

**HUBUNGAN EKSPRESI *TUMOR ASSOCIATED NEUTROPHIL (TAN)*
DAN *NEUTROPHIL TO LYMPHOCYTE RATIO (NLR)* DENGAN
RESPON KLINIS KEMOTERAPI NEOADJUVAN PADA KANKER
PAYUDARA STADIUM LANJUT LOKAL**

*RELATIONSHIP OF TUMOR ASSOCIATED NEUTROPHIL (TAN)
EXPRESSION AND NEUTROPHIL TO LYMPHOCYTE RATIO (NLR)
WITH CLINICAL RESPONSE TO NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY
IN LOCALLY ADVANCED BREAST CANCER*

ABD. RAHMAN



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SUBSPELIALIS
ILMU BEDAH
KONSENTRASI BEDAH ONKOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

LEMBAR PENGESAHAN (DISERTASI)

HUBUNGAN EKSPRESI TUMOR ASSOCIATED NEUTROPHIL (TAN) DAN NEUTROPHIL TO LYMPHOCYTE RATIO (NLR) DENGAN RESPON KLINIS KEMOTERAPI NEOADJUVAN PADA KANKER PAYUDARA STADIUM LANJUT LOKAL

Disusun dan Diajukan oleh:

**dr. Abd. Rahman, Sp.B, M. Kes
Nomor Pokok C028212001**

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Pendidikan Subspesialis Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

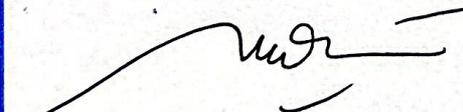
Pada tanggal **13 Maret 2024**

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping

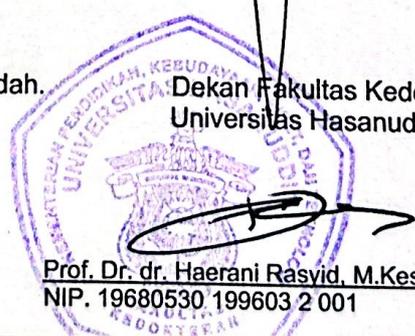

Dr. dr. Indra, Sp.B, Subsp. Onk (K)
NIP. 19700505 200012 1 001


dr. Dionny Ferianto S. Pualilin, Sp.B, Subsp. Onk (K)
NIP. 19690219 199903 1 001

Ketua Program Studi Subspesialis Ilmu Bedah,
FK Universitas Hasanuddin

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin


Dr. dr. Wawnggih, Sp.B, Subsp. BD(K), M. Kes
NIP. 1962022119902 1 002


Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M. Kes, Sp. GK, Sp. PD-KGH
NIP. 19680530 199603 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

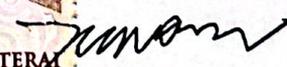
Dengan ini saya menyatakan bahwa, disertasi berjudul "HUBUNGAN EKSPRESI *TUMOR ASSOCIATED NEUTROPHIL (TAN)* DAN *NEUTROPHIL TO LYMPHOCYTE RATIO (NLR)* DENGAN RESPON KLINIS KEMOTERAPI NEOADJUVAN PADA KANKER PAYUDARA STADIUM LANJUT LOKAL adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing Dr. dr. Indra, SpB, Subsp. Onk (K), sebagai Pembimbing Utama dan dr. Djonny Ferianto S. Pualilin, SpB, Subsp. Onk (K), sebagai Pembimbing Pendamping.

Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka disertasi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa disertasi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 22 Juli 2024




Abd. Rahman
C028212001

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah akhir dengan judul “Hubungan Ekspresi *Tumor Associated Neutrophil* (TAN) dan *Neutrophil to Lymphocyte Ratio* (NLR) dengan Respon Klinis Kemoterapi Neoadjuvan pada Kanker Payudara Stadium Lanjut Lokal”. Penelitian ini dikerjakan dengan berbagai kesulitan, namun akhirnya dapat diselesaikan dengan perjuangan. Penulis menyadari dalam penulisan karya tulis ilmiah akhir ini masih jauh dari sempurna, untuk itu dengan rendah hati penulis mengharapkan kritik dan saran agar karya tulis ilmiah akhir ini menjadi lebih baik dan lebih sempurna. Penulis menyadari bahwa keberhasilan penelitian ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, nasehat dan dorongan dari berbagai pihak. Saya ucapkan terima kasih yang tulus dan tak terhingga kepada semua pihak yang telah membimbing, mendidik, membantu saya selama menempuh pendidikan. Melalui kesempatan ini pula saya menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Rektor Universitas Hasanuddin Makassar, yang telah memberikan kesempatan dan pembinaan selama mengikuti program pendidikan dokter subspecialis peminatan bedah onkologi di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, yang telah memberikan kesempatan dan pembinaan selama mengikuti

program pendidikan dokter subspecialis peminatan bedah onkologi di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

3. Direktur RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan Direktur RSPTN Universitas Hasanuddin dan RS Jejaring, atas kesempatan belajar menimba ilmu dan menjalankan pendidikan dan penelitian ini.
4. Prof. Dr. dr. Prihantono, SpB, Subsp. Onk (K) selaku Ketua Departemen Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar dan segenap staff yang telah membimbing dan membantu penulis menyelesaikan pendidikan ini.
5. dr. Djonny Ferianto S. Pualilin, SpB, Subsp. Onk (K) selaku Ketua Divisi Bedah Onkologi yang telah memotivasi, membimbing, dan membantu penulis dalam menyelesaikan Pendidikan.
6. dr. John S.L. A. Pieter, SpB, Subsp. Onk (K), Ketua Program Studi Spesialis II Bedah Onkologi dan Dr. dr. William Hamdani, SpB, Subsp. Onk (K) dan Dr. dr. Warsinggih, SpB, Subsp. KBD (K) selaku Ketua Program Studi Spesialis II Bedah yang telah membimbing, memotivasi dan membantu penulis menyelesaikan pendidikan ini.
7. Dr. dr. Indra, SpB, Subsp. Onk (K) dan dr. Djonny Ferianto S. Pualilin, SpB, Subsp. Onk (K) sebagai pembimbing yang telah dengan sabar dan penuh perhatian membimbing, memotivasi dan membantu penulis menyelesaikan pendidikan ini.
8. Prof. Dr. dr. Daniel Sampepajung, SpB, Subsp. Onk (K); dr. Haryasena, SpB, Subsp. Onk (K); Dr. dr. William Hamdani, SpB, Subsp. Onk (K); dr.

Septiman, SpB, Subsp. Onk (K) (alm); dr. Djonny Ferianto, SpB, Subsp. Onk (K); dr. John S. L. A. Pieter, SpB, Subsp. Onk (K); Dr. dr. Indra, SpB, Subsp. Onk (K); dr. Salman Ardi Syamsu SpB, Subsp. Onk (K); Prof. Dr. dr. Prihantono, SpB, Subsp. Onk (K); dr. Nilam Smaradhania, SpB, Subsp. Onk (K) dan dr. Elridho Sampepajung, SpB, Subsp. Onk (K), dan dr. Adhyatma Jaya Ningrat, SpB, Subsp. Onk (K); Guru dan pembimbing saya yang selalu dengan sabar membantu dan memberi semangat selama mengikuti pendidikan ini.

9. Seluruh senior dan staf di lingkungan Lab / SMF Ilmu Bedah FK UNHAS / RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan RSPTN Unhas yang telah membimbing dan membantu kelancaran pendidikan saya.
10. Ketua Departemen dan Staf Departemen Patologi Anatomi yang telah membimbing, menyediakan sarana dan bantuan selama pendidikan.
11. Ketua Departemen dan Staf Departemen Radiologi yang telah membimbing, menyediakan sarana dan bantuan selama pendidikan.
12. Terima kasih dan rasa hormat saya yang tulus dan tak terhingga saya sampaikan kepada kedua orangtua saya yang tercinta yang selalu memberikan cinta, yang telah merawat dengan penuh kasih sayang dan kesabaran serta memberi dorongan, doa, dan semangat di setiap saat.
13. Istriku yang tercinta Bau Indah Aulyan Syah, anak-anakku Akhmad Ziyad Athallah, Muhammad Dhafa Syah Reza, Muhammad Nizam Al Fatih dan Misha Shafana Salsabila yang dengan penuh cinta, pengorbanan dan

kesabaran selalu mendorong dan memberi semangat dalam menyelesaikan Pendidikan.

14. dr. Johan Gomar Gama, SpB, Subsp. Onk (K), dr. Fery Andy Christian Purba, SpB, Subsp. Onk (K), dr. Adhyatma Jaya Ningrat, M. Kes, SpB, Subsp. Onk (K), dr. Jauhari Deslo A.W, SpB, Subsp. Onk (K), dr. Muhamad Ikhlas, M.Kes. SpB, Subsp. Onk (K) sebagai senior trainee yang memberi bimbingan dalam menjalani pendidikan, juga kepada dr. Irvan Tanriliwang, Sp.B, dr. Faisal L. Bawanong, Sp.B, M. Kes , dr. Yusfitaria Alvina, Sp. B, MARS, M. Kes, dr. Muhammad Tontowi Jauhari, SpB, dr. San Winata Badiri, SpB, dr. Andhini Laila Ramadhani, SpB, dr. Vannes Caesar Palebangan, SpB, dr. Deasy Riefma, SpB, dr. Frenando Taberima, SpB, dr. Annisa Verawaty, SpB, dr. Erwin Ariyanto Patabang, SpB, dr. Herlina L. Dinge, SpB, dr. Fahrizal Maradjabessy, SpB, dan dr. Rachmad Meyliandry Putra, SpB. sebagai rekan-rekan trainee dalam semangat kebersamaan, kerjasama dan kekompakan.

15. Ibu Enny dan Ibu Lina sebagai sekretaris Divisi Bedah Onkologi FK UNHAS

16. Seluruh teman sejawat, keluarga besar Residen Bedah, paramedis, dan karyawan di lingkungan Bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, RS Wahidin Sudirohusodo Makassar, RS Unhas dan RS jejaring lainnya yang telah banyak membantu dan jalinan kerjasama yang baik selama masa pendidikan maupun selama menyelesaikan penelitian ini.

17. Segenap pasien yang berjuang melawan kanker, yang telah banyak membantu saya dalam pendidikan ini.

18. Semua pihak yang telah membantu dalam kelancaran penelitian ini, terima kasih yang tulus saya ucapkan

Saya mohon maaf yang sebesar-besarnya dari lubuk hati yang terdalam bilamana selama mengikuti pendidikan telah bersikap dan bertindak yang tidak berkenan di hati. Kiranya karya akhir ini dapat menjadi sumbangan yang bermanfaat untuk meningkatkan pelayanan dan penelitian di bidang Bedah Onkologi khususnya para penderita yang sedang berjuang melawan kanker.

Makassar, Maret 2024

Penulis

Abd. Rahman

ABSTRAK

Pendahuluan: Kanker payudara (KPD) memang menjadi masalah kesehatan yang serius. Kemoterapi neoadjuvan merupakan salah satu terapi yang penting dalam penanganan KPD, namun masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi biomarker yang dapat membantu dalam memprediksi kemanjuran terapi tersebut. Beberapa peneliti menyimpulkan bahwa neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) dapat menjadi faktor prediktor respon terhadap kemoterapi neoadjuvan. Penelitian menemukan bahwa tumor associated neutrophil (TAN) yang tinggi dapat diidentifikasi sebagai biomarker prognostik yang buruk pada berbagai jenis tumor. Penelitian ini untuk menganalisis hubungan ekspresi TAN dan NLR dengan respon klinis kemoterapi neoadjuvan pada KPD stadium lanjut lokal

Metode Penelitian: Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan cohort. Ekspresi TAN diperiksa dengan pemeriksaan imunohistokimia, NLR diperoleh dari pemeriksaan darah rutin dan respon kemoterapi dinilai menggunakan metode RECIST. Hubungan ekspresi TAN dan NLR dengan respon kemoterapi pada KPD diuji dengan tes chi square.

Hasil Penelitian: Sampel penelitian ini sebanyak 41 penderita. Pada pemeriksaan TAN didapatkan ekspresi tinggi 80,5% penderita dan ekspresi rendah 19,5% penderita. Pada NLR sebelum kemoterapi, NLR tinggi 48,8%, rendah 21/41(51,2%) dan Nilai NLR sesudah kemoterapi, tinggi 21/41(51,2%), rendah 20/41 (48,8%) penderita. Pada penelitian ini didapatkan yang respon 37/41 (90,2%) dan non respon 4/41 (9,8%) terhadap kemoterapi neoadjuvan. Chi square didapatkan hubungan yang bermakna ($p=0,003$) antara ekspresi TAN dengan respon kemoterapi pada KPD dengan korelasi cukup kuat dengan arah negatif ($r = -.460$, $p = 0.002$). Hasil uji hubungan chi square antara ekspresi TAN dan NLR pada KPD didapatkan hubungan yang tidak bermakna ($p=0,477$ $p=0,098$). Hasil uji hubungan chi square antara nilai NLR dengan respon kemoterapi pada KPD didapatkan hubungan yang tidak bermakna ($p=0,959$, $p=0,959$)

Kesimpulan: Terdapat hubungan ekspresi TAN dengan respon kemoterapi pada KPD. Pentingnya ekspresi TAN sebagai prediktor potensial respons kemoterapi pada KPD lanjut lokal. Dengan mengidentifikasi biomarker seperti TAN, dokter dapat lebih mampu menyesuaikan rencana terapi dan meningkatkan hasil bagi pasien.

Kata Kunci: tumor associated neutrophil, neutrophil to lymphocyte ratio, respon kemoterapi, kanker payudara

ABSTRACT

Introduction: Breast cancer (BC) is a serious health issue. Neoadjuvant chemotherapy (NAC) is an important therapy for BC management, but further research is needed to identify biomarkers that can help predict the efficacy of this therapy. Some researchers have concluded that neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) can be a predictor of response to NAC. Studies have found that high tumor associated neutrophil (TAN) expression can be identified as a poor prognostic biomarker in various types of tumors. This study aims to analyze the relationship between TAN expression and NLR with clinical response to NAC in locally advanced breast cancer (LABC).

Methods: This was a cohort study with 41 patients with BC. TAN expression was examined using immunohistochemistry, NLR was obtained from routine blood tests, and chemotherapy response was assessed using the RECIST method. The relationship between TAN expression and NLR with chemotherapy response in LABC was tested using chi-square tests.

Results: High TAN expression was found in 80.5% of patients and low expression in 19.5% of patients. For NLR before chemotherapy, high NLR was 48.8%, low NLR was 51.2%, and after chemotherapy, high NLR was 51.2%, low NLR was 48.8%. In this study, 37/41 (90.2%) patients responded and 4/41 (9.8%) did not respond to NAC. There was a significant relationship ($p=0.003$) between TAN expression and chemotherapy response in BC with a moderately strong negative correlation ($r = -.460$, $p = 0.002$). No significant relationship between TAN expression and NLR and between NLR values and chemotherapy response in BC showed no significant relationship.

Conclusion: The study emphasizes the importance of TAN expression as a potential predictor of chemotherapy response in LABC. By identifying biomarkers like TAN, clinicians may be better able to customize treatment plans and enhance outcomes for patients with LABC.

Keywords: tumor associated neutrophil, neutrophil to lymphocyte ratio, chemotherapy response, breast cancer.

DAFTAR ISI

SAMPUL.....	i
ABSTRAK.....	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR SINGKATAN	vi
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Kanker Payudara	8
2.2 Kemoterapi	10
2.3 Respon Imun Terhadap Kanker Payudara	17
2.4 Perkembangan Hematopoiesis.....	24
2.5 Peran Neutrofil dan Limfosit pada Kanker Payudara	28
2.6 Rasio Neutrofil dan Limfosit.....	31
2.7 Perekrutan Neutrofil pada Jaringan Tumor	33
2.8 Peran Anti Tumor (N1) dan Pro Tumor Neutrofil (N2).....	36

2.9 Hubungan Ekspresi <i>Tumor Associated Neutrophil</i> (TAN) dan Neutrophil to Lymphocyte (NLR) dengan Kemoterapi Neoadjuvan	41
BAB III. KERANGKA PEMIKIRAN KONSEPTUAL.....	46
3.1 Kerangka Teori	50
3.2 Kerangka Konsep	50
3.3 Hipotesis Penelitian	51
BAB IV. METODE PENELITIAN.....	52
4.1 Rancangan Penelitian	52
4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	52
4.3 Populasi dan Teknik Sampel	52
4.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	53
4.5 Besar Sampel	53
4.6 Definisi Operasional.....	54
4.7 Kriteria Objektif	56
4.8 Cara Pengumpulan dan Metode Pemeriksaan	57
4.9 Alur Penelitian	60
4.10 Analisis Data	61
4.11 Ethical Clearance	61
BAB V. HASIL PENELITIAN	62
5.1 Jumlah Sampel	62
5.2 Karakteristik Sampel	62
5.3 Penentuan Cut Off NLR	65

5.4 Uji Analisis Normalitas	67
5.5 Profil Nilai NLR dan Respon Kemoterapi pada Kanker Payudara	69
5.6 Profil Ekspresi TAN pada Kanker Payudara	69
5.7 Analisis Uji Hubungan Ekspresi TAN dengan NLR pre dan post Kemoterapi Neoadjuvan	70
5.8 Analisis Uji Hubungan Ekspresi TAN dengan Respon Kemoterapi Neoadjuvan pada Kanker Payudara Stadium Lanjut Lokal	71
5.9 Analisis Uji Hubungan NLR dengan Respon Kemoterapi Neoadjuvan pada Kanker Payudara Stadium Lanjut Lokal	73
5.10 Analisis Uji Hubungan Ekspresi TAN, NLR dengan Respon Kemoterapi Neoadjuvan pada Kanker Payudara	75
BAB VI. PEMBAHASAN	
6.1 Pemilihan Desain Penelitian	77
6.2 Karakteristik Klininopatologis Sampel	77
6.3 Hubungan Ekspresi TAN, NLR dengan Respon Kemoterapi	84
6.4 Keterbatasan dan Kekuatan Penelitian	90
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	92
DAFTAR PUSTAKA	93
LAMPIRAN	102

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kriteria Respon Kemoterapi WHO dan RECIST.....	13
Tabel 2. Karakteristik Sampel	62
Tabel 3. Koordinat kurva ROC	65
Tabel 4. Uji Normalitas NRL	67
Tabel 5. Uji Perbandingan NLR Pre vs Post Kemoterapi	68
Tabel 6. Profil Nilai NLR Pre dan Post Kemoterapi Neoadjuvan pada Kanker Payudara Stadium Lanjut Lokal	69
Tabel 7. Profil Ekspresi TAN pada Kanker Payudara Stadium Lanjut Lokal....	69
Tabel 8. Hubungan Ekspresi TAN dengan NLR Kanker Payudara Stadium Lanjut Lokal.....	70
Tabel 9. Hubungan Ekspresi TAN dengan Respon Kemoterapi Neoadjuvan pada Kanker Payudara Stadium Lanjut Lokal	72
Tabel 10. Hubungan Nilai NLR dengan Respon Kemoterapi Neoadjuvan pada Kanker Payudara Stadium Lanjut Lokal	74
Tabel 11. Hubungan Ekspresi TAN, NLR, dan Respon Kemoterapi Neoadjuvan pada kanker payudara stadium lanjut lokal	76

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mekanisme kerja doxorubicin	13
Gambar 2. Mekanisme kerja Docetaxel	15
Gambar 3. Mekanisme kerja Siklofosamid	16
Gambar 4. Tumor-associated immune cells pada lingkungan mikro tumor kanker payudara	20
Gambar 5. Sistem Imunitas Kanker	21
Gambar 6. Karakteristik Sel Kanker	23
Gambar 7. Perkembangan Hematopoiesis	24
Gambar 8. Faktor yang mendorong perekrutan neutrofil ke dalam tumor.....	33
Gambar 9. Neutrofil dalam Sumsum Tulang dan Sirkulasi	34
Gambar 10. Polarisasi N1 dan N2 TAN dan Aktivasinya	35
Gambar 11. Fungsi Pro Tumor dan Anti Tumor dari Neutrofil Terpolarisasi	36
Gambar 12. Skema Peran Pro Tumor Neutrofil	39
Gambar 13. Strategi Terapi untuk Penargetan Neutrofil Kanker	43
Gambar 14. Immunohistokimia TAN pada Invasive Ductal Carcinoma.....	45
Gambar 15. Kerangka Teori	50
Gambar 16. Kerangka Konsep	50
Gambar 17. Alur Penelitian	60
Gambar 18. Ekspresi TAN	64
Gambar 18. Analisa ROC NLR	65

DAFTAR SINGKATAN

AJCC	American Joint Committee on Cancer
APC	Antigen Presenting Cell
AUC	Area under curve
ARG1	Arginase1
BCT	<i>Breast Conserving Treatment</i>
BIRC3	Baculoviral IAP repeat containing 3
BRCA-1	Breast Cancer Gene 1
BRCA-2	Breast Cancer Gene 2
CCL2	C-C motif chemokine ligand 2
CD	Cluster of Differentiation
CEA	Carcinoembryonic Antigen
CEACAM8	Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 8
CTL	Cytotoxic T lymphocyte
CT SCAN	Computerised Tomography Scan
CXCL1	C-X-C motif chemokine ligand 1
CXCL2	C-X-C motif chemokine ligand 2
CXCL5	C-X-C motif chemokine ligand 5
CXCR2	C-X-C Motif Chemokine Receptor 2
DAMPs	Damage-associated molecular patterns
DFS	Disease Free Survival
DNA	Deoxyribonucleic Acid
ECM	Extracellular matrix
ELA2	Elastase
ER	Estrogen Receptor
EMT	Epithelial Mesenchymal Transition
FNAB	Fine Needle Aspiration Biopsy
G-CSF	Granulocyte colony stimulating factor
GLOBOCAN	Global Cancer Observatory
GM-CSF	Granulocyte macrophage colony stimulating factor
HDN	High density neutrophils
HIF1	Hypoxia inducible factor-1
HNSCC	Head and Neck Squamous Cell Carcinoma
HER2	Human Epidermal Growth Factor Receptor-2

HSC	Hematopoietic stem cells
huGCP-2	Human granulocyte chemotactic protein-2
HOCl	Hypochlorous acid
ICAM1	Intercellular cell Adhesion Molecule-1
ICD	International Classification of Diseases
IFN- β .	Interferon- β .
IHC	Immunohistokimia
IL-2	Interleukin-2
IL-6	Interleukin-6
IL-10	Interleukin-10
iNOS	Inducible nitric oxide synthase
IRF8	Interferon regulatory factor 8
IRS1	Insulin receptor substrate-1
JAK	The Janus kinase
KPD	Kanker Payudara
LABC	Local advanced breast cancer
LDN	Low-density neutrophils
MHC	Major Hystocompatibility Complex
MMP-9	Matrix Metalloproteinase-9
MPO	Myeloperoxidase
MRI	Magnetic Resonance Imaging
RNA	Ribonucleic Acid
MDSC	Myeloid derived suppressor cells
MIP1	<i>Macrophage inflammatory protein-1</i>
NAC	Neoadjuvant chemoteraphy
NK	Natural killer
NLR	Neutrophil to Lymphocyte Ratio
NSCLC	Non-small cell lung cancer
OS	Overall survival
PA	Patologi Anatomi
PAMPs	Pathogen-associated molecular patterns
pCR	Pathological Complete Response
PDGF	Platelet derived growth factor
PET SCAN	Positron Emission Tomography Scan
PFS	Progression Free Survival
	Phosphoinositide 3-kinase

PI3K	Polimorfonuklear
PMN	Progesteron Reseptor
PR	Response evaluation criteria in solid tumor
RECIST	Recurrence-free survival
RFS	Receiver operating characteristic
ROC	Reactive oxygen species
ROS	Reactive nitrogen species
RNS	Signal transducer and activator of transcription 3
STAT3	Tumor infiltrating lymphocytes
TILS	Tissue mesenchymal transition metalloproteinase-1
TIMP-1	
TNBC	Triple Negatif Breast Cancer
TAM	Tumor associated macrophage
TAN	Tumor Associated Neutrophil
TGF- β	Transforming growth factor- β
TME	Tumor microenvironment
TNM	Tumor Node Metastasis
TNF- α	Tumor necrosis factor- α
TNF- β	Tumor necrosis factor- β
USG	Ultrasonografi
VEGF	Vascular endothelin growth factor
WHO	World Health Organization

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Kanker payudara pada wanita sampai saat ini masih menjadi masalah kesehatan global dan merupakan kanker urutan pertama insidens terbanyak yang telah melampaui kanker paru. Data GLOBOCAN (2020), diperkirakan lebih 2,3 juta (11,7%) kasus baru dari semua kasus kanker diikuti kanker paru sebesar 2,2 juta (11,4%). Sebagai penyebab utama kelima kematian akibat kanker di seluruh dunia, dengan angka kematian yang masih relatif tinggi yaitu sekitar 684.996 (6,9%) kasus kematian (Sung, et al, 2021).

Di Indonesia kanker payudara pada wanita menempati urutan pertama dengan jumlah kasus 65.858 (30,8%) setelah kanker serviks sebesar 17,2%. Perkiraan insidens kanker payudara di Indonesia sebesar 50 per 100.000 wanita. Tingkat jumlah kasus baru 16,6% dan tingkat kematian sebesar 9,8% di Indonesia akibat KPD dan cenderung tinggi dibandingkan dengan negara-negara ASEAN dan sekitarnya (Sung H, et al. 2021). Di Indonesia KPD datang berobat sebagian besar dalam stadium lanjut, 63% stadium III dan IV saat didiagnosis. Data di RS Wahidin Sudirohusodo Makassar, penderita KPD yang datang berobat dari tahun 2005-2009 sebanyak 768 pasien, dengan rata-rata 153 pasien pertahunnya, dengan puncak frekuensi usia 40-49 tahun sebesar 39,4%.

Terdapat kecenderungan peningkatan insiden KPD dari 136 pasien pada tahun 2005 hingga 165 pasien pada tahun 2009 (Sampepajung D, 2010). Prihantono et al.,(2022) melaporkan di RS Wahidin Sudirohusodo Makassar sejak Januari 2002-Desember 2019, kanker payudara adalah kanker solid yang tertinggi 1008 penderita (12,9%). (Prihantono et al., 2023) Hal ini sesuai dengan beberapa literatur bahwa baik negara berkembang maupun negara maju, insidens KPD dari tahun ke tahun cenderung semakin meningkat.

Kemoterapi neoadjuvan sebagai kemoterapi sistemik pra operasi telah menjadi pengobatan standar pada kanker payudara stadium lokal lanjut dan terapi pilihan pada kanker payudara stadium dini yang operable. Tujuan utama kemoterapi neoadjuvan adalah untuk mengurangi ukuran tumor (*downsizing*), mencegah mikro metastasis, menilai respons kemoterapi dan meningkatkan tingkat konservasi payudara (Peng Y.,et.al.2020, Chen L,2020, Dong X, et al. 2020).

Faktor prediktif terhadap respon kemoterapi neoadjuvan pada beberapa studi saat ini menunjukkan tidak ada yang konsisten seperti usia, ukuran tumor, tipe histopatologis, tingkat histologis, status reseptor hormon (ER dan PR), faktor proliferasi (HER2/NEU dan Ki-67), dan penanda inflamasi. (Cianfrocca M. 2004, Chen J, 2015, Sudarsa I.,2016)

Sistem imun memiliki peran penting dalam respons kemoterapi pada kanker payudara. (Kresna SB., 2012, Graziano V. et al. 2019, Yang, et.al, 2020). Infiltrasi neutrofil yang tinggi berhubungan dengan agresivitas kanker dan resistensi terapeutik. *Neutrophil to lymphocyte ratio* (NLR) berhubungan dengan kemosisensitivitas. Beberapa peneliti menyimpulkan NLR dapat menjadi faktor prediktor respon kemoterapi neoadjuvan (Chen, 2016). NLR tinggi sebelum mendapatkan kemoterapi akan mempunyai respon yang buruk terhadap kemoterapi neoadjuvan dan juga prognosis yang buruk. (Kimet al. 2019, Corbeau, Jacot, Guiu, 2020)

Beberapa penelitian membuktikan NLR tinggi menunjukkan resistensi yang tinggi terhadap obat kemoterapi dan NLR rendah menunjukkan hasil yang menguntungkan setelah kemoterapi neoadjuvan berbasis antrasiklin pada *triple negatif breast cancer* (TNBC). (Uribe-Querol E, Rosale C., 2015, Asano Y., et al.,2016, Wu L., et.al. 2019,). NLR tinggi berhubungan respon klinik kemoterapi yang negatif. Terdapat hubungan yang signifikan antara NLR dengan respons klinis kemoterapi neoadjuvan berbasis antrasiklin pada *local advanced breast cancer* (LABC) onset dini (Sudarsa, I. et al. 2016)

Tumor associated neutrophil (TAN) lebih tinggi menunjukkan respon yang lebih baik terhadap kemoterapi berbasis 5-FU pada kanker kolorektal (Galdiero et al., 2016). Penelitian lain, TAN yang tinggi diidentifikasi sebagai biomarker prognostik hasil klinis yang buruk di beberapa tumor ganas seperti karsinoma sel ginjal, melanoma, karsinoma hepatoseluler, karsinoma paru, glioma, HNSCC, adenokarsinoma, dan kanker kolon (Geng SK.at al.,2021). Wang Y. et al. (2019) juga mengungkapkan bahwa neutrofil dalam parenkim tumor merupakan faktor independen untuk prognosis buruk pada payudara

kanker (Wang Y, et al., 2019) Shaul et.al (2017) berhipotesis neutrofil tumor berperan penting dalam menjaga keseimbangan antara aktivasi dan supresi sistem kekebalan pada kanker (Shaul ME, Fridlender ZG, 2017). Gentles et al. melaporkan TAN tinggi menyebabkan overall survival (OS) rendah (Wu L et al., 2020).

Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) yang tinggi sebelum kemoterapi secara tidak konsisten dikaitkan dengan respon yang lebih buruk terhadap kemoterapi neoadjuvan dan dengan prognosis yang buruk dari berbagai jenis kanker, termasuk kanker payudara (Corbeau I, 2020).

Penelitian meta analisis menunjukkan, NLR telah dibuktikan sebagai biomarker prognostik pada kanker payudara. Namun demikian, efikasi biomarker ini dalam memprediksi *pathological complete response* (pCR) dan kelangsungan hidup pada pasien kanker payudara yang telah mendapat kemoterapi neoadjuvan masih kontroversial (Zhou Q, 2021).

Neutrofil dan limfosit memiliki peran yang spesifik terjadinya inflamasi akibat kanker. Efek anti tumor dimediasi oleh sitotoksik limfosit T, tingginya nilai limfosit dianggap sebagai marker prognosis yang baik. Neutrofil sebagai biomarker utama inflamasi pada kanker. Neutrofil menghasilkan sitokin interleukin-2 (IL-2), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) dan *vascular endothelin growth factor* (VEGF) yang berperan dalam perkembangan sel kanker. Neutrofil dapat menekan aktifitas dari sel T sitotoksik yang menyebabkan metastasis tumor. (Kresno SB., 2012, Querol EU, Rosales C., 2015, Vano, et.al. 2018, Peng Y., et.al. 2020)

Jadi masih terdapat kontroversi mengenai indikator terbaik untuk memprediksi kemanjuran kemoterapi neoadjuvan pada kanker payudara. Oleh

karena itu, perlu adanya identifikasi biomarker yang lebih baik untuk mengoptimalkan terapi kanker payudara. Meskipun terdapat bukti ilmiah telah mendukung biomarker radang, namun terdapat laporan kontroversi tentang biomarker mana yang memberikan prediksi terbaik untuk efikasi kemoterapi neoadjuvan pada kanker payudara, termasuk peran NLR sebagai biomarker pasien kanker payudara yang menjalani kemoterapi neoadjuvan masih belum jelas. (Peng Y, et al 2020, Zhou Q et.al., 2021). NLR merupakan pemeriksaan rutin, murah dan mudah dilakukan sehingga dapat digunakan sebagai petanda klinis yang sederhana. Penggunaan NLR mungkin sangat berguna, terutama di negara-negara terbelakang dan berkembang, di mana efisiensi biaya layanan perawatan kesehatan diperlukan. Sebagian besar penelitian fungsi neutrofil pada tumor dilakukan pada neutrofil sirkulasi dengan asumsi bahwa neutrofil dalam sirkulasi mirip dengan neutrofil intra-tumor (Massuci MT., et.al.,2019).

Oleh karena alasan tersebut di atas kami sangat tertarik untuk meneliti hubungan ekspresi *tumor associated neutrophil* (TAN) dan nilai *neutrophil to lymphocyte ratio* (NLR) terhadap respon klinis kemoterapi neoadjuvan pada kanker payudara stadium lanjut lokal di Makassar. Beberapa pertimbangan kami adalah: 1. Kasus kanker payudara di Makassar cukup banyak dan paling banyak ditemukan pada stadium lanjut lokal, 2. Pemeriksaan *tumor associated neutrophil* (TAN) dan *neutrophil to lymphocyte ratio* (NLR) dapat dilakukan di RS Wahidin Sudirohusodo dan RS Universitas Hasanuddin. dan 3. Sepengetahuan kami, penelitian ini belum pernah dilakukan di Makassar.

1.2. RUMUSAN MASALAH

Peran biomarker *tumor associated neutrophil* (TAN) pada kanker payudara belum diketahui sepenuhnya. *Neutrophil-lympocyte ratio* (NLR) masih menjadi kontroversi sebagai biomarker dalam respon kemoterapi dan kelangsungan hidup pasien kanker payudara yang menerima kemoterapi neoadjuvan. Berdasar hal tersebut di atas dirumuskan masalah sebagai berikut :

- 1.2.1. Apakah terdapat hubungan ekspresi *tumor associated neutrophil* (TAN) dengan nilai *neutrophil to lymphocyte ratio* (NLR) pada kanker payudara stadium lanjut lokal?
- 1.2.2. Apakah terdapat hubungan ekspresi *tumor associated neutrophil* (TAN) dengan respon klinis kemoterapi pada kanker payudara stadium lanjut lokal?
- 1.2.3. Apakah terdapat hubungan nilai *neutrophil to lymphocyte ratio* (NLR) sebelum dan sesudah kemoterapi neoadjuvant dengan respon klinis kemoterapi pada kanker payudara stadium lanjut lokal?
- 1.2.4. Apakah terdapat hubungan ekspresi *tumor associated neutrophil* (TAN), nilai *neutrophil to lymphocyte ratio* (NLR) dengan respon klinis kemoterapi neoadjuvan pada kanker payudara stadium lanjut lokal?

1.3. TUJUAN PENELITIAN

1.3.1. Tujuan Umum

Menganalisis hubungan ekspresi *tumor associated neutrophil* (TAN) dan nilai *neutrophil to lymphocyte ratio* (NLR) dengan respon klinis kemoterapi neoadjuvan pada kanker payudara stadium lanjut lokal?

1.3.2. Tujuan Khusus

- 1.3.2.1. Diketuinya hubungan ekspresi *tumor associated neutrophil* (TAN) dan nilai *neutrophil to lymphocyte* (NLR) pada kanker payudara stadium lanjut lokal

1.3.2.2. Diketuahuinya hubungan ekspresi *tumor associated neutrophil* (TAN) dengan respon kemoterapi pada kanker payudara stadium lanjut lokal.

1.3.2.3. Diketuahuinya hubungan nilai *neutrophil to lymphocyte ratio* (NLR) sebelum dan sesudah kemoterapi dengan respon kemoterapi pada kanker payudara stadium lanjut lokal.

1.3.2.4. Diketuahuinya hubungan ekspresi *tumor associated neutrophil* (TAN) dan nilai *neutrophil to lymphocyte ratio* (NLR) dengan respon kemoterapi pada kanker payudara stadium lanjut lokal.

1.4. MANFAAT PENELITIAN

1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu

- a. Menambah pengetahuan tentang faktor prediktif dan respon imun terhadap tumor serta implikasi klinis pada kanker payudara.
- b. Memberikan kontribusi ilmiah peran ekspresi *tumor associated neutrophil* (TAN) dan nilai *neutrophil to lymphocyte ratio* (NLR) terhadap respon klinis kemoterapi neoadjuvan pada kanker payudara.
- c. Dapat digunakan sebagai bahan referensi bagi penelitian lanjutan atau penelitian lainnya terkait ekspresi *tumor associated neutrophil* (TAN) dan nilai *neutrophil to lymphocyte ratio* (NLR) terhadap respon klinis kemoterapi neoadjuvan pada kanker payudara.

1.4.2 Manfaat Aplikasi Pelayanan klinis

- a. Dapat digunakan sebagai salah satu faktor prediktif tambahan pada penderita kanker payudara
- b. Dapat dipakai sebagai acuan teori maupun teori penunjang dalam pengobatan kanker payudara dalam hal ini imunoterapi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 KANKER PAYUDARA

Kanker payudara adalah suatu penyakit neoplasma ganas yang dapat terjadi pada sistem duktal, sistem lobular dan jaringan stroma payudara, serta dapat menyebar secara infiltratif, melalui aliran limfe maupun melalui aliran darah (Desen Wan,2011).

Kanker payudara adakalanya merupakan kanker payudara campuran, terdiri dari beberapa jenis morfologi sekaligus. Namun prinsip klasifikasi patologik lazimnya memberikan nama atas dasar komponen yang dominan. Gambaran histopatologis dari kanker payudara dibedakan menjadi 21 tipe dengan beberapa subtype. (WHO, 2003) Kebanyakan kanker payudara adalah adenokarsinoma, diantara yang paling sering adalah tipe invasif ductal (80%), invasif lobuler (5-10%), tubuler (2%), meduller (5-7%) dan musinosa (3%). Sifat dan perkembangannya dibedakan menjadi karsinoma insitu dan invasif (Sukardja, 2000).

Kanker payudara masih menjadi masalah kesehatan global hingga saat ini, terutama pada wanita dimana jumlah insidensinya adalah terbanyak dari seluruh jenis kanker disusul oleh kanker paru. Data Globocan (2020), diperkirakan dari sekitar 19,2 juta kasus baru kanker secara keseluruhan, insidensi kanker payudara adalah yang terbanyak (2,26 juta; 11,7%) diikuti kanker paru (2,20 juta; 11,4%) dan kanker kolorektal (1,9 juta; 10%). Angka mortalitasnya menempati urutan ke-5 sebagai penyebab kematian akibat kanker keseluruhan (684.996 kematian; 6,9%) setelah kanker paru, kolorektal, hati dan lambung. Namun pada wanita, angka mortalitas KPD menempati urutan pertama

yakni sebesar 15,0%. Di negara yang sedang berkembang KPD menduduki peringkat pertama sebagai penyebab kematian, di negara yang lebih maju KPD menjadi penyebab kematian peringkat kedua setelah kanker paru. Hal ini dikarenakan lebih dari 50% KPD terutama di negara-negara dengan pendapatan perkapita rendah-sedang, didiagnosis pada stadium lanjut. (Sung H,2021)

Sistim staging atau stadium dari kanker adalah usaha untuk membatasi tingkatan kanker terhadap prediksi hasil luaran. Idealnya menghasilkan distribusi yang merata terhadap proses outcomenya dari stadium rendah hingga stadium tinggi. Dalam prakteknya, distribusi yang merata biasanya tidak memungkinkan karena heterogenitas dari kanker dan multiple kombinasi dari faktor-faktor yang berperan dalam hasil luaran. Karena hal tersebut sistem staging selalu direvisi secara kontinyu oleh *American Joint Committee on Cancer (AJCC)*.

Sistem staging secara TNM (Tumor, Node dan Metastasis jauh) menurut AJCC 2018, edisi 8 digunakan untuk menetapkan status dari tumor primer, kelenjar limfe dan ada tidaknya metastase jauh. Secara umum dibagi empat stadium pada pasien kanker payudara dan dapat digunakan sebagai kesatuan dari outcomenya. Stadium I kanker payudara mempunyai disease-free survivalnya sekitar 80% saat ini. Stadium II merupakan grup yang heterogen, tetapi bernilai 50%-60% pada saat ini. Stadium III kanker payudara juga heterogen tetapi memiliki free survivalnya saat ini sekitar 30%-40%. Terakhir, hampir semua pasien dengan metastasis akan meninggal dengan kelainan ini, mayoritas wanita dengan stadium IV akan meninggal dalam 2 tahun pengamatan. (Prosnitz LR, 2001, Achmad, et al. 2023)

Penanganan kanker payudara sangat individual (tailoring therapy). Berbagai penelitian di bidang onkologi (baik genomik, transkriptomik,

metabolomik dan proteomik), perkembangan peralatan (baik diagnostik dan terapi) serta penemuan obat baru banyak berperan dalam penanganan kanker payudara. Pembedahan tetap menjadi modalitas utama dengan berbagai inovasi dalam teknik mastektomi.

Penanganan KPD dibagi atas 2 bagian yaitu terapi lokoregional dan sistemik. Terapi lokoregional berupa mastektomi dan lumpektomi diikuti radiasi (*Breast Conserving Therapy*, BCT). Sedangkan terapi sistemik meliputi terapi hormonal, kemoterapi, terapi target dan imunoterapi yang masih dalam tahap uji klinis. Berdasarkan profil ekspresi gen, yang dikemukakan Perou, dkk, KPD dikelompokkan atas 4 subtipe intrinsik, yaitu luminal A, luminal B, HER2 dan basal-like. (Menen, Teshome, 2019) Oleh karena profil ekspresi gen tidak selalu dapat dilakukan, maka hal lebih sederhana yang dapat diterima secara luas adalah pemeriksaan ekspresi protein pada membran sel melalui panel imunohistokimia estrogen reseptor, progesteron reseptor, HER2 (Cheang et al., 2009). Hasil konsensus para ahli pada Konferensi Internasional St. Gallen ke-15 (2017), menyepakati suatu pedoman terapi sistemik berdasarkan klinikopatologi dan risiko genetik dalam penanganan KPD stadium dini (Curigliano G et al., 2017).

2.2 KEMOTERAPI

Kemoterapi memiliki beberapa tujuan berbeda, yaitu kemoterapi kuratif, kemoterapi adjuvant, kemoterapi neoadjuvan, kemoterapi paliatif dan kemoterapi investigatif. Kemoterapi neoadjuvan adalah kemoterapi yang dilakukan sebelum operasi atau radioterapi. Kanker terlokalisir tertentu hanya dengan operasi atau radioterapi sulit mencapai ketuntasan, jika terlebih dahulu kemoterapi 2-3 siklus dapat mengecilkan tumor, memperbaiki pasokan darah,

berguna bagi pelaksanaan operasi dan radioterapi selanjutnya. Pada waktu bersamaan dapat diamati respons tumor terhadap kemoterapi dan secara dini menterapi lesi metastatik subklinis yang mungkin terdapat. (Desen W.,2008)

2.2.1 Indikasi dan Tujuan Kemoterapi

Beberapa karakteristik pasien dan tumor yang merupakan indikasi diberikannya kemoterapi diantaranya adalah ukuran tumor, jenis histopatologi, grading tumor, dan subtipe intrinsik. Sementara status kelenjar getah bening aksila dan ekspresi reseptor hormon juga penting untuk dipertimbangkan. Usia pasien, komorbiditas dan status penampilan mereka memainkan peran penting dalam menentukan perlu tidaknya diberikan kemoterapi. (Vincent T. De Vita, 2008) Tujuan dari kemoterapi adalah untuk meningkatkan hasil pengobatan, yang dapat dinilai berdasarkan *overall survival* (OS) dan *disease free survival* (DFS). (Vincent T. De Vita, 2008)

2.2.2 Kemoterapi Neoadjuvan

Kemoterapi neoadjuvan umumnya direkomendasikan untuk kanker payudara stadium 2, 3 atau stadium 1 pada yang berisiko tinggi. Mengingat peningkatan survival yang diamati dengan kemoterapi neoadjuvan, peneliti dari NSABP yang dipimpin oleh Dr. Bernard Fisher mempunyai hipotesis bahwa, dibandingkan dengan adjuvan kemoterapi, administrasi rejimen yang sama dalam pengaturan neoadjuvan akan meningkatkan survival dan eliminasi mikrometastase.

Kemoterapi neoadjuvan telah ditetapkan sebagai strategi pengobatan standar kanker payudara stadium lanjut lokal dimana strategi ini memungkinkan pasien untuk mendapatkan keuntungan penurunan radikalitas

operasi dan menyediakan informasi mengenai respon tumor terhadap obat kemoterapi. (Rastogi P. et al., 2008)

2.2.3 Evaluasi Kemoterapi

Setelah memulai terapi neoadjuvan, penilaian respon terapi secara klinis dan radiologis oleh tim onkologi multidisiplin sangatlah penting. Penyusutan ukuran tumor (respon obyektif) dan waktu perkembangan penyakit adalah target penting dalam uji klinis kanker. (Eisenhauer E., et al., 2009)

Dengan mengetahui respon terapi, mereka yang memiliki respon baik terhadap kemoterapi harus melanjutkan rencana pengobatan yang telah digariskan. Pasien dengan penyakit progresif, dilakukan transisi ke rejimen non-resisten silang atau melanjutkan dengan intervensi bedah untuk penyakit yang operabel. (Engstrom et al., 2013) Penilaian respon obyektif dengan pengukuran pengecilan diameter tumor terhadap kemoterapi neoadjuvan dapat melalui metode *World Health Organization (WHO)* atau metode *Response evaluation criteria in solid tumor (RECIST)*. (Eisenhauer E., et al., 2009)

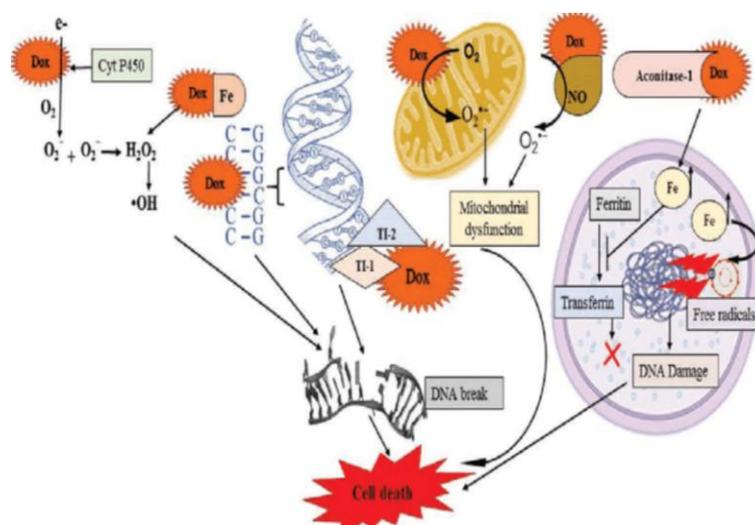
KRITERIA RESPON	WHO	RECIST
Complete Response	Hilangnya tumor paling sedikit 4 minggu dalam pemeriksaan 2x berturut-turut	Hilangnya tumor paling sedikit selama 4 minggu
Partial Response	Pengecilan ukuran (volume) tumor $\geq 50\%$ paling kurang 4 minggu, tidak terdapat lesi baru atau progresi penyakit.	Pengecilan ukuran diameter maksimum tumor $\geq 30\%$, tidak ada lesi baru, tidak ada progresi

Stable disease	Pengecilan ukuran (volume) tumor tidak sampai 50% atau bila terjadi peningkatan ukuran (volume) tumor tidak melebihi 25%	Pengecilan ukuran diameter maksimum tumor <30% atau membesar < 20% pada satu periode tertentu
Progressive disease	Membesarnya diameter maksimum tumor \geq 25% atau timbulnya tumor pada tempat baru	Membesarnya diameter maksimum tumor \geq 20% atau timbulnya tumor pada tempat baru

Tabel 1: Kriteria Respon Kemoterapi WHO dan RECIST (Eisenhauer et al., 2009)

2.2.4 ANTHRASIKLIN (DOXORUBICIN)

Pada tahun 1980-an regimen berbasis doxorubicin menetapkan diri sebagai kelas utama kemoterapi yang digunakan dalam pengobatan kanker payudara stadium awal dan lanjut. (Westerblad et al., 2011).



Gambar 1. Mekanisme kerja doxorubicin

Mekanisme kerja doxorubicin sebagai agen sitotoksik yaitu :

1. Menghambat kerja enzim topoisomerase II
2. Menghambat sintesis DNA dan RNA dengan cara interkalasi DNA

3. Membentuk radikal bebas semiquinon dan radikal bebas oksigen melalui proses yang berikatan dengan besi dan proses reduktif yang diperantai enzim. Mekanisme radikal bebas inilah yang diketahui bertanggungjawab pada kardiotoxicitas. (Westerblad et al., 2011).

Regimen berbasis Anthrasiklin paling sering digunakan dalam pemberian kemoterapi neoadjuvan, namun hanya sebagian kecil penderita dapat mencapai pCR dan sebagian menunjukkan resistensi. (Yao et al., 2011)

Mekanisme resistensi terjadi melalui:

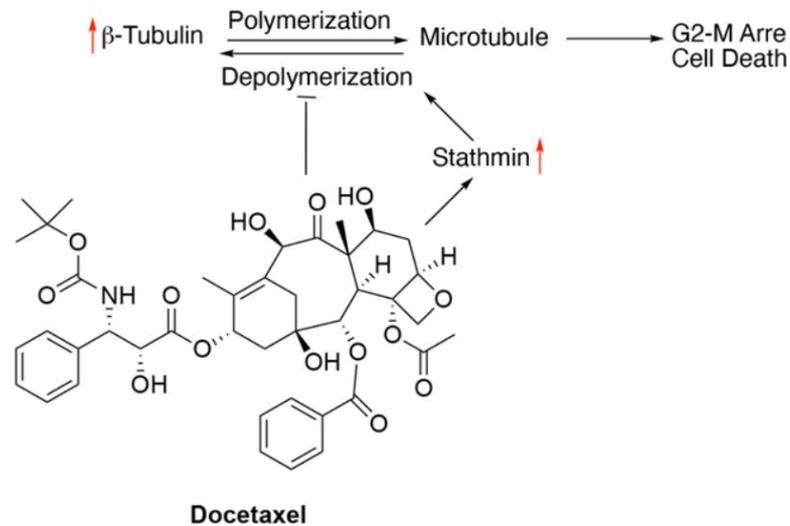
- Peningkatan ekspresi gen yang resisten terhadap berbagai obat dengan peningkatan P170, yang menyebabkan peningkatan pengeluaran obat dan penurunan akumulasi obat intraseluler.
- Penurunan ekspresi topoisomerase II.
- Mutasi pada topoisomerase II dengan penurunan afinitas pengikatan doksorubisin.

Peningkatan ekspresi protein sulfhidril, termasuk glutathione dan protein yang bergantung pada glutathione. (Yao et al., 2011) Anthrasiklin telah menjadi tulang punggung kemoterapi selama 30 tahun terakhir dan telah digunakan secara luas. Namun doxorubicin mempunyai toksisitas akumulasi (dosis akumulasi 450–550mg/m³) jangka panjang berupa disfungsi jantung, myelodisplasia, dan leukemia. (Press et al., 2011)

Tantangan yang dihadapi dalam pemakaian regimen kemoterapi adalah memilih pasien yang tepat dengan efek samping yang minimal dan menghindari pemberian obat yang tidak efektif. Kemampuan untuk memprediksi respon tumor bisa

membantu untuk memilih kemoterapi yang paling tepat dan pemilihan regimen yang ditargetkan untuk karakteristik molekuler tertentu. (Denkert et al., 2011)

2.2.5 DOCETAXEL



Gambar 2. Mekanisme kerja Docetaxel

Mekanisme aksi :

- Merupakan Taxane semisintetik yang berasal dari jarum pohon yew Eropa.
- Pengikatan afinitas tinggi ke mikrotubulus meningkatkan polimerisasi tubulin.
- Proses dinamis normal jaringan mikrotubulus terhambat, menyebabkan penghambatan mitosis dan pembelahan sel.
- Agen spesifik siklus sel dengan aktivitas pada fase mitosis (M).

Mekanisme resistensi :

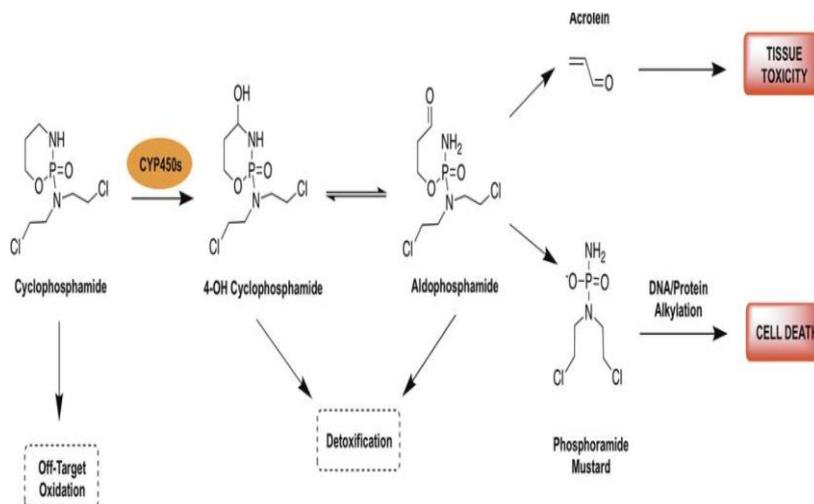
- Perubahan tubulin, dengan penurunan afinitas terhadap obat.
- Fenotipe yang resistan terhadap berbagai obat (MDR-1) dengan peningkatan ekspresi P170 glikoprotein. Hasil dalam penghabisan obat ditingkatkan dengan penurunan intraseluler akumulasi obat. Tahan silang terhadap produk alami lainnya, termasuk vinca alkaloid, anthracyclines, taxanes, dan etoposide.

Penyerapan: Agent ini diberikan hanya melalui rute intravena.

Distribusi: Obat ini didistribusikan secara luas ke seluruh jaringan tubuh. Pengikatan yang luas (>90%) ke plasma dan protein seluler.

Metabolisme: Obat ini dimetabolisme secara luas oleh sistem mikrosomal P450 hati. Sekitar 75% dari obat diekskresikan melalui eliminasi fekal. Kurang dari 10% dihilangkan sebagai induk senyawa, dengan mayoritas dihilangkan sebagai metabolit. Izin ginjal relatif kecil, dengan kurang dari 10% pembersihan obat melalui ginjal. Plasma eliminasi adalah tri-eksponensial dengan waktu paruh terminal 11 jam. (Edward Chu, M. V. (2019).

2.2.6 SIKLOFOSFAMID



Gambar 3. Mekanisme kerja Siklofosfamid

Mekanisme aksi :

Siklofosfamid merupakan obat kemoterapi yang tidak aktif dalam bentuk induknya. Agent ini diaktifkan oleh sistem mikrosomal sitokrom P450 hati ke metabolit sitotoksik mustard fosforamid dan acrolein. Metabolit siklofosfamid membentuk ikatan silang dengan DNA, menghasilkan penghambatan sintesis dan fungsi DNA. Obat ini merupakan agen nonspesifik siklus sel, aktif di semua fase siklus sel. Pada dosis rendah,

modulator imun poten yang menargetkan suprsel imun pengatur dalam lingkungan mikro tumor sementara meningkatkan sel T efektor.

Mekanisme aksi :

- Penurunan serapan seluler obat.
- Penurunan ekspresi enzim pengaktif obat di hati P450 sistem.
- Peningkatan ekspresi protein sulfhidril, termasuk glutathione dan enzim terkait glutathione.
- Peningkatan ekspresi aldehida dehidrogenase yang mengakibatkan peningkatan detoksifikasi obat secara enzimatik.
- Peningkatan aktivitas enzim perbaikan DNA.

Penyerapan: Obat ini diserap dengan baik oleh saluran GI, dengan bioavailabilitas hampir 90%.

Distribusi: Obat ini didistribusikan ke seluruh tubuh, termasuk otak dan CSF. Juga didistribusikan dalam susu dan air liur.

Metabolisme: Siklofosfamid dimetabolisme secara luas di hati oleh sistem sitokrom P450 menjadi bentuk aktif dan tidak aktif. Bentuk aktifnya adalah 4-hidroksisiklofosfamid, mustard fosforamid, dan akrolein. Induk obat dan metabolitnya adalah dieliminasi secara eksklusif dalam urin. Waktu paruh eliminasi agen ini berkisar antara 4-6 jam. (Edward Chu, M. V. 2019).

2.3 RESPON IMUN TERHADAP KANKER PAYUDARA

Penelitian peran sistem imun dalam onkologi akhir-akhir ini demikian luas, sehingga ruang lingkup imunologi saat ini mencakup secara umum interaksi antara sistem imun dengan sel kanker. (Kresna SB, 2012)

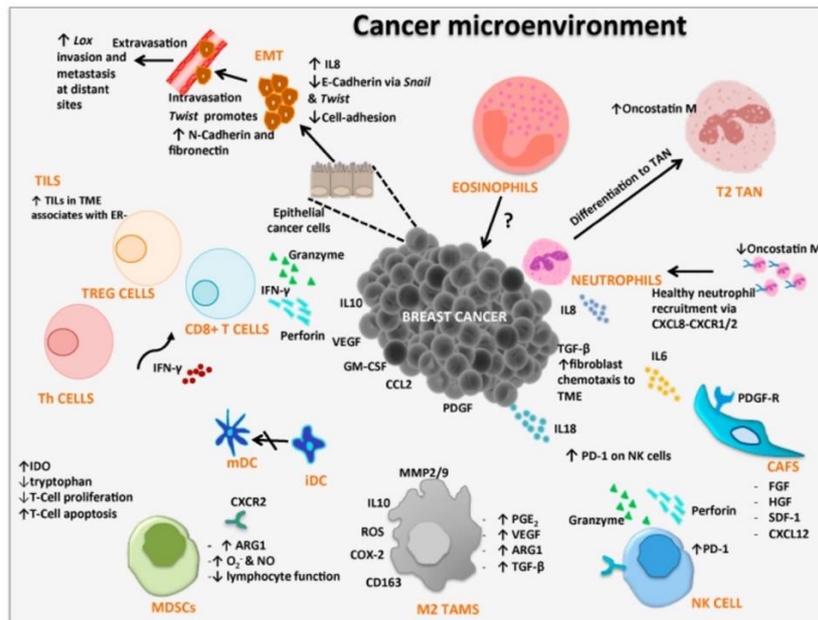
Kemajuan dalam pemahaman lingkungan mikro tumor pada kanker payudara pra invasif dan invasif telah menunjukkan bukti kuat bahwa

lingkungan mikro tumor dan molekul terkait infiltrasi sel imun, faktor terlarut dan matriks ekstraseluler yang berubah, terlibat dalam mempromosikan pertumbuhan tumor dan metastasis. Komponen penting dari lingkungan mikro tumor ini telah memulai identifikasi penanda kanker payudara yang baru, seperti biologis, imunologi dan imunosupresif yang berhubungan dengan perkembangan dan progresi tumor. Konsep immunoediting tumor mencakup tiga fase berikut: eliminasi, keseimbangan, dan pelepasan. Mekanisme pelepasan imun sangat rumit, yang melibatkan antigen terkait tumor, mutasi gen tumor, beberapa jenis sel imun, lingkungan mikro inflamasi, dan lingkungan mikro tumor. Karakteristik lingkungan mikro tumor adalah hipoksia, peradangan kronis, dan imunosupresi, yang membuat mekanisme jaringan lebih kompleks untuk mengatur hubungan antara peradangan sistemik, respon imun lokal, perkembangan kanker, dan kelangsungan hidup pasien (Lin F., et al. 2022)

Pada lesi tumor mengandung sel kanker, sejumlah sel yang direkrut yang berkontribusi terhadap *the hallmarks of cancer* dengan menciptakan lingkungan mikro tumor. Sel stroma, pembuluh darah dan sel inflamasi yang menginfiltrasi merupakan komponen utama dari lingkungan mikro tumor. Sel-sel ini mengaktifkan dan mempertahankan sebagian besar ciri khas kanker melalui komunikasi timbal balik dengan sel kanker neoplastik. Infiltrasi leukosit, terdiri dari sel mast, sel T, sel natural killer (NK), sel pengatur T (T-reg), *myeloid derived suppressor cells* (MDSC), *tumor associated macrophage* (TAM) dan TAN adalah komponen kunci dalam lingkungan mikro tumor yang dapat mendorong atau menghambat pembentukan dan perkembangan kanker (Shan, 2014) Studi pertama tahun 2016 telah mengidentifikasi keberadaan

TAN dengan menggunakan imunohistokimia (IHC) sebagai faktor prognostik independen yang buruk dan memasukkan TAN ke dalam model risiko prognostik berdasarkan fitur klinikopatologis. (Shan, 2014)

Lingkungan mikro tumor terdiri atas sel imun bawaan (seperti neutrofil, *tumor associated macrophages* (TAM), sel dendritik (DC), *myeloid derived suppressor cells* (MDSC) dan sel natural killer (NK), sel adaptif (terdiri dari sel T dan sel B), *tumor infiltrating lymphocytes* (TILs), *tumor associated fibroblasts* (TAF), sel endotel, pericytes, lingkungan sitokin dan *extracellular matrix* (ECM). (Gambar 1). Hal penting bahwa sel tumor dapat secara efisien merekrut sel stroma (misalnya, fibroblas), sel imun, dan sel vaskular dengan mengeluarkan faktor pertumbuhan, sitokin, dan kemokin. Sel-sel tumor juga memproduksi kemoatraktan yang menarik berbagai sel progenitor dari sumsum tulang maupun dari jaringan sekitar, di antaranya sel-sel progenitor endotel (EPC) *tumor associated macrophages* (TAM), PMN dan sel-sel imun salah satunya adalah sel T $\gamma\delta$ yang memproduksi IL-7 yang ternyata memiliki kemampuan untuk mempromosikan pertumbuhan tumor. Sel-sel ini membangun lingkungan mikro dengan melepaskan sinyal pemacu pertumbuhan dan metabolit antara serta merombak struktur jaringan. Pensinyalan antara sel kanker dan lingkungan mikro tumor merangsang atau menghambat proliferasi dan kemampuan metastatis. Tumor tidak hanya berhasil menghindari dari sistem kekebalan inang, tetapi secara efektif mendapat manfaat dari infiltrasi sel dengan memodifikasi fungsinya untuk menciptakan lingkungan mikro yang mendukung perkembangan tumor. (Kresna SB, 2012, Barriga V, et al., 2019, Que H, 2022)

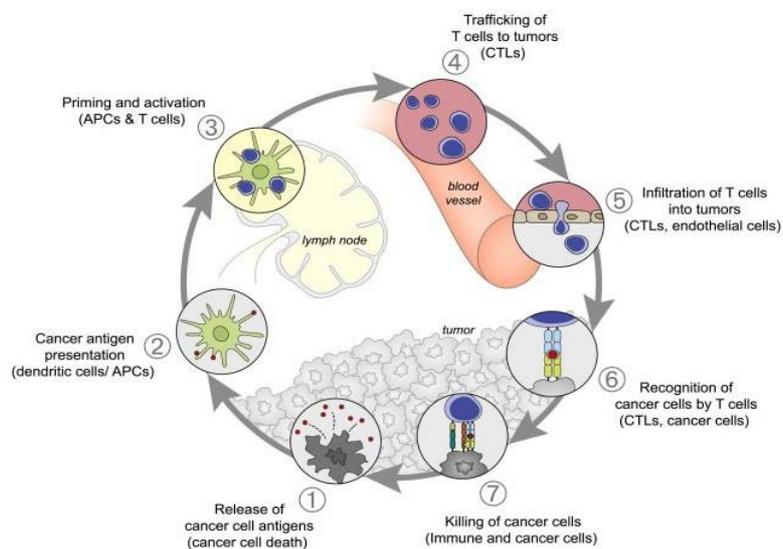


Gambar 4. Tumor-associated immune cells pada lingkungan mikro tumor kanker payudara (Barriga V, et al., 2019)

Peran sistem imun dalam melawan sel kanker diperoleh dari beberapa penelitian, di antaranya: 1) banyak tumor mengandung infiltrasi sel-sel mononuclear yang terdiri atas sel T, sel NK dan makrofag; 2) tumor dapat mengalami regresi secara spontan; 3) tumor lebih sering berkembang pada individu dengan imunodefisiensi atau bila fungsi sistem imun tidak efektif; bahkan immunosupresi seringkali mendahului pertumbuhan tumor. (Kresna SB., 2012)

Ciri kanker dalam interaksi dengan sistem imun yaitu kemampuan sel kanker dalam menghindari destruksi sel oleh sistem imun yang berakibat inflamasi akut dan eliminasi kanker, dan potensi terjadinya inflamasi kronik yang mempromosikan pertumbuhan tumor (Finn, 2012). Seperti yang telah diuraikan di atas, kanker ditandai dengan adanya akumulasi berbagai kelainan genetik dan hilangnya regulasi sel normal. Hal ini mengakibatkan diekspresikannya neoantigen, antigen deferensiasi yang dapat menyebabkan dipresentasikannya

peptida yang terikat pada MHC kelas I pada permukaan sel kanker yang membedakan sel itu dengan sel normal. Kompleks peptida spesifik kanker dengan MHC ini dapat dikenal oleh sel CD8+. Walaupun demikian, sekalipun terjadi respon sel T, sel tersebut tidak memberikan imunitas protektif. Agar respon imun dapat membunuh sel kanker secara efektif, perlu ada proses yang berlangsung secara bertahap dan berulang yang disebut sebagai siklus imunitas kanker. (Chen, Mellman, 2013)



Gambar 5. Sistem Imunitas Kanker (Chen DS.,Mellman, 2013)

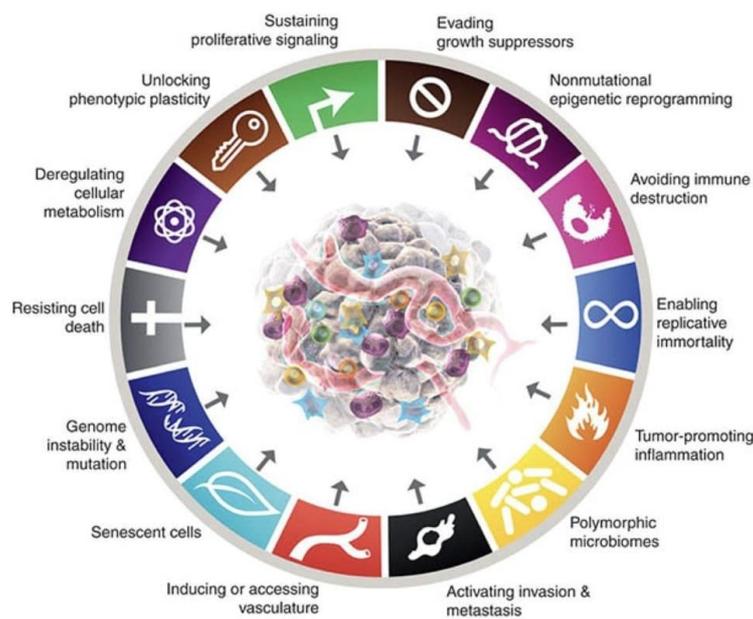
Pada langkah pertama neoantigen yang dihasilkan oleh sel kanker dilepaskan dan ditangkap oleh *dendritic cell/Antigen Presenting Cell (APC)* untuk kemudian diproses. Agar langkah ini menghasilkan respon sel T anti tumor, maka perlu disertai sinyal spesifik agar tidak terjadi toleransi perifer terhadap antigen tumor yang diinduksikan. Sinyal imunogenik tersebut dapat melibatkan sitokin pro inflamasi dan faktor-faktor yang dilepaskan oleh sel tumor yang mengalami apoptosis.

Selanjutnya, DC/APC mempresentasikan antigen yang telah diproses kepada sel T melalui ikatannya dengan molekul MHC yang menyebabkan

aktivasi respon sel T efektor terhadap antigen spesifik kanker yang dianggapnya sebagai antigen asing. Sifat respon imun ditentukan pada tahap ini dan hasil akhirnya ditentukan oleh keseimbangan antara rasio sel T efektor terhadap sel T reg. Sel T efektor yang telah aktif akan bergerak menuju tempat tumor dan menginfiltrasinya kemudian berikatan dengan sel tumor melalui interaksi antara reseptor sel T dengan antigen tumor lalu membunuh sel tumor sasaran. Sel tumor yang dihancurkan akan menghasilkan antigen spesifik tumor yang lebih banyak dan seterusnya siklus respon tersebut berulang lagi dengan kekuatan yang lebih besar. Pada kanker, siklus ini tidak berlangsung optimal. Antigen tumor mungkin saja tidak terdeteksi, DC/APC dan sel T mungkin menganggap antigen tumor sebagai antigen diri sehingga menghasilkan respon T reg dan bukan respon anti tumor, dan yang lebih penting lagi bahwa besar kemungkinan lingkungan mikro tumor mensupresi sel efektor yang dihasilkan (Chen, Mellman, 2013).

Pada dasarnya ada 3 jenis peran utama sistem imun dalam menekan pertumbuhan kanker. Pertama, sistem imun dapat mengeliminasi patogen onkogenik yang diketahui mempunyai kontribusi dalam karsinogenesis sehingga dapat mencegah terjadinya kanker. Kedua, sistem imun dapat mencegah lingkungan pro-tumoral dengan menghentikan inflamasi segera setelah eliminasi patogen. Ketiga, imunosurveillance akan mengaktifkan berbagai jenis sel baik sel-sel dalam sistem imunitas bawaan maupun adaptif, khususnya sel T yang dapat mengeliminasi sel kanker dan menghasilkan molekul-molekul pensinyalan (sitokin) baik di sekitar tumor maupun di perifer. Walaupun demikian, terbukti bahwa sistem imun tetap gagal untuk menghambat proliferasi sel kanker, bahkan dapat berperan secara paradoksal,

yaitu menginduksi perkembangan sel kanker lebih lanjut yang dikenal sebagai hipotesis imunoediting (Jacqueline dkk, 2016). Berkaitan dengan itu, Hanaan dan Weinberg mengemukakan 14 karakteristik sel kanker diantaranya adalah kemampuan untuk menyebabkan inflamasi dan kemampuan untuk menghindari sistem imun (Hanahan dan Weiberg, 2011).

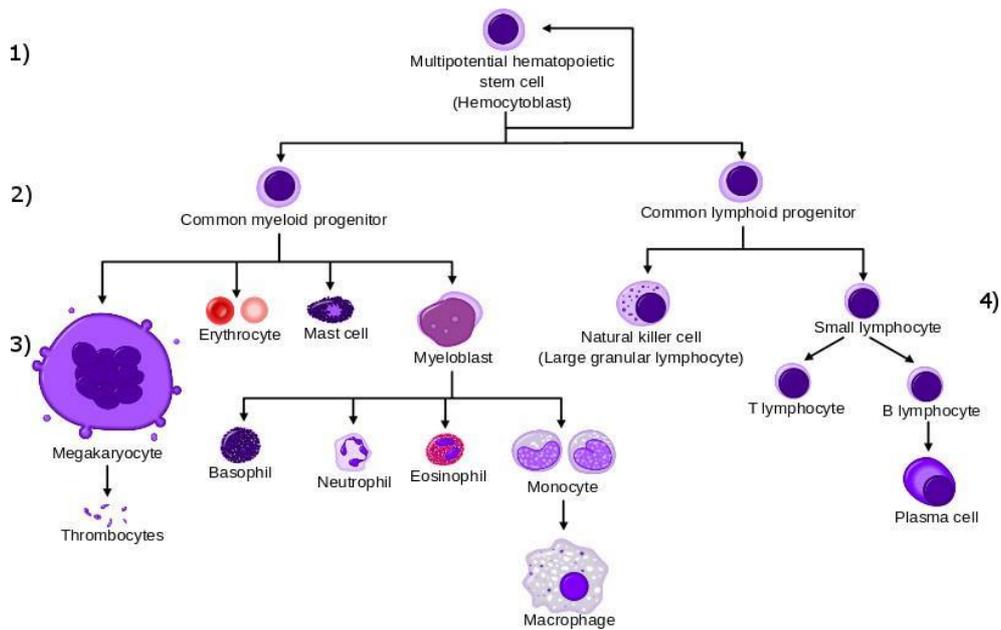


Gambar 6. Karakteristik Sel Kanker (American Association for Cancer Research, 2022)

Berbagai cara dilakukan oleh sel kanker agar dapat menghindar dari sistem imun, misalnya yang klasik adalah tidak mengekspresikan MHC dan tidak memproduksi antigen tumor sehingga tidak dikenal oleh sel-sel imun dan berinteraksi dengan sel-sel imun dalam lingkungan mikro tumor yang berakibat progresi menguntungkan perkembangan tumor. Selain itu, dengan memproduksi protein immunosupresif atau ekspresi protein penghambatan pada permukaan sel kanker sehingga menghambat aktivasi dan fungsi sel T. (Kumar, 2015; Abbas A, 2021)

2.4 PERKEMBANGAN HEMATOPOIESIS

Hematopoiesis adalah proses pembentukan berbagai komponen sel darah terdiri atas eritrosit, leukosit: basofil, eosinofil, neutrofil batang, neutrofil segmen, limfosit, monosit, dan trombosit yang awalnya berasal dari *hematopoietic stem cell* kemudian akan berdiferensiasi menjadi *hematopoietic progenitor cell*. Lokasi utama hematopoiesis berubah sepanjang hidup. Pada awal periode janin, dimulai *yolk sac* dan aorta-gonad-mesonephros, akhirnya berpindah ke hati, limpa, dan terakhir sumsum tulang. (Kawahara R., Shiozawa Y, 2015) Pada pembentukan sel darah, terjadi 3 proses yaitu: proliferasi, diferensiasi dan maturasi. Sedangkan komponen yang terdapat dalam proses pembentukan sel darah mencakup: stem sel, sel progenitor, dan sel prekursor. Seluruh komponen sel darah berasal dari *hematopoietic stem cells* (HSC). HSC bersifat multipotent, dapat berdiferensiasi dan kemudian terbagi menjadi beberapa proses terpisah yang mencakup: eritropoiesis, mielopoiesis (granulosit dan monosit), dan trombopoiesis (trombosit). Proses hematopoiesis terjadi atas regulasi dari *hematopoietic growth factor*. *Hematopoietic growth factor* ini memiliki peran dalam proses proliferasi, diferensiasi, supresi apoptosis, maturasi, aktivasi fungsi saat terjadi hematopoiesis. (Kawahara R., Shiozawa Y, 2015)



Gambar 7. Perkembangan Hematopoiesis. (Victor P. Eroschenko, et al., 2015)

Leukosit adalah bagian dari sistem kekebalan yang berpartisipasi dalam respons imun bawaan dan humoral. Leukosit bersirkulasi dalam darah dan meningkatkan respons inflamasi dan seluler terhadap cedera atau patogen. Leukosit dapat diklasifikasikan sebagai granulosit (neutrofil, basofil, dan eosinofil) dan agranulosit (limfosit dan monosit) berdasarkan ada dan tidak adanya butiran mikroskopis dalam sitoplasma saat diwarnai dengan pewarnaan Giemsa atau Leishman. Kisaran nilai normal sel darah putih adalah $4 - 11 \times 10^3 / \mu\text{L}$. Pillay dkk mengungkapkan rata-rata umur neutrofil sirkulasi adalah 5,4 hari. (Que H. 2022)

Neutrofil juga disebut polimorfonuklear dan ketika diaktifkan akan bermigrasi ke jaringan melalui diapedesis serta memiliki masa hidup beberapa hari. Monosit adalah sel prekursor untuk sistem fagositik mononuklear, yang meliputi sel-sel seperti makrofag, osteoklas, sel mikroglial dalam jaringan ikat dan organ. Sel-sel ini merupakan 4-8% dari sel darah putih. Limfosit menyusun sekitar 25% sel darah putih dan memiliki ukuran yang bervariasi. Limfosit dibagi lagi menjadi beberapa kelompok menggunakan penanda *cluster of differentiation*

(CD) dan kelompok utama dari limfosit adalah limfosit B dan limfosit T.

Secara klinis, tes hitung darah lengkap dapat memberi informasi tentang proses penyakit dan mencakup pengukuran leukosit, serta total sel darah merah dan trombosit. Tes hitung darah lengkap sering dikaitkan dengan suatu diferensial, yang mengacu pada jumlah relatif dari jenis sel darah putih (yaitu, neutrofil, limfosit, eosinofil, dll.) sebagai persentase dari jumlah total sel darah putih dan sering dilakukan sebelum melakukan kemoterapi. (Peng Y., et.al., 2020) Neutrofil adalah sel berumur pendek merupakan 50-70% dari leukosit yang bersirkulasi, dan merupakan bagian dari innate immunity. Neutrofil merupakan pertahanan fagositik primer terhadap infeksi bakteri serta merupakan komponen utama dari respon inflamasi. Neutrofil berdiameter 9-14 μm , tidak memiliki mitokondria, memiliki sitoplasma bergranulasi di mana butiran diwarnai dengan noda asam dan basa serta memiliki nucleus multilobuler. Nilai normal: 36-73% atau dalam jumlah absolut $2,5-7 \times 10^3/\mu\text{L}$. Neutrofil beredar dalam sirkulasi darah dan siap melimpah ke jaringan jika dipanggil oleh makrofag yang mendeteksi adanya *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) dan *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) melalui mekanisme inflamasi akut. Neutrofil akan menangkap dan menghancurkan mikroorganisme yang menyerang melalui fagositosis dan degradasi intraseluler antara lain menggunakan enzim lizozim yang banyak dimiliki oleh neutrofil sehingga neutrofil sering disebut sebagai granulosit untuk mencerna mikroba dan juga menggunakan radikal bebas. Enzim terkandung dalam butiran primer (azurofilik) dan sekunder (spesifik). Butiran azurofilik merupakan reservoir untuk enzim seperti myeloperoxidase, β -glukuronidase, elastase, dan cathepsin G. Butiran spesifik berfungsi sebagai reservoir untuk lizozim dan laktoferin. Neutrofil juga

berperan sebagai mediator peradangan dan kanker. (Rosales, 2018, Borregaard N., 2010, Prakosa YW, 2022) Limfosit memiliki nilai normal: 15% - 45% atau dalam jumlah absolut $1 - 4,8 \times 10^3 /\mu\text{L}$. (Giyartika, Keman, 2020) Sistem imun adaptif mengambil alih jika sistem kekebalan bawaan tidak dapat menghancurkan kuman. Sistem imun adaptif juga memiliki keuntungan untuk dapat "mengingat" kuman, sehingga saat kuman menginfeksi tubuh lagi, sistem kekebalan adaptif dapat merespons lebih cepat. Sistem kekebalan adaptif terdiri dari limfosit T dan limfosit B.

Limfosit T (sel T) diproduksi dalam sumsum tulang dan akan pindah ke dalam timus melalui pembuluh darah untuk proses pematangan. Limfosit T menggunakan messengers kimiawi untuk mengaktifkan sel imun lainnya untuk memulai sistem imun adaptif (sel T helper) dan juga mendeteksi sel-sel yang terinfeksi virus dan juga sel kanker dan menghancurkannya (sel T sitotoksik). Beberapa sel T helper akan menjadi sel T memori setelah proses infeksi berhasil diatasi sehingga apabila terjadi infeksi yang berulang, sistem imun adaptif dapat dengan cepat mengenali patogen tersebut.

Limfosit B (sel B) diproduksi dan akan mengalami proses pematangan di dalam sumsum tulang. Limfosit B diaktifkan oleh sel T helper, kemudian akan mengalami multiplikasi dan berubah menjadi sel plasma. Sel plasma ini kemudian akan menghasilkan antibodi sesuai dengan patogen yang dikenalkan oleh sel T helper dan antibodi yang dihasilkan sangat banyak kemudian akan masuk ke dalam pembuluh darah. (Kresna SB., 2018, Peng Y., et.al., 2020)

2.5 PERAN NEUTROFIL DAN LIMFOSIT PADA KANKER PAYUDARA

Peran neutrofil dalam kanker bersifat multifaktorial dan belum sepenuhnya dipahami. Neutrofil mencerminkan keadaan peradangan host (pejamu), yang merupakan ciri khas kanker. Berbagai jenis sitokin yang diproduksi oleh sel kanker misalnya *granulocyte macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF), IL-1, IL-6 dan IL-8 akan menyebabkan peningkatan jumlah neutrofil dan ini berhubungan dengan prognosis buruk. (Singel KL, 2016, Uribe-Querol, Rosales, 2018, , Prakosa YW, 2022)

Neutrofil berperan dalam berbagai tahapan proses onkogenik termasuk inisiasi tumor, pertumbuhan, proliferasi atau penyebaran metastasis. Secara umum, neutrofil memainkan peran sentral dalam peradangan di dalam tumor karena direkrut oleh ligan *C-X-C motif chemokine receptor 2* (CXCR2) seperti CXCL1, CXCL2 dan CXCL5. Inisiasi tumor dapat dipromosikan dengan pelepasan oleh neutrofil *reactive oxygen species* (ROS), *reactive nitrogen species* (RNS) atau protease. Neutrofil dapat memfasilitasi proliferasi tumor dengan menekan sistem kekebalan. Respon antitumor limfosit CD8⁺ T dapat ditekan oleh *inducible nitric oxide synthase* (iNOS), atau *arginase 1* (ARG1) yang dilepaskan oleh neutrofil di bawah stimulasi oleh TGF- β . Neutrofil juga menghasilkan MMP-9 yang berperan penting dalam inisiasi tumor. Selain itu, produksi iNOS juga dapat distimulasi dalam neutrofil dengan peningkatan regulasi reseptor tirosin kinase MET dan akhirnya dapat menyebabkan penyebaran metastasis dengan menghambat fungsi pertahanan tubuh alami dan memfasilitasi ekstravasasi sel tumor. Jadi, neutrofil memiliki dua peran berlawanan dalam biologi tumor. Sebagai leukosit, neutrofil dapat berperilaku melindungi dengan membunuh sel tumor melalui CXC kemokin, penurunan

kadar *matrix metalloproteinase-9* (MMP-9) dan peningkatan TNF- α . Sebaliknya, neutrofil juga sangat berperan dalam pembentukan dan perkembangan tumor dengan melepaskan sinyal pertumbuhan, peningkatan kadar MMP-9, penurunan kadar TNF- α , peningkatan kadar TNF- β dan mediator angiogenesis. Perbedaan besar ini, menyebabkan polarisasi neutrofil menjadi dua fenotipe yang berbeda: Neutrofil N1 (anti-tumoral) vs N2 (pro-tumoral). Dengan demikian, fenotipe yang berbeda ini dapat mempengaruhi lingkungan mikro tumor untuk memfasilitasi integrasi jaringan atau meningkatkan peradangan kronis. (Kresna SB, 2012, Singel KL, 2016, Prakosa YW, 2022)

Profil kekebalan TAN N1 ditandai dengan tingginya kadar TNF- α , C-C motif chemokine ligand 3 (CCL3), *intercellular cell adhesion molecule-1* (ICAM-1), dan rendahnya arginase. Sedangkan neutrofil N2 ditandai dengan peningkatan regulasi kemokin “CCL2, CCL3, CCL4, CCL8, CCL12, CCL17, CXCL1, CXCL2, IL-8/CXCL8 dan CXCL16”. Adanya neutrofil dalam pemeriksaan histopatologi tumor merupakan penanda prognosis yang buruk terhadap perkembangan tumor dan metastasis. Faktor lingkungan mikro tumor berperan dalam mengatur plastisitas neutrofil. Secara khusus, *transforming growth factor- β* (TGF- β), salah satu sitokin immunosupresif, telah dibuktikan sebagai salah satu modulator utama polarisasi neutrofil. TGF- β diproduksi oleh tumor dan sel imun dapat bekerja pada banyak komponen sistem kekebalan. Karena pentingnya TGF- β , banyak penelitian terbaru menduga bahwa blokir pensinyalan yang diinduksi TGF- β dalam lingkungan mikro tumor dapat meningkatkan imunitas antitumor dan terapi antikanker. Ketika aktivitas TGF- β diblok, neutrofil N1 menjadi sitotoksik terhadap sel tumor dan mengaktifkan sel T CD8+ yang berperan dalam melisis sel tumor. TGF- β dengan sendirinya

meningkatkan fenotipe pro-tumorigenik N2 dalam neutrofil. Selain TGF- β , polarisasi neutrofil juga ditingkatkan oleh sitokin IFN- β . IFN- β merangsang N1 dan menghambat polarisasi N2, sebaliknya TGF- β merangsang N2 dan menghambat polarisasi fenotipik N1. Dengan memblokir TGF- β , terjadi perlambatan pertumbuhan tumor yang signifikan, melalui banyak mekanisme yang terdiri atas sel T CD8+ dan aktivasi makrofag. (Masucci MT., et al, 2019, Prakosa YW, 2022)

Myeloid derived suppressor cells (MDSC) merupakan kelompok sel yang mencakup berbagai macam sel turunan myeloid yang memiliki sifat immunosupresif. Sel-sel ini memiliki kapasitas untuk menekan sel T sitotoksik dan meningkatkan penghindaran terhadap kekebalan. Kondisi inflamasi kronik yang terjadi pada tumor menyebabkan neutrofil supresor dimobilisasi secara berlebihan ke titik di mana mereka menjadi subpopulasi dominan neutrofil. Dalam kondisi ini, kontribusi neutrofil secara keseluruhan bersifat pro-tumorigenik. Neutrofil immunosupresif (sering disebut sebagai G-MDSC) mengandung sejumlah besar arginase I yang menekan proliferasi sel T melalui penurunan L-arginin. Neutrofil immunosupresif juga terbukti menghasilkan hydrogen peroksida kadar tinggi yang memblokir proliferasi sel T. Peran ini menunjukkan neutrofil yang memelihara lingkungan mikro tumor immunosupresif dan memfasilitasi penyebaran metastasis melalui penekanan komponen imun adaptif. (Granot Z, 2019, Prakosa YW, 2022)

Sel dendritik (DC) akan mengenalkan antigen ke sel T dan mengeluarkan IL-12 yang meningkatkan respons imun anti-tumorigenic CD4 + Th1 dan *Natural Killer* (NK). CD4 + Th1 akan mengeluarkan IL-2, IFN- γ dan TNF- α yang merangsang aktivitas imun antitumor payudara dengan mengaktifkan sel efektor seperti sel T

sitotoksik. Peningkatan *cytotoxic T lymphocyte* (CTL) yang merupakan sel efektor utama melawan kanker payudara akan mengenali antigen spesifik yang dihadirkan oleh sel kanker melalui MHC kelas 1, kemudian melepaskan perforin dan granzim, yang membunuh sel kanker. Sel Th1 mengeluarkan IL-2, IFN- γ , dan TNF- α , yang mendorong aktivitas sitolitik dan antitumor makrofag. Sel Th2, di sisi lain, mengeluarkan IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, dan IL-13, yang akan meningkatkan aktivitas makrofag. (Singel KL, 2016, Kresna SB, 2018, Prakosa YW, 2022)

2.6 RASIO NEUTROFIL DAN LIMFOSIT

Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) ditentukan oleh jumlah neutrofil absolut dibagi dengan jumlah limfosit absolut. NLR dapat dengan mudah diperoleh pada pemeriksaan darah lengkap. Laporan pertama neutrofil darah tepi terkait dengan kelangsungan hidup 5 tahun pada manusia diterbitkan pada tahun 1970. (Shan, 2014) NLR telah diuji sebagai pedoman untuk prognosis berbagai penyakit, seperti kanker, pneumonia komunitas, dan sepsis. NLR telah dianggap sebagai salah satu indikator peradangan dan NLR yang tinggi telah dapat digunakan sebagai prediktor untuk outcome yang buruk pada berbagai jenis kanker. (Dong X., et.al., 2020)

Forget et al., (2017) mengungkapkan nilai normal NLR pada dewasa normal dan populasi orang sehat antara 0,78 - 3,53 (Forget et al, 2017). Azab et al. (2011) melaporkan pasien kanker payudara dengan NLR >3,3 memiliki angka kematian lebih tinggi dibandingkan dengan NLR <1,8. (Azab B et al, 2011). Han A. et al. (2013) menunjukkan pasien NLR \geq 2,5 memiliki angka harapan hidup lebih rendah dibandingkan dengan NLR <2,5. (Han A et al, 2013) Penelitian Dong X., 2020 menetapkan nilai median NLR1 adalah 1,928. NLR1

rendah (NLR ≤ 1.928) dan NLR1 tinggi (NLR > 1.928). Penelitian Peng Y., et al. 2020, berdasarkan analisis ROC menetapkan NLR tinggi ≥ 3.0 , NLR rendah < 3.0 . Graziano et al., mengungkapkan nilai *cut off* NLR pada kanker payudara yang diberikan kemoterapi antrasiklin base, berdasarkan analisis kurva ROC yaitu sebesar 2,42. NLR tinggi bila $> 2,42$ dan rendah bila $\leq 2,42$. Vano YA., et al. (2018), optimal nilai *cut off* NLR kanker payudara sebesar 3.0 signifikan secara klinis. (Vano, 2018)

Proctor et al. menganalisis prognostik nilai NLR dan menemukan hubungan yang signifikan NLR dan kelangsungan hidup di berbagai kanker termasuk kanker payudara. Azab et al. pertama kali melaporkan bahwa NLR sebelum kemoterapi merupakan faktor independen untuk kematian jangka panjang dan menghubungkannya dengan usia dan ukuran tumor pada kanker payudara. Studi meta analisis oleh Gue et al. mengungkapkan NLR tinggi berhubungan dengan OS yang buruk serta DFS pada kanker payudara. Selain itu juga dilaporkan bahwa hubungan NLR dan OS lebih kuat pada pasien TNBC daripada Her-2 positif (Lukasiewicz S., 2021)

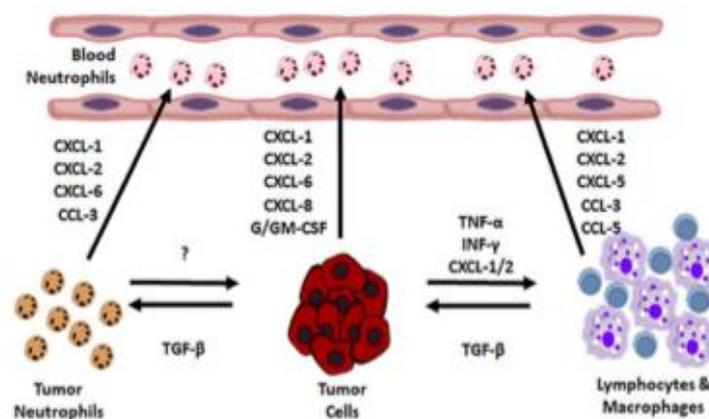
NLR juga memiliki potensi sebagai alat skrining, peran prognostik yang signifikan pada pasien kanker payudara yang menerima kemoterapi neoadjuvan. Pasien memiliki NLR tinggi sebelum mendapatkan kemoterapi akan mempunyai respon yang buruk terhadap kemoterapi neoadjuvan dan juga prognosis yang buruk. (Kim et al. 2019, Corbeau, Jacot, Guiu, 2020)

Zhou Q., 2021 melaporkan NLR adalah biomarker yang cocok untuk memprediksi pCR dan kelangsungan hidup pasien kanker payudara yang menerima kemoterapi neoadjuvant. (Zhou Q., 2021) NLR tinggi telah dikaitkan dengan peningkatan mobilisasi neutrofil dari sumsum tulang dan/atau limpa,

sebagai respons terhadap sitokin yang disekresi tumor seperti IL-8, G-CSF, *platelet derived growth factor* (PDGF), dan *macrophage inflammatory protein-1* (MIP1) yang tingkat sirkulasinya meningkat seiring dengan perkembangan tumor. (Shaul ME., Fridlender, ZG., 2018)

2.7 PEREKRUTAN NEUTROFIL PADA TUMOR

Rekrutmen neutrofil dipandu oleh beberapa zat yang diproduksi tumor.

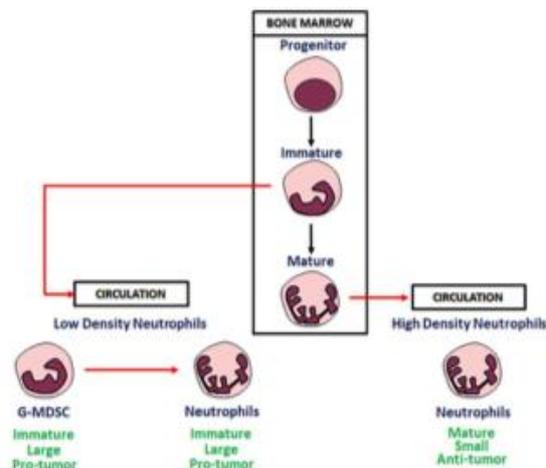


Gambar 8. Faktor yang mendorong perekrutan neutrofil ke dalam tumor (Masucci MT., et.al, 2019)

Setiap jenis tumor menghasilkan kemokin yang mengatur kandungan PMN dalam lingkungan mikro tumor. Kemokin seperti IL-8, *macrophage inflammatory protein-1α* (MIP-1α/CCL3) dan *human granulocyte chemotactic protein-2* (huGCP-2/CXCL6). Pada kanker payudara metastasis, netralisasi IL-17 atau G-CSF dan tidak adanya sel T mencegah akumulasi neutrofil dan menurunkan regulasi fenotipe penekan sel T dari neutrofil, tidak adanya sel T atau neutrofil mengurangi metastasis paru dan kelenjar getah bening tanpa mempengaruhi perkembangan tumor primer. Peningkatan kadar IL-17, yang dihasilkan oleh limfosit T yang menginfiltrasi tumor telah ditunjukkan pada

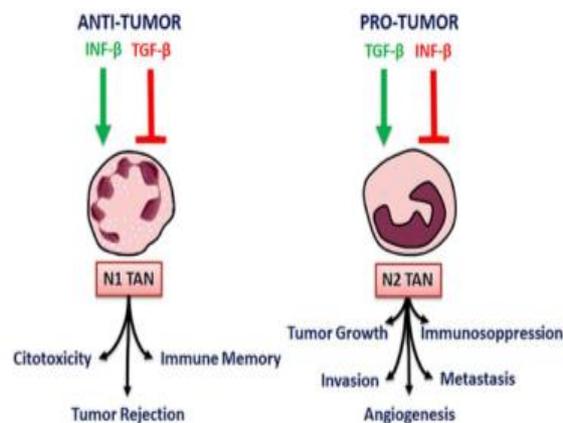
karsinoma payudara duktal invasif metastasis. Netralisasi IL-17 menghambat pertumbuhan sel tumor dan mencegah migrasi dan metastasis neutrofil dan sel tumor. Neutrofil pro-tumor menginduksi progresi penyakit dan pelepasan CXCL1, MMP-9, VEGF, dan TNF- α , yang reduksinya menekan pertumbuhan tumor. IL-17 berperan penting dalam perkembangan tumor, kadar IL-17 yang tinggi berhubungan dengan kelangsungan hidup bebas penyakit yang lebih pendek dan prognosis yang buruk pada pasien invasive ductal carcinoma. (Masucci MT.,et al, 2019, Prakosa YW, 2022)

Neutrofil terpolarisasi pada fenotipe N1 TANs (antitumor) dan N2 TANs (pro-tumor) (Fridlender ZG, et.al, 2009) Neutrofil N1 berumur pendek, sel yang sangat sitotoksik dan menunjukkan fenotipe yang matang dan aktivitas stimulasi imun yang tinggi. Sedangkan neutrofil N2, berumur panjang, sel sitotoksik rendah, menunjukkan fenotipe yang belum matang, dan aktivitas pro-angiogenik, pro-metastasis dan immunosupresif yang tinggi (Masucci MT.,et al, 2019, Prakosa YW, 2022)



Gambar 9. Neutrofil dalam Sumsum Tulang dan Sirkulasi (Masucci MT.,et al, 2019)

Faktor lingkungan mikro tumor berperan mengatur plastisitas neutrofil. *Transforming growth factor- β* (TGF- β), sitokin immunosupresif telah terbukti menjadi salah satu modulator utama polarisasi neutrofil. TGF- β diproduksi oleh tumor dan sel imun, dan dapat bekerja pada banyak komponen sistem imun. Karena peran penting TGF- β banyak penelitian terbaru memperkirakan bahwa memblokir sinyal yang diinduksi TGF di lingkungan mikro tumor, dapat meningkatkan kekebalan anti-tumor dan terapi anti-kanker. (Masucci MT., et al, 2019) Ketika aktivitas TGF- β diblokir, neutrofil N1 menjadi sitotoksik terhadap sel tumor dan mengaktifkan sel T CD8+, sedangkan neutrofil N2 lebih dominan. Dengan demikian, TGF- β dengan sendirinya mempromosikan fenotipe pro-tumorigenik neutrofil N2. Selain TGF- β polarisasi neutrofil juga didorong oleh sitokin IFN- β . IFN- β merangsang N1 dan menghambat polarisasi N2, sebaliknya TGF- β merangsang N2 dan menghambat polarisasi fenotipik N1. Dengan memblokir TGF- β perlambatan pertumbuhan tumor yang signifikan tercapai, melalui banyak mekanisme, yang terdiri dari sel T CD8+ dan aktivasi makrofag (Gambar 9)



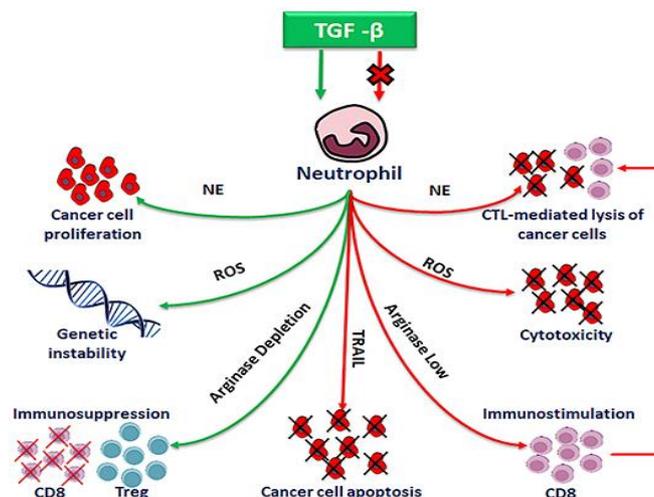
Gambar 10. Polarisasi N1 dan N2 TAN dan Aktivasnya (Masucci MT., et al, 2019)

Selain sel tumor, sel lingkungan mikro tumor juga berperan mengatur aktivitas neutrofil pada kanker dan memodulasi ceruk kanker, karena lingkungan mikro tumor berkembang sebagai suatu kemajuan. Pada awal perkembangan tumor, neutrofil berada di jaringan peritumoral, lebih sitotoksik dan menghasilkan lebih banyak NO dan H₂O₂. Kemudian, neutrofil memasuki jaringan tumor dan mengerahkan aktivitas pro-tumorigenik. (Masucci MT, et al., 2019)

Neutrofil sangat heterogen dalam fenotipe dan fungsinya. Sagiv dkk mengidentifikasi terdapat tiga populasi berbeda dari neutrofil yang bersirkulasi: subset heterogen dari *low-density neutrophils* (LDN) yang ada secara sementara dalam peradangan yang sembuh sendiri tetapi terakumulasi pada pasien kanker, *high-density neutrophils* (HDN) matur dan *myeloid-derived suppressor cells* (MDSCs) immature. HDN mampu beralih ke fenotipe LDN yang dipicu TGF-β dengan sifat immunosupresif, mirip dengan MDSC. (Masucci MT.,et al, 2019)

2.8 PERAN ANTI TUMOR NEUTROFIL

TAN berperan dalam aktivitas antitumor serta dalam tumorigenesis, progresi tumor dan metastasis. (Gambar 10)



Gambar 11. Fungsi Pro Tumor dan Anti Tumor dari Neutrofil Terpolarisasi (Masucci MT.,et al, 2019)

Neutrofil bersifat sitotoksik terhadap sel tumor. Hal yang menarik, neutrofil dapat membedakan antara sel penghasil G-CSF dan sel non penghasil G-CSF dan secara selektif hanya menghambat sel tumor penghasil G-CSF. (Masucci MT, et al., 2019) Ada bukti bahwa *reactive oxygen species* (ROS), *myeloperoxidase* (MPO), H_2O_2 dan protease yang diproduksi oleh neutrofil sebagai agen antimikroba, juga berperan sebagai antitumor. Studi terbaru telah menyelidiki peran antitumor dari neutrofil *polimorfonuklear* (PMN) yang mengerahkan aktivitas sitotoksik yang kuat secara alami terhadap sel kanker. Aktivitas sitotoksik spesifik untuk sel kanker, karena neutrofil tidak sitotoksik terhadap sel epitel normal primer atau sel epitel payudara yang immortal. (Kresna SB, 2012, Masucci MT, et al., 2019)

N1 TANs juga berperan mengerahkan aktivitas antitumor dengan memunculkan respon imun antitumor. Faktanya, neutrofil merekrut dan mengaktifkan sel-sel kekebalan dengan memproduksi berbagai faktor kimia seperti sitokin, kemokin, dan protease, merangsang proliferasi sel T, NK dan pematangan sel dendritik. Akhirnya, bahkan jika neutrofil membantu pembentukan metastasis dengan menyiapkan ceruk metastasis, N1 TAN dapat mencegah pembentukan metastasis, dengan memproduksi zat sitotoksik. (Masucci MT, et al., 2019)

Pada kanker payudara, H_2O_2 yang diproduksi oleh neutrofil mampu menghambat terjadinya metastasis, dengan mencegah penyemaian sel tumor payudara di paru-paru. Neutrofil telah terbukti terakumulasi di paru-paru sebelum kedatangan sel metastasis. Selain itu, infiltrasi TAN yang tinggi telah ditunjukkan pada jaringan kanker kolorektal, kepadatan TAN yang lebih tinggi dikaitkan dengan prognosis yang lebih baik. Kepadatan neutrofil yang lebih

tinggi pada pasien stadium III juga terbukti berhubungan dengan responsivitas yang tinggi terhadap 5-FU. (Masucci MT, et al., 2019)

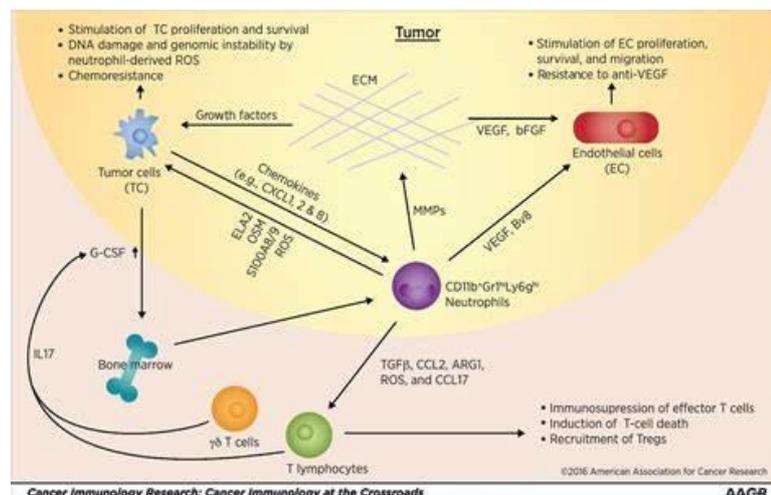
2.9 PERAN PRO TUMOR NEUTROFIL

Peran TAN N2 dalam perkembangan tumor telah diteliti secara luas. (Powell DR, Huttenlocher A, 2016) Neutrofil memproduksi dan melepaskan zat DNA genotoksik yang meningkatkan ketidakstabilan DNA. Neutrofil melepaskan ROS dan NO genotoksik di lingkungan mikro tumor. Pada iNOS dan NOS, infiltrasi neutrofil secara statistik berkorelasi dengan frekuensi mutasi. Untuk mempelajari peningkatan jumlah neutrofil yang menginfiltrasi tumor diamati peningkatan kandungan neutrofil yang signifikan, yang berkorelasi dengan frekuensi mutasi. Neutrofil dianggap sebagai sumber ROS atau NOS genotoksik, hasil ini menyatakan bahwa sel infiltrasi tumor mungkin bersifat mutagenik dan dapat berkontribusi pada kelainan genetik yang terkait dengan perkembangan tumor. (Masucci MT.,et al, 2019)

Neutrofil yang direkrut ke tempat peradangan kronis bersifat tumorigenik melalui berbagai mekanisme. ROS yang dilepaskan oleh neutrofil selama peradangan kronis, seperti *hypochlorous acid* (HOCl), yang dibentuk oleh MPO, menyebabkan kerusakan DNA dan bersifat mutagenik dalam sel paru-paru, secara in vitro. Neutrofil dapat menyebabkan kerusakan DNA melalui pelepasan ROS, dan mutasi gen pada sel epitel prakanker, sehingga mendorong transformasi onkogenik pada kanker paru. (Kresno SB., 2018, Masucci MT, et al., 2019)

Selama perkembangan tumor, neutrofil melepaskan faktor yang merangsang proliferasi sel tumor (Gambar 11). Neutrofil elastase (ELA2) dapat

memasuki sel tumor, mengaktifkan *phosphoinositide 3-kinase* (PI3K) melalui degradasi *insulin receptor substrate 1* (IRS-1), dan mendorong proliferasi sel tumor. Selain itu, sel-sel kanker payudara dapat menginduksi neutrofil untuk memproduksi oncostatin M, sebuah faktor yang diketahui merangsang proliferasi sel tumor melalui aktivasi *signal transducer and activator of transcription 3* (STAT3). Sebuah studi menunjukkan bahwa CXCL1/2 turunan karsinoma memfasilitasi perekrutan granulosit S100A8/9-positif, yang menginduksi kelangsungan hidup sel tumor, metastasis, dan resistensi terhadap kemoterapi. (Liang W, Ferrara N., 2016, Masucci MT, et al., 2019)



Gambar 12. Skema Peran Pro Tumor Neutrofil (Liang W, Ferrara N., 2016)

Penelitian telah menunjukkan jumlah neutrofil dalam sirkulasi darah dan jaringan tumor pasien kanker berkorelasi dengan prognosis penyakit. Kepadatan neutrofil yang tinggi pada tumor dianggap sebagai indeks independen prognosis buruk. Adanya neutrofil intra-tumor secara kuat menunjukkan *recurrence-free survival* (RFS) singkat, spesifik kanker dan *overall survival* dan dapat dianggap sebagai faktor prognostik independen. Neutrofil intra-tumor berkisar 0-289 sel/mm² jaringan tumor. Kehadiran neutrofil

intra-tumor dikaitkan dengan peningkatan ukuran tumor, hemoglobin rendah, kreatinin tinggi, dan CA IX < atau = 85%. Pada analisis multivariat, kehadiran neutrofil intra-tumor dan hemoglobin rendah adalah indeks prognosis yang secara signifikan terkait dengan RFS singkat. (Jensen HK, et al., 2009)

Pada karsinoma paru, telah ditunjukkan sejumlah besar neutrofil yang bersirkulasi sebelum operasi, limfosit CD44(+) dan sel darah putih menunjukkan kelangsungan hidup kumulatif yang rendah. Selain itu, kadar limfosit dan neutrofil CD44(+) yang tinggi berkorelasi dengan metastasis jauh dan prognosis masing-masing pada pasien NSCLC stadium III/IV. (Masucci MT, et al., 2019) Pada kanker kolorektal peningkatan neutrofil intra-tumor telah terbukti sangat penting untuk mendapatkan fenotipe ganas. Makna prognostik neutrofil CD66b+ intra-tumor pada kanker kolorektal diselidiki dengan microarray jaringan dan imunohistokimia. Sejumlah CD66b+ neutrofil intratumoral ditemukan di 104/229 (45,4%) kanker kolorektal dan di 29/229 (12,7%) jaringan mukosa yang berdekatan. Analisis lebih lanjut menunjukkan bahwa keberadaan neutrofil di dalam tumor memang berkorelasi dengan status pT, status pM, dan stadium klinis. Analisis kelangsungan hidup univariat, menunjukkan hubungan yang signifikan antara sejumlah besar neutrofil intra-tumor dan kelangsungan hidup pasien yang lebih pendek telah dibuktikan. Analisis Kaplan-Meier menunjukkan bahwa pasien dengan jumlah neutrofil yang lebih rendah memiliki prognosis yang lebih baik daripada pasien dengan TAN yang lebih banyak. Kepadatan TAN intra-tumor pada kanker kolorektal terbukti memiliki nilai prognostik pada pasien yang diterapi dengan 5-FU tahap III. Faktanya, DFS pada pasien yang diobati ini lebih lama dibandingkan dengan DFS pada pasien yang tidak diobati. (Masucci MT, et al., 2019)

2.10 HUBUNGAN EKSPRESI *TUMOR ASSOCIATED NEUTROPHIL (TAN)* DAN *NEUTROPHIL TO LYMPHOCYTE (NLR)* DENGAN KEMOTERAPI NEOADJUVAN

Lingkungan immune tumor tidak hanya mempengaruhi efek imunoterapi, tetapi juga efek obat antikanker dan hasil pengobatannya. Banyak obat anti kanker memiliki efek immunosupresi dan tidak terlalu kompatibel dengan imunoterapi, namun peningkatan imunologi dan eliminasi immunosupresi dapat terjadi. Mekanisme peningkatan kekebalan antitumor meliputi peningkatan immune escape pada sisi sel kanker, menginduksi kematian sel kanker secara immunogenik dan peningkatan *immune escape* pada sisi inang. Pemberian 5-Fluorourasil dan paclitaxel meningkatkan sensitivitas sel T sitotoksik, penambahan obat cyclofosfamid dan antrasiklin dapat menginduksi kematian immunogenik pada sel tumor. Selain itu paclitaxel dapat menghambat sel Treg dan 5-fluorourasil menghambat *myeloid-derived suppressor cells* (MDSCs), (Asano Y., 2018)

Galdiero et al., (2016), mengungkapkan pasien kanker kolorektal yang memiliki kepadatan TAN lebih tinggi menunjukkan respon yang lebih baik terhadap kemoterapi berbasis 5-FU. (Galdiero MR, 2016) Penelitian lain, dilaporkan TAN yang lebih tinggi diidentifikasi sebagai penanda prognostik untuk hasil klinis yang buruk di beberapa tumor ganas seperti karsinoma sel ginjal dan kepala dan karsinoma sel skuamosa. (Donskov F, von der Maase H, 2006, Trellakis S, 2011). Wang, Y et al., 2019 mengungkapkan bahwa neutrofil dalam parenkim tumor merupakan faktor independen untuk prognosis buruk pada payudara pasien kanker. (Wang Y, et all, 2019) Penelitian ini mengungkapkan bahwa neutrofil menginduksi *epithelial mesenchymal transition* (EMT) kanker payudara melalui *tissue mesenchymal transition*

metalloproteinase-1 (TIMP-1). Sebaliknya, sel kanker payudara yang mengalami EMT meningkatkan sekresi neutrofil TIMP-1 oleh CD90 dengan cara kontak sel. Shaul, dkk. berhipotesis bahwa neutrofil tumor berperan penting dalam perekrutan menjaga keseimbangan antara aktivasi dan penekanan sistem kekebalan pada kanker. (Shaul ME, Fridlender ZG, 2017)

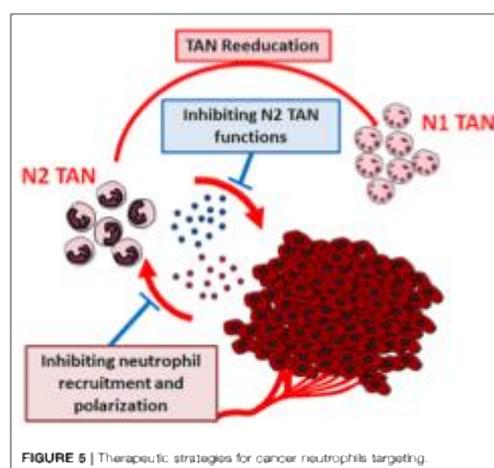
Pada penelitian 5 tahun terakhir, terdapat bukti kuat bahwa neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) berhubungan dengan keberhasilan jangka panjang pada beberapa kanker. Penelitian telah menunjukkan bahwa hubungan antara tingginya nilai NLR dengan peningkatan angka kematian pada kanker payudara. Peneliti juga menyatakan bahwa NLR dapat menjadi faktor prediktor dari respon kemoterapi neoadjuvan sebagai indikator inflamasi. (Chen, 2016). Namun demikian, pada suatu penelitian meta analisis membuktikan bahwa efikasi biomarker ini dalam memprediksi pathological complete response (pCR) dan kelangsungan hidup pada pasien kanker payudara yang telah mendapat kemoterapi neoadjuvan masih kontroversial. (Zhou Q, 2021)

‘Sistem kekebalan tubuh memiliki peran penting dalam respons kanker payudara terhadap kemoterapi (Graziano V.,2019). Neutrofil tinggi menghasilkan berbagai sitokin dan kemokin, termasuk oncostatin, yang menyebabkan peningkatan angiogenesis. NE dan Cathepsin G, yang meningkatkan proliferasi dan angiogenesis, dan arginase 1, yang menyebabkan imunosupresi.(Uribe-Querol E., 2015) Neutrofil tinggi juga berperan dalam resistensi doxorubicin melalui beberapa jalur. Pertama, neutrofil melepaskan IL-6, yang dapat mengaktifkan jalur JAK, menyebabkan penghabisan doxorubicin dari sel. Jalur IL-6/JAK/STAT3 klasik dapat menyebabkan resistensi kemoterapi pada kanker payudara. Resistensi

doxorubicin terjadi melalui jalur *hypoxia inducible factor-1* (HIF-1). (Ma JH, 2020) Ini terlibat dalam proses *transisi epithelial mesenchymal transition* (EMT). (Liu C., et al. 2019) Hipoksia dapat menyebabkan amplifikasi ekspresi gen yang terkait dengan eflux obat dan induksi angiogenesis. (Qu Y., 2019) Neutrofil melepaskan TNF- α , yang menginduksi resistensi doxorubicin pada kanker payudara melalui pensinyalan terbalik. (Wihandani D, 2017) Ketiga, neutrofil melepaskan IL-1 β , yang meningkatkan *baculoviral IAP repeat containing 3* (BIRC3), penghambat apoptosis. (Mendoza-Rodriguez, 2017)

2.11 NEUTROFIL DAN STRATEGI TERAPI KANKER

Strategi terapi baru dengan target komponen tumor non kanker memungkinkan dengan bukti terdapat hubungan erat antara sel lingkungan mikro tumor dengan pertumbuhan dan perkembangan kanker. TAN, juga dapat mewakili target yang baik untuk terapi inovatif kanker dan penggunaannya sebagai target terapi kanker telah dianjurkan. (Gambar 12) (Masucci MT, et al., 2019)



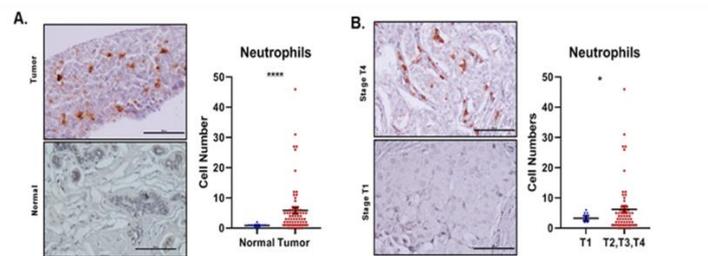
Gambar 13. Strategi Terapi untuk Penargetan Neutrofil Kanker

Pendekatan baru untuk pengobatan kanker dapat berupa penghambatan farmakologis dari faktor turunan tumor yang merekrut dan mempolarisasi neutrofil dan/atau gangguan selektif dengan fungsi pro-tumor neutrofil. Strategi ini dapat dikombinasikan dengan obat antikanker konvensional atau obat antikanker baru, untuk memberikan efek terapeutik yang lebih baik. Gregory AD., Houghton AM., 2011, menyarankan dua kemungkinan strategi: (a) menargetkan "sumbu CXCL 8/CXCR-1/CXCR-2", sehingga TAN lelah atau (b) menargetkan zat turunan PMN tertentu yang dapat untuk menginduksi pertumbuhan tumor. (Gregory AD, Houghton AM, 2011) TGF- β memodulasi polarisasi neutrofil N2. Kondamin dkk. telah mengungkapkan bahwa penghapusan TGF- β dalam sel myeloid menghambat metastasis tumor. Sebaliknya, fenotipe metastasis yang terhambat dapat dipulihkan dengan memasukkan kembali sel-sel myeloid penghasil TGF- β pada tikus yang mengandung tumor. Efeknya dimediasi oleh pengurangan sitokin tipe II, TGF- β 1, arginase 1, iNOS, yang mempromosikan ekspresi IFN- γ ditambah stimulasi kekebalan sistemik. Juga telah ditunjukkan bahwa priming protumor neutrofil dengan IFN- γ dan TNF mengubah fungsi neutrofil dari tumor-promoting ke tumor-suppressing state, melalui aktivasi sel NK, sehingga pemberian sel NK normal dapat mewakili pendekatan terapeutik yang potensial dalam terapi tumor. (Masucci MT, et al., 2019)

2.12 PEMERIKSAAN IMUNOHISTOKIMIA

Metode pewarnaan IHC dengan antibody (anti-CD66b polyclonal antibody; CEACAM8 polyclonal antibody; Elabscience Biotechnology Inc. Houston, Texas, USA; diluted 1:50). CD66b adalah *carcinoembryonic antigen*

(CEA)-related cell adhesion molecule 8 (CEACAM8) dan merupakan protein CEA yang sangat terlikosilasi yang dikode oleh gen CGM6 yang dapat ditemukan pada neutrofil dan eosinofil.



(A) Gambar menunjukkan infiltrasi neutrofil tinggi pada jaringan tumor daripada jaringan normal. (B) Gambar menunjukkan infiltrasi neutrofil tinggi pada pada tumor cT2, T3, dan T4 dibanding tumor T1. (Wu L., 2020)

Gambar 14. Immunohistokimia TAN pada Invasive Ductal Carcinoma.
(Wu L., et al, 2015)