

## Hubungan Jumlah Limfosit, Monosit, dan Neutrofil Darah Tepi dengan Pemberian Vitamin D pada Terapi Neoadjuvan Kanker Payudara Stadium Lanjut Lokal

Stephanie R. Tanama<sup>1\*</sup>, Christian Manginstar<sup>2</sup>, Harsali F. Lampus<sup>3</sup>, Fima L. F. G. Langi<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis I (PPDS-I), Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi, Manado.

<sup>2</sup> Staf Pengajar Ilmu Bedah Onkologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi, Manado.

<sup>3</sup> Staf Pengajar Bedah Anak, Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi, Manado.

<sup>4</sup> Staf Pengajar Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi, Manado.

\*Penulis Korespondensi : [stephanie.tanama@gmail.com](mailto:stephanie.tanama@gmail.com).

### ABSTRAK

**Tujuan:** Untuk menilai hubungan antara jumlah limfosit, monosit, dan neutrofil darah tepi pada pasien kemoterapi neoadjuvan kanker payudara stadium lanjut lokal dengan pemberian vitamin D. **Metode:** Desain penelitian ini berupa *single-blind, randomized placebo-controlled trial* yang melibatkan 14 sampel dengan 7 sampel sebagai kelompok percobaan yang diberi vitamin D 600 IU/hari dan kelompok kontrol yang diberi plasebo. Dilakukan pengukuran kadar vitamin D, limfosit, monosit, dan neutrofil masing-masing 1 minggu pasca kemoterapi. Penelitian ini dilakukan dari bulan Oktober 2019-Maret 2020 di RSUP Prof. Dr. RD Kandou Manado. Analisa data dilakukan dengan uji ANOVA. **Hasil:** Kadar vitamin D pada kelompok percobaan mengalami peningkatan yang signifikan dibanding kelompok kontrol. Peningkatan kadar limfosit pada kelompok percobaan sebanyak 11% dibanding kelompok kontrol ( $p < 0,05$ ). Kadar monosit juga meningkat 2% pada kelompok percobaan dibanding kelompok kontrol ( $p < 0,05$ ), namun berbanding terbalik dengan kadar neutrofil batang dan segmen yang turun 3-4% pada kelompok percobaan ( $p = 0,079$ ). **Simpulan:** Terdapat hubungan yang bermakna antara kadar limfosit dan monosit terhadap pemberian vitamin D pada kanker payudara stadium lanjut lokal yang mendapat kemoterapi neoadjuvan, namun tidak terdapat hubungan bermakna pada kadar neutrofil.

**Kata kunci:** vitamin D, limfosit, monosit, neutrofil, kemoterapi neoadjuvan.

**DOI:** <https://doi.org/10.24843/JBN.2023.v07.i02.p04>

### ABSTRACT

**Aim:** To assessed the relationship between the number of lymphocytes, monocytes, and neutrophils in peripheral blood in neoadjuvant chemotherapy patients with locally advanced breast cancer with administration of vitamin D. **Methods:** This study is a *single-blind, randomized placebo-controlled trial* involving 14 samples with 7 samples as a experimental group was given Vitamin D 600 IU/day and placebo to control group. Vitamin D level, lymphocytes, monocytes, and neutrophils count were measured every 1 week after chemotherapy. This study was conducted from October 2019-March 2020 at Prof. Dr. RD Kandou Hospital Manado. Data analysis using the ANOVA test. **Results:** Vitamin D levels in the experimental group increased significantly compared to the control group. The increase in lymphocyte levels in the experimental group was 11% compared to the control group ( $p < 0.05$ ). Monocyte levels also increased 2% in the experimental group compared to the control group ( $p < 0.05$ ), but inversely proportional to the neutrophil count of bands and segments amount 3-4% in the experimental group ( $p = 0.079$ ). **Conclusion:** There was a significant relationship between the peripheral lymphocytes and monocytes count with vitamin D in local advanced breast cancer stage with neoadjuvant chemotherapy, but there was no significant relationship on neutrophils count.

**Keywords:** vitamin D, lymphocyte, monosite, neutrophile, neoadjuvant chemotherapy.

## PENDAHULUAN

Insidensi kanker payudara di dunia menurut *Global Cancer Observatory (GLOBOCAN)* tahun 2018 sebesar 11,6% serta angka mortalitas sebesar 6,6%. Sedangkan di Indonesia memiliki insidensi sebesar 16,7% serta angka mortalitas sebesar 11%.<sup>1</sup>

Modalitas terapi kanker payudara lanjut lokal dimulai dari kemoterapi neoadjuvan. Kemoterapi ini memiliki efek samping supresi sumsum tulang dan sistem imun yang berdampak meningkatnya morbiditas dan mortalitas.<sup>2</sup> Peran sistem imun pada kanker terdiri dari respon imunitas seluler maupun humoral. Selain itu dikenal pula teori *immunosurveillance* dan *immunoediting* yang mempengaruhi sel kanker dapat lebih berkembang setelah melewati sistem pertahanan yang dibangun oleh sistem imun.<sup>3</sup>

Kemoterapi juga dapat menurunkan konsentrasi vitamin D dalam darah. Penelitian yang dilakukan oleh Kok dkk.<sup>4</sup> menyatakan bahwa kadar vitamin D dalam darah pada pasien kanker payudara akan semakin rendah ketika mendapatkan kemoterapi, Kadar vitamin D akan membaik setelah 6 bulan pasca kemoterapi.<sup>4</sup> Penelitian lain yang dilakukan oleh Kim dkk. menyatakan bahwa terjadi penurunan kadar vitamin D dalam darah sebanyak 3,2% pada pasien kanker payudara yang diberikan kemoterapi neoadjuvan.<sup>5</sup> Data praklinis menunjukkan bahwa paparan kalsitriol yang sangat tinggi diperlukan untuk efek antitumor. Penelitian yang dilakukan oleh Mohr dkk. melaporkan sampel yang memiliki kadar vitamin D yang tinggi lebih dari 47 ng/mL memiliki risiko 50% lebih rendah untuk terkena kanker payudara.<sup>6</sup> Penelitian lain yang dilakukan oleh Stoll dkk. melaporkan peningkatan serum 25(OH)D akibat paparan sinar matahari dan pemberian suplemen vitamin D 400 IU per hari dapat

menurunkan risiko dan rekurensi kanker payudara.<sup>7</sup>

Tujuan penelitian ini adalah menilai hubungan antara jumlah limfosit, monosit, dan neutrofil darah tepi pada pasien kemoterapi neoadjuvan kanker payudara stadium lanjut lokal dengan pemberian vitamin D.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain penelitian berupa *single-blind, randomized placebo-controlled trial*. Total sampel sebanyak 14 sampel dengan 7 sampel sebagai kelompok percobaan yang diberi vitamin D 600 IU/hari dan kelompok kontrol yang diberi plasebo. Selanjutnya, dilakukan pengukuran kadar vitamin D, limfosit, monosit, dan neutrofil di awal sebelum kemoterapi dan masing-masing 1 minggu pasca kemoterapi selama 2 siklus kemoterapi. Kemudian data akan dianalisis dengan uji ANOVA. Penelitian ini sudah mendapat ijin dari komisi etik dan dilakukan dari bulan Oktober 2019-Maret 2020 di RSUP Prof. Dr. RD Kandou Manado.

## HASIL

Subjek penelitian sebanyak 14 pasien, terdiri atas 7 kelompok yang diberikan vitamin D 600 IU/hari dan 7 kelompok kontrol yang diberi plasebo. Data karakteristik subjek penelitian dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Karakteristik umur sampel didapatkan tidak bermakna antara rerata kelompok kontrol dan kelompok percobaan, masing-masing 51 dan 50,3. Karakteristik status gizi juga tidak bermakna antara rerata kelompok kontrol dan percobaan, masing-masing 22,1 dan 21,5. Kelompok percobaan secara rata-rata memiliki kadar vitamin D sedikit lebih tinggi daripada kontrol sejak pengukuran pertama. Tetapi nilai p perbedaan keduanya

di awal penelitian masih terlalu dekat ke angka acuan 0,05 untuk hasil signifikan, sehingga peneliti memandang relatif aman untuk berasumsi bila alokasi pasien ke dalam kedua kelompok cukup merata (homogen). Hal ini juga terjadi pada kadar limfosit dan neutrofil dimana pada kelompok percobaan dan kelompok kontrol memiliki  $p < 0,05$ . Namun, untuk kadar awal monosit memiliki

$p > 0,05$  yang mengindikasikan data heterogen, meskipun kadar monosit di tahap selanjutnya memiliki  $p < 0,05$  yang bersifat homogen. Untuk memastikan terkontrolnya perbedaan kandungan vitamin D, limfosit, monosit, dan neutrofil menurut waktu, analisis multivariat di bagian selanjutnya selalu melibatkan variabel waktu dalam setiap model.

**Tabel 1.** Karakteristik Penderita KPLL dalam Penelitian

Karakteristik	Kelompok			p <sup>a</sup>
	Total (N=14)	Kontrol (n=7)	Vitamin D (n=7)	
Usia	50,6 ± 7,1	51,0 ± 9,9	50,3 ± 3,1	0,858
Indeks Masa Tubuh (kg/m <sup>2</sup> )	21,8 ± 2,5	21,5 ± 1,7	22,1 ± 3,2	0,663
Kadar Vitamin D (ng/mL)				
Awal	25,8 ± 5,4	23,0 ± 2,6	28,6 ± 6,2	0,048
Pasca Siklus I	27,3 ± 6,3	23,5 ± 2,6	31,0 ± 6,8	0,018
Pasca Siklus II	29,2 ± 7,3	25,1 ± 2,6	33,3 ± 8,3	0,043
Leukosit (10 <sup>3</sup> =mL)				
Awal	9,1 ± 2,4	10,1 ± 2,7	8,1 ± 1,4	0,098
Pasca Siklus I	8,0 ± 2,2	8,2 ± 2,4	7,8 ± 2,0	0,746
Pasca Siklus II	7,1 ± 2,4	6,1 ± 2,5	8,2 ± 1,8	0,107
Limfosit (%)				
Awal	25,6 ± 6,2	21,3 ± 3,5	29,9 ± 5,3	0,004
Pasca Siklus I	25,6 ± 6,3	21,4 ± 5,1	29,7 ± 4,5	0,008
Pasca Siklus II	26,1 ± 6,6	21,6 ± 3,7	30,7 ± 5,7	0,004
Monosit (%)				
Awal	6,8 ± 1,7	6,7 ± 2,0	6,9 ± 1,5	0,880
Pasca Siklus I	7,3 ± 1,9	6,0 ± 1,5	8,6 ± 1,1	0,004
Pasca Siklus II	7,8 ± 2,0	6,6 ± 1,4	9,0 ± 1,7	0,014
Neutrofil - Batang (%)				
Awal	1,5 ± 2,1	2,7 ± 2,4	0,3 ± 0,8	0,035
Pasca Siklus I	1,6 ± 2,2	2,9 ± 2,5	0,3 ± 0,8	0,025
Pasca Siklus II	1,7 ± 3,7	3,4 ± 4,7	0,0 ± 0,0	0,079
Neutrofil - Segmen (%)				
Awal	62,3 ± 6,3	66,1 ± 5,0	58,4 ± 5,2	0,015
Pasca Siklus I	62,3 ± 5,2	64,1 ± 5,7	60,4 ± 4,3	0,193
Pasca Siklus II	61,0 ± 5,1	61,6 ± 5,1	60,4 ± 5,3	0,690

Catatan: SD standar deviasi. <sup>a</sup> Uji t dua sampel independen

**Tabel 2** menunjukkan regresi linier perbedaan kadar limfosit, monosit dan neutrofil. **Gambar 1** menunjukkan perbedaan rerata bahwa pemberian vitamin D meningkatkan kadar limfosit sebesar hampir 9% ( $p < 0,001$ ) setelah variabilitas dalam waktu pengukuran dikontrol, sedangkan

kadar monosit, mengalami peningkatan bermakna setelah diberi vitamin D sebesar 2%. Namun hasil berbanding terbalik pada kadar neutrofil yang mengalami penurunan sebesar 3% dan 4% pada neutrofil batang dan neutrofil segmen.

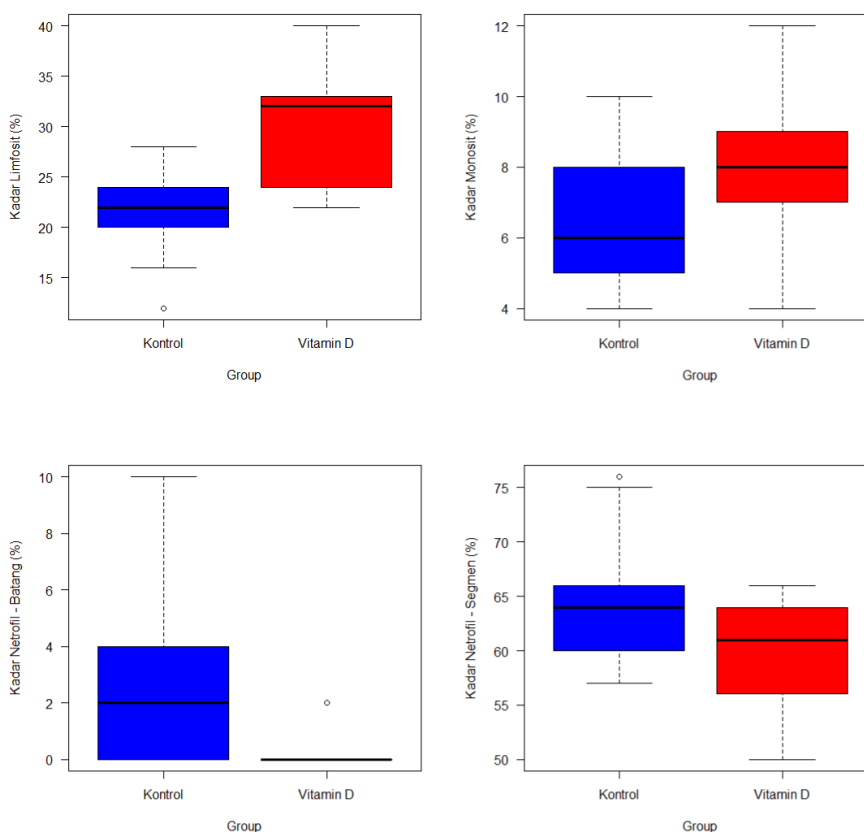
**Tabel 2.** *Random Intercept Linear Regression Model*

Outcome	Model I				Model II			
	b	SE(b)	T	p	b	SE(b)	T	p
Limfosit	8,67	2,19	3,96	<0,001	8,32	1,98	4,20	<0,001
Monosit	1,71	0,66	2,60	0,009	1,79	0,57	3,14	0,002
Neutrofil - Batang	-2,81	0,88	-3,18	0,001	-2,84	0,75	-3,79	<0,001
Neutrofil - Segmen	-4,19	2,04	-2,06	0,039	-3,87	1,94	-1,99	0,046

Catatan: *SE standard error. Fixed effect* masing-masing model

Model I: grup, waktu

Model II: grup, waktu, usia, indeks massa tubuh



**Gambar 1.** Perbedaan Kadar Limfosit, Monosit, dan Neutrofil Berdasarkan Kelompok Pemberian Suplemen Vitamin D

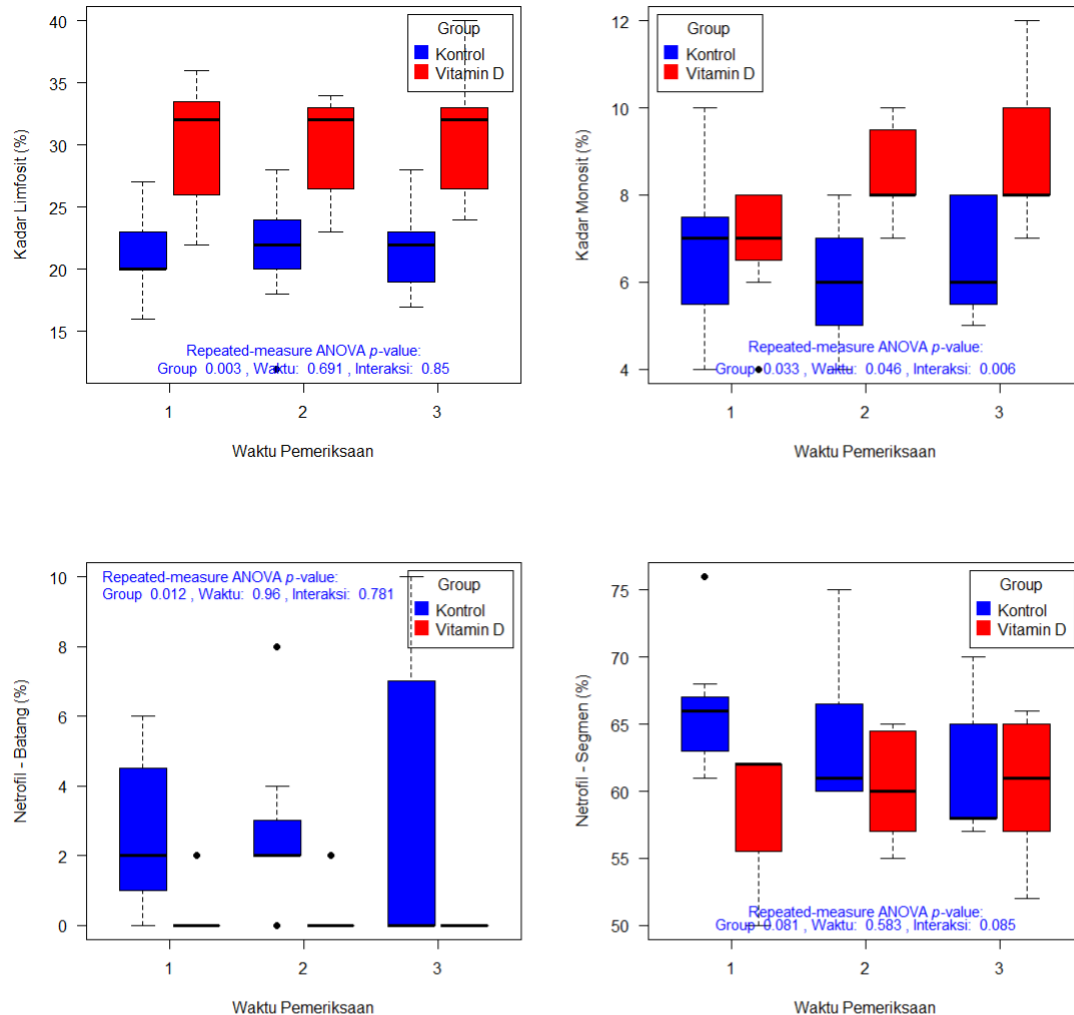
Pada **Gambar 2** terdapat diagram *boxplot* dimana kadar limfosit menunjukkan perbedaan konsisten di sepanjang waktu pengukuran tanpa perubahan berarti. Sejalan dengan itu hasil ANOVA memperlihatkan efek signifikan dari kelompok ( $p = 0,003$ ) namun tidak demikian untuk waktu. Hal berbeda ditemui untuk perubahan kadar monosit dimana adanya kecenderungan perubahan yang berbeda di kedua kelompok

seiring waktu. Tampilan grafik ini dikonfirmasi oleh hasil uji ANOVA. Sementara itu, grafik perubahan kadar neutrofil batang menunjukkan perbedaan yang lebih ke arah kelompok (*group*) dan tidak dipengaruhi waktu (nilai  $p$  untuk efek kelompok 0,012).

*Boxplot* perubahan neutrofil segmen menurut waktu merupakan gambaran yang paling unik. Sekalipun distribusi kadar

neutrofil segmen di awal penelitian dari mereka dengan terapi vitamin D cenderung lebih rendah dan relatif tidak tumpang tindih dengan distribusi wanita kontrol, secara

keseluruhan uji ANOVA gagal mendeteksi adanya efek kelompok maupun waktu terhadap variabel *outcome* tersebut.



**Gambar 2.** Perubahan Kadar Limfosit, Monosit, dan Neutrofil menurut Grup Pemberian Vitamin D dan Waktu Pemeriksaan (1) Awal Penelitian, (2) Pasca Kemoterapi Siklus I, dan (3) Pasca Kemoterapi Siklus II

## DISKUSI

Peningkatan kadar limfosit pada penelitian ini dipengaruhi oleh teori peran vitamin D terhadap limfosit. Peran vitamin D pada limfosit T terutama berpengaruh pada sel *T helper 1* (Th1) dan sel *T helper 2* (Th2). Hal ini dipengaruhi oleh ikatan antara VDR dengan vitamin D yang bertranslokasi ke nukleus dan mengaktifkan *gene encoding phospholipase C- $\gamma$ 1* (PLC- $\gamma$ 1) yang

mengaktivasi sel T dan maturasi sel T. Aktivasi ikatan VDR dan vitamin D juga menghasilkan sekresi sitokin, aktivasi sel T supresor dan induksi set T regulator. Selain itu, vitamin D juga mempromosikan pergeseran Th1 menjadi Th 2. Vitamin D juga menghambat proliferasi Th1, *transforming growth factor- $\beta$ 1* (TGF- $\beta$ 1) yang berdampak pada peningkatan fungsi sel Th 2.<sup>8</sup> Peran vitamin D juga terjadi pada sel

supresi T regulator yang menginduksi IL-2 yang diproduksi oleh CD4<sup>+</sup>, dimana keduanya menekan IL-17 yang berperan sebagai pro-inflamasi. Efek sel T regulator terhadap induksi CD8<sup>+</sup> diketahui lebih lemah dibanding efek terhadap CD4<sup>+</sup>. Ikatan *Vitamin D Receptor* (VDR) pada limfosit B mengakibatkan peningkatan proliferasi sel B dengan mekanisme sebelumnya menghambat p18, p21, dan p27 yang berfungsi untuk proliferasi dan aktivasi sel B yang selanjutnya meningkatkan imunoglobulin. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Karkeni dkk., mengukur kadar limfosit yang diwakilkan oleh CD8<sup>+</sup> dan *granzyme B* pada kedua kelompok terutama yang diberikan vitamin D. Kelompok yang diberi vitamin D selama 20 hari berturut-turut mengalami peningkatan kadar limfosit dan penurunan volume tumor payudara sebesar 55% dibanding kelompok kontrol setelah diberi vitamin D.<sup>9</sup> Penelitian lainnya yang dilakukan Yuqian H dkk. meneliti hubungan pemberian vitamin D dengan rasio neutrofil-limfosit (*neutrophil-lymphocyte ratio/NLR*) dan rasio limfosit-monosit (*lymphocyte-monocyte ratio/LMR*) preoperatif dan menilai prognosinya, dimana pasien dengan pemberian vitamin D sebelum operasi secara signifikan memiliki NLR dan LMR yang rendah dan memiliki kesintasan keseluruhan yang lebih baik.<sup>10</sup>

Peningkatan kadar monosit pada penelitian ini dipengaruhi oleh teori peran vitamin D terhadap monosit. Peran vitamin D dengan monosit bermula dari ikatan antara reseptor vitamin D dan enzim CYP27B1, yang akan menstimulasi *macrophage-like cell* yang berperan sebagai *immunoregulator*. Selanjutnya, terjadi stimulasi prekursor monosit untuk berdiferensiasi menjadi monosit yang matur untuk melakukan fungsi sebagai fagositosis.<sup>8</sup> Pada penelitian yang dilakukan Jacob dkk. meneliti tentang profil

sel imun sebagai prediagnostik pada kanker payudara. Hasil penelitian tersebut menyatakan jika kadar monosit yang tinggi memiliki risiko yang lebih rendah terkena kanker payudara.<sup>11</sup>

Penurunan kadar neutrofil baik neutrofil batang dan segmen pada penelitian ini berdasarkan patofisiologi kanker payudara dan hubungannya dengan kadar neutrofil. Peran vitamin D dalam sistem imun adalah dengan ikatan VDR di sel neutrofil yang merangsang produksi dari IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 dan TNF  $\alpha$ . Namun peran vitamin D terhadap neutrofil kurang signifikan dibanding dengan peran vitamin D terhadap limfosit dan monosit. Hal ini dikarenakan ikatan antara neutrofil dan VDR hanya sebagai pendukung dari produksi sitokin-sitokin yang dihasilkan oleh limfosit dan monosit. Vitamin D lebih menginduksi diferensiasi sel-sel mononuklear dibanding polimorfonuklear. Bahkan vitamin D dapat menekan formasi koloni *human granulosit* yang merupakan prekursor dari neutrofil.<sup>12</sup> Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Seyed- Amir dkk. melaporkan bahwa pemberian vitamin D dosis tinggi dapat menurunkan jumlah neutrofil.<sup>13</sup>

Penelitian ini memiliki keterbatasan seperti jumlah sampel yang kurang dan merupakan penelitian yang baru pertama melakukan penilaian kadar limfosit, monosit dan neutrofil pada pasien kanker payudara stadium lanjut lokal yang menerima kemoterapi neoadjuvan, sehingga tidak ada pembandingan dari sumber referensi sebelumnya. Kekuatan penelitian ini adalah menggunakan rancangan *single blind, randomized controlled trial*, dimana pemilihan sampel acak yang dikelompokkan menjadi kelompok percobaan dan kelompok kontrol. Penelitian ini juga mengeksplorasi beberapa variabel yang juga merupakan faktor prediktif sehingga hasil yang didapatkan tidak hanya menghasilkan

kemaknaan tetapi juga memenuhi dalam keterkaitan antar variabel.

### SIMPULAN

Terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian vitamin D dengan peningkatan kadar limfosit dan monosit pada kanker payudara stadium lanjut lokal yang mendapat kemoterapi neoadjuvan. Namun tidak terdapat hubungan bermakna pada kadar neutrofil, yang justru pemberian vitamin D menurunkan kadar neutrofil. Hal ini dikarenakan peran limfosit dan monosit dalam sistem imun pada kanker payudara memang lebih dominan dibanding dengan neutrofil, karena vitamin D lebih menginduksi diferensiasi sel-sel mononuklear dibanding polimorfonuklear. Bahkan vitamin D dapat menekan formasi koloni *human granulosit* yang merupakan prekursor dari neutrofil, sehingga pemberian vitamin D akan memberikan hasil yang linier pada peningkatan kadar limfosit dan monosit, namun tidak terjadi pada kadar neutrofil perifer.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada keluarga dan para pembimbing penelitian

### PERNYATAAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam tulisan ini

### DAFTAR PUSTAKA

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistic, 2018. *CA Cancer J Clin*. 2018;68:7-30.
2. Priestman T. *Cancer chemotherapy in clinical practice*. London: Springer; 2012. hal.41-3.
3. Kresno SB. Cancer immunology: from immunosurveillance to immunoescape. *Indonesian Journal of Cancer*. 2008;2:18-23.
4. Kok DE, van den Berg MMGA, Posthuma L, dkk. Change in circulating levels of 25-hydroxyvitamin D3 in breast cancer patients receiving chemotherapy. *Nutrition and cancer J*. 2019;71:756-66.
5. Kim JS, Haule CC, Kim JH. Association between changes in serum 25-hydroxyvitamin D levels and survival in patients with breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy. *J Breast cancer*. 2018;21:134-41.
6. Mohr SB, Gorham ED, Alcaraz JE, dkk. Serum 25-hydroxyvitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. *Anticancer Res*. 2011;31:2939-48.
7. Stoll F, Akladios CY, Mathelin C. Vitamin D and breast cancer: is there a link? *Gynecol Obstet Fertil*. 2013; 41:242-50.
8. Rosa MD, Malaguarnera M, Nicoletti F dkk. Vitamin D3: a helpful immunomodulator. *Immunology* 2011;134:123-39.
9. Wu YY, Liu HY, Huang TC, dkk. A phase II double-blinded study to evaluate the efficacy of EW02 in reducing chemotherapy-induced neutropenia in breast cancer. *Oncol Lett*. 2015;10:1793-8.
10. Huang Y, Zhou C, Zhao R, dkk. The relationship between vitamin D, ratio of neutrophil to lymphocyte, and ratio of lymphocyte to monocyte in preoperative serum and prognosis of patient with breast conserving surgery in breast cancer. *Int J Clin Exp Med*. 2019;12:10537-48.
11. Kresovich JK, O'Brien K, Xu Z, dkk. Prediagnostic immune cell profiles and breast cancer. *JAMA Netw Open*. 2020;3:e1919536.

12. Medrano M, Carrillo-Cruz E, Montero I, dkk. Vitamin D: effect on haematopoiesis and immune system and clinical applications. *Int J Mol Sci.* 2018;19:2263.
13. Tabatabaeizadeh SA, Avan A, Bahrami A, dkk. High dose supplementation of Vitamin D affect measures of systemic inflammation: reductions in high sensitivity C-reactive protein level and neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) distribution. *J Cell Biochem.* 2017;118:4317-22.