

Peran Mutasi Histon 3.3 G34W pada *Giant Cell Tumor of Bone* (GCTB)

Maria Hilda, Evelina, Maria
Angela Putri Maharani
Departemen Patologi
Anatomik, Fakultas
Kedokteran, Universitas
Indonesia
Rumah Sakit Dr. Cipto
Mangunkusumo
Jakarta

Penulis korespondensi: dr. Evelina,
Sp.P.A., Subsp. M.S(K)
Departemen Patologi Anatomi,
Fakultas Kedokteran, Universitas
Indonesia
Rumah Sakit Dr. Cipto
Mangunkusumo
Jl. Salemba Raya No. 6, Jakarta
e-mail: elina_1610@yahoo.com,
drmhildat17@gmail.com

ABSTRAK

Giant cell tumor of bone (GCTB) merupakan neoplasma tulang yang bersifat lokal agresif, sering rekuren, dapat bermetastasis, dan kadang mengalami transformasi menjadi neoplasma ganas. Secara histologi, GCTB konvensional terdiri dari tiga jenis sel, yaitu sel stroma mononukleus dengan fenotip prekursor osteoblastik, sel histiositik mononukleus, dan *osteoclast-like multinucleated giant cell*. Sel-sel ini berinteraksi satu sama lainnya melalui aksis RANK-RANKL. Secara genetik, GCTB ditandai dengan mutasi somatik berulang pada posisi G34 gen H3F3A yang mengkode varian histon H3.3 pada sel stroma sehingga menyebabkan deregulasi ekspresi gen dan meningkatkan proliferasi dari sel-sel yang mengalami mutasi. Pemeriksaan imunohistokimia H3.3 G34W merupakan penanda yang sensitif dan spesifik untuk mendeteksi mutasi H3F3A p.G34W pada GCTB dan juga berguna untuk menyingkirkan diagnosis banding GCTB.

Kata kunci: *Giant cell tumor of bone* (GCTB), aksis RANK-RANKL, mutasi H3F3A, imunohistokimia H3.3 G34W

PENDAHULUAN

Giant cell tumor of bone (GCTB) merupakan neoplasma tulang primer dengan angka kejadian 5% dari seluruh tumor tulang primer.^{1,2} Tumor ini bersifat lokal destruktif, memiliki kecenderungan untuk rekuren, dan kemampuan untuk bermetastasis ke paru.²

Beberapa tumor tulang lain mempunyai gambaran histologik yang mirip dengan GCTB seperti pada kondroblastoma, *brown tumor* pada hiperparatiroidisme, *giant cell-rich osteosarcoma*, dan *nonossifying fibroma*, sehingga ada kalanya dibutuhkan pemeriksaan tambahan untuk membantu menegakkan diagnosis.¹

Studi akhir-akhir ini menemukan adanya mutasi *driver* histon H3.3 dan pada 90% kasus GCTB ditemukan mutasi pada H3F3A yang umumnya terjadi perubahan asam amino glisin 34 menjadi triptofan (G34W).^{2,3} Mutasi ini terjadi pada sel stroma neoplastik dari GCTB.³

Perubahan genetik dan epigenetik ini berdampak pada sel stroma tumor yang mengekspresikan RANKL (*ligand of receptor activator of nuclear factor kappa B*) secara berlebihan serta terjadi penurunan regulasi osteoprotegerin (OPG). Hal tersebut mengakibatkan terjadinya ketidakseimbangan RANKL/OPG yang memicu pembentukan osteoklas berlebihan sehingga menyebabkan terjadinya resorpsi tulang.¹

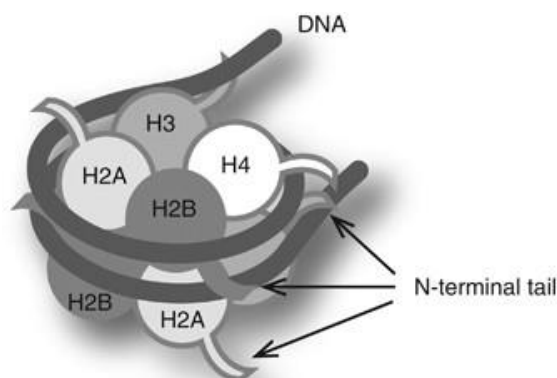
Pemeriksaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal yang ditujukan terhadap mutasi titik H3 Gly34Trp (G34W) memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi.⁴ Adanya penemuan antibodi baru yang dapat mendeteksi mutasi spesifik telah menyebabkan perubahan yang signifikan pada modalitas diagnostik untuk kasus-kasus tumor tulang.^{4,5}

Penulisan tinjauan pustaka ini bertujuan untuk mengetahui dan mempelajari peran mutasi histon H3.3 G34W pada *giant cell tumor of bone* (GCTB).

HISTON H3.3

Histon adalah protein inti yang mempertahankan struktur nukleosom dari kromatin pada organisme eukariotik. Setiap kromosom mengandung molekul panjang DNA, yang harus memadat ke dalam inti sel. Untuk mencapainya, DNA membungkus sekelompok protein histon, memberikan kromosom bentuk yang lebih ringkas. Histon juga mengaktifkan proses seluler yang terjadi pada DNA. Proses ini termasuk transkripsi, DNA *repair*, replikasi DNA dan kondensasi kromatin. Fungsi histon diatur oleh setidaknya delapan kovalen modifikasi pasca-translasi termasuk asetilasi, fosforilasi dan metilasi. Cara lain di mana nukleosom dikendalikan adalah dengan penggabungan protein varian histon ke dalam hetero-oktamer kompleks.⁴

Sebagai elemen dasar kromatin, nukleosom terdiri atas delapan protein histon sebagai inti (masing-masing dua H2A, H2B, H3, dan H4) yang dikelilingi oleh DNA (Gambar 1).^{6,7} Histon hetero-oktamer terdiri dari kompleks tetramer H3–H4 yang diapit oleh dua dimer H2A–H2B.⁴ H3 adalah salah satu dari empat protein histon inti yang membentuk histon hetero-oktamer, di sekelilingnya terdapat lebih kurang 147 pasangan basa DNA yang membentuk nukleosom.⁴



Gambar 1. Struktur skematik nukleosom. Nukleosom terdiri atas dua salinan setiap histon inti (H2A, H2B, H3 dan H4). N-terminal dari setiap histon keluar dari nukleosom.⁷

Protein H3.3 terdiri atas 136 urutan asam amino dengan berat molekul 15,328 kDa. Struktur histon inti sebagian besar berbentuk bulat dan bagian ekor N-terminal yang tidak terstruktur.⁴ Histon H3.3 ditandai oleh dua gen yang terletak pada lokus berbeda, yaitu H3F3A

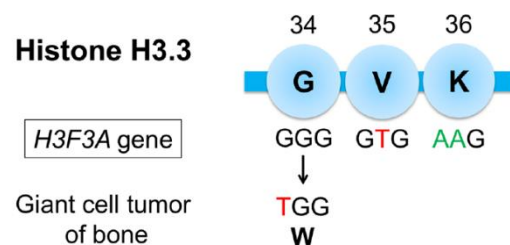
pada kromosom 1 dan H3F3B pada kromosom 17.⁶ H3F3A terletak pada kromosom 1q42.12 dan terdiri atas tujuh ekson. Sementara itu, H3F3B terletak pada kromosom 17q25.1 dan terdiri atas empat ekson. Kedua gen mengandung intron dan mRNA-nya bersifat poliadenilasi, tidak seperti gen yang mengkode protein histon H3.1 dan H3.2 kanonik.⁴

Varian histon H3.3 berbeda dengan protein H3 kanonik (H3.1 dan H3.2), inkorporasi histon H3.3 pada kromatin tidak bergantung pada siklus sel (terjadi sepanjang siklus sel) dan dimediasi oleh kompleks pendamping *histone regulator A* (HIRA) dan *death-associated protein* (DAXX)/ α -thalassemia X-linked mental retardation protein (ATRX). H3.3 diperkaya di wilayah genom yang menunjukkan transkripsi aktif, daerah perisentromerik dan telomer.⁴

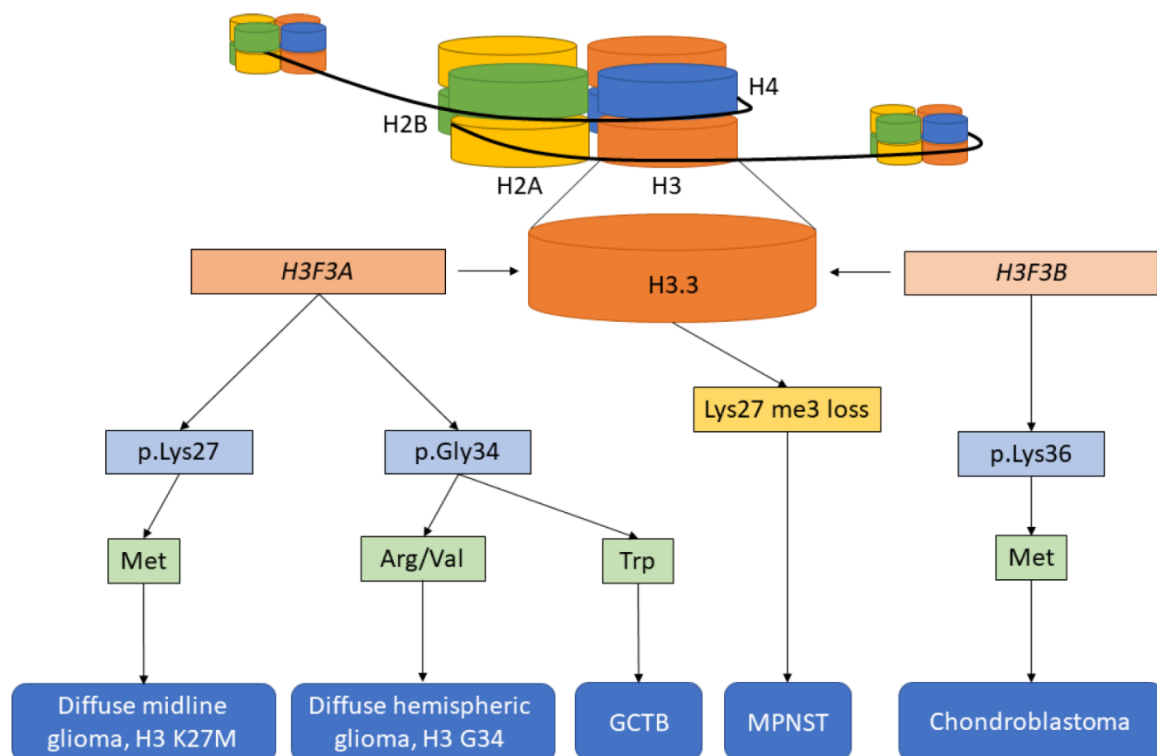
Mutasi Histon H3.3 dan Implikasi Diagnosisnya

Ekor N-terminal dari protein histon dapat dimodifikasi oleh enzim modifikasi histon, termasuk asetiltransferase untuk asetilasi dan metiltransferase untuk metilasi. Modifikasi histon mempunyai peran penting dalam regulasi epigenetik dari ekspresi gen.⁶

Ditemukan semakin banyak bukti bahwa mutasi pada gen H3F3A dan H3F3B terjadi pada berbagai macam tumor, mulai dari tumor tulang yang bersifat lokal agresif hingga tumor otak yang sangat agresif.⁴ Sekitar 90% GCTB memiliki mutasi H3F3A p.G34W (Gambar 2), dan sebagian kecil (<2%) memiliki mutasi H3F3A p.G34L, p.G34M, p.G34R, atau p.G34V. Mutasi gen histon H3.3 juga ditemukan pada beberapa neoplasma lain seperti p.K27M dan p.G34R/V pada pediatrik glioma, dan p.K36M pada kondroblastoma (Gambar 3).⁶



Gambar 2. Struktur salah satu bagian dari ekor histon H3.3, gen H3F3A dan *mutation hot spots* yang sesuai dengan GCTB⁶



Gambar 3. Gen H3F3A and H3F3B mengkode protein H3.3 yang identik. Mutasi titik pada residu asam amino utama berbagai tumor. Gambar di atas memperlihatkan mutasi titik yang paling umum terjadi dan tumor terkait.⁴

Tabel 1. Tumor yang berhubungan dengan penyimpangan H3.3⁴

	Mutasi	Gen	Immunohistokimia
Chondroblastoma	p.Lys36Met	H3F3B (95%) H3F3A (5%)	H3 K36M
Giant cell tumour of bone	p.Gly34Trp	H3F3A	H3 G34W
Diffuse midline glioma, H3 k27-altered		H3F3A HIST1H3B/C	H3 K27M
Diffuse hemispheric glioma, H3 G34-mutant	p.Gly34Arg/Vsl	H3F3A	H3 G34R/V
Malignant peripheral nerve sheath tumour	Loss of trimethylation	EED SUZ12	H3K27me3 (loss)

Mutasi Somatik Gen H3F3A pada *Giant Cell Tumor of Bone* (GCTB)

Mutasi H3F3A telah diidentifikasi pada lebih dari 90% kasus GCTB dan hampir selalu berkaitan dengan pergantian glisin pada posisi 34 dari protein histon H3.3 menjadi triptofan (G34W). Mutasi lain yang jarang ditemukan adalah substitusi glisin menjadi leusin (G34L), substitusi glisin menjadi arginin (G34R), substitusi glisin menjadi valin (G34V), dan substitusi glisin menjadi metionin (G34M). Selain itu, sel-sel yang mengalami mutasi ini juga masih mempertahankan sifat sel induk sehingga mempunyai kemampuan untuk membentuk koloni.¹

Mutasi G34 pada GCTB tidak mempengaruhi asam amino yang merupakan target langsung modifikasi histon. Namun, glisin pada posisi 34 berada di dekat dua lokasi modifikasi pasca-translasi, yaitu lisin 27 dan

lisin 36. Lisin 27 biasanya dimetilasi dan ditemukan dalam heterokromatin sebagai penanda represi, sedangkan lisin 36 mengalami metilasi selama elongasi transkripsional dan sering dikaitkan dengan aktivasi gen.

Pada tahun 2018, ditemukan bahwa mutasi pada G34 dapat meniadakan perpindahan metiltransferase *SET-domain-containing 2* (SETD2) dari grup metil pada H3.3K36, mengurangi di- dan tri-metilasi lisin 36 dari H3.3 yang mengalami mutasi. Terjadi penurunan hambatan *polycomb repressive complex 2* (PRC2) dan peningkatan metilasi lisin 27.^{1,8} Oleh karena itu, mutasi GCTB membentuk kembali epigenom dengan mengubah pola metilasi lokal melalui efek dominan atau negatif sehingga memainkan peran sebagai *driver* onkogenik dalam sel stroma yang bermutasi.¹

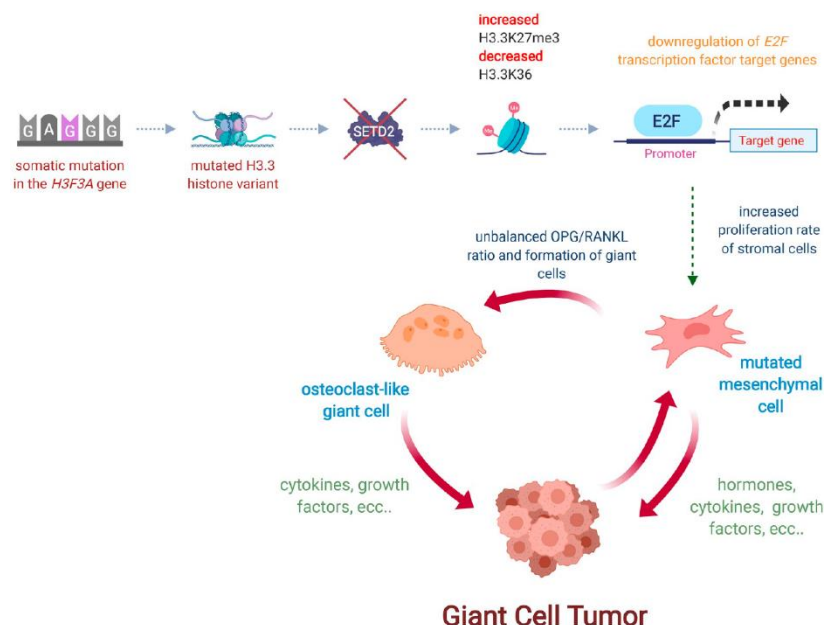
Sebagian besar gen yang diturunkan regulasinya dalam sel stroma H3.3 G34W merupakan target faktor transkripsi E2F, ini menjelaskan tingginya tingkat proliferasi sel stroma yang mengakibatkan terjadinya transformasi neoplastik antara sel tumor/sel stroma, dan *osteoclast-like cell*. Mutasi heterozigot H3F3A, salah satu dari gen yang mengkode H3.3 dapat mendorong tumorigenesis pada GCTB sehingga protein tersebut disebut 'onkohiston'.¹

E2F merupakan gen target yang paling banyak mengalami *downregulation* pada sel-sel stroma yang mengalami mutasi H3.3 G34W. Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas proliferasi yang tinggi dari sel-sel mutan mungkin merupakan akibat *silencing* dari regulator negatif siklus sel, kemungkinan besar adalah gen *family member* E2F4-6.²

Perubahan genetik dan epigenetik menyebabkan sel stroma tumor mempunyai

beberapa ciri khas perubahan biokimia yang paling dominan adalah ekspresi RANKL yang berlebihan.¹

Mutasi H3.3 G34W menunjukkan penurunan regulasi osteoprotegerin (OPG) secara signifikan, sesuai dengan gen OPG (TNFRSF11B) yang menjadi target faktor transkripsi E2F, sedangkan gen RANK dan RANKL bukan merupakan target faktor transkripsi ini. Ketidakseimbangan RANKL/OPG memicu pembentukan osteoklas dan potensi resorpsi tulang dari tumor ini (Gambar 4). *Osteoclast-like giant cell* memiliki enzim untuk meresorpsi tulang, termasuk *tartate resistant acid phosphatase* (TRAP), *matrix metalloproteinases* (MMP2 dan MMP9), dan cathepsin K (CTSK). Enzim-enzim ini berkontribusi penting untuk migrasi osteoklas dan perlekatan pada permukaan tulang, yang kemudian menyebabkan terjadinya degradasi pada matriks tulang.¹



Gambar 4. Pembentukan GCTB yang bergantung pada H3F3A. Mutasi G34 pada H3F3A menyebabkan penurunan metilasi H3.3K36 dan peningkatan metilasi H3.3K27. Hal ini mengakibatkan penurunan regulasi E2F, termasuk gen OPG dan gen yang terlibat dalam regulasi siklus sel.¹

Patogenesis GCTB

Pembentukan tulang, *remodeling*, dan resorpsi tulang terutama dikendalikan oleh osteoklas sehingga osteoklas mempunyai peranan utama dalam proses ini. Osteoklas berdiferensiasi dari sel hematopoietik dan dikendalikan oleh berbagai *tumor necrosis factors* (TNFs), seperti osteoprotegerin (OPG), dan ligan OPG/receptor activator of nuclear factor κ B (RANK)/*tumor necrosis factor-related activation-induced cytokine* (TRANCE). Stimulator untuk resorpsi tulang yaitu hormon paratiroid (PTH), prostaglandin E2 (PGE2),

1,25-dihidroksi vitamin D3, interleukin (IL)-11, dan IL-6.⁹

Simulator ini diklasifikasikan ke dalam tiga kategori berdasarkan mekanisme yang digunakan untuk menginduksi sinyal ke sel osteoblas/stroma. Hal ini terjadi melalui sinyal yang dimediasi reseptor vitamin D, sinyal yang dimediasi protein kinase A (PTH dan PGE2) dan sinyal yang dimediasi Gp130 (IL-6 dan IL-11). Stimulator ini menginduksi ekspresi ligan RANK/TRANCE/OPG pada osteoblas dan sel stroma.⁹

RANKL diekspresikan dalam tingkat fisiologis oleh sel stroma mesenkim baik yang

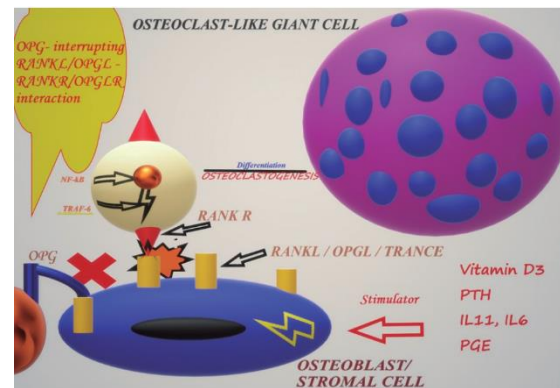
terikat membran maupun yang disekresikan. Ikatan RANKL dengan RANK di permukaan prekursor osteoklas sangat penting untuk pembentukan dan aktivitas osteoklas. Sel stroma juga menghasilkan osteoprotegerin (OPG), sebuah reseptor untuk RANKL *soluble*, yang mencegah interaksi RANKL dengan RANK.¹ Ligan OPG bersama dengan *colony-stimulating factor-1* (CSF-1) dan *macrophage colony-stimulating factor* berperan dalam proses aktivasi osteoklas dan pematangan tulang.⁹

Tingginya ekspresi RANKL oleh sel stroma menyebabkan rekrutmen patologis dari *osteoclast-like multinucleated giant cell*. Tingginya tingkat RANKL dalam GCTB berasal dari rasio RANKL/OPG yang tidak seimbang.¹

Berbagai protein adaptor *TNF receptor-associated factors* (TRAF) berhubungan dengan *intracytoplasmic tail receptor* RANK dan mengatur ekspresinya. N-terminal dari protein ini merupakan *ring finger/zinc finger domain* dan C-terminal adalah *TRAF domain*. Salah satu *domain intracytoplasmic tail receptor* RANK berada di antara residu asam amino 547 dan 581 dari regio C-terminal, yang dapat berinteraksi dengan TRAF2 dan TRAF5. *Domain* lain dari *intracytoplasmic tail receptor* RANK adalah antara residu asam amino 336 dan 453 di regio tengah dan bertanggung jawab untuk interaksi dengan TRAF-6. Interaksi dengan *domain* pengikat TRAF-6 menyebabkan osteoklastogenesis. Peran *domain* lain masih belum diketahui secara pasti.⁹

Ligan OPG/RANKL/TRANCE menstimulasi osteoklastogenesis melalui stimulasi NF- κ B, TRAF-6, dan reseptor RANK. NF- κ B yang teraktivasi masuk ke dalam inti dan mengekspresikan gen-gen untuk osteoklastogenesis, sedangkan OPG menghambat osteoklastogenesis dengan memutus ikatan di atas (Gambar 5).⁹

Peningkatan sekresi RANKL dan M-CSF (*macrophage colony-stimulating factor*) oleh sel stroma meningkatkan ekspresi RANK pada monosit. Selain peningkatan ekspresi RANK dan RANKL dalam sel sistem monosit/makrofag dan sel stroma, sel stroma juga mensekresi SDF1 (*stromal derived cell factor 1*) dan MCP1 (*monocyte chemoattractant protein 1*) yang menarik monosit sehingga akhirnya berfusi dan membentuk *giant cell* serta menyebabkan proses osteolitik.¹⁰

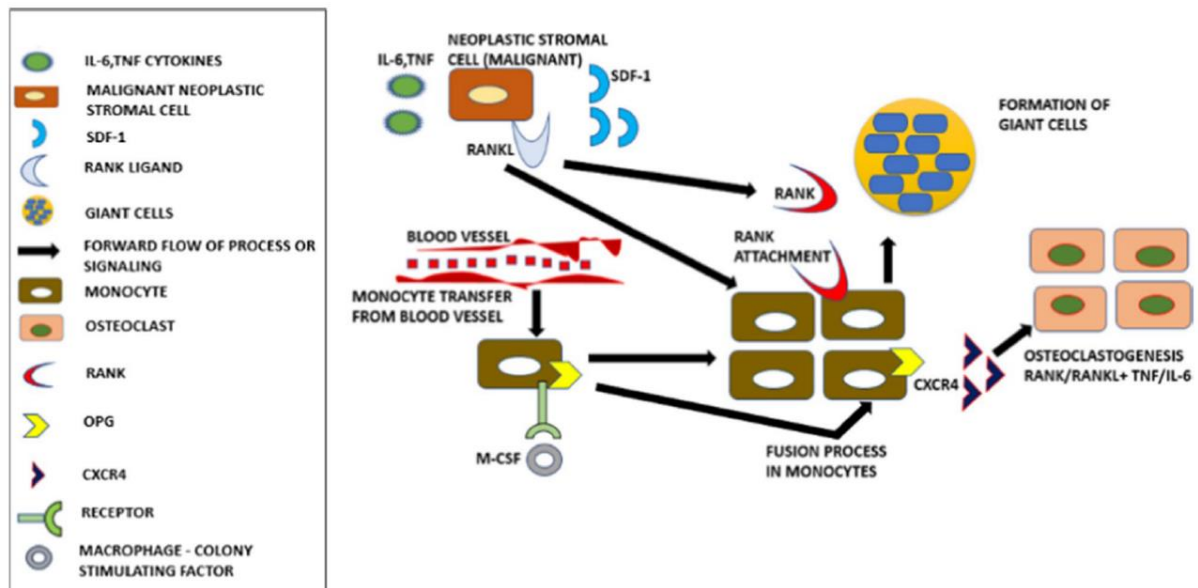


Gambar 5. Patogenesis *giant cell tumor of bone* (GCTB)⁹

Berbagai penanda makrofag diekspresikan oleh monosit antara lain CD68 dengan bantuan MCP-1, SDF-1 dan lain-lain yang diproduksi oleh sel stroma. *Immature osteoblast-like stromal cell* pada GCTB mensekresi RANKL yang membantu dalam melibatkan prekursor monosit untuk membentuk *osteoclast-like giant cell* pada tumor. Dalam keseluruhan proses, RANK diekspresikan dengan aktivasi prekursor monosit melalui M-CSF yang dilepaskan oleh stroma. Monosit yang terlibat dalam proses ini juga mengalami diferensiasi, proliferasi bersama dengan M-CSF. Monosit yang terlibat dalam pengembangan GCTB mengalami fusi seluler didorong oleh RANKL yang mengakibatkan terbentuknya *multinucleated giant cell* yang menjadi karakteristik penyakit ini. Sel stroma yang mengalami mutasi berhubungan dengan *giant cell* melalui sinyal parakrin menyebabkan perkembangan *multinucleated giant cell*.¹¹

Giant cell yang terbentuk pada GCTB mempunyai sifat seperti osteoklas, yaitu dengan menunjukkan peningkatan kadar berbagai matriks metaloproteinase yang berperan penting dalam degradasi tulang dan reformasi sel stroma.¹¹

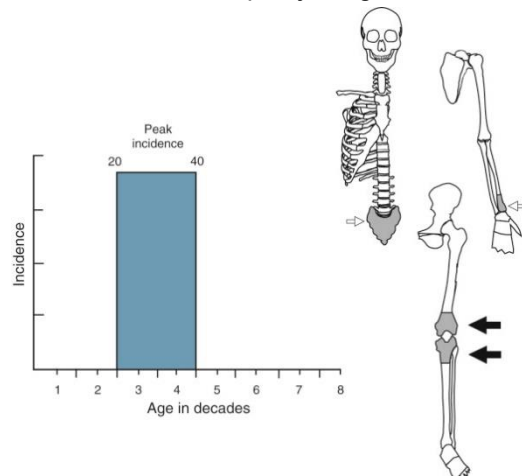
Mekanisme molekuler yang mengawali proses peningkatan RANKL masih belum dapat dijelaskan. Terdapat beberapa bukti yang menghubungkan peningkatan lokal kalsium dari PTHrp (*parathyroid hormone-related peptide*) sebagai penyebabnya. Namun, kejadian yang menyebabkan peningkatan PTHrp lokal juga masih belum diketahui dengan jelas. Penemuan terbaru mengenai perubahan epigenetik pada gen H3F3A secara eksklusif pada sel neoplastik dan peran M-CSF dapat membantu dalam memahami kejadian awal yang menstimulasi tumorigenesis (Gambar 6).¹⁰



Gambar 6. Pembentukan *giant cell* melalui proses fusi monosit melalui sistem sinyal RANK-RANKL disertai beberapa faktor seperti; SDF-1, M-CSF, IL-6, TNF dll yang meningkatkan produksi osteoklas.¹¹

GIANT CELL TUMOR OF BONE (GCTB)

Giant cell tumor of bone (GCTB) merupakan neoplasma tulang primer dengan angka kejadian 5% dari seluruh tumor tulang primer dan memiliki puncak insiden pada dekade ke-3, dengan lebih dari 70% kasus terjadi pada usia antara 20 sampai 40 tahun (Gambar 7).¹ Kasus GCTB sedikit lebih banyak ditemukan pada perempuan, dengan pengecualian sedikit lebih tinggi pada pasien laki-laki di China.¹² GCTB merupakan neoplasma yang bersifat lokal agresif, memiliki kecenderungan untuk terjadi rekuren dan dapat bermetastasis walaupun jarang.^{3,4}



Gambar 7. *Giant cell tumor of bone*. Usia dan lokasi tersering pada *giant cell tumor of bone*.¹³

Sebagian besar GCTB terjadi pada pasien dewasa dengan lempeng epifisis yang sudah menutup dan biasanya berlokasi di epifisis tulang panjang, sering meluas hingga

permukaan artikular atau lempeng tulang subkondral.⁹ GCTB paling sering ditemukan pada epifisis tulang panjang (~90%), yaitu distal femur (~35%), proksimal tibia (~30%), dan distal radius (~12%), namun jarang disertai keterlibatan sendi (Gambar 7).^{1,13}

GCTB jarang terjadi pada tulang tubular pendek seperti metakarpal, metatarsal, atau tulang rahang,⁹ dan sangat jarang terjadi pada vertebra.¹³ Di dalam kolumna vertebra, GCTB dapat melibatkan regio servikal, torakal, dan lumbal, serta sakrum (tersering), dan sebagian besar berlokasi di korpus vertebra.^{9,13} Pada populasi dengan lempeng epifisis yang belum menutup, tumor ini dapat ditemukan pada metafisis.⁹

GCTB multisentris jarang ditemukan dan dapat dibedakan menjadi *synchronous*, yaitu beberapa lesi muncul dalam jangka waktu 6 bulan, atau *metachronous*, ketika lesi kedua muncul 6 bulan setelah lesi awal. GCTB multisentris biasanya terjadi pada pasien yang lebih muda (sekitar 21 tahun) dan lesi *synchronous* lebih sering terjadi.¹⁴

Walaupun jarang, GCTB dapat bermetastasis. Menurut laporan Finch dan Gleave ditemukan kasus pertama metastasis paru pada GCTB. Insiden metastasis GCTB bervariasi antara 1% sampai 9%. Interval antara diagnosis GCTB primer dan metastasis berkisar antara 0 sampai 10 tahun dengan rata-rata 3,5 tahun.⁹

Diagnosis

Gambaran Klinis

Pasien biasanya datang dengan gejala nyeri, bengkak, dan kadang disertai

keterbatasan gerak pada sendi. Durasi timbulnya gejala mulai dari hitungan minggu sampai bulan. Fraktur patologis terjadi pada 5-15% pasien dengan lokasi tersering di tulang femur bagian distal. Lesi pada vertebra dan sakrum menyebabkan timbulnya nyeri yang perlahan dan seringkali disertai defisit neurologis.¹²

Gambaran Radiologi

Diagnosis GCTB ditegakkan melalui modalitas pencitraan standar, seperti radiografi, *computed tomography* (CT) dan *magnetic resonance imaging* (MRI). Gambaran radiografi khas GCTB berupa lesi osteolitik murni berbatas tegas dengan margin non-sklerotik, terletak eksentrik, terdapat penipisan korteks dan *endosteal scalloping*, reaksi periosteal umumnya tidak ditemukan (Gambar 8). Reaksi periosteal atau segitiga Codman dapat ditemukan pada kondisi adanya fraktur patologis.^{1,14} Radiografi pada thoraks diperlukan jika dicurigai adanya metastasis paru.¹



Gambar 8. GCTB pada metaepifisis distal radius kanan dengan keterlibatan sendi radiokarpal (a – c, mata panah) dibandingkan dengan tulang normal (d – f): (a) Radiografi konvensional menunjukkan lesi osteolitik dengan penipisan korteks dan *endosteal scalloping* tanpa reaksi periosteal; (b) *Computed tomography* (CT) koronal menunjukkan beberapa gangguan korteks; (c) *Magnetic resonance imaging* (MRI) STIR koronal menunjukkan lesi dengan hiperintensitas sinyal homogen; (d – f) Radiografi konvensional, CT dan MR STIR pada tulang normal.¹⁴

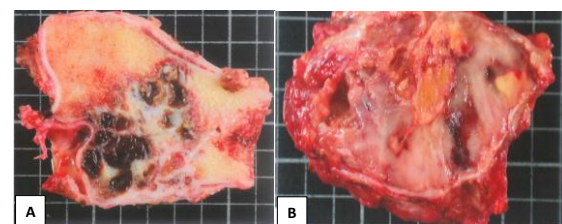
Computed tomography dapat mengevaluasi agresivitas tumor dengan baik, memperlihatkan perubahan korteks dengan jelas dan memungkinkan evaluasi multiplanar (Gambar 8). Tumor non-agresif menunjukkan trabekulasi yang dominan dengan gambaran

multilokular, sedangkan tumor agresif kehilangan gambaran trabekulasi klasik, terdapat kerusakan korteks dan perluasan ke jaringan lunak. Setelah pemberian media kontras secara intravena, dapat terjadi penyangatan ringan pada komponen padat, sedangkan zona nekrotik dan kistik kadang menunjukkan sedikit atau tidak adanya penyangatan.¹⁴

Hasil dari pencitraan MRI kurang spesifik, tumor menunjukkan intensitas sinyal rendah hingga menengah pada T1 dan sinyal tinggi pada *T2-weighted*,¹ yang dapat bervariasi tidak homogen karena adanya komponen fibrosa, bagian kistik dan pengendapan hemosiderin di dalam tumor. Fokus hemosiderin terjadi akibat hiperakumulasi besi dari ekstrasvasasi fagositosis eritrosit oleh sel stroma mononukleus dan *multinucleated giant cell*.¹⁴

Makroskopik

GCTB konvensional berbatas tegas, seringkali terletak eksentrik pada ujung tulang panjang, dan biasanya meluas secara asimetris. Korteks di sekitar sering menipis, bahkan pada beberapa area terjadi destruksi korteks. Tulang subkondral dapat terkikis sebagian, namun tumor jarang ekstensi sampai ke rongga sendi. Tumor viabel ditandai dengan area yang lunak, rapuh, tampak merah kecoklatan disertai perdarahan, tetapi dapat juga berwarna kekuningan dengan area putih akibat adanya *foam cell* dan jaringan ikat fibrosa. Area pendarahan dan rongga kistik berisi darah juga dapat ditemukan (Gambar 9).¹²



Gambar 9. A. GCTB pada tulang femur distal menunjukkan rongga-rongga kista berisi beku darah yang luas. B. GCTB pada tulang radius distal menunjukkan tumor berwarna abu-abu, homogen, dengan fokus perdarahan baru dan pembentukan kista.¹²

Pemeriksaan Histopatologi

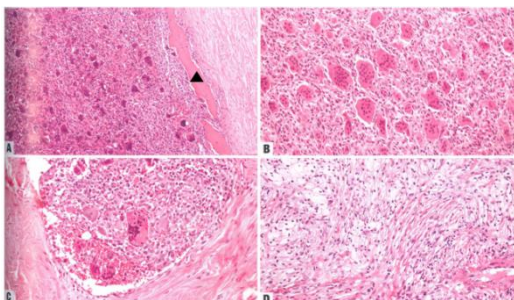
Pengambilan sampel jaringan dengan biopsi yang dilanjutkan dengan pemeriksaan histopatologi diperlukan untuk menunjang diagnosis GCTB. Jaringan tumor menunjukkan gambaran yang klasik terdiri atas *osteoclast-like multinucleated giant cell* yang tersebar

dengan latar belakang sel stroma mononukleus dan sel histiosit.¹

GCTB selain mengandung sel stroma, juga terdiri atas sel-sel mononukleus yang nantinya akan berdiferensiasi menjadi osteoklas. Awalnya, terjadi perbedaan pendapat mengenai sel apa yang bersifat neoplastik pada tumor ini, kemudian dilakukan penelitian dengan memisahkan kompartemen stroma dari osteoklas dan prekursor osteoklas pada GCTB yang memiliki mutasi histon 3.3. Dari hasil penelitian ini didapatkan mutasi pada sel stroma yang merupakan komponen neoplastik pada GCTB.¹⁵ Sekarang ini telah diterima secara umum bahwa *osteoclast-like giant cell* pada GCTB bukan merupakan sel neoplastik melainkan reaktif.¹⁶

GCTB terdiri dari tiga jenis sel, yaitu sel stroma mononukleus dengan fenotip prekursor osteoblastik, sel histiositik mononukleus, dan *osteoclast-like multinucleated giant cell*.⁶ Sel stroma berkontribusi terhadap keterlibatan sel garis keturunan myeloid terkait tumor serta membantu dalam pembentukan *osteoclast-like giant cell* yang menyebabkan resorpsi tulang.¹¹

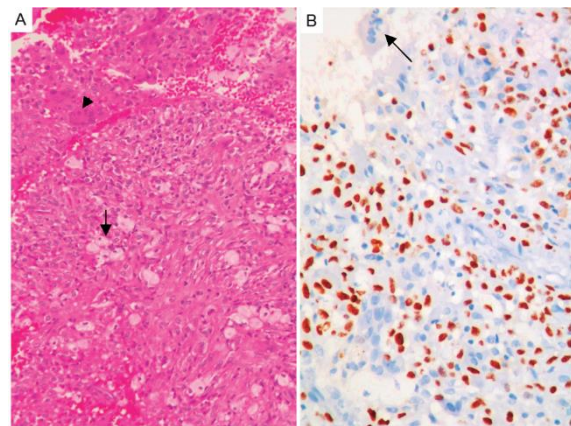
Sel stroma mononukleus merupakan sel neoplastik dengan kromatin vesikuler, anak inti nyata dan sitoplasma tidak jelas (Gambar 10). Sel stroma bisa berbentuk *spindle* sehingga secara morfologi tidak dapat dibedakan dari makrofag dan sel lain seperti fibroblas. *Osteoclast-like giant cell* tersebar merata di seluruh tumor dan mengandung lebih dari 50 inti sel. Inti *giant cell* menyerupai inti sel stroma mononukleus (Gambar 10). Mitosis non-atipik sering ditemukan di sel stroma. Adanya invasi vaskular dapat ditemukan pada kasus GCTB, namun bukan merupakan indikator suatu keganasan.⁹



Gambar 10. *Giant cell tumor of bone*. A. Bagian tepi tumor berbatas tegas, terdapat tulang reaktif di bagian tepi "eggshell-like ring" (▲). B. Ciri khas *giant cell tumor*. *Osteoclast-like giant cell*, dan di antaranya terdapat sel mononukleus neoplastik. C. Invasi vaskular di luar massa tumor. D. Area mengandung *foam cell*.¹²

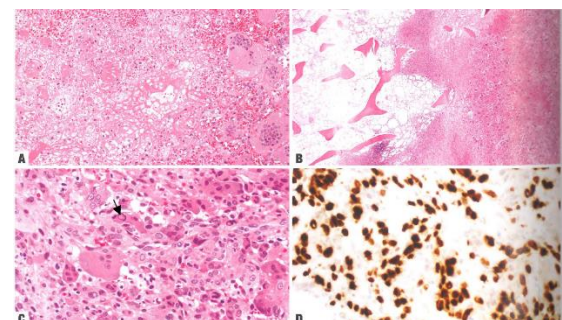
Beberapa kasus tertentu menunjukkan variasi dalam morfologi, antara lain adanya fibrosis, pembentukan tulang reaktif,

degenerasi kistik, mengandung banyak *foamy macrophages* (*fibrous-histiocytoma like*) (Gambar 11), area menyerupai *non-ossifying fibroma* (NOF), degenerasi atipia/perubahan simplastik (inti pleomorfik dengan membran inti irregular, inti hiperkromatik, *smudge chromatin*, dan pseudoinklusi intranukleus), infark nekrosis terkait pasca terapi, peningkatan aktivitas mitosis (terutama pada GCTB berulang) dan diferensiasi kondroid (jarang).⁹



Gambar 11. GCTB dengan area *fibrous-histiocytoma like*. A. Beberapa histiosit (*foamy*) (panah) berwarna pucat bercampur dengan sel tumor mononukleus stroma dengan *osteoclast-like multinucleated giant cell* (mata panah) yang tersebar (200 kali). B. H3.3 G34W positif difus pada sel-sel stroma dan negatif pada fibroblas, histiosit dan *osteoclast like multinucleated giant cell* (panah). Diaminobenzidine (DAB), 400 kali.⁹

Perubahan sekunder seperti nekrosis (Gambar 12), perdarahan, kumpulan makrofag, deposisi hemosiderin, *secondary aneurysmal bone cyst*, jaringan ikat fibrosa dan pembentukan tulang dapat membuat gambaran morfologi menjadi tidak khas sehingga diagnosis sulit ditegakkan.⁴



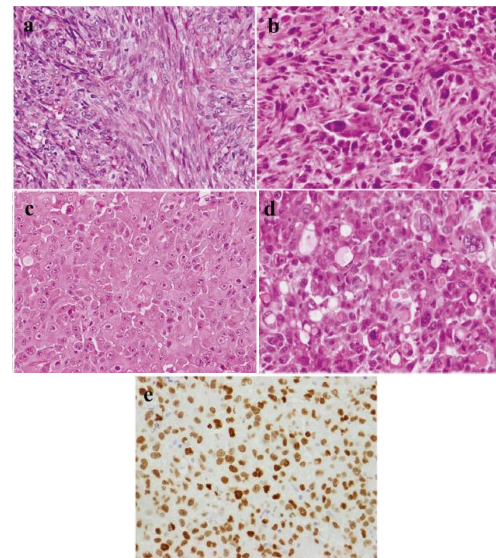
Gambar 12. *Giant cell tumor of bone*. A. Area nekrosis, biasanya ditemukan pada kondisi fraktur patologis. B. Gambaran permeatif pada GCTB (jarang ditemukan). C. Bagian dari *giant cell tumor* menunjukkan atipia inti dari sel mononukleus mutan, terdiri atas *smudge chromatin* dan pseudoinklusi intranuklear (tanda panah). Implikasi dari perubahan fokal ini tidak diketahui. D. Imunoreaktivitas H3.3 p.Gly34Trp sel stroma atipikal.¹²

GCTB pada pemeriksaan radiologi memiliki ciri yang mirip dengan kondroblastoma, namun pada pemeriksaan histologi kondroblastoma ditemukan matriks kondroid dan kalsifikasi.¹ Diagnosis banding lainnya meliputi *brown tumor* pada hiperparatiroidisme yang menunjukkan distribusi *giant cell* secara tidak merata, adanya area granulasi, sel-sel inflamasi, dan perdarahan;^{1,17} *giant cell-rich osteosarcoma* terdiri atas pembentukan matriks osteoid dan sel stroma atipik; dan *nonossifying fibroma* yang ditandai dengan sel-sel berbentuk *spindle* yang tersusun dalam pola *storiform* dan *giant cell* yang tersebar.^{1,12}

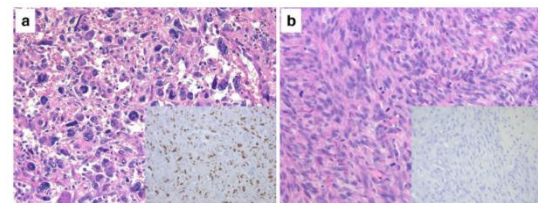
Perubahan ganas pada GCTB merupakan fenomena yang jarang terjadi (sekitar 1% dari GCTB).⁶ Berbeda dengan GCTB konvensional, pada komponen ganas tumor ini memiliki konsistensi keras dan tampak *fleshy* (Gambar 13).¹² Keganasan bisa terjadi sebagai tumor primer (GCTB primer ganas) atau sekunder/transformasi ganas pada GCTB yang mengalami rekurensi atau setelah terapi radiasi. Komponen ganas secara histologi menunjukkan gambaran osteosarkoma, fibrosarkoma, atau gambaran sarkoma pleomorfik derajat tinggi, namun lebih jarang (Gambar 14). Pada tingkat molekuler, beberapa populasi GCTB ganas memiliki mutasi gen TP53 pada komponen ganas.⁶



Gambar 13. GCTB ganas pada tulang femur proksimal. Tampak destruksi tulang rawan sendi dan tulang kortikal secara lokal dan meluas hingga ke jaringan lunak. Tumor nodular disertai perdarahan dan nekrosis.¹²



Gambar 14. *Malignant giant cell tumor of bone* (MGCTB). a. Subtipe sel *spindle*. Sel *spindle* tersusun dalam pola berjaras. b. Subtipe pleomorfik. Ditemukan sel poligonal atipik berukuran besar dengan inti hiperkromatik. c. Subtipe epiteloid. Sel atipik dengan sitoplasma lebar. d. Sel tumor dengan gambaran *signet ring*/sitoplasma bervakuol. e. Sel-sel ganas positif terhadap antibodi H3.3 G34W.¹⁸



Gambar 15. Pola status ekspresi H3.3 G34W yang berbeda pada MGCTB. Pola *concordant* (a) dan pola *discordant* (b) (masing-masing: pewarnaan hematoxylin-eosin dengan imunohistokimia H3.3 G34W pada *inset*). Pada pola *concordant*, komponen ganas positif terhadap H3.3 G34W (a). Pada pola *discordant*, komponen ganas negatif terhadap H3.3 G34W (b). Pada kedua contoh, komponen GCTB konvensional positif untuk H3.3 G34W (tidak ditampilkan).⁶

Beberapa penelitian terbaru menunjukkan bahwa pada MGCTB, baik pada komponen konvensional dan komponen ganas sama-sama memiliki mutasi H3F3A p.G34W dan menunjukkan ekspresi protein mutan H3.3 G34W. Hal tersebut menunjukkan bahwa mutasi ini tetap ditemukan bahkan setelah transformasi ganas (Gambar 15a).⁶

Sebaliknya, Yoshida et al. melaporkan pada beberapa kasus MGCTB tidak ditemukan mutasi gen H3F3A dan imunoreaktivitas H3.3 G34W pada komponen ganas, sedangkan

pada komponen konvensional masih tetap ditemukan mutasi ini (Gambar 15b). Telah diteliti juga bahwa gen H3F3A kehilangan satu dari dua alelnya pada sel ganas MGCTB, sehingga hilangnya satu alel dari H3F3A (kemungkinan alel yang mengalami mutasi) dalam komponen ganas diduga bertanggung jawab terhadap ketidaksesuaian status H3F3A di antara kedua komponen.⁶

Pemeriksaan Imunohistokimia

GCTB terdiri atas sel mononukleus yang mewakili komponen neoplastik dan *osteoclast-like giant cell*. *Osteoclast-like giant cell* biasanya positif kuat terhadap CD68, namun komponen sel mononukleus memiliki ekspresi lebih lemah atau negatif untuk penanda CD68. Sel stroma dapat juga mengekspresikan α -SMA, namun negatif atau lemah terhadap CD45, S100, desmin, dan lysozyme. Studi terbaru juga menunjukkan bahwa ekspresi p63 dapat membedakan GCTB dari beberapa tumor lain yang memiliki histologi yang mirip, antara lain *tenosynovial giant cell tumor* (*localized type* dan *diffuse type*) serta *aneurysmal bone cyst*.¹⁹

Tabel 2. Pola pewarnaan p63 pada berbagai lesi *giant cell* ²⁰

Lesions	Expression of p63 in stromal cells
Giant cell tumour	Positive
Aneurysmal bone cyst	Variable/Negative
Brown tumour	Negative
Non ossifying fibroma	Variable

Sekitar 95% GCTB mengalami mutasi berulang pada H3F3A, yang paling sering terjadi adalah substitusi asam amino yang melibatkan residu glisin (p.Gly34Trp). Pemeriksaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal yang ditujukan terhadap mutasi titik H3 Gly34Trp (G34W) memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi.⁴

Untuk menilai perubahan transformasi ganas, dapat dilakukan imunostaining Ki67 dan p53. Indeks Ki67 meningkat pada tumor yang mengalami transformasi ganas. Secara histologi, indeks proliferasi Ki67 rendah pada GCTB primer, pada konvensional GCTB yang rekuren dan pada komponen konvensional GCTB pada *secondary malignant giant cell tumor of bone* (SMGCTB), sedangkan terjadi peningkatan indeks Ki67 pada komponen ganas SMGCTB, baik pada lesi rekuren maupun metastasis.²¹

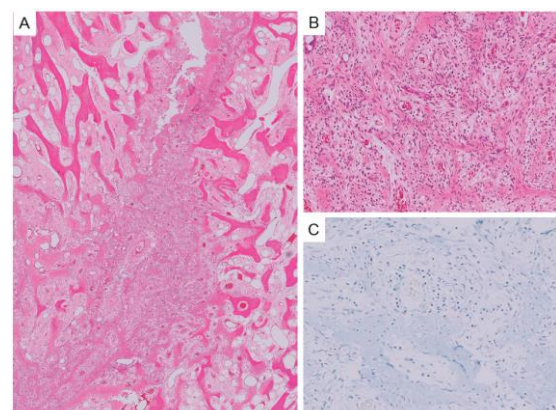
3.2 Terapi

Saat ini, pembedahan merupakan pilihan untuk terapi GCTB, kuretase merupakan prosedur bedah yang paling umum dilakukan. Kuretase juga dapat dikombinasikan dengan pemberian neoadjuvan lokal yang mengisi rongga tulang, diantaranya adalah cangkok tulang (allograft atau komposit sintetik), sementasi tulang (polimetil metakrilat), cryoablasi menggunakan nitrogen cair, atau impregnasi dengan bahan kimia seperti fenol, seng klorida, atau hidrogen peroksida. Namun, pendekatan ini tidak menjamin hilangnya sel tumor secara menyeluruh dan memiliki tingkat lokal rekuren yang tinggi.¹

Pada tumor agresif dengan kerusakan tulang yang signifikan, terapi pembedahan dengan eksisi luas diikuti dengan rekonstruksi memiliki tingkat kekambuhan lokal yang rendah dan juga merupakan pilihan terapi untuk tumor yang bersifat ganas.¹

Prosedur lain seperti radioterapi dan embolisasi dapat dijadikan pilihan terapi pada kasus *inoperable*. Meskipun telah dilakukan terapi, kekambuhan dapat terjadi pada 15-50% kasus, biasanya terjadi dalam kurun waktu 3 tahun setelah terapi.²¹

Pilihan terapi lain yaitu dengan pemberian denosumab. Denosumab merupakan terapi yang efektif pada kasus rekuren atau pada kasus GCTB *inoperable*.²¹ Denosumab adalah antibodi monoklonal terhadap RANKL yang mencegah pengikatan RANKL pada reseptornya dan menekan diferensiasi, aktivasi, dan fungsi osteoklas. Oleh karena itu, denosumab menghambat resorpsi tulang yang dimediasi oleh osteoklas dengan menghalangi sinyal yang dimediasi oleh RANKL.⁹



Gambar 16. GCTB pasca terapi dengan denosumab. Pembentukan *woven bone* yang dominan menyerupai osteosarkoma derajat rendah. B. Sel-sel fibroblas dan jaringan granulasi. C. Pulasan imunostaining H3.3 G34W negatif. DAB. A, C, 200 kali; B, 400 kali.⁹

KESIMPULAN

Giant cell tumor of bone (GCTB) merupakan neoplasma tulang yang bersifat lokal agresif, sering rekuren, dapat bermetastasis, dan kadang mengalami transformasi menjadi neoplasma ganas. GCTB mengalami mutasi berulang pada H3F3A, dengan mutasi tersering yaitu substitusi asam amino glisin menjadi triptofan. GCTB terdiri dari tiga jenis sel, yaitu sel stroma mononukleus dengan fenotip prekursor osteoblastik, sel histiositik mononukleus, dan *osteoclast-like multinucleated giant cell*. Sel stroma yang merupakan komponen neoplastik pada tumor mengalami mutasi somatik pada posisi G34 gen H3F3A, mengakibatkan terjadinya ketidakseimbangan rasio RANKL/OPG sehingga terjadi pembentukan *multinucleated giant cell* dan terjadi resorpsi tulang. Pemeriksaan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal yang ditujukan terhadap mutasi titik H3 Gly34Tryp (G34W) memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi untuk mendukung diagnosis GCTB.

DAFTAR PUSTAKA

- Scotto di Carlo F, Whyte MP, Gianfrancesco F. The two faces of giant cell tumor of bone. *Cancer Lett*. 2020;489:1-8.
- Forsyth RG, Krenács T, Athanasou N, Hogendoorn PCW. Cell biology of giant cell tumour of bone: Crosstalk between m/wt nucleosome H3.3, telomeres and osteoclastogenesis. *Cancers*. 2021;13:5119.
- Miskad UA, Syamsul F, Dahlan H, Sungowati NK, Achmad D, Johan MP. Significance of histone H3.3 (G34W)-mutant protein in pathological diagnosis of giant cell tumor of bone. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2023;24:1737-41.
- Aldera A Pietro, Govender D. Gene of the month: H3F3A and H3F3B. *J Clin Pathol*. 2022;75:1-4.
- Kamble A, Hui M, Rao KN, Narayanan R, Reddy BR, Uppin SG, et al. Anti-Histone H3.3 G34W antibody is a sensitive and highly specific immunohistochemistry marker for the diagnosis of giant cell tumor of bone. A validation based on analysis of 198 cases from a single centre in India. *Indian J Pathol Microbiol*. 2022;65:617-29.
- Yamamoto H, Ishihara S, Toda Y, Oda Y. Histone H3.3 mutation in giant cell tumor of bone: an update in pathology. *Med Mol Morphol*. 2020;53:1-6.
- Kimura H. Histone modifications for human epigenome analysis. *J Hum Genet*. 2013;58:439-45.
- Amatori S, Tavolaro S, Gambardella S, Fanelli M. The dark side of histones: Genomic organization and role of oncohistones in cancer. *Clin Epigenet*. 2021;31:71.
- Rekhi B, Dave V. Giant cell tumor of bone: An update, including spectrum of pathological features, pathogenesis, molecular profile and the differential diagnoses. *Histol and Histopathol*. 2023;38:139-53.
- Mallick AB, Sant &, Chawla P. Giant cell tumor of bone: An update. *Curr Oncol Rep*. 2021;23:51.
- War AR, Dang K, Jiang S, Xiao Z, Miao Z, Yang T, et al. Role of cancer stem cells in the development of giant cell tumor of bone. *Cancer Cell Int*. 2020; 20:135.
- Flanagan AM, Larousserie F, O'Donnell PG, Yoshida A. Giant cell tumour of bone. In: WHO Classification of Tumours Editorial Board, editor. Soft tissue and bone tumours. 5th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2020. p. 440–446.
- Czerniak B. Dorfman and Czerniak's bone tumor. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier; 2016. p. 692–742.
- Parmeggiani A, Miceli M, Errani C, Facchini G. State of the art and new concepts in giant cell tumor of bone: Imaging features and tumor characteristics. *Cancers*. 2021;13:6298.
- Behjati S, Tarpey PS, Presneau N, Scheipl S, Pillay N, Van Loo P, et al. Distinct H3F3A and H3F3B driver mutations define chondroblastoma and giant cell tumor of bone. *Nat Genet*. 2013;45:1479–82.
- Athanasou NA, Bansal M, Forsyth R, Reid RP, Sapi Z. Giant cell tumour of bone. In: Fletcher CDM, Bridge JA, Hogendoorn PCW, Mertens F, editors. WHO classification of tumours of soft tissue and bone. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2013. p. 321-324.
- Yamauchi R, Ohshika S, Ono H, Saruga T, Ogawa T, Ishibashi Y. Diagnosis and treatment of brown tumor in the femur induced by parathyroid carcinoma: A case report. *Case Rep Oncol*. 2022;15:1074-80.
- Ishihara S, Yamamoto H, Iwasaki T, Toda Y, Yamamoto T, Yoshimoto M, et al. Histological and immunohistochemical features and genetic alterations in the malignant progression of giant cell tumor of bone: a possible association with TP53 mutation and loss of H3K27 trimethylation. *Modern Pathology*. 2022;35:640–8.
- Doyle LA, Hornick JA. Immunohistology of neoplasms of soft tissue and bone. In:

- Dabbs DJ, editor. Diagnostic immunohistochemistry: Theranostic and genomic applications. 5th ed. Philadelphia: Elsevier; 2019. p. 134–135.
20. Kannadas S, Sreedharan S, Thomas C, Ravindran M, Aneesh M. Utility of p63 in giant cell lesions of bone- A case series. *J Clin Diagn Res*. 2022;16:ER05-ER07.
21. Nakata E, Kawai H, Fujiwara T, Kunisada T, Inoue H, Futagawa M, et al. Clinicopathological and histological analysis of secondary malignant giant cell tumors of bone without radiotherapy. *Oncol Lett*. 2022;24:319.