah satu jalur tersebut melibatkan tiga faktor: (1) reseptor transmembran RANK (aktivator reseptor untuk NF- κ B), yang diekspresikan pada prekursor osteoklas; (2) Ligan RANK, (RANKL) yang diekspresikan pada osteoblast dan sel-sel stroma sumsum; dan (3) osteoprotegerin (OPG), reseptor

"umpan" yang dibuat oleh osteoblas dan beberapa jenis sel lain yang dapat mengikat RANKL dan karenanya mencegah interaksinya dengan RANK. Ketika dirangsang oleh pensinyalan RANKL, RANK mengaktifkan faktor transkripsi NF- κ B, yang penting untuk generasi dan kelangsungan hidup osteoklas. Jalur penting kedua melibatkan faktor stimulasi koloni monosit (M-CSF) diproduksi oleh osteoblas. Aktivasi reseptor M-CSF pada prekursor osteoklas merangsang kaskade kinase tirosin yang juga penting untuk generasi osteoklas. (Kumar V, 2015)



Gambar 4. Mekanisme molekular parakrin yang meregulasi pembentukan dan fungsi osteoklas. Osteoklas berasal dari sel mononuclear yang sama yang berdiferensiasi menjadi makrofag. Membran osteoblast/sel stromal berhubungan dengan ikatan RANKL dengan reseptornya berlokasi pada permukaan sel prekursor osteoklas. Interaksi ini dengan bantuan macrophage colony-stimulating

factor (M-CSF) menyebabkan sel prekursor untuk menghasilkan osteoklas fungsional. Sel stromal juga mensekresikan osteoprotegerin (OPG), yang bertindak sebagai reseptor "decoy" untuk RANKL, mencegah ikatannya dengan reseptor RANK pada precursor osteoklas. OPG mencegah resorpsi tulang dengan menghambat diferensiasi osteoklas. (Kumar V, 2015)

II.2. Giant Cell Tumor of Bone

II.2.1. Definisi Giant Cell Tumor

Giant cell tumor of bone (GCTB) merupakan tumor jinak pada tulang yang sangat jarang terjadi. Dinamakan GCT karena gambaran histologinya didominasi oleh tipe osteoklast berinti banyak yang juga disebut dengan osteoklastoma. (Zheng et al., 2001)

GCTB merupakan tumor yang jarang ditemukan, jinak, tetapi agresif secara lokal. Tumor ini ditandai dengan adanya dua populasi sel yaitu osteoclast-like giant cell dan mononuclear stromal sel yang merupakan komponen neoplastik yang sebenarnya. (Cheng et al., 2015; Lujic et al., 2016)

II.2.2 Epidemiologi

GCTB merupakan tumor tulang yang mewakili sekitar 4-5% dari semua tumor tulang primer dan biasanya ditemukan antara usia 20 sampai 40 tahun dan sedikit lebih banyak mengenai perempuan. (Cheng et al., 2015)

Kejadian Giant cell tumor pada tulang (GCTB) masih meragukan. Banyak negara termasuk Amerika Serikat, tidak memiliki data nasional sebagai laporan epidemiologi tumor jinak pada tulang. Suatu penelitian

melaporkan hasil penelitian yang memperoleh estimasi kejadian GCT.

(Tabel 1). (Liede et al., 2018)

TABLE II Registry-Based Approach Used to Estimate Giant Cell Tumor (GCT) of Bone Incidence and Incidence Rates in 2017

Country	2017 Population	GCT Incidence	GCT Incidence Rate per Million
China	1,409,517,397	2,094*	1.49*
Japan	127,484,451	160	1.25
US	324,459,468	447	1.38

Tabel 1. Estimasi insiden Giant Cell Tumor di beberapa Negara

II.2.3 Lokasi dan Gejala Klinik

Giant cell tumor paling sering ditemukan pada ujung tulang panjang (epifisis), dapat meluas ke area metafisis, menembus korteks, menginvasi septa intermuskular bahkan sampai ke rongga sendi. Sekitar 46,2% terjadi di sekitar sendi lutut dimana distal femur menjadi lokasi lesi tersering. Tumor ini dapat berlokasi pada hampir semua tulang baik tulang panjang maupun tulang pendek dan sering melibatkan sendi. (Unni K, 2010)

Gejala klinik tidak begitu spesifik pada tumor ini dan nyeri dengan tingkatan yang bervariasi merupakan gejala paling sering yang dikeluhkan pada GCTB. Lebih dari tiga perempat pasien mengalami pembengkakan pada lokasi lesi. Keterbatasan pergerakan dan fraktur patologis merupakan penanda yang tidak umum. (Unni K, 2010; Dorfman, 2016; Georgiev, 2014)

II.2.4 Gambaran Radiologi

Pemeriksaan radiologi merupakan hal yang paling penting dan merupakan pemeriksaan penunjang yang kuat dalam mendiagnosa GCTB adalah dengan melihat lokasi dari lesi. Umumnya, tumor ini terletak pada ujung tulang panjang orang dewasa, yaitu pada distal femur dan diikuti proksimal tibia. Gambaran khas GCTB yaitu adanya lesi lusen tanpa disertai kalsifikasi. Pada tumor yang bersifat indolen dan statis, tepi lesi tampak baik, tanpa adanya perubahan sklerosis. Pada kasus agresif, batas tumor tampak buruk dan korteks menipis, bergelembung atau rusak dengan perluasan ke jaringan lunak, reaksi periosteal biasanya tidak tampak. (Unni K,2010; Georgiev, 2014)



Gambar 5: Foto X-Ray Giant cell tumor pada distal femur posisi anteroposterior dan lateral (Dorfman, 2016)

Pada pemeriksaan CT-Scan, GCTB tampak sebagai lesi litik ekspansil yang disertai dengan penipisan pada korteks, dengan densitas jaringan lunak, tanpa adanya matriks terkalsifikasi disertai sklerotik pada bagian tepi. Pada MRI, GCTB umumnya tampak sebagai lesi hipointense atau isointens. (Aurora.,2019)

II.2.5 Makroskopik GCTB

Tumor tampak berbatas tegas dengan ukuran yang sangat bervariasi. Penampang irisan tampak soft dengan warna kecoklatan hingga coklat kemerahan, sering disertai area perdarahan, terdapat fokus nekrotik dan area yang mengalami perubahan kistik. Kadang-kadang tumor berwarna putih dan fleshy yang mirip dengan gambaran sarcoma. (Flanagan et al., 2015)



Gambar 6: Makroskopik Giant Cell Tumor dengan massa destruktif berwarna coklat kemerahan pada bagian distal femur. Area kistik mewakili komponen sekunder pada aneurisma bone cyst. (Dorfman., 2016)

II.2.6 Mikroskopik Giant Cell Tumor

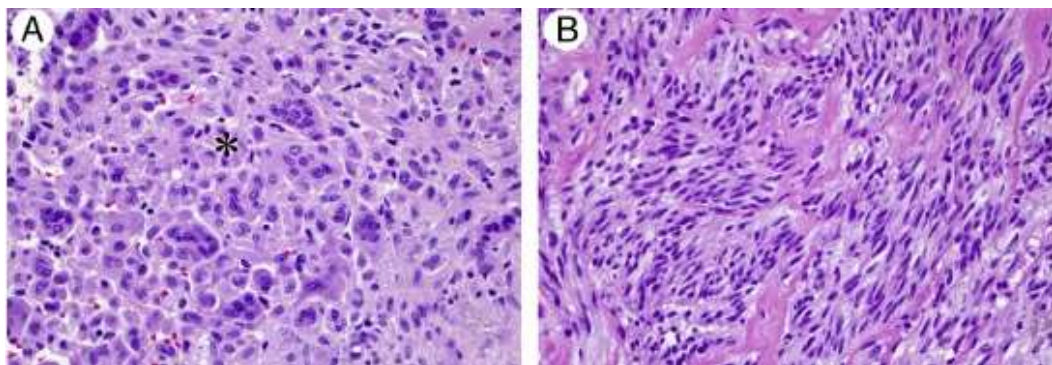
GCTB secara histologis terdiri dari tiga komponen sel, yaitu sel-sel bulat histiositik mononuclear menyerupai makrofag, sel-sel berinti banyak menyerupai osteoklast dan sel-sel neoplastik stromal mononuklear menyerupai fibroblast.

1. Sel histiositik mononuclear, tidak bertahan lama dalam kultur dan mengekspresikan penanda monosit macrophage, seperti antigen CD68. Sel-sel yang menyerupai makrofag ini dihitung 30% dari total populasi sel pada GCT. Gambaran ultrastruktural sel mononuclear bulat menyerupai makrofag. (Conti et al., 2011; Noh & Park, 2018; Zheng et al., 2001)
2. Multinucleated giant cell menyerupai osteoklas, sel-sel ini mengekspresikan reseptor kalsitonin, karbonat anhidrase 11 tartrate-resistant acid phosphatase, antigen CD dan mampu meresorpsi tulang in vitro. Sel multinucleated ini, meskipun dapat dideteksi pada kultur awal, menghilang setelah tahap pertama. Multinucleated giant cells secara morfologi menyerupai osteoklas, mengandung banyak inti kebanyakan dengan bentuk oval. Sel ini banyak mengandung mitokondria, *lysosome-like bodies* yang jelas, and vakuol besar pada sitoplasma. (Conti et al., 2011; Noh & Park, 2018; Zheng et al., 2001)
3. Sel stroma neoplastik merupakan sel spindle mononuklear menyerupai fibroblast yang merupakan komponen utama GCTB

yaitu populasi utama sel yang berproliferasi dan menghasilkan lebih banyak sitokin dan sebagai penanda differensiasi. Sel-sel ini secara fenotip menyerupai jaringan ikat stroma, tidak mengekspresikan antigen permukaan makrofag, menghasilkan kolagen tipe 1 dan memiliki reseptor hormon paratiroid. Selain itu, sel-sel ini menampilkan penyimpangan sitogenetik termasuk fusi telomerik, aneuploidi dan penghapusan kromosom. Sel tumor berbentuk spindle mononuclear menyerupai sel fibroblastik pada level ultrastruktural. Sel ini memperlihatkan kromatin inti yang menggumpal sedangkan sitoplasma mengandung retikulum endoplasmik prominent, free ribosom, dan mitokondria dengan bentuk irregular. Serat kolagen sering terlihat di sekitar sel ini. (Noh & Park, 2018; Zheng et al., 2001)

Inti stroma dan multinucleate giant cells terlihat sama. Inti pada multinucleated giant cell bervariasi dalam ukuran dan jumlah, tetapi biasanya memiliki lebih dari 20 inti, kadang mencapai ratusan. Populasi sel stromal aktif bermitosis, tetapi tidak terlihat gambaran mitosis yang abnormal maupun atipik. Tulang reaktif dapat terbentuk, sering pada bagian perifer dari lesi, namun tidak ditemukan produksi matriks kondroid oleh sel neoplastik. Perubahan reaktif sekunder yang sering didapatkan pada GCTB termasuk perdarahan, nekrosis, pembentukan ABC sekunder, reactive fibrosis dan inflamasi xanthogranulomatous. (Zheng et al., 2001)

Multinucleated giant cells yang terlihat dalam pembuluh darah mungkin bukan merupakan hasil dari invasi vaskular, tetapi akibat pembentukan in situ osteoklas oleh penggabungan monosit dari darah yang diaktifkan sel-sel tumor. Pola pembuluh darah pada GCT terdiri dari banyak pembuluh darah yang baru dilapisi oleh sel-sel endotel. Pola ini menjelaskan seringnya terjadi perdarahan yang banyak yang diamati pada GCT, dengan endositosis pigmen darah dalam sel mononuklear. (Zheng et al., 2001)

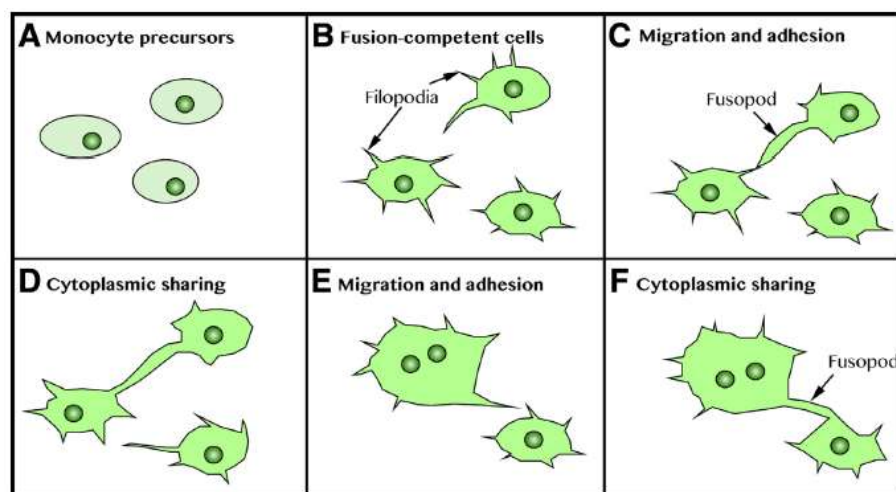


Gambar 7. Karakteristik patologi GCT.A, Mononuclear macrophage-like round cell (merupakan monosit yang direkrut, asterisk) dan reactive multinucleated osteoclast-like giant cells. B, Sel stromal spindel menyerupai fibroblast mononuclear yang merupakan sel neoplastik. (Noh & Park, 2018)

II.2.7 Patogenesis GCTB

Identifikasi molekul yang terlibat dalam pembentukan MGC dari berbagai monosit dan makrofag prekursor dapat membantu menentukan peran sel-sel ini di penyakit terkait MGC, menjelaskan patogenesisnya, dan berfungsi sebagai target farmakologis potensial. Memang, molekulnya

dan proses yang terlibat dalam pembentukan MGC sekarang sedang didefinisikan. Secara umum diakui bahwa untuk semua jenis sel yang mengalami fusi (misalnya, myoblas, trofoblas, dan monosit), tiga tahap fusi terlibat, yaitu pengembangan kompetensi fusi; migrasi; diikuti oleh adhesi antar sel dan berbagi sitoplasma.



Gambar 8. A and B. Pembentukan multinucleated giant cells (MGCs) mulai dari sel precursor monosit (A) yang terjadi penggabungan melalui adanya sitokin protusogenik dan memperluas proyeksi filopodial kaya aktin (B). C: Sel bermigrasi satu sama lain, dan adhesi terjadi melalui proyeksi filopodia atau fusopods; pada sisi lain, fusogen memungkinkan perkiraan membran plasma. D: Removal intervensi membran memungkinkan sitoplasma-sharing dan pembentukan sel dengan dua inti. E dan F: Sel bermigrasi dan melekat kembali (E), diikuti dengan sitoplasma-sharing untuk membentuk MGC. (Brooks, Glogover and Mc Culloch, 2019).

Sel-sel stroma dianggap mengatur rekrutmen sel monosit dan untuk merangsang terbentuknya multinucleated giant cell (osteoclastomas). Petunjuk yang diperoleh dari penelitian menguatkan bahwa sel-sel stroma mononuklear adalah konstituen neoplastik nyata adalah sebagai berikut: sel stroma mononuklear (1) adalah komponen GCTB yang lebih dominan, (2) memiliki lebih banyak potensi proliferasi,

(3) memiliki lebih banyak perubahan genetik, dan (4) mengekspresikan sitokin penting dan penanda diferensiasi yang lebih penting dari multinucleated giant cells. Sel stromal menghasilkan SDF-1 dan MCP-1, yang merekrut CD68-positive monocytes dan menstimulasi migrasi ke jaringan tumor. Monosit yang direkrut bergabung untuk membentuk giant cell tumor. (Kim et al., 2012)

Kompartemen stromal juga terbukti menghasilkan VEGF, yang dapat berfungsi untuk menarik sel CD68 dan mengekspresikan VEGFR1. Produksi VEGF oleh sel stromal GCT merupakan kemungkinan alasan tumor ini hipervaskular, dan perdarahan intratumoral juga dapat terjadi. RANKL disekresikan oleh sel stromal yang menyerupai osteoblas immature membantu dalam perekrutan prekursor monosit dan juga dalam pembentukan sel multinukleated seperti osteoklas. Setelah rekrutmen, prekursor monosit diinduksi untuk mengekspresikan RANK melalui Macrophage-Colony-Stimulating Factor (M-CSF) yang dikeluarkan oleh stromal. Monosit yang direkrut juga mengalami proliferasi dan diferensiasi sebagai respon terhadap M-CSF. (Kim et al., 2012)

RANKL dan M-CSF merupakan sitokin yang dibutuhkan dalam osteoklastogenesis normal. RANKL adalah anggota keluarga TNF, dan diekspresikan oleh banyak tipe sel termasuk sel stroma. Banyak penelitian yang mengkonfirmasi bahwa RANKL diekspresikan di GCTSC dalam level yang tinggi. RANKL menyebabkan fusi sel monosit yang direkrut

membentuk multinucleated giant cells yang merupakan ciri penyakit ini. (Kim et al., 2012)

GCT kaya akan sitokin dan kemokin, yaitu sitokin dengan kemoatraktif. Peran GCTSC menginisiasi rekrutmen monosit dan bergabung menjadi giant cell menjadi lebih jelas. mRNA analisis GCTSC menggambarkan pengkodean banyak sitokin dan kemokin osteoklastogenik seperti interleukin (IL) -6, IL-11, IL-17 serta protein yang terkait hormone paratiroid (PTHrP) dan transforming growth factor-beta (TGF- β). TGF- β 1 umumnya diproduksi oleh tulang dan dikenal sebagai agen kemotaktik kuat untuk monosit dan makrofag. TGF- β , disimpan dalam bentuk laten selama osteogenesis, secara proteolitik dibelah dan diaktifkan oleh matrix metalloproteinase (MMP) -2 dan MMP-9 untuk memainkan peran penting dalam migrasi multinucleated giant cells. (Kim et al., 2012; Noh & Park, 2018)

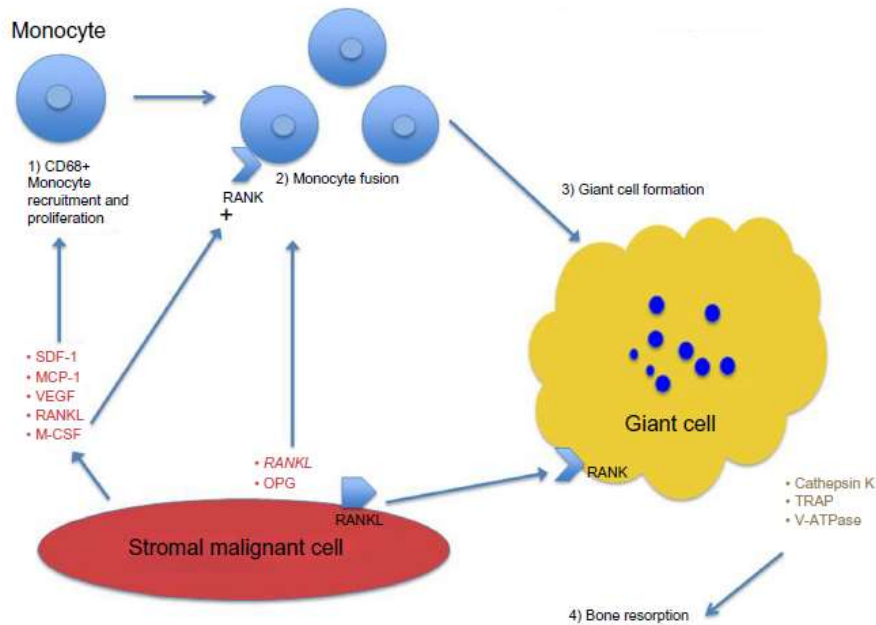
Reseptor TGF- β tipe II telah terbukti diekspresikan dalam sel GCT menyerupai osteoklas, dengan demikian sel-sel stromal berperan dalam penggabungan multinucleated giant-cells. TGF- β juga berperan dalam mengekspresikan sitokin lain yang ditemukan dalam GCT seperti tumor necrosis factor (TNF) - α , interferon (IFN) - γ , dan IL-1 sejak TGF- β telah terbukti meningkatkan regulasi sitokin ini di sel lain. (Kim et al., 2012)

Ekspresi IL-1 oleh sel-sel osteoklastik GCT berfungsi untuk peningkatan aktivitas MMP-9, yang merupakan enzim resorptif matriks tulang osteoklas. Selanjutnya, IL-1 terkait dengan aktivitas metastasis

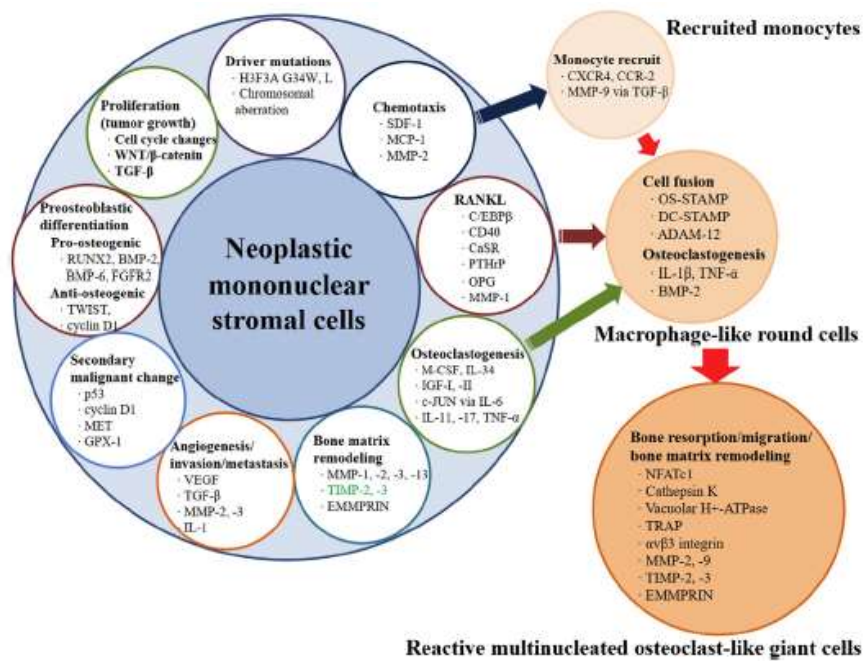
GCT sejak IL-1 ditemukan telah berkorelasi dengan peningkatan vaskular dan invasi paru-paru). Aktivitas osteolitik yang agresif secara lokal oleh giant cell lebih lanjut dijelaskan oleh ekspresi matriks metaloproteinase lainnya seperti kolagenase tipe IV (MMP-2). (Kim et al., 2012)

Ekspresi berlebihan IL-6 pada GCT merupakan satu faktor yang terlibat dalam pembentukan multinucleated giant cells. Karena overekspresi ini, c-Jun diaktifkan dalam GCTSC yang mengarah pada penghambatan diferensiasi osteoblastik dari sel stromal dan peningkatan onkogenesis GCT dengan bertindak sebagai proto-onkogen. IL-6 terlibat dalam regulasi aktivitas resorptif tulang oleh giant-cell pada GCT dan lesi giant-cell lainnya.

Rekrutmen monosit dan prekursor osteoklas oleh GCTSC diperkuat oleh migrasi monosit CD14-, makrofag CD68 +, dan hematopoietik CD34 + stem cell ke media yang dikondisikan GCT, yang mengandung kemotaktik dari SDF-1. (Kim et al., 2012; Noh & Park, 2018)



Gambar 9. Patofisiologi giant-cell tumor of bone. (Singh., 2015)



Gambar 10. Diagram singkat patogenesis molekuler dan biologi tumor di GCTB. (Hijau, down-regulation; hitam, up-regulation). (Noh & Park, 2018)

II.2.8 Rekurensi GCT

Terjadinya rekurensi pada GCTB sering muncul pada pasien yang mendapat penanganan pembedahan yang dilakukan dengan kuretase intralesi ataupun dengan eksisi luas. Pasien dengan penanganan kuretase intralesi memiliki tingkat rekurensi yang lebih tinggi dibandingkan pasien yang mendapat penanganan dengan eksisi luas. Kuretase diperkirakan sekitar 25-35% mengalami rekuren sehingga merupakan masalah manajemen yang signifikan. (Chen et al., 2014; Zheng et al., 2001)(He et al., 2017)

II.2.9 Potensi Metastatis

Meskipun GCT diklasifikasikan sebagai jinak dan jarang metastasis tetapi GCT menunjukkan kemungkinan metastasis saat rekuren. Sekitar 3% dari kasus GCT telah dilaporkan bermetastasis ke paru. Kemungkinan lain namun sangat jarang metastasis untuk GCT adalah di jaringan payudara. Tumor yang bermetastasis merupakan tantangan dalam pengobatan karena dapat muncul di lokasi yang tidak dapat dilakukan pembedahan dan memiliki tingkat kekambuhan yang lebih tinggi. Berdasarkan review longitudinal, rekurensi lokal pada GCT yang bermetastasis ditemukan mendekati 63%. Ini menunjukkan bahwa bentuk tumor yang bermetastasis mungkin lebih agresif. (Conti et al., 2011; Kim et al., 2012; Noh & Park, 2018; Siddiqui et al., 2014)

II.2.10 Malignant Giant Cell Tumor.

Transformasi menjadi keganasan terjadi pada <10% dari semua GCT, dengan predominasi sedikit lebih banyak pada perempuan. Pasien dengan keganasan di GCT pada umumnya sekitar satu dekade lebih tua dari pasien dengan GCT konvensional. Mekanisme transformasi malignan pada GCTB belum diketahui. Mutasi TP53 dan HRAS telah diidentifikasi pada GCTB yang tidak terkait dengan radiasi. (Cristina et al., WHO 2020)

Perubahan sarkomatous biasanya diyakini terjadi pada GCT yang sudah ada sebelumnya, sering pada pasien yang telah mendapatkan terapi radiasi sebelumnya. Secara histologis, perubahan sarkomatosa pada GCT ditandai oleh identifikasi jaringan sarkoma yang terkait dengan GCT konvensional. Identifikasi area GCT konvensional penting untuk diagnosis ini, untuk menghindari kebingungan dengan malignansi lain yang juga banyak mengandung giant cell. Sarkoma itu diidentifikasi berdasarkan adanya mitosis atipikal dan anaplasia sitologi pada komponen sel spindle mononuklear. (Cheng et al., 2015; Zheng et al., 2001)

II.2.11 Differential Diagnosis

GCT dapat dibingungkan dengan lesi tulang lainnya, baik itu reaktif maupun neoplastik yang mengandung multinucleated giant cell dalam jumlah banyak.

Ada sejumlah proses reaktif yang mungkin mengandung sejumlah besar multinucleated giant cell, dan sejumlah neoplasma tulang jinak dan ganas yang kaya akan giant cell. Diagnosis banding GCT dapat mencakup beragam proses seperti giant cell reparative granuloma, hiperparatiroidisme, non-ossifying fibroma, chondroblastoma, area solid pada ABC, dan lesi maligna seperti Malignant Fibrous Histiocytoma (MFH) dan osteogenic sarcoma. Korelasi yang baik diperlukan antara pemeriksaan mikroskopik, pemeriksaan radiologi dan klinis untuk menghindari kesalahan diagnosis. (Zheng et al., 2001)

II.2.12 Manajemen Giant-cell Tumor of bone

Intervensi pembedahan merupakan penanganan primer pada GCTB. Tindakan pembedahan dilakukan berdasarkan stadium dan lokasi tumor. Pembedahan dapat berupa tindakan kuretase yang kemudian dapat dilanjutkan dengan bone graft dan atau dengan bone cement, eksisi luas dan amputasi. Amputasi dilakukan bila terdapat kesulitan mendapatkan daerah bebas tumor. Rekurensi pasca tindakan paling banyak disebabkan oleh kuretase sehingga dianjurkan untuk melanjutkan dengan kauterisasi termal.

Untuk mengurangi kejadian kekambuhan pada pasien, multiple terapi adjuvant telah diusulkan dan diterapkan pada pengobatan GCT. Hidrogen peroksida telah terbukti mempengaruhi sel GCT di vitro dan dalam studi pasien. (Klenke et al., 2011)

Terapi radiasi dilakukan pada pasien dimana lesi tidak dapat dengan sepenuhnya dieksisi atau yang berlokasi pada vertebra dan pelvis, di mana pembedahan akan menjadi beresiko, radiasi digunakan sebagai pilihan. Namun, radiasi tidak terlalu digunakan, karena kemungkinan pengembangan sarkoma terkait radiasi. Kemoterapi dan IFN α juga telah digunakan untuk mengobati GCTB. Selain adjuvant dari bahan kimia, obat-obatan yang mempunyai aktivitas spesifik di tingkat molekuler telah terbukti memiliki aktivitas anti-GCT. Obat-obatan molekuler ini termasuk Denosumab dan bifosfonat. Beberapa penelitian telah mengungkap persamaan sel GCT dengan osteoklas tulang. (David & Fajar, 2006; Kim et al., 2012)

II. 3. HISTON H3.3 (G34W)

II.3.1. Struktur

Histon adalah bahan penyusun kromatin, yang berperan terutama dalam pemadatan DNA di dalam inti sel eukariotik. Protein histon bertindak untuk mengemas dan mengatur DNA ke dalam struktur yang disebut nukleosom sehingga cocok dengan inti sel. Empat histon kanonik utama (H2A, H2B, H3, dan H4) merupakan oktamer, yang dikelilingi oleh sekitar 146 bp DNA. Kompleks DNA-oktamer histon ini menyusun nukleosom, unit dasar kromatin. Ciri umum dari empat protein histon utama adalah adanya domain inti terstruktur dalam kontak dekat dengan DNA dan ekor tidak terstruktur. Ekor histon merupakan bagian penting dari modifikasi kromatin dimana banyak enzim berkontribusi pada

berbagai modifikasi pasca-translasi (PTM), seperti asetilasi, metilasi, fosforilasi, dan ubiquitination. (Trovato et al., 2020; Yamamoto et al., 2020)

1. Metilasi

Histon adalah modifikasi asam amino tertentu dalam protein histon dengan penambahan gugus metil. Ini menyebabkan represi atau aktivasi transkripsi, tergantung pada situs target. Histone methyltransferases (HMTs) mengontrol atau mengatur metilasi DNA melalui represi atau aktivasi transkripsi yang bergantung pada kromatin. Metilasi dan demetilasi histon mengaktifkan dan menonaktifkan gen dalam DNA.

2. Fosforilasi

Fosforilasi histon telah terlibat dalam berbagai proses seperti transkripsi, perbaikan DNA, progresi siklus sel dan apoptosis, dan kondensasi kromosom. Fungsi fosforilasi histon yang paling terkenal terjadi selama respons seluler terhadap kerusakan DNA.

Fosforilasi histon H3 diketahui memainkan peran penting dalam transkripsi dan kondensasi kromosom selama mitosis.

3. Asetilasi Histon

Asetilasi histon dipicu oleh penambahan enzimatik dari gugus asetil (COCH₃) dari asetil koenzim A. Proses asetilasi histon terkait erat dalam regulasi proses seluler, termasuk dinamika dan transkripsi kromatin, pembungkaman gen, perkembangan siklus sel,

apoptosis, diferensiasi, replikasi DNA, perbaikan DNA, impor nuklear, dan represi saraf. Tetapi fungsi asetilasi histon yang paling umum dikaitkan dengan struktur kromatin terbuka. Hal ini membuat kromatin dapat diakses oleh faktor transkripsi dan dapat meningkatkan ekspresi gen secara signifikan.

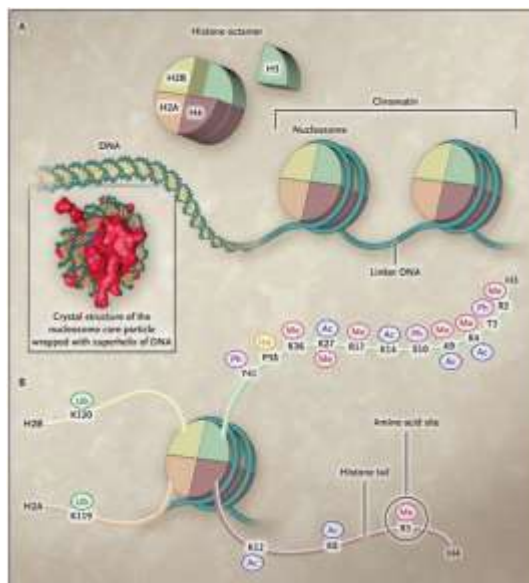
Histone acetyltransferases (HAT) dan deacetylases (HDACs) adalah enzim yang bertanggung jawab untuk menulis dan menghapus asetilasi ekor histon. Residu lisin dalam histon H3 dan H4 merupakan target preferensial untuk kompleks HAT.

4. Histone ubiquitination

Histone ubiquitination, salah satu modifikasi histone pasca-transkripsi, telah ditemukan selama lebih dari tiga dekade. Karena histon adalah protein yang paling melimpah, keberadaannya di mana-mana memainkan peran penting dalam banyak proses di nukleus, yang melibatkan transkripsi, pemeliharaan struktur kromatin, dan perbaikan DNA.

Jumlah varian H3 berbeda antar spesies, tetapi dua subkelompok utama diidentifikasi sebagai varian yang bergantung pada replikasi dan tidak bergantung pada replikasi. Pada manusia dan tikus, H3.1 dan H3.2 adalah sub tipe kanonik. Jumlah proteinnya mencapai puncaknya pada fase S dan disimpan ke dalam kromatin digabungkan dengan replikasi DNA, dan dengan demikian disebut sebagai histon yang bergantung pada replikasi. (Trovato et al., 2020, Yamamoto et al., 2019)

Ketika histon bermutasi, mereka dapat mempertahankan fungsi penting dalam nukleosom sekaligus mendapatkan fungsi baru dan merusak dengan pengaruh langsung pada ekspresi gen dan integritas kromatin. (Lim et al., 2017)



Gambar 11. Nukleosom. Unit dasar fungsional kromatin adalah nukleosom (Panel A), tersusun atas oktamer histon dikelilingi DNA. Oktamer dipisahkan oleh DNA linker. Oktamer histon dibentuk oleh histon tetramer H3:H4 dan dua dimer H2A: H2B. Ekor histon terdiri dari empat histon inti yang dipengaruhi oleh modifikasi post-translasi (Panel B). Hal ini meliputi metilasi (Me), asetilasi (Ac), fosforilasi (Ph), ubiquilasi (Ub) dan isomerisasi prolin (Iso), yang terjadi pada tempat asam amino yang spesifik, seperti K4 dan K9 pada ekor histon H3. Asam amino histon yang sama juga mengalami modifikasi post translasi yang berbeda.

II. 3.2. Histon H3.3 (G34W) dan Giant Cell Tumor.

GCTB adalah neoplasma lokal agresif yang menyumbang 20% dari tumor tulang jinak. Tumor ini terdiri dari tiga kompartemen utama: giant cell menyerupai osteoklas berinti banyak, monosit mirip makrofag, dan sel stroma. Meskipun penyebab utama morbiditas di GCT adalah resorpsi tulang oleh osteoklas yang berasal dari monosit, komponen neoplastik

sebenarnya dibentuk oleh sel-sel kompartemen stroma mesenkim, yang mengandung mutasi somatik heterozigot H3F3A, salah satu dari dua gen yang mengkode histone 3 varian H3.3. (Trovato et al., 2020; Yamamoto et al., 2020)

Mutasi H3.3 di GCTB hampir secara eksklusif mengarah ke substitusi G34W (H3.3G34W), sedangkan di glioma adalah substitusi G34R / V (H3.3G34R / V). Mengapa otak dan tulang adalah satu-satunya organ di mana mutasi H3.3 terjadi tampaknya masih belum diketahui. (Lim et al., 2017)

Mutasi ini menyebabkan substitusi glisin 34 menjadi triptofan atau lebih jarang ke leusin (G34W / L, > 92% kasus). Berbeda dengan H3.3 glycine 34 dengan substitusi arginine atau valine (H3.3 G34R / V) yang timbul pada tumor otak dan terjadi bersamaan dengan mutasi TP53 dan ATRX, mutasi H3.3 G34W / L satu-satunya perubahan molekuler berulang di GCT, yang berpotensi mendorong penyakit tulang yang merusak. Sedangkan kejadian mutasi H3.3 G34W / L hampir menyeluruh di GCT (92%) kuat menunjukkan peran kausal, bagaimana kejadian tumorigenesis di tulang masih belum diketahui. Bahkan proses seluler yang menghasilkan perekrutan giant cell masih harus dilakukan dijelaskan.

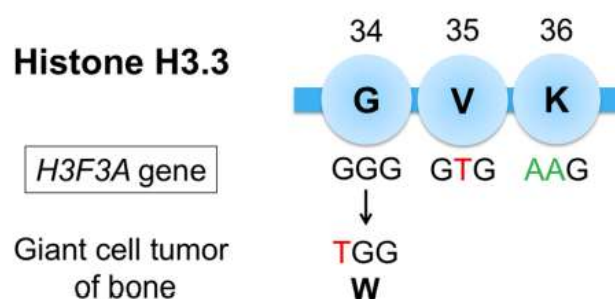
Histone H3.3 termasuk dalam kelas varian yang tidak bergantung pada replikasi. H3.3 diekspresikan di seluruh siklus sel dan mendominasi

kumpulan H3 dalam sel pasca-replikatif. H3.3 dikodekan oleh dua gen konvensional dan independen (yaitu, *H3F3A* dan *H3F3B*) yang terletak pada kromosom berbeda dimana *H3F3A* terletak pada kromosom 1 dan *H3F3B* terletak pada kromosom 17. Analisis terbaru yang bertujuan untuk mengklarifikasi fungsi dan evolusi dari dua gen penyandi H3.3 dalam metazoa menunjukkan bahwa *H3F3B* lebih menyerupai bentuk progenitor dari H3.3, sedangkan *H3F3A* dapat muncul kemudian dalam evolusi, mungkin karena peristiwa duplikasi. Keberadaan dua gen pengkode H3.3 independen tampaknya memungkinkan ekspresi gen H3.3 yang disetel dengan baik dalam program seluler yang berbeda. (Cleven et al., 2015)

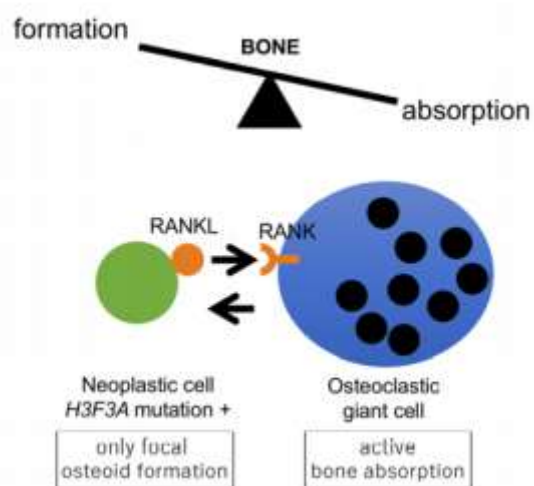
Kehadiran mutan H3.3 G34 dapat mempengaruhi kromatin secara lokal di salah satu daerah genom, yang berkontribusi pada tumorigenesis.

Mutasi G34 pada GCT tidak mempengaruhi asam amino yang merupakan target langsung untuk modifikasi histon. Namun glisin pada posisi 34 berada di dekat lokasi modifikasi pasca translasi lisin 27 dan lisin 36. Lisin 27 ditemukan dalam heterokromatin sebagai penanda represi, sedangkan lisin 36 mengalami metilasi selama pemanjangan transkripsi dan sering dikaitkan dengan aktivasi gen. H3.3 menandai eukromatin aktif, tetapi juga merupakan varian H3 utama dalam perisentromerik diam dan telomerik heterokromatin. Meskipun mutasi H3.3G34 terjadi pada residu yang tidak mengalami PTM, mereka mempengaruhi residu K36 yang berdekatan. Mutasi G34 menghapuskan metiltransferase SETD2 transfer gugus metil pada H3.3K36 menyebabkan penurunan H3.3K36me3 dan potensi

peningkatan timbal balik H3.3K27me3 di mutan ekor H3.3. Oleh karena itu, mutasi membentuk kembali epigenome dengan mengubah pola metilasi lokal melalui efek dominan/negatif, dan karenanya memainkan peran penggerak onkogenik dalam sel stroma yang bermutasi. Akibatnya perubahan genetik dan epigenetik ini menyebabkan sel stroma menampilkan beberapa fitur biokimia yang khas. Yang paling mencolok adalah ekspresi berlebih dari RANKL, ligan dari aktivator reseptor faktor nuklir kappa B (RANK). RANKL diekspresikan dalam tingkat fisiologis oleh sel stroma mesenkim baik yang terikat membran maupun yang disekresikan, dan pengikatan ke RANK pada permukaan prekursor osteoklas penting untuk pembentukan dan aktivitas osteoklast. Mutan H3.3 G34W menunjukkan penurunan regulasi OPG yang konsisten dengan gen OPG (*TNFRSF11B*) menjadi target dari faktor transkripsi E2F, sedangkan gen RANK dan RANKL tidak. Ketidakseimbangan RANKL / OPG ini memicu pembentukan osteoklas dan potensi litik GCT. (Scotto et al., 2020)



Gambar 12: Struktur bagian dari ekor histone H3.3, sesuai Gen H3F3A dan titik mutasi di GCTB. (Yamamoto et al., 2020)



Gambar 13: Hipotesis pembentukan dan absorpsi tulang di GCTB. Dalam GCTB konvensional, penyerapan tulang oleh sel raksasa osteoklastik diaktifkan, sedangkan pembentukan tulang oleh sel neoplastik yang bermutasi H3F3A sangat terbatas. (Yamamoto et al., 2020)

KERANGKA TEORI

