

The Correlation Between Cell Death, Vaskularization, and Lymphocyte Reaction in Servical Cancer Squamous Cell Carcinoma

Hubungan Antara Cell Death dengan Vaskularisasi dan Reaksi Limfosit Squamous Cell Carcinoma Kanker Serviks

Ike Jannati Utami¹, Indrayanti²

Mahasiswa Strata-1 Pendidikan Dokter UMY¹ dan Bagian Patologi Anatomi FKIK UMY²

Abstract

Background: Cervical cancer is one of the health problems in women who occupy the incidence and mortality rates in the world's 4th highest with a mortality rate of more than 288,000 women each year. There are two types of cervical cancer, namely, Squamous Cell Carcinoma (SCC) and adenocarcinoma. Approximately 80% - 90% of cervical cancer is a type of SCC.

Aims: To investigate the biological behavior of cancer cells Squamous Cell Carcinoma of the cervix types associated with cell death, vascularization, and lymphocyte reaction.

Methods: This study was a non-experimental cross-sectional approach. The sample used was a preparation Pathology cervical cancer types SCC. The data analysis using Pearson test, with significant value of $p < 0.05$.

Results: In this research obtained significant results on the correlations between cell death with vascularization ($p = 0.003$) and there was no significant correlations between cell death in lymphocytes ($p = 0.095$).

Conclusion: There is a significant correlations between cell death in cervical cancer vascularity on the type of SCC. There was no significant correlations between cell death in lymphocyte reaction in cervical cancer types SCC.

Keywords: Hypoxia Inducible Factor 1- α , Cervical Cancer, Squamous cell carcinoma, Lymphocytes.

Pendahuluan

Kanker serviks merupakan salah satu masalah kesehatan pada perempuan yang menempati angka

Abstrak

Latar belakang : Kanker serviks merupakan salah satu masalah kesehatan pada perempuan yang menempati angka kejadian dan angka kematian tertinggi ke 4 di dunia dengan angka kematian lebih dari 288.000 wanita tiap tahunnya. Terdapat 2 jenis kanker serviks yaitu, Squamous Cell Carcinoma (SCC) dan adenocarcinoma. Sekitar 80% - 90% dari kanker servik adalah jenis SCC.

Tujuan : Mengetahui biological behavior sel-sel kanker serviks jenis Squamous Cell Carcinoma berkaitan dengan cell death, vaskularisasi, dan reaksi limfosit.

Metode : Desain penelitian ini adalah non-eksperimental dengan pendekatan cross sectional. Sampel yang digunakan adalah preparat Patologi Anatomi penderita kanker serviks jenis SCC. Data di analisis menggunakan uji pearson, dengan nilai signifikan $p < 0,05$.

Hasil : Pada penelitian ini didapatkan hasil yang signifikan pada hubungan antara cell death dengan vaskularisasi ($p = 0,003$) dan tidak terdapat hubungan yang signifikan antara cell death dengan limfosit ($p = 0,095$).

Kesimpulan : Terdapat hubungan yang signifikan antara cell death dengan vaskularisasi pada kanker serviks jenis SCC. Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara cell death dengan reaksi limfosit pada kanker serviks jenis SCC.

Kata Kunci : Hypoxia Inducible Factor 1- α , Cervical cancer, Squamous cell carcinoma, Limfosit.

kejadian dan angka kematian tertinggi ke 4 di dunia dengan angka kematian lebih dari 288.000 wanita tiap tahunnya. Sekitar 70% angka

kematian terjadi di negara berkembang dan angka kejadian terbanyak terdapat sub-sahara afrika¹⁸. Sedangkan di Indonesia sendiri kanker servik berada di urutan ke 2, disusul oleh kanker hati dan saluran empedu intrahepatik, leukemia dan limfoma non hodgin, sedangkan urutan pertama adalah kanker payudara⁴.

Terdapat 2 jenis kanker serviks yaitu, *Squamous Cell Carcinoma* (SCC) dan *adenocarcinoma*. Sekitar 80% - 90% dari kanker servik adalah jenis SCC. SCC adalah kanker yang berkembang di sel squamous yang melapisi bagian permukaan dari *exocervix* dan *adenocarcinoma* adalah kanker yang berkembang dari produksi mukus sel gland di *endocervix*¹

Cell death dapat di klasifikasikan berdasarkan gambaran morfologi (apoptosis, nekrosis, *autophagic* atau yang berhubungan dengan mitosis), kriteria enzymologikal, aspek fungsional, dan karakteristik imunologikal⁵. Bentuk utama dari kematian sel adalah kematian sel yang terprogram yaitu, apoptosis dan sangat berkontribusi pada kejadian kanker, gangguan autoimun, infeksi dan gangguan generatif¹⁵.

Kematian sel juga dapat diakibatkan oleh hipoksia jaringan yang nantinya akan memicu *hypoxia-inducible factor-1* (HIF-1). Adanya HIF-1 juga dapat mengendalikan transkripsi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) (Mazure, *et al.*, 2010). Adanya VEGF maka akan terbentuklah neovaskularisasi, neovaskularisasi memiliki efek

ganda pada pertumbuhan tumor :
Perfusi menyalurkan nutrisi dan oksigen, dan sel endotel yang baru terbentuk merangsang pertumbuhan sel tumor disekitarnya dengan mengeluarkan berbagai polipeptida².

Hal lain yang harus diperhatikan adalah jumlah limfosit. Pada kondisi neoplastik tubuh memiliki sistem pertahanan imunitas yang akan menghancurkan antigen (benda asing) di tubuh karena, tubuh sendiri mempresentasikan sel yang sudah terinfeksi sebagai benda asing yang harus dihancurkan. Sel sistem imun yang ada di tubuh terdiri dari Limfosit T, Limfosit B, Makrofag, *interleukin* (IL) dan sel natural killer¹¹.

Metode

Penelitian ini adalah jenis penelitian kuantitatif analitik dengan

rancangan yang digunakan adalah *cross sectional*. Artinya, tiap subyek penelitian hanya diobservasi sekali saja dan pengukuran dilakukan terhadap status karakter atau variabel subyek pada saat penelitian¹⁵.

Populasi target adalah Populasi yang menjadi sasaran akhir penerapan hasil penelitian.

Populasi pada penelitian ini adalah preparat pulasan HE dari sel endotel kanker serviks yang diambil dari :

- 1) Preparat pulasan HE dari sel endotel kanker serviks yang didapatkan dari Laboratorium Patologi Anatomi AMC Yogyakarta dari bulan Januari 2013 sampai April 2014
- 2) Preparat pulasan HE dari sel endotel kanker serviks yang didapatkan dari Laboratorium

Patologi Anatomi Cito Yogyakarta dari bulan Januari 2013 sampai April 2014

Sedangkan, Preparat pulasan HE dari sel endotel kanker serviks tidak dapat dibaca dikeluarkan dari sampel penelitian.

Variabel bebas pada penelitian ini adalah vaskularisasi dan reaksi limfosit. Sedangkan, variabel terikat pada penelitian ini adalah *cell death*. Alat-alat yang digunakan adalah mikroskop, counter, laptop, optic lap, rekam medis, dan preparat pulasan HE dari sel endotel kanker serviks.

Penelitian ini telah dilakukan di Universitas Muhammadiyah

Yogyakarta dari bulan September 2014 – Januari 2015. Sampel diambil dari preparat yang telah dibaca dan telah dihitung. Kemudian sampel tersebut diubah diolah dan dianalisis menggunakan *pearson*.

Hasil

1. Analisis Univariat

Karakteristik Kanker Serviks Berdasarkan Usia

Melihat karakteristik Kanker Serviks Berdasarkan usia menggunakan uji *crosstabs*, akan terlihat persentase kejadian kanker serviks berdasarkan diferensiasi dan usia. Hasil *crosstabs* dapat terlihat pada Tabel 2 berikut:

Tabel 2. Karakteristik responden kanker serviks berdasarkan usia

Rentang Usia	Diferensiasi	Sedang	Diferensiasi	Buruk
	Frekuensi (n)	Persentase (%)	Frekuensi (n)	Persentase (%)
< 60	24	100%	9	60%
≥60	0	0%	6	40%
Total	24	100%	15	100%

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat, persentase pasien kanker serviks diferensiasi sedang berdasarkan rentang usia, dari 24 pasien yang diteliti, didapatkan pasien kanker serviks differensiasi sedang pada rentang usia < 60 berjumlah 24 orang, sedangkan pada usia ≥ 60 berjumlah 0 orang. Hal tersebut menunjukkan bahwa pasein kanker serviks diferensiasi sedang banyak terjadi pada usia < 60 tahun.

Persentase pasien kanker serviks diferensiasi buruk berdasarkan rentang usia, dari 15 pasien yang diteliti, didapatkan pasien kanker serviks differensiasi

sedang pada rentang usia < 60 berjumlah 9 orang, sedangkan pada usia ≥ 60 berjumlah 6 orang. Hal tersebut menunjukkan bahwa pasein kanker serviks diferensiasi buruk banyak terjadi pada usia < 60 tahun.

2. Analisis Bivariat

- a. Hubungan antara Nekrosis dengan Limfosit.

Hubungan antara nekrosis dengan limfosit yang terjadi pada kanker serviks telah dianalisis menggunakan uji Pearson. Hasil dari uji Pearson dapat dilihat pada Tabel 3 berikut :

Tabel 3. Nilai hubungan antara nekrosis dengan limfosit pada kanker serviks jenis SCC

	Mean + SD	P
Nekrosis	9,4 ± 3,44	0,095
Limfosit	37,69 ± 12, 15	

SD = Standar deviasi. Perhitungan diuji dengan *Pearson*.

Pada Tabel 3, $p =$ Nilai signifikasi dimana jika nilai $p > 0,05$ berarti tidak memiliki

perbedaan yang signifikan dan nilai $p < 0,05$ berarti memiliki nilai perbedaan yang signifikan

didapatkan rata-rata pada pada nekrosis adalah $9,4 \pm 3,44$ dan nilai rata –rata limfosit adalah $37,69 \pm 12, 15$. Selain itu didapatkan nilai p pada limfosit adalah $p = 0,095$ ($p > 0,05$) menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara nekrosis dengan limfosit.

b. Hubungan antara Nekrosis dengan Vaskularisasi.

Hubungan antara nekrosis dengan limfosit yang terjadi pada kanker serviks telah dianalisis menggunakan uji Pearson. Hasil dari uji Pearson dapat dilihat pada Tabel 4 berikut :

Tabel 4. Hubungan antara nekrosi dengan vaskularisasi pada kanker serviks jenis SCC

	Mean + SD	<i>P</i>	<i>Correlation</i>
Nekrosis	$9,37 \pm 3,44$	0,003	0,461
Vaskularisasi	$1230 \pm 955,59$		

SD = Standar deviasi. Diuji dengan *Pearson*.

Pada Tabel 4, $p =$ Nilai signifikasi dimana jika nilai $p > 0,05$ berarti tidak memiliki perbedaan yang signifikan dan nilai $p < 0,05$ berarti memiliki nilai perbedaan yang signifikan didapatkan rata-rata pada pada nekrosis adalah $9,37 \pm 3,44$ dan

nilai rata –rata vaskularisasi adalah $1230 \pm 955,59$. Selain itu didapatkan nilai p pada vaskularisasi adalah $p = 0,003$ ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara vaskularisasi dan nekrosis. Arah dari

correlation bernilai positif (0,461) yang berarti searah, semakin besar nilai nekrosis maka semakin besar pula nilai vaskularisasi.

Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui *biological behavior* sel-sel kanker serviks jenis *Squamous Cell Carcinoma* berkaitan dengan *cell death*, vaskularisasi, dan reaksi limfosit.

Pada penelitian ini peneliti memiliki hipotesis bahwa terdapat hubungan antara *cell death* dengan vaskularisasi pada kanker serviks jenis SCC. Terbentuknya neovaskularisasi pada tumor diakibatkan karena adanya *Hypoxia Inducible Factor 1- α* (HIF 1- α) yang

diekspresikan dalam kanker pada manusia sebagai akibat dari keadaan hipoksia intratumoral serta sebagai perubahan genetik, seperti mutasi fungsi onkogen (misalnya, ERBB2) dan kerugian fungsi mutasi pada gen supresor tumor (misalnya, VHL dan PTEN)¹². Dengan adanya terbentuknya neovaskularisasi ini menunjukkan banyaknya sel yang mengalami hipoksia dan ini salah satu penyebab dari terjadinya kematian sel. Dalam keadaan hipoksia, HIF 1- α akan masuk dan terakumulasi dalam nukleus, dimana HIF 1- α ini merupakan transduksi ekspresi sinyal dari gen beberapa protein, di antaranya adalah beberapa protein penting bagi sel kanker dalam menginduksi peristiwa angiogenesis sel endotel⁹.

Faktor yang menginduksi angiogenesis adalah faktor pertumbuhan dasar fibroblas (bFGF) dan faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF). Meskipun faktor angiogenesis diproduksi oleh berbagai jenis sel, tapi hanya terbatas pada pada sel endotel saja. Dari beberapa penelitian menyebutkan bahwa tumor juga mengandung faktor yang mempengaruhi pembentukan kapiler baru. Sel tumor tidak hanya menghasilkan faktor angiogenik, tetapi juga menginduksi molekul antiangiogenesis. Hipoksia sel tumor akan membebaskan *Hypoxia-inducible factor-1 α* (HIF-1 α) yang akan mengendalikan transkripsi VEGF¹¹.

HIF-1 α telah dianggap sebagai penanda endogen hipoksia. Tingginya nilai HIF-1 α memiliki arti yang sangat penting terhadap prognosis kanker serviks. Selain itu HIF-1 α juga terlihat pada lesi prakanker serviks, endometrium, payudara, dan prostat⁷.

Adanya reaksi transkripsi bcl - 2 mampu untuk mengaktifasi protein HIF 1- α dan VEGF yang dapat memediasi neovaskularisasi, sehingga berdampak pada pertumbuhan tumor yang lebih agresif¹⁷.

Pada keadaan normal pergantian dan pembaruan sel terjadi sesuai dengan kebutuhan melalui proliferasi sel dan apoptosis di bawah pengaruh proto-onkogen dan gen supresor

tumor¹³. Bila terjadi gangguan oleh bahan karsinogen yang menyebabkan proto-onkogen berubah menjadi onkogen, maka akan terjadi proliferasi sel abnormal yang tidak diimbangi dengan terjadinya apoptosis sel¹⁶.

Proliferasi yang tidak terkendali menyebabkan ukuran suatu neoplasma atau tumor mencapai ukuran yang lebih besar, sehingga diperlukan pembentukan neovaskularisasi guna mendukung nutrisi jaringan tumor baru, yaitu dengan menstimulasi sekresi polipeptida seperti IGF (*Insulin like Growth Factor*), PDGF, *granulosit macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF) dan IL-1 (Robbins, 2005). Pertumbuhan tumor dikontrol oleh keseimbangan antara faktor

angiogenik dan faktor yang menghambat proses angiogenesis (Takahashi *et al.*, 2003).

HIF 1- α merupakan faktor transkripsi yang secara langsung berperan sebagai *transactivates* gen penting untuk pertumbuhan dan metabolisme tumor⁶.

Pada penelitian akhir-akhir ini, telah banyak diteliti bahwa angiogenesis adalah salah satu mekanisme penyebab kanker serviks. Angiogenesis menyediakan tempat yang kondusif untuk perkembangan tumor, terjadi karena ketidakseimbangan antara antiangiogenesis dan faktor proangiogenesis jaringan. VEGF telah diidentifikasi sebagai pemicu yang paling penting

pada angiogenesis dengan meningkatkan permeabilitas pembuluh darah dan mitogen yang memiliki efek pada sel endotel. Dari studi terbaru menunjukkan CD105 dapat digunakan sebagai penanda spesifik pada pembuluh serviks yang baru terbentuk, yang berhubungan dengan invasi tumor¹⁴.

Pada saat ini HIF 1- α juga telah dikembangkan sebagai terapi adjuvant pada terapi tumor. Pada keadaan hipoksia, HIF 1- α berperan penting dalam pengendalian respon selular. Enzim MnSOD merupakan enzim antitoksidan endogen yang berperan sebagai scavenger O₂ yang menghasilkan H₂O₂ dan O₂ sehingga aktivitas MnSOD akan mempengaruhi

status redoks dari sel. Melalui O₂ dan H₂O₂, MnSOD memiliki peran *biphasic* terhadap regulasi ekspresi gen HIF 1- α , sehingga dapat menekan dampak hipoksia pada jaringan¹⁹.

Hipotesis yang dibuat oleh penulis adalah terdapat hubungan antara *cell death* dengan vaskularisasi dan *cell death* dengan limfosit. Sesuai dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Ujianto (2010) melaporkan bahwa terdapat hubungan antara jumlah limfosit dengan jaringan tumor, semakin besar tumor maka semakin sedikit jumlah limfositnya⁸.

Sebaran sel limfosit disekitar sel kanker secara histologik memiliki nilai prognosis yang baik karena

kecepatan pertumbuhan sel kanker yang akan menurun secara *in vitro*, beberapa sel imun di sekitar sel kanker terbukti dapat membunuh sel kanker disekitarnya (Banu, 2011). Hubungan antara banyaknya limfosit yang ditemukan di antara kelompok sel kanker secara histologik akan berhubungan dengan prognosis pada kanker serviks².

Sel imunitas dan sitokin pada kanker serviks bisa digunakan sebagai penegak diagnosis. Di antaranya adalah sel TCD4⁺ termasuk didalamnya sel T *helper* tipe 1 (Th1), sel T *helper* tipe 2 (Th2), CD4⁺ CD25⁺ *regulatory* sel T (Treg) dan sel T *helper* 17 (Th17). Dalam situasi yang berbeda sel T CD4⁺ bisa berdiferensiasi

menjadi bagian sel ini dan sitokin yang berbeda dapat memediasi respon imun. Sebagai contoh, adanya induksi dari IL-12 dan interferon- γ (IFN- γ), sel T CD4⁺ bisa berdiferensiasi menjadi sel Th1 dan memproduksi IFN- γ . Dengan adanya induksi dari IL-4, sel T CD4⁺ bisa berdiferensiasi menjadi sel Th-2 dan sekret IL-4, IL-5, dan IL-13³.

Sel yang berasal dari thimus atau sel T berjumlah 60-70% dalam sirkulasi darah. Sel T berhubungan dengan sistem imunitas seluler tubuh dan muncul ketika sel B tidak mampu bekerja sendiri. Pada sel T terdapat T *cell receptor* (TCR) yang merupakan heterodimer protein yang tersusun atas rantai α dan β yang diikat disulfida.

TCR berguna untuk membantu sel T mengenali suatu fragmen protein. Selain TCR $\alpha\beta$ terdapat juga TCR $\delta\gamma$ yang dapat mengenali molekul nonprotein dan berperan penting dalam mempertahankan imunitas atas serangan yang terus menerus oleh patogen ekstrasel. Sel T juga akan mengeluarkan sejumlah molekul lain, seperti CD4 dan CD5. Selama berlangsung pengenalan antigen oleh sel T, CD4 akan berikatan dengan *Major histocompatibility complex* (MHC) kelas II dan saat yang bersamaan CD8 akan berikatan dengan MHC kelas I¹¹.

Selain sel-sel imunitas yang telah disebutkan diatas, tubuh juga memiliki sel sitokin salah satunya adalah *Interleukin* 8 (IL-8), adanya peningkatan IL-

8 menunjukkan bahwa terdapat peradangan. IL-8 diproduksi dibanyak jenis sel, diantaranya monosit, sel mesotelial, sel endometrial, dan sel kanker serviks. Sitoksin ini akan mengaktifkan beberapa jalur sinyal yang akan menuju ke reseptor permukaan sel (IL-1 dan IL-2). Telah diketahui IL-8 yang menyebabkan migrasi dan metastasis sel kanker dengan mengatur sekresi *matrix metalloproteinases* MMP2 dan MMP9⁷.

Persentase sel T dan sel T *subsets* di darah tepi mengindikasikan status fungsional dari sistem imun. Dianalisis dengan cara melihat *levels* dari CD3⁺ sel T, CD4⁺ sel T, CD8⁺ sel T, dan *ratio* CD4⁺/CD8⁺. Persentase sel

Th17 dan sel Treg meningkat pada kanker serviks. Pada perkembangan kanker serviks sel Treg memiliki peranan penting. Pada pasien kanker serviks *immune toleranc* akan berkaitan erat dengan pertumbuhan tumor, dan secara tidak langsung menyebabkan *tumorigenesis*³.

Pada penelitian ini peneliti memiliki hipotesis yaitu “Terdapat hubungan antara cell death dengan vaskularisasi” dari hipotesis ini memiliki nilai signifikan $p = < 0,05$ yang berarti terdapat hubungan antara *cell death* dengan vaskularisasi dan hipotesis yang lain “Terdapat hubungan antara *cell death* dengan reaksi limfosit” dari hipotesis ini memiliki nilai signifikan $p = > 0,05$ yang berarti

tidak terdapat hubungan antara cell death dengan vaskularisasi dan reaksi limfosit. Hal ini tidak berkorelasi dengan penelitian serta teori-teori yang telah ada. Adapun faktor penyebab yang mengakibatkan nilai signifikansi menjadi tidak bermakna yaitu :

1. Jumlah sampel penelitian yang terbatas, yaitu hanya terdapat 39 sampel kanker serviks jenis SCC. Hal ini akan mempengaruhi hasil dari penelitian yang tidak valid.
2. Perhitungan sampel yang masih tidak teliti karena perhitungan masih menggunakan cara manual tidak menggunakan image 7.

3. Kesalahan dalam perhitungan luas, baik itu luas tumor, luas vaskularisasi, jumlah limfosit dan nekrosis pada preparat.

2. Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara *cell death* dengan reaksi limfosit pada kanker serviks jenis SCC

Kesimpulan

Penelitian ini untuk mengetahui hubungan antara *cell death* dengan vaskularisasi dan hubungan antara *cell death* dengan reaksi limfosit pada kanker serviks jenis SCC, setelah dilakukan pembacaan preparat secara mikroskopis dan dianalisis menggunakan program SPSS dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat hubungan yang signifikan antara *cell death* dengan vaskularisasi pada kanker serviks jenis SCC

Saran

1. Perlu diadakan penelitian dengan jumlah sampel yang lebih banyak dan mencakup populasi yang luas, sehingga memberikan hasil yang bermakna.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai *Biological Behaviour* dari jenis tumor untuk mengetahui tentang reaksi limfosit, vaskularisasi dan *cell death*. Terutama pada HIF 1 α , Pada saat ini HIF 1 α sudah mulai dikembangkan sebagai

terapi adjuvant untuk kanker.

Daftar Pustaka

1. Anoname.(2014). Cervical cancer risks and causes. *Cancer Research UK*. Diakses pada tanggal, 6 April 2014, dari <http://www.cancerresearchuk.org/cancer-help/type/cervical-cancer/about/cervical-cancer-risks-and-causes>
2. Anoname (2007). Neoplasma. In Kumar., Cotran., Robbins (Eds.), *Buku Ajar Patologi Robbins* (7thed.). Jakarta : EGC.
3. Chen, Z., Ding, J., Pang, N., Du, R., Meng, W., Zhu, Y., et al. (2013). The Th17/Treg balance and the expression of related cytokines in Uyghur cervical cancer patients. *BioMed Central*.
4. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.(2011, Oktober). Gerakan Perempuan Melawan Kanker Serviks. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Diakses 4 April 2014, dari <http://www.depkes.go.id/index.php?vw=2&iid=1668>
5. Ding, W., Wu, Y.L., Wang, Y.X., Zhu, F.F. (2014). Characterization of the MicroRNA Expression Profile of Cervical Squamous Cell Carcinoma Metastases. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*.
6. Kroemer, G., Galluzzi, L., Vandenabeele, P., Abrahams, J., Alnemri, E.S., Baehrecke, E.H., et al. (2009). Classification of cell death. *National Institutes of Health*, 3-11.
7. Liu, L. B., Xie, F., Chang, K. K., Li, M. Q., Meng, Y. H., Wang, X. H., et al. (2014). Hypoxia promotes the proliferation of cervical carcinoma cells through stimulating the secretion of IL-8. *Int J Clin Exp Pathol*, 575-583.
8. Ujjianto, Agus. (2010) Jumlah limfosit darah tepi dan sebaran limfosit sekitar jaringan tumor pada penderita keganasan payudara yang mendapatkan injeksi vitamin C. *Undip Website*.
9. Maxwell, P. 2005. Hypoxia-inducible Factor As a Physiological Regulator. *Experimental and Physiology*. 90: 791 – 792. Diakses pada tanggal 13 Juli 2014 dari <http://ep.physoc.org/content/90/6/791.full>
10. Mitchell, R. N., & Cotran, R.S. (2007). Jejas, adaptasi, dan kematian sel. In Kumar., Cotran., Robbins (Eds.), *Buku Ajar Patologi Robbins* (7thed.). Jakarta : EGC.
11. Mitchell, R. N., & Kumar, V. (2007). Penyakit Imunitas. In Kumar., Cotran., Robbins (Eds.), *Buku Ajar Patologi Robbins* (7thed.). Jakarta : EGC.
12. Semenza GL. 2003. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 3:721 – 732.
13. Silalahi J. 2006. Antioksidan dalam Diet dan Karsinogenesis. *Cermin Dunia Kedokteran*. 153: 42-47.
14. Stepan, D., Simionescu, C., Stepan, A., Muntean, M., & Voinea, B. (2012). VEGF and CD105 immunoreexpression in squamous cervical carcinomas and associated precancerous lesions. *Romanian Journal of Morphology & Embryology*, 585-589.
15. Strasser, A., Cory, S., & Adams, J. M. (2011). Deciphering the rules of programmed cell death to improve therapy of cancer and other diseases. *The EMBO Journal*, 3667-3683.
16. Tjandra, L. 2010. Protoonkogen. FK Wijaya Kusuma Surabaya.
17. Trisciuglio D, Gabellini C, Desideri M, Ziparo E, Zupi G, Del Bufalo D. 2010. Bcl-2 Regulates HIF-1 α Protein Stabilization in Hypoxic Melanoma Cells via the Molecular Chaperone HSP90. *Plos One*; 5(7): e11772.
18. World Health Organization (2013, September). Human papillomavirus (HPV) and cervical cancer. Diakses 8 April 2014, dari <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs380/en/>
19. Zainuri, M., Lutfah, R. (2013). Kajian peran manganes-containing super oxide dismutase (MINSOD) dalam regulasi ekspresi hypoxia inducible factor- 1 α (HIF 1- α) pada keadaan hipoksia [Abstrak]. *Media penelitian dan pengembangan kesehatan*.