

## Hubungan Antara Ekspresi Cyclooxygenase-2 Dengan Derajat Histopatologi dan Invasi Limfovaskular Karsinoma Sel Skuamosa Serviks

Listinawati<sup>1</sup>, Henny Sulastri<sup>1</sup>, Wresnindyatsih<sup>1</sup>, Mutiara Budi Azhar<sup>2</sup>

1. Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Palembang
2. Bagian Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Palembang

Email: watilistina@gmail.com

### Abstrak

Karsinoma sel skuamosa (KSS) serviks merupakan karsinoma invasif yang terdiri dari sel-sel dengan diferensiasi skuamosa. Berdasarkan derajat histopatologinya KSS serviks dibagi menjadi derajat 1 (diferensiasi baik), derajat 2 (diferensiasi sedang) dan derajat 3 (diferensiasi buruk). Banyak faktor yang berperan dalam karsinogenesis KSS serviks, antara lain *cyclooxygenase-2*, enzim kunci dalam sintesis prostaglandin, namun hubungan antara COX-2 dengan derajat histopatologi KSS serviks masih menjadi kontroversi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara ekspresi COX-2 dengan derajat histopatologi dan invasi limfovaskular KSS serviks dengan pemeriksaan imunohistokimia. Penelitian ini adalah penelitian potong-lintang. Lima puluh slaid sampel diambil dengan cara *simple random sampling* dari arsip Patologi Anatomi RSUD Dr. Mohammad Hoesin Palembang dari Januari sampai Desember 2013. Dilakukan pulasan menggunakan antibodi COX-2 dan dianalisis hubungan ekspresi tersebut dengan derajat histopatologi dan invasi limfovaskular KSS serviks. Hasil penelitian didapatkan derajat histopatologi terbanyak adalah derajat atau diferensiasi buruk (derajat 2 dan 3) sebesar 78%, diikuti derajat atau diferensiasi baik (22%). Terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi COX-2 dengan derajat histopatologi KSS serviks ( $p=0,046$ ). Invasi limfovaskular dijumpai pada 78% kasus, tetapi tidak berhubungan dengan positifitas ekspresi COX-2 ( $p=0,618$ ). Didapat juga temuan lain yaitu sebaran atau infiltrasi sel radang yang padat pada 72% kasus dan adanya hubungan yang bermakna dengan positifitas ekspresi COX-2 ( $p=0,020$ ). Disimpulkan bahwa ekspresi COX-2 paling tinggi terdapat pada KSS serviks dengan derajat atau diferensiasi buruk dan semakin menurun pada derajat atau diferensiasi baik. Invasi limfovaskular tidak berhubungan dengan ekspresi COX-2.

**Kata kunci:** Karsinoma sel skuamosa serviks, derajat histopatologi, invasi limfovaskular, COX-2

### Abstract

**The association of cyclooxygenase-2 expression with histopathological grading and lymphovascular invasion in cervical squamous cell carcinoma.** Squamous cell carcinoma (SCC) of the cervix is invasive carcinoma composed of cells with squamous differentiation. Based on the grading of histopathologic features, cervical SCC divided into grade 1 (well differentiated), grade 2 (moderate differentiated) and grade 3 (poorly differentiated). Many factors play a role in carcinogenesis of cervical SCC, include cyclooxygenase-2, a key enzyme in the synthesis of prostaglandin, but the association of COX-2 with histopathological grading of cervical SCC remains controversial. This study aims to determine the association of the expression of COX-2 with histopathological grading and lymphovascular invasion in cervical SCC by immunohistochemical examination. This study is cross-sectional study. Fifty slides of samples taken by simple random sampling from the archive department of pathology Dr. Mohammad Hoesin hospital Palembang from January to December 2013. Attractions outward using COX - 2 antibody and analyzed its expression with histopathology grading and lymphovascular invasion of cervical SCC. As Results poorly differentiated (grade 2 and 3) is the most of histopathological grading (78%), followed by well differentiated (22%). There is a significant association between COX - 2 expression with histopathological grading of cervical SCC ( $p = 0.046$ ). Limfovaskular invasion found in 78% of cases, but not related to the expression of COX - 2 positivity ( $p = 0.618$ ). Other findings are also obtained dense infiltration of inflammatory cells in 72% of cases and there is association with the expression of COX - 2 positivity ( $p = 0.020$ ). It can be concluded that COX - 2 expression is highest in cervical SCC with poorly differentiated and decrease in well differentiated. Limfovaskular invasion not related to the expression of COX - 2.

**Keywords:** cervical squamous cell carcinoma, histopathological grading, limfovaskular invasion, COX - 2

## 1. Pendahuluan

Kanker serviks merupakan keganasan kedua terbanyak pada wanita di seluruh dunia.<sup>1</sup> Terdapat 500.000 kasus baru kanker serviks setiap tahunnya dan 250.000 kasus kematian akibat kanker serviks, 80% kasus terjadi di negara berkembang.<sup>1,2</sup> Tahun 2010 di Amerika Serikat telah terdiagnosis 12.200 kasus baru dan 4.210 diantaranya menyebabkan kematian.<sup>3</sup> Berdasarkan data Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia tahun 2009 kanker serviks menempati urutan kedua terbanyak setelah kanker payudara yaitu sebanyak 2965 kasus, dengan insiden tertinggi pada kelompok usia 45-54 tahun.<sup>4</sup> Data di Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/Rumah Sakit Umum Pusat dr. Mohammad Hoesin Palembang menunjukkan kanker serviks dalam 5 tahun terakhir masih menempati urutan kedua terbanyak dari seluruh kanker.<sup>5</sup> Karsinoma sel skuamosa (KSS) merupakan tipe histologis terbanyak (87%) karsinoma serviks.<sup>6,7</sup> Berdasarkan derajat histopatologi atau derajat differensiasi sel tumornya KSS dibagi menjadi *well differentiated (keratinizing)*, *moderately differentiated* dan *poorly differentiated* (modifikasi sistem Broders).<sup>6,7</sup>

COX-2 atau *prostaglandin endoperoxide synthase-2 (PGES-2)* merupakan enzim kunci yang mengkatalisasi konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin yang berperan dalam inflamasi dan keganasan. Ekspresi COX-2 dapat dinilai antara lain dengan pemeriksaan imunohistokimia.<sup>2,8,10-18</sup> Penelitian terbaru mendapatkan adanya overekspresi protein proinflamasi COX-2 pada kanker serviks. Kulkarni S *et al.* mendeteksi overekspresi COX-2 pada 12 dari 13 kasus kanker serviks, demikian juga dengan penelitian yang dilakukan Jung *et al.* menunjukkan ekspresi COX-2 73,9% pada kanker serviks. Penelitian tentang hubungan ekspresi COX-2 dengan beberapa parameter histopatologi karsinoma serviks telah banyak dilakukan. Chen *et al.* mendapatkan ekspresi COX-2 yang lebih tinggi pada karsinoma serviks derajat 1 dibandingkan ekspresinya pada derajat 2 dan 3, hal ini menggambarkan peran penting COX-2 pada awal karsinogenesis karsinoma serviks, tetapi Dursun *et al.* dan Farley *et al.* mendapatkan hasil sebaliknya, di mana tingkat ekspresinya pada KSS derajat buruk lebih tinggi dibandingkan ekspresinya pada yang diferensiasi baik atau pada lesi prakanker, ekspresi COX-2 meningkat sejalan dengan beratnya displasia pada lesi prakanker, hal ini mungkin disebabkan karena COX-2 direduksi pada diferensiasi selular yang agresif.<sup>2,9,14</sup>

Kontroversi dari hasil penelitian-penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa masih diperlukan lebih banyak data dari berbagai populasi tentang peran COX-2 dalam karsinogenesis. Fokus pengamatan akan dilakukan dengan melihat hubungan antara tingkat ekspresi COX-2 pada KSS dengan berbagai derajat diferensiasi dan ada atau tidaknya invasi limfovaskular. Penelitian ini diharapkan

dapat menjadi data dasar, salah satu bahan acuan dan landasan ilmiah untuk penelitian atau uji klinis inhibitor COX-2.

## 2. Metode Penelitian

Desain yang digunakan pada penelitian ini adalah desain potong lintang dengan tehnik pengambilan sampel secara *simple random sampling*.

Sebanyak 50 sampel preparat Hematoksilin-Eosin (HE) disertai blok parafin kasus KSB diambil dari arsip Departemen Patologi Anatomi RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang mulai Januari sampai Desember 2013. Sampel dievaluasi ulang oleh 2 orang patolog untuk menentukan derajat histopatologi dan ada atau tidaknya invasi limfovaskular pada kasus. Kemudian dilakukan pulasan imunohistokimia menggunakan antibodi primer COX-2. Interpretasi hasil pulasan imunohistokimia dilakukan oleh 2 orang patolog menggunakan mikroskop cahaya jenis olympus BX51, perbedaan pendapat dari kedua patolog diselesaikan oleh patolog ketiga.

Penilaian ekspresi COX-2 dilakukan secara semi-kuantitatif dengan menilai intensitas pulasan dan menghitung jumlah sel-sel terpulask dalam 500-1000 sel atau dalam 10 lapangan pandang besar (LPB) menggunakan pembesaran 400x, dan dinyatakan dengan sistem skoring. Skor 0 jika tidak ada sel tumor yang terpulask atau terpulask dengan intensitas lemah < 5 %, Skor 1 jika intensitas lemah pada 10-50% sel tumor atau intensitas kuat pada < 5%, Skor 2 jika intensitas lemah > 50% sel tumor atau intensitas kuat pada 10-50% sel tumor dan Skor 3 jika intensitas kuat pada > 50% sel tumor. Ekspresi COX-2 dinyatakan positif bila skor 2 atau 3.<sup>9,15,16,19</sup>

Data disajikan dalam bentuk tabel. Semua data dianalisis menggunakan program SPSS 16.0 untuk menilai distribusi dan frekuensi derajat histopatologi, invasi limfovaskular dan ekspresi COX-2. Perhitungan sesuai dengan tabel 2x2 dan analisis dengan uji *fisher's exact test* dilakukan untuk melihat hubungan antara ekspresi COX-2 dengandegradasi histopatologi dan invasi limfovaskular KSS serviks.

## 3. Hasil

Umur penderita KSS serviks pada penelitian ini berkisar antara 28-78 tahun, dengan umur rata-rata (*mean*) adalah 51,5 tahun, nilai tengah (*median*) adalah 53 tahun. Dari sampel penelitian ini didapatkan frekuensi umur terbanyak adalah pada rentang 51-60 tahun yaitu sebanyak 18 kasus (36%), diikuti kelompok umur 41-50 tahun sebanyak 14 kasus (28%).

**Tabel 1. Distribusi frekuensi penderita KSS serviks menurut umur**

Kategori umur (tahun)	n	%
<20	0	0
20-30	1	2
31-40	7	14
41-50	14	28
51-60	18	36
>60	10	20
Total	50	100

**Tabel 2. Distribusi frekuensi KSS serviks berdasarkan derajat histopatologi**

Derajat histopatologi	n	%
Derajat 1	12	24
Derajat 2	29	58
Derajat 3	9	18
Total	50	100

Dari Tabel 2 terlihat bahwa dari 50 sampel kasus KSS serviks, terbanyak dengan derajat histopatologi sedang (derajat 2), diikuti derajat sedang sebanyak 29 kasus (58%), dan derajat baik (derajat 1) sebanyak 9 kasus (18%). Pada analisis data, derajat histopatologi dikategorikan menjadi derajat/diferensiasi baik (derajat 1) dan derajat/diferensiasi buruk (derajat 2 dan 3).

**Tabel 3. Hubungan antara positifitas ekspresi COX-2 dengan karakteristik histopatologi KSS serviks**

	Derajat histopatologi						P Value
	Buruk		Baik		Total		
	n	%	n	%	n	%	
<b>Ekspresi COX-2</b>							
Positif	33	66	7	14	40	80	0,046*
Negatif	5	10	5	10	10	20	

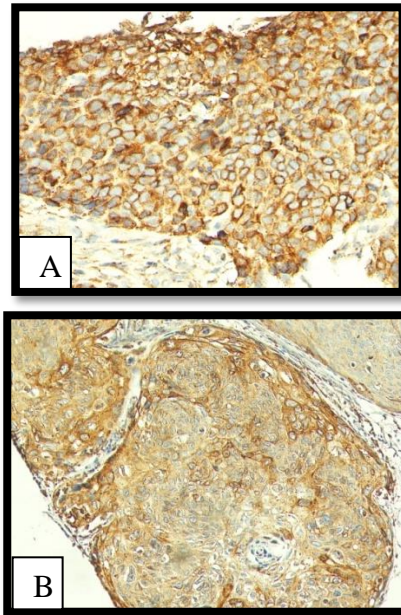
  

Ekspresi COX-2	Invasi limfovaskular						P Value
	Positif		Negatif		Total		
	n	%	n	%	n	%	
Positif	31	62	9	18	40	80	0,618*
Negatif	8	16	2	4	10	20	

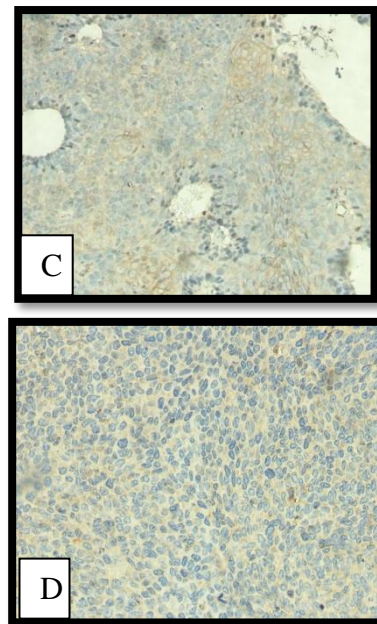
\*Uji fisher's exact

Analisis hubungan menggunakan *Fisher's Exact Test* antara ekspresi COX-2 dengan derajat histopatologi menunjukkan hubungan yang bermakna ( $p=0,046$ ). Sebanyak 66% ekspresi COX-2 positif terdapat pada KSS serviks dengan derajat histopatologi buruk, 14% pada KSS serviks derajat baik. Tampak pula ekspresi COX-2 negatif dengan persentase yang sama (5%) pada

KSS serviks derajat histopatologi baik dan buruk. Sedangkan pada analisis hubungan antara ekspresi COX-2 dan invasi limfovaskular KSS serviks tidak menunjukkan hubungan yang bermakna ( $p=0,618$ ). Ekspresi COX-2 positif terdapat pada 31% kasus KSS serviks dengan invasi limfovaskular yang positif dan 18% pada KSS serviks yang tidak dijumpai invasi limfovaskular. Terlihat juga 16% ekspresi COX-2 negatif terdapat pada KSS serviks dengan invasi limfovaskular positif dan 4% pada yang tidak dijumpai invasi limfovaskular.



**Gambar 1. Hasil pulasan imunohistokimia COX-2 positif**  
A. Intensitas kuat B. Intensitas sedang



**Gambar 2. Pulasan immunohistokimia COX-2**  
C. Intensitas lemah D. Negatif

Pada penelitian ini juga didapat temuan lain yaitu sebukan atau infiltrasi sel radang pada stroma kasus, yang dinyatakan dengan padat atau ringan. Distribusi dan hubungannya dengan ekspresi COX-2 terlihat pada Tabel 4.

**Tabel 4. Hubungan antara positifitas ekspresi COX-2 dengan sebukan atau infiltrasi sel radang pada KSS serviks**

Ekspresi COX-2	Sebukan/infiltrasi sel radang						P Value
	Padat		Ringan		Total		
	n	%	n	%	n	%	
Positif	32	64	8	16	40	80	0,020*
Negatif	4	8	6	12	10	20	
	36	72	14	28	50	100	

\*uji fisher's exact

Sebukan atau infiltrasi sel radang yang padat dijumpai pada 72% kasus, 64% kasus dengan ekspresi COX-2 positif dan 8% menunjukkan ekspresi COX-2 negatif. Sedangkan sebukan atau infiltrasi sel radang yang ringan dijumpai pada 28% kasus, 16% dengan ekspresi COX-2 positif dan 12% menunjukkan ekspresi COX-2 negatif. Hasil analisis statistik memperlihatkan adanya hubungan yang bermakna ( $p=0,020$ ) antara ekspresi COX-2 dengan sebukan atau infiltrasi sel radang.

#### 4. Pembahasan

Pada hasil penelitian ini, distribusi KSS serviks berdasarkan kategori umur hampir sama dengan penelitian-penelitian sebelumnya seperti Hanprasertpong *J et al.* yang menyatakan umur penderita KSS serviks antara 27-68 tahun dan *mean* umur 43, 9 tahun, Ming *Tet al.* melaporkan kasus karsinoma sel skuamosa serviks pada rentang umur 31-77 tahun dan *mean* umur 51,5 tahun.<sup>20,21</sup>

Distribusi KSS serviks berdasarkan derajat histopatologi sesuai dengan penelitian Ancuta *et al.* yang melaporkan derajat histopatologis terbanyak dari 61 sampel penelitian mereka adalah derajat histopatologis sedang (49,2%), diikuti derajat histopatologis baik (24,0%) dan derajat histopatologis buruk (9,8%). Hasil penelitian ini juga sejalan dengan hasil penelitian Klimek *M et al.* di Polandia yang melaporkan dari 122 sampel penelitian mereka, didapatkan derajat histopatologis terbanyak adalah derajat histopatologis sedang sebanyak 70 kasus (57,4%) dan penelitian Lindstrom *et al.* yang mendapatkan 73 kasus (58%) derajat sedang. Hasil yang berbeda dilaporkan oleh Hanprasertpong *et al.* dimanaderajat histopatologis terbanyak adalah derajat histopatologis baik sebanyak 159 kasus (67,7%), diikuti derajat histopatologis sedang sebanyak 41 kasus (17,5%) dan derajat histopatologis buruk sebanyak 23 kasus (9,8%).<sup>20-23</sup>

Banyaknya penderita KSS serviks dengan derajat histopatologi sedang menggambarkan kurang cepatnya

pendeteksian penyakit ini akibat kurangnya pengetahuan penderita tentang karsinoma serviks dan usaha deteksi dini lesi prakanker serviks.

Berdasarkan analisis statistik didapatkan hubungan yang bermakna antara ekspresi COX-2 dengan derajat histopatologi ( $p=0,046$ ). Semakin rendah atau semakin buruk derajat diferensiasi sel tumor maka ekspresi COX-2 akan semakin tinggi. Ekspresi COX-2 positif pada KSS serviks derajat buruk. Hal ini sesuai dengan penelitian Settakorn *et al.* ( $p=0,037$ ), namun Chen *et al.* mendapatkan hal sebaliknya, di mana ekspresi COX-2 lebih tinggi pada derajat diferensiasi baik, menurut Chen hal ini karena COX-2 berperan pada awal karsinogenesis KSS serviks dan perannya tidak signifikan pada proses selanjutnya. Beberapa peneliti lain seperti Ferradina *et al.*, Lee *et al* dan Dai *et al.* tidak mendapatkan hubungan yang bermakna antara ekspresi COX-2 dan derajat diferensiasi KSS serviks. Hal ini diduga karena COX-2 direduksi selama diferensiasi tumor yang agresif.<sup>9,18</sup>

Ada atau tidaknya invasi limfovaskular pada penelitian ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Settakorn *et al.* yang mendapatkan 75,5% invasi limfovaskular positif dan 23,5% invasi limfovaskular negatif dari 196 sampel penelitian. Penelitian yang dilakukan Bandyopadhyay *et al.* mendapatkan 61,9% dari 42 sampel penelitian dengan invasi limfovaskular positif dan 38,1% invasi limfovaskular negatif.<sup>17,18</sup>

Pada penelitian ini juga didapatkan temuan lain berupa sebukan atau infiltrasi sel radang pada stroma kasus KSS serviks. Hasil temuan ini hampir sama dengan hasil penelitian Klimek *et al.* yang mendapatkan sebagian besar kasus (73,6%) dengan sebukan atau infiltrasi sel radang sedang sampai padat. Hasil analisis statistik menunjukkan adanya hubungan yang bermakna ( $p=0,020$ ) antara ekspresi COX-2 dengan sebukan atau infiltrasi sel radang ini. Sebagian besar tumor dengan ekspresi COX-2 positif menunjukkan sebukan atau infiltrasi sel radang yang padat. Menurut Klimek *et al.* reaksi limfoplasmatik di sekitar tumor merupakan salah satu parameter untuk mengevaluasi hubungan antara tumor dan host, walaupun bukan faktor prognostik.<sup>24</sup>

#### 5. Kesimpulan

Ekspresi COX-2 positif pada sebagian besar kasus KSS serviks dengan diferensiasi buruk. Semakin rendah atau semakin buruk derajat diferensiasi sel tumor maka ekspresi COX-2 akan semakin tinggi. Terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi COX-2 dengan derajat histopatologi KSS serviks. Invasi limfovaskular positif terdapat pada sebagian besar kasus KSS serviks dengan derajat diferensiasi buruk, tetapi tidak ada hubungan yang bermakna antara ekspresi tersebut dengan ada atau tidaknya invasi limfovaskular.

Hasil penelitian yang menunjukkan adanya hubungan yang bermakna antara ekspresi COX-2 dan derajat histopatologi KSS serviks dapat menjadi bahan acuan untuk penelitian lanjutan tentang inhibitor COX-2 sebagai terapi target pada kasus KSS serviks.

## Daftar Acuan

1. Narayanan R, Kim H, Narayanan N, Nargi D, Narayanan B. Epidermal growth factor-stimulated human cervical cancer cell growth is associated with EGFR and cyclin D1 activation, independent of COX-2 expression levels. *International Journal of Oncology* 2012; 40:13-20.
2. Dursun P, Yuce K, Usubutun A, Ayhan A. Cyclooxygenase-2 expression in cervical intraepithelial neoplasia III and squamous cell cervical carcinoma, and its correlation with clinicopathologic variables. *Int J Gynecol Cancer* 2007; 17:164-173.
3. Hwang SJ, Shroyer KR. Biomarkers of cervical dysplasia and carcinoma. *Journal of Oncology* 2012;1-9.
4. Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia Yayasan Kanker Indonesia. *Kanker di Indonesia Tahun 2007*. Data Histopatologik. Jakarta: Direktorat Jenderal Pelayanan Medik Departemen Kesehatan RI;2007.
5. Hertati N. Hubungan stadium klinis dan derajat histopatologi pada karsinoma sel skuamosa serviks dengan ekspresi Ki 67. *PPDS I FK UNSRI RSUP Dr. Moh. Hoesin. Palembang* 2013;1-14.
6. Behtash N, Mehrdad N. Cervical cancer: screening and prevention. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2006; 7: 683-6.
7. Tavassoli FA, Devilee P. WHO classification of tumours pathology and genetics tumours of the breast and female genital organs. Lyon. IARC Press 2003; 262-8
8. Gomez DT, Santos JL. Human papillomavirus infection and cervical cancer: pathogenesis and epidemiology. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology* 2007;680-8.
9. Klimek M, Urbanski K, Kojs Z, Karolewski K, Pudelek J, Blecharz P. Role of cyclooxygenase-2 in cervical cancer. *Arch Med Sci* 2009; 303-7.
10. Jung YW, Kim SW, Kim S, Kim JH, Cho NH, Kim JW et al. Prevalence and clinical relevance of cyclooxygenase-1 and -2 expression in stage IIB cervical adenocarcinoma. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* 2010; 148: 62-6.
11. Jeon YT, Song YC, Kim SH, Wu GH, Kim IH, Park IA et al. Influences of cyclooxygenase-1 and -2 expression on the radiosensitivities of human cervical cancer cell lines. *J Cancer Letters* 2007; 256: 33-8.
12. Rizzo MT. Cyclooxygenase-2 in oncogenesis. *Clinica Chimica Acta* 2011; 412: 671-687.
13. Meric JB, Rottey S, Olausson K, Soria JC, Khayat D, Rixe O et al. Cyclooxygenase-2 as a target for anticancer drug development. *Critical reviews in Oncology/Hematology* 2006; 59: 51-64.
14. Kulkarni S, Rader JS, Liapis F, Koki AT, Masferrer JL, Subbaramaiah K et al. Cyclooxygenase-2 is overexpressed in human cervical cancer. *Clinical Cancer Research* 2001; 7: 429-434.
15. Dewi N. Korelasi ekspresi cyclooxygenase-2 dengan sub tipe karsinoma nasofaring. *PPDS FK Unsri RSUP Dr. Moh Hoesin Palembang* 2011;17-28.
16. Mayanti W. Korelasi antara ekspresi cyclooxygenase-2 dengan karsinoma kolorektal. *PPDS FK Unsri RSUP Dr. Moh Hoesin Palembang* 2011;16-22.
17. Bandyopadhyay R, Chattrjee U, Mondal SK, Nag D, Sinha SK. A study on expression pattern of cyclooxygenase-2 in carcinoma of cervix. *Indian Journal of Pathology and Microbiology* 2011; 54(4): 695-9.
18. Settakorn J, Khunamornpong S, Sukpan K, Srisomboon J, Siriaungkul S. Cyclooxygenase-2 expression in cervical squamous cell carcinoma: the significance of expression in neoplastic cells within the lymphovascular space. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2009; 10: 1011-4.
19. Jo H, Kang S, Kim J, Gyeong H, Park N, song Y et al. Hypermethylation of the COX-2 gene is a potential prognostic marker for cervical cancer. *J Obset Gynaecol Res* 2007; 33(3) :236-241.
20. Hanprasertpong J, Tungsinmunkong K, Chichareon S, Wootipoom V, Geater A, Buhachat R, et al. Correlation of p53 and Ki-67 (MIB-1) expressions with clinicopathological features and prognosis of early stage cervical squamous cell carcinomas. *Obstet. Gynaecol J Res* 2010; 36(3):572-580.
21. Yamashita H, Murakami N, Takao A, Okuma K, Ohmoto K, Nakagawa K, Correlation among six biologic factors (P21<sup>WAF1</sup>, MIB-1, EGFR, HER2, and BCL-2) and clinical outcomes after curative chemoradiation therapy in squamous cell cervical cancer. *Int J Radiation Oncol Biol Phys* 2009;74:1165-72.
22. Ancuta A, Ancuta C, Cozma LG, Iordache C, Lupascu IA, Anton E. Tumor biomarker in cervical cancer: focus on Ki-67 proliferation factor and E-cadherin expression. *Romanian J of Morphology and Embryology* 2009;50(3):413-18.
23. Linstrom AK, Stendahl U, TOT T, Linstrom B, Hellberg D. Predicting the outcome of squamous cell carcinoma of the uterine cervix using combinations of individual tumor marker expressions. *Anticancer Research* 2007;27:1609-16.
24. Klimek M, Kruczak A, Rys J, Mularz K, Halaszka K, Przewoznik M, et al. Clinico-morphological parameters affecting survival of patients with advanced cervical cancer. *Pol J Pathol* 2011;3:250-56.