

## Analisis Ekspresi Cyclin Dependent Kinase (Cdk)6 dan Ki-67 pada Neoplasma Kelenjar Liur

Meyta Riniastuti, Dyah Fauziah, Alphania Rahniayu  
Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga  
RSUD Dr. Soetomo  
Surabaya

### ABSTRAK

#### Latar belakang

Neoplasma dengan berbagai spektrum dapat muncul dari kelenjar liur dan memberikan gambaran morfologi yang hampir sama pada masing-masing sub tipe sehingga menimbulkan kesulitan dalam penegakkan diagnosis. Penelitian dengan imunohistokimia yang pernah dilakukan untuk membedakan neoplasma jinak dan ganas pada kelenjar liur tidak banyak, termasuk Cdk6 dan Ki-67. Peran Cdk6 dalam tumorigenesis, memutus proliferasi seluler dan diferensiasi. Ki-67 terekspresi secara aktif dalam sel yang sedang berproliferasi, terutama neoplasma. Tujuan penelitian ini menganalisis perbedaan ekspresi Cdk6 dan Ki-67 pada neoplasma kelenjar liur yang jinak dan ganas, serta menganalisis korelasi antara ekspresi Cdk6 dan Ki-67 pada neoplasma kelenjar liur.

#### Metode

Jenis penelitian ini adalah observasional analitik menggunakan rancangan potong lintang. Sampel penelitian diambil secara proporsional masing-masing kelompok, jinak dan ganas, sejumlah 15 sampel selama periode 1 Januari 2011-30 Juni 2013. Sampel diberikan pulasan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal Cdk6 dan Ki-67. Perbedaan ekspresi Cdk6 dan Ki-67 pada neoplasma jinak dan ganas dianalisis menggunakan uji Mann-Whitney. Hubungan antara ekspresi Cdk6 dan Ki-67 dianalisis menggunakan uji Spearman.

#### Hasil

Ekspresi Cdk6 memiliki perbedaan bermakna antara neoplasma kelenjar liur jinak dan ganas. Ekspresi Ki-67 memiliki bermakna pada neoplasma kelenjar liur yang jinak dan ganas serta memiliki nilai *cut off* 6,50%. Ekspresi Cdk6 dan Ki-67 memiliki hubungan yang bermakna pada neoplasma kelenjar liur.

#### Kesimpulan

Ekspresi Cdk6 dan Ki-67 rendah pada neoplasma kelenjar liur jinak dan tinggi pada neoplasma kelenjar liur ganas. Terdapat korelasi yang signifikan antara ekspresi Cdk6 dan Ki-67 pada neoplasma kelenjar liur jinak dan ganas. Walaupun keduanya dapat membedakan sifat keganasan, namun Ki-67 lebih *reliable* dan dapat segera diaplikasikan.

**Kata kunci :** Cdk6, Ki-67, neoplasma kelenjar liur.

### ABSTRACT

#### Background

Broad spectrum tumors can arise in salivary glands, giving diagnostic difficulties in some subtypes due to morphological similarities. Immunohistochemistry studies done to differentiate between benign and malignant neoplasms of salivary glands are very few, including Cdk6 and Ki-67. Cdk6's role in tumorigenesis is halting cellular proliferation and differentiation. Ki-67 is actively expressed in proliferating cells, particularly neoplasms. The objectives are to analyze differences of Cdk6 and Ki-67 expression in benign and malignant salivary gland neoplasms and to analyze the correlation between those two proteins.

#### Methods

This is an analytic observational study with cross sectional design. Samples were taken proportionally, each 15 samples of benign and malignant salivary gland neoplasms, derived from pathological archives during 1 January 2011-30 June 2013 period. Immunohistochemical staining with Cdk6 and Ki-67 monoclonal antibody were performed. Differences in Cdk6 and Ki-67 expression of both groups were analyzed using Mann Whitney. The correlation between the Ki-67 and Cdk6 expression were analyzed using Spearman.

#### Results

There were significant differences in the Cdk6 and Ki-67 expression between benign and malignant salivary gland neoplasms. The expressions of Ki-67 have a cut-off point of 6.50%. There was a significant correlation between Cdk6 and Ki-67 expression in the salivary gland neoplasms.

#### Conclusion

Expression of Cdk6 and Ki-67 were low at benign salivary gland neoplasms and high at malignant salivary glands neoplasms. There was significant correlation between Cdk6 expression and Ki-67 expression at benign and malignant salivary gland neoplasms. Although both could differentiate the behavior of neoplasms, Ki-67 was more reliable and applicable.

**Key words:** Cdk6, Ki-67, neoplasms of the salivary glands.

## PENDAHULUAN

Neoplasma pada kelenjar liur termasuk neoplasma yang jarang terjadi. Insiden per tahun dari neoplasma kelenjar liur antara 0,5-2 tiap 100.000 penduduk pada daerah yang berbeda di seluruh dunia.<sup>1</sup> Angka kejadian neoplasma kelenjar liur pada tahun 2013 di RSUD Dr. Sutomo Surabaya hanya 1% dari seluruh kasus neoplasma yang ada.

Neoplasma kelenjar liur memiliki berbagai macam spektrum dan gambaran morfologi yang hampir sama pada masing-masing sub tipe.<sup>2</sup> Penegakkan diagnosis menggunakan preparat dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE) masih merupakan standar baku, namun seringkali sulit untuk menegakkan diagnosis pastinya. Imunohistokimia (IHK), sangat berguna saat diagnosis pasti sulit ditegakkan berdasarkan pemeriksaan histopatologi rutin, misalnya sifat sel dan status diferensiasi, proliferasi sel dan ekspresi protein tumor.<sup>3</sup>

Protein Cdk6, bekerja sama dengan cyclin D, mengendalikan progresi siklus sel fase G1 ke S melalui fosforilasi dan selanjutnya inaktivasi protein Rb1.<sup>4</sup> Beberapa penelitian mengungkapkan fungsi Cdk6, antara lain peran Cdk6 dalam tumorigenesis, memutus proliferasi seluler dan diferensiasi.<sup>5-7</sup>

Penanda siklus sel yang paling sering digunakan dalam imunohistokimia adalah antibodi Ki-67 monoklonal yang aktif pada semua fase siklus sel. Ki-67 meningkat pada putaran kedua fase S, mencapai puncaknya pada fase G2 dan M dan segera menghilang setelah mitosis. Ki-67 tereksresi secara aktif dalam sel yang sedang berproliferasi, utamanya neoplasma. Imunoreaktivitasnya ditemukan memiliki hubungan yang erat dengan variabel lain dalam proliferasi sel.<sup>8,9</sup>

Sangat sedikit penelitian yang menggambarkan neoplasma kelenjar liur pada tingkat molekuler dan proliferasi sel.<sup>10</sup> Penelitian ekspresi Ki-67 pada neoplasma kelenjar liur belum memberikan nilai *cut-off* yang disepakati. Demikian juga studi mengenai ekspresi Cdk6 pada neoplasma masih jarang dikerjakan, terlebih pada jaringan kelenjar liur.

Penelitian ini bertujuan menganalisis ekspresi Cdk6 dan Ki-67 dan hubungan serta perannya pada jalur proliferasi neoplasma kelenjar liur jinak dan ganas.

## METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian yang digunakan merupakan observasional analitik dengan pendekatan potong lintang. Populasi dan sampel adalah pasien yang telah didiagnosis secara histopatologik sebagai *pleomorphic adenoma* (PA), *mucoepidermoid carcinoma* (MEC), *adenoid cystic carcinoma* (AdCC) dan *acinic cell carcinoma* (ACC) dan blok parafinnya tersimpan di Instalasi Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo Surabaya periode 1 Januari 2011-30 Juni 2015. Jumlah dihitung menggunakan rumus uji beda rerata untuk 2 populasi dan didapatkan sampel sebanyak 30 terdiri atas 15 neoplasma jinak yaitu PA dan 15 neoplasma ganas yaitu MEC, AdCC dan ACC.

Pulasan imunohistokimia dilakukan dengan antibodi monoklonal Cdk6 (Santa Cruz Biotechnology, 1:100) dan antibodi monoklonal Ki-67 (Biocare, 1:50). Ekspresi Cdk6 dikatakan positif jika terpulas pada sitoplasma dan inti sel, dihitung secara visual dengan mikroskop cahaya binokuler pembesaran 400x dan dilakukan penilaian berdasarkan sistem skoring sebagai berikut: skor 1 bila terpulas positif sebanyak 1%-25%; skor 2 bila terpulas positif sebanyak 26%-50%, skor 3 bila terpulas positif sebanyak 51%-75%, skor 4 bila terpulas positif sebanyak 76%-100%. Ekspresi Ki-67 dikatakan positif jika terpulas pada inti sel, kemudian dihitung secara visual dengan mikroskop cahaya binokuler pembesaran 400x dan dilakukan penilaian terhadap 1.000 sel pada area *hot spot*, kemudian nilai dinyatakan berdasarkan persentase jumlah sel tumor yang terpulas positif.

Data yang terkumpul dianalisis dengan SPSS. Untuk menganalisis perbedaan ekspresi Cdk6 dan Ki-67 antara neoplasma jinak dan ganas digunakan uji statistik Mann-Whitney dengan nilai p bermakna jika  $p < 0,05$ . Untuk mendapatkan nilai *cut-off* digunakan analisis kurva ROC, sedangkan hubungan antara Cdk6 dan Ki-67 diuji dengan menggunakan uji statistik Spearman ( $p < 0,05$ ).

## HASIL

Penderita berjenis kelamin perempuan lebih banyak daripada laki-laki pada neoplasma jinak maupun ganas. Usia penderita pada penelitian ini adalah 15-73 tahun. Penderita neoplasma kelenjar liur yang jinak paling banyak berada pada rentang usia 41-61 tahun dengan rerata  $47,93 \pm 15,69$ , sedangkan yang ganas pada

rentang usia 41-51 tahun dengan rerata 46,53±13,52. Tidak ada perbedaan distribusi jenis kelamin dan usia yang signifikan pada penderita neoplasma kelenjar liur jinak dan ganas. Sampel penelitian ini menunjukkan lokasi neoplasma yang paling sering adalah kelenjar liur mayor parotis dan submandibula. Neoplasma pada kelenjar minor terdapat pada palatum durum, pangkal lidah, cavum nasi dan sinonasal. Karakteristik lengkap subyek penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik subyek penelitian pada neoplasma kelenjar liur.

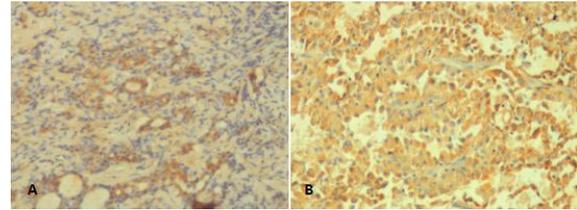
Karakteristik	Neoplasma jinak	Neoplasma ganas
	Frekuensi (%)	Frekuensi (%)
Jenis kelamin		
Laki-laki	5 (33,3)	6 (40)
Perempuan	10 (66,7)	9 (60)
Umur		
≤ 20 tahun	0 (0)	1 (6,67)
21-30 tahun	2 (13,33)	1 (6,67)
31-40 tahun	2 (13,33)	0 (0)
41-50 tahun	4 (26,67)	6 (40)
51-60 tahun	4 (26,67)	5 (33,33)
61-70 tahun	1 (6,67)	2 (23,33)
≥71 tahun	2 (13,33)	0 (0)
Lokasi		
Kelenjar liur mayor	13 (86,67)	9 (60)
Kelenjar liur minor	2 (13,33)	6 (40)

Pulasan protein Cdk6 pada sel neoplasma dalam penelitian ini ternyata hanya terekspresi pada sitoplasma saja. Ekspresi Cdk6 dianalisa secara statistik menggunakan Mann-Whitney, didapatkan hasil p=0,002 (p<0,05) yang berarti terdapat perbedaan signifikan antara ekspresi Cdk6 pada neoplasma kelenjar liur yang jinak dan ganas. Neoplasma kelenjar liur ganas memiliki ekspresi Cdk6 yang lebih tinggi dibandingkan neoplasma kelenjar liur jinak. Distribusi ekspresi Cdk6 pada kelenjar liur tampak pada Tabel 2.

Tabel 2. Distribusi ekspresi Cdk6 pada tumor kelenjar liur.

Skor	Neoplasma jinak	Neoplasma ganas
1	5	0
2	7	3
3	1	5
4	2	7

Ekspresi Cdk6 pada neoplasma kelenjar liur dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. A. Ekspresi Cdk6 dengan skor 1 pada PA, 400x; B. Ekspresi Cdk6 dengan skor 4 pada ACC, 400x.

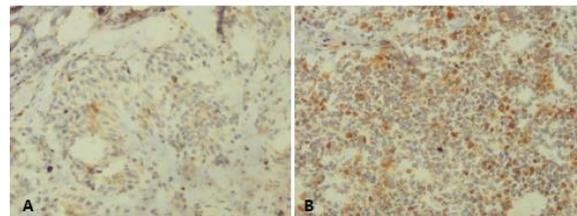
Penelitian ini memberikan hasil ekspresi Ki-67 terendah pada neoplasma kelenjar liur jinak adalah 0% dan yang tertinggi adalah 20% dengan nilai rerata 3,13%±4,98%. Neoplasma kelenjar liur yang ganas memiliki nilai Ki-67 terendah sebesar 8% dan tertinggi sebesar 50% dengan nilai rerata 33,73%±14,61%. Hasil tersebut dilakukan analisis ROC dan memberikan nilai *cut-off* sebesar 6,50%. Distribusi ekspresi Ki-67 berdasarkan nilai *cut-off* 6,50% tampak pada Tabel 3.

Tabel 3. Distribusi ekspresi Ki-67 berdasarkan nilai *cut-off* 6,50%.

Ekspresi Ki-67 (%)	Jenis neoplasma kelenjar liur		Total
	Jinak	Ganas	
<6,50	14 (93,3%)	0 (0,0%)	14 (46,7%)
≥6,50	1 (6,7%)	15 (100,0%)	16 (53,3%)
Total	15 (100,0%)	15 (100,0%)	30 (100,0%)

Sensitivitas=100%, spesifisitas=93,3%, akurasi=96,7%

Ekspresi Ki-67 pada neoplasma kelenjar liur dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. A. Ekspresi Ki-67 pada neoplasma jinak menunjukkan ekspresi yang rendah, 400x; B. Ekspresi Ki-67 pada neoplasma ganas menunjukkan ekspresi yang tinggi, 400x.

Hubungan antara ekspresi Ki-67 dan Cdk6 pada tumor kelenjar liur baik yang jinak maupun yang ganas menggunakan uji korelasi Spearman. Hasil uji ini menunjukkan adanya hubungan antara ekspresi Cdk6 dengan ekspresi Ki-67 ( $r_s=0,519$ ,  $p=0,003$ ). Semakin tinggi

ekspresi Cdk6, semakin tinggi pula ekspresi Ki-67 dan sebaliknya.

## DISKUSI

Usia sampel termuda penelitian ini adalah 15 tahun sedangkan usia tertua 73 tahun. Tidak ada perbedaan yang signifikan pada usia penderita neoplasma kelenjar liur jinak dan ganas. Usia rata-rata penderita neoplasma kelenjar liur adalah 47,23 tahun dengan standar deviasi 14,41 tahun. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya bahwa usia rata-rata penderita neoplasma kelenjar liur jinak dan ganas adalah sebesar 49,1 tahun.<sup>11,12</sup> Penelitian lain juga menyebutkan usia rata-rata penderita tumor kelenjar liur jinak maupun ganas adalah 46 dan 47 tahun.<sup>13</sup>

Penelitian ini mendapatkan 63,3% penderita neoplasma kelenjar liur adalah perempuan. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan penderita perempuan lebih banyak dibanding penderita laki-laki.<sup>11-13</sup> Lokasi neoplasma kelenjar liur mayor sebanyak 73,3%. Hal ini sesuai dengan penelitian yang menyebutkan bahwa baik neoplasma jinak maupun ganas lebih banyak terjadi pada kelenjar liur mayor daripada kelenjar liur minor.<sup>13,14</sup>

*Cyclin dependent kinase* adalah bagian dari kelompok protein kinase yang awalnya diketahui fungsinya sebagai pengatur siklus sel. *Cyclin dependent kinase* (Cdk) merupakan protein yang kecil dengan berat molekul 34-40 kDa.<sup>15</sup> Protein ini berikatan dengan *cyclin* yang merupakan pengatur protein dan memiliki protein kinasik yang ringan. Kompleks *cyclin*-Cdk memiliki peran kinasik yang aktif.<sup>16</sup>

Cdk4 dan Cdk6 berhubungan dengan *cyclin* tipe D (*Cyclins* D1, D2 dan D3) untuk memicu mulainya siklus sel dan melaju melalui G1 dengan menonaktifkan protein retinoblastoma Rb yang berlawanan dengan kelompok INK4 yang merupakan Cdk *inhibitors* (Cki). Meskipun mutasi *germline* Cdk4 atau Cdk6 pada kanker jarang terjadi, sering didapati disregulasi Cdk4 dan Cdk6 baik berupa peningkatan fungsi atau hilangnya inhibisi.<sup>17</sup>

Baik *cyclin* D1 maupun Cdk4 memiliki peran dalam tumorigenesis sehingga banyak penelitian dilakukan dengan fokus pada regulasi dari kompleks *cyclin* tipe D/Cdk4. Sebaliknya, kompleks *cyclin* tipe D/Cdk6 sedikit diketahui regulasinya. Cdk6 pertama diidentifikasi sebagai Cdc2 kinase homolog dan kemudian diketahui

berhubungan dengan *cyclin* tipe D. Sebagai tambahan, penemuan terakhir menunjukkan disregulasi Cdk6 memiliki peran dalam permulaan timbulnya suatu neoplasma.<sup>18</sup>

Penelitian ini memberikan hasil bahwa Cdk6 terekspresi pada sitoplasma neoplasma jinak maupun ganas kelenjar liur. Neoplasma jinak memberikan ekspresi dengan rentang yang cukup luas (skor 1-4), sedangkan neoplasma ganas memiliki rentang ekspresi yang lebih sempit (skor 2-4). Uji statistik menunjukkan perbedaan ekspresi Cdk6 yang signifikan antara neoplasma jinak dan ganas kelenjar liur ( $p < 0,05$ ), artinya pada neoplasma ganas kelenjar liur, Cdk6 terekspresi lebih tinggi dibanding pada neoplasma jinak.

Penelitian terdahulu menyebutkan ekspresi Cdk6 pada kelenjar liur menyebutkan bahwa tidak ada perbedaan ekspresi Cdk6 yang signifikan pada sitoplasma dan inti sel antara sel neoplasma kelenjar liur yang jinak dan ganas.<sup>10</sup> Sementara penelitian ekspresi Cdk6 pada karsinoma buli memberikan hasil yang sesuai dengan penelitian ini. Penelitian tersebut menyebutkan terdapat perbedaan ekspresi Cdk6 yang signifikan pada sitoplasma dan inti sel karsinoma buli invasif dibanding dengan ekspresi pada jaringan penyangganya namun tidak terdapat perbedaan ekspresi Cdk6 pada sitoplasma dan inti sel yang signifikan antara jaringan karsinoma buli superfisial dengan jaringan penyangganya.<sup>19</sup> Penelitian lain menunjukkan aktivitas Cdk6 berupa pemecahan Cdk6 dalam sitoplasma. Teori pertama yang menyebutkan pemecahan Cdk6 pada sitoplasma penting untuk mengaktifkan Cdk6 pada inti sel yang kemudian akan mengatur proliferasi sel dalam hubungannya dengan proses diferensiasi. Hal ini menjelaskan semakin banyak sel-sel tumor yang mengekspresikan Cdk6, semakin tinggi proliferasi sel tumor tersebut.<sup>20</sup>

Penelitian ini mendapatkan hasil Cdk6 hanya terekspresi positif pada sitoplasma, sedangkan penelitian yang pernah dilakukan menyebutkan Cdk6 terekspresi pada sitoplasma dan inti sel. Penelitian lain memiliki hipotesis bahwa Cdk6 terekspresi di sitoplasma sel astrosit yang menunjukkan peranan Cdk6 dalam proses diferensiasi, namun hasil dari penelitian mereka menyebutkan bahwa Cdk6 terekspresi pada sitoplasma dan inti sel yang menunjukkan peran Cdk6 dalam proses kompleks proliferasi dan diferensiasi sel.<sup>7,10,19</sup> Hasil penelitian pada

sel astrosit, yang dilakukan oleh peneliti lain, menyebutkan bahwa Cdk6 tereksresi mayoritas pada sitoplasma dan beberapa tampak tereksresi pada inti sel astrosit.<sup>20</sup> Penelitian peran Cdk6 pada sel T menyebutkan bahwa meski kompleks *Cyclin D/Cdk6* terdeteksi berada pada sitoplasma dan inti, namun hanya Cdk6 pada inti yang memiliki aktivitas biokimia.<sup>18</sup> Tidak tereksresinya Cdk6 pada inti sel dalam penelitian ini dapat disebabkan karena Cdk6 sudah menyelesaikan aktivitas biokimianya sehingga tidak tersisa lagi Cdk6 pada inti sel namun masih tersisa Cdk6 yang tereksresi hanya pada sitoplasma. Hal ini dapat juga diartikan bahwa Cdk6 dalam penelitian ini memiliki fungsi yang mencolok dalam diferensiasi atau remodelling sitoskeleton.<sup>10</sup>

Ki-67 adalah penanda proliferasi yang paling sering digunakan yang telah dimanfaatkan untuk penelitian mengenai keganasan pada manusia seperti sarkoma jaringan lunak, meningioma, kanker payudara dan limfoma non Hodgkin. Ki-67 tereksresi pada inti sel dan terlibat dalam semua fase dalam siklus sel, kecuali G0. Ki-67 tampak pada fase G1, meningkat perlahan di fase S, G2, dan berlanjut tereksresi melalui fase M dan akhirnya menurun lalu menghilang. Waktu paruh penanda ini dapat dideteksi hanya 1,5 jam.<sup>21</sup>

Penelitian ini mendapatkan hasil ekspresi Ki-67 pada neoplasma kelenjar liur yang jinak dengan rerata 3,13%±4,98% dan rentang indeks proliferasi 0%-20%, sedangkan neoplasma yang ganas memiliki rerata 33,73%±14,61% dengan rentang indeks proliferasi 8%-50%. Rerata ekspresi Ki-67 pada neoplasma kelenjar liur yang ganas lebih tinggi dibanding ekspresi Ki-67 pada neoplasma kelenjar liur yang jinak. Hasil uji analisis menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) untuk ekspresi Ki-67 pada neoplasma kelenjar liur jinak dan ganas. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan ekspresi Ki-67 pada neoplasma jinak kelenjar liur lebih rendah (rentang 0,54-7,24%, rerata 2,81±1,92%) dibanding ekspresinya pada tumor ganas (AdCC: rentang 10,85-81,14%, rerata 28,15±19,28%; MEC: rentang 1,62-13,94%, rerata 5,21±4,47%; ACC: rentang 0,96-10,10%, rerata 5,15±3,33%), juga penelitian lain yang menyebutkan rerata neoplasma ganas lebih tinggi (12,8±3,86) dibanding rerata neoplasma jinak, yaitu sebesar 4,68±1,67.<sup>22,23</sup>

Ekspresi Ki-67 dalam suatu penelitian lain disebutkan bahwa pada PA yang merupakan neoplasma jinak kelenjar liur memiliki rentang indeks proliferasi 0-15%. MEC dan AdCC yang merupakan neoplasma ganas berturut-turut memiliki rentang 1-50% dan 1-40%.<sup>11</sup> Penelitian lain menyebutkan rentang indeks proliferasi untuk neoplasma jinak sebesar 0,5-6% dan neoplasma ganas sebesar 3,6-50%.<sup>21</sup> Hasil penelitian lain mengenai ekspresi Ki-67 pada neoplasma kelenjar liur menunjukkan ekspresi Ki-67 pada PA memiliki rerata sebesar 0,78±0,2 dan pada neoplasma ganas yang diwakili oleh MEC dan ACC memiliki rerata sebesar 10,74±10,2.<sup>12</sup>

Ki-67, suatu protein inti, berhubungan dengan proliferasi sel dan berhubungan dengan transkripsi ribosomal RNA.<sup>24</sup> Molekul rRNA adalah kunci pengatur produksi ribosome dan menentukan potensi pertumbuhan sel dan proliferasi. Partisipasi Ki-67 dalam sintesis rRNA menunjukkan peranan fungsi dalam pengaturan biosintesis dalam proliferasi sel. Inaktivasi Ki-67 memicu inhibisi sintesis rRNA.<sup>25</sup> Pernyataan tersebut menunjukkan penelitian ini konsisten dengan penelitian-penelitian sebelumnya bahwa semakin tinggi sel yang mengekspresikan Ki-67, semakin tinggi proliferasi sel.

Nilai *cut-off* indeks proliferasi Ki-67 dapat digunakan untuk menentukan apakah suatu neoplasma jinak atau ganas. Penelitian ini mendapatkan nilai *cut-off* indeks proliferasi Ki-67 untuk menjadi neoplasma kelenjar liur yang ganas adalah sebesar 6,50% (Tabel 3). Ini berarti bila indeks proliferasi Ki-67 di bawah nilai tersebut termasuk dalam kategori neoplasma kelenjar liur jinak, namun bila didapatkan indeks proliferasi Ki-67 di atas atau sama dengan nilai tersebut maka dimasukkan dalam neoplasma kelenjar liur yang ganas. Penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan nilai *cut-off* ekspresi Ki-67 pada neoplasma kelenjar liur adalah 5% sama seperti nilai *cut-off* yang digunakan pada penelitian lain. Ada juga penelitian dengan nilai *cut-off* yang lebih tinggi, yaitu 10%.<sup>21,26</sup>

Pada sebagian besar kasus, neoplasma jinak dapat dibedakan dengan pasti dari neoplasma ganas berdasarkan morfologi. Suatu neoplasma terkadang sulit didiagnosis. Secara morfologik tertentu menggambarkan suatu lesi jinak, sementara secara genotip mengarah pada kemungkinan keganasan. Pada akhirnya diag-

nosis morfologi tidak dapat dengan pasti memprediksi perilaku biologik atau perjalanan penyakit neoplasma. Prediksi ini dipersulit oleh perbedaan yang nyata antara gambaran morfologi neoplasma dan perilakunya. Secara morfologik terlihat jinak namun dapat menutupi genotipnya yang sudah berubah ke arah keganasan.<sup>27</sup> Penggunaan nilai *cut-off* Ki-67 dapat membantu untuk mendukung diagnosis suatu neoplasma sebagai neoplasma jinak atau ganas.

Salah satu tujuan penelitian ini adalah mencari korelasi ekspresi Cdk6 dengan ekspresi Ki-67 pada neoplasma kelenjar liur dan hasilnya adalah korelasi yang signifikan yang berarti bahwa jika ekspresi Cdk6 meningkat maka ekspresi Ki-67 juga akan meningkat, sebaliknya jika ekspresi Cdk6 menurun, maka ekspresi Ki-67 juga akan menurun.

Siklus sel dan proliferasi sel dikontrol oleh *Cyclin*, Cdk dan Cdk-inhibitor. Peningkatan aktivitas Cdk6, menimbulkan pengurangan tingkat Rb hipofosforilasi aktif yang meningkatkan proliferasi, pemendekan fase G1 dan pengurangan serum yang dibutuhkan untuk aktivitas fase S. Ekspresi Cdk6 yang menyimpang menunjukkan keterlibatan Cdk6 dalam kanker.<sup>28</sup>

Tingkat proliferasi terdiri atas dua parameter: fraksi pertumbuhan (dinilai oleh Ki-67) dan waktu yang dibutuhkan untuk sel untuk menyelesaikan siklus sel (tidak dapat diakses oleh Ki-67). Dengan demikian, suatu neoplasma yang sebagian besar selnya berada dalam siklus sel, akan membutuhkan waktu yang lama untuk menyelesaikan siklus tersebut dan akan menunjukkan ekspresi positif yang luas untuk Ki-67, namun tidak memiliki tingkat proliferasi yang cukup tinggi. Sebaliknya, suatu neoplasma yang hanya sebagian kecil selnya berada dalam siklus sel, akan memiliki waktu siklus yang sangat pendek dan akan memiliki tingkat proliferasi lebih tinggi, namun hanya sedikit sel menunjukkan ekspresi Ki-67 yang positif.

Mengingat Cdk6 maupun Ki-67 berperan dalam proliferasi sel dan keduanya berada dalam siklus sel, dapat diartikan keduanya memiliki hubungan meski melalui jalur yang berbeda. Jika Cdk6 meningkat, Ki-67 juga meningkat dan sebaliknya bila Cdk6 menurun maka Ki-67 juga akan menurun.

## KESIMPULAN

Ekspresi Cdk6 dan Ki-67 rendah pada neoplasma kelenjar liur jinak dan tinggi pada neoplasma kelenjar liur ganas. Terdapat korelasi yang signifikan antara ekspresi Cdk6 dan Ki-67 pada neoplasma kelenjar liur jinak dan ganas. Walaupun keduanya dapat membedakan sifat keganasan, namun Ki-67 lebih *reliable* dan dapat segera diaplikasikan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Cheuk W, Chan JKC. Salivary gland tumor. In: Fletcher CDM, editor. Diagnostic Histopathology of Tumors. 3<sup>rd</sup> Edition. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2007.
2. Mills SE, Editor. Head and neck: Salivary gland. In: Stenberg's Diagnostic Surgical Pathology. Volume 1. 5<sup>th</sup> Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
3. Nagao T, Sato E, Inoue R, Oshiro H, Takahashi RH, Nagai T, *et al.* Immunohistochemical analysis of salivary gland tumors: Application for surgical pathology practice. *Acta Histochem Cytochem.* 2012; 45: 269-82.
4. Meyerson M, Harlow E. Identification of G1 kinase activity for cdk6, a novel cyclin D partner. *Mol Cell Biol.* 1994; 14: 2077-86.
5. Nagasawa M, Melamed I, Kupfer A, Gelfand E, Lucas J. Rapid nuclear translocation and increased activity of cyclin-dependent kinase 6 after T cell activation. *J Immunol.* 1997; 158: 5146-54.
6. Ericson KK, Krull D, Slomiany P, Grossel MJ. Expression of cyclin-dependent kinase 6, but no cyclin-dependent kinase 4, alters morphology of cultured mouse astrocytes. *Mol Cancer Res.* 2003; 1: 654-64.
7. Slomiany P, Baker T, Elliot ER, Grossel MJ. Changes in motility, gene expression and actin dynamic: Cdk6-induced cytoskeletal changes associated with differentiation in mouse astrocytes. *J Cellular Biochem.* 2006; 99: 635-46.
8. Sloodweg PJ. P53 protein and Ki-67 reactivity in epithelial odontogenic lesions. An immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med.* 1995; 24: 393-7.
9. Macluskey M, Ogden GR, Green M, Chisholm DM, Schor L, Schor AM. The

- association between epithelial proliferation and disease progression in the oral mucosa. *Oral Oncol.* 1999; 35: 409-14.
10. Pardis S, Tadbir AA, Ashkavandi ZJ, Najvani AD, Ashraf MJ, Ranjbaran H. Expression of cdk6 in salivary gland tumors. *J Med Sci.* 2012; 12: 193-7.
  11. Ashkavandi ZJ, Najvani AD, Tadbir AA, Pardis S, Ranjbar MA, Ashraf MJ. MCM3 as a novel diagnostic marker in benign and malignant salivary gland tumors. *As Pas J Cancer Prev.* 2013; 14: 3479-82.
  12. Tadbir AA, Pardis S, Ashkavandi ZJ, Najvani AD, Ashraf MJ, Taheri A, *et al.* Expression of ki-67 and cd105 as proliferation and angiogenesis markers in salivary gland tumors. *As Pas J Cancer Prev.* 2013; 13: 5155-9.
  13. Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D (Eds.): *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours.* Lyon: IARC Press; 2005.
  14. Sangeetha N, Palaniappan V, Hamavathy N, Subathra K. Histo-pathological analysis of salivary gland lesions with ki-67 immunoprofile. *RJPBCS.* 2014; 5: 993-1004.
  15. Morgan DO. *The cell cycle: Principles of control.* London UK: New Science Press; 2007. ISBN-13:9780878935086, pages:297.
  16. Satyanarayana A and Kaldis P. Mammalian cell-cycle regulation: several CDKs, numerous cyclins and diverse compensatory mechanisms. *Oncogene.* 2009; 28: 2925-39.
  17. Huang X, Di Liberto M, Jayabalan D, Liang J, Ely S, Bretz J, *et al.* Prolonged early G1 arrest by selective CDK4/CDK6 inhibition sensitizes myeloma cells to cytotoxic killing through cell cycle-coupled loss of IRF4. *Blood.* 2012; 120: 1095-106.
  18. Mahony D, Parry DA, Lees E. Active cdk6 complexes are predominantly nuclear and represent only a minority of the cdk6 in T cells. *Oncogene.* 1998; 16: 603-11.
  19. Wang C, Li Z, Fu M, Bouras T, Pestell RG. Signal transduction mediated by cyclin D1: from mitogens to cell proliferation: a molecular target with therapeutic potential. *Cancer Treat Res.* 2004; 119: 217-37.
  20. Kohrt DM, Cray J, Gocheva V, Hinds PW, Gossel MJ. Distinct subcellular distribution of cyclin dependent kinase 6. *Cell Cycle.* 2009; 8: 2837-43.
  21. Faur AC, Sas I, Motoc AGM, Cornianu M, Zamfir CL, Lazar DC, *et al.* Ki-67 and p53 immunostaining assessment of proliferative activity in salivary tumors. *Rom J Morphol Embryol.* 2015; 56: 1429-39.
  22. Vargas PA, Cheng Y, Barrett AW, Craig GT, Speight PM. Expression of mcm-2, ki-67 and geminin in benign and malignant salivary gland tumours. *J Oral Pathol Med.* 2008; 37: 309-18.
  23. Shigeishi H, Yoneda S, Taki M, Nobumori T, Ohta K, Higashikawa K, *et al.* Correlation of human bub1 expression with tumor-proliferating activity in salivary gland tumors. *Oncol Reports.* 2006; 15: 933-8.
  24. Bullwinkel J, Baron-Luhr B, Ludemann A, Wohlenberg C, Gerdes J, Scholzen T. Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells. *J Cell Physiol.* 2006; 206: 624-35.
  25. Rahmzadeh R, Huttman G, Gerdes J, Scholzen T. Chromophore-assisted light inactivation of pKi-67 leads to inhibition of ribosomal RNA synthesis. *Cell Prolif.* 2007; 40: 422-30.
  26. Suzzi MV, Alessi A, Bertarelli C, Cancellieri A, Procaccio L, Dall'olio D. Prognostic relevance of cell proliferation in major salivary gland carcinomas. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2005; 25: 161-8.
  27. Stricker TP, Kumar V. Neoplasia. In: Kumar V *et al.* (eds.). *Pathologic Basis of Disease.* 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010.
  28. Murray AW. Recycling the cell cycle: Cyclins revisited. *Cell.* 2004; 116: 221-34.