

## Research Report

## Pengaruh lama pemberian aspirin pada ekspresi protein KI-67 dan ketebalan epitel mukosa rongga mulut tikus Wistar jantan

*(The effect of aspirin administration period on KI-67 expression protein and oral epithelial mucosal thickness in male Wistar mice)*

Dian Yosi Arinawati,<sup>1</sup> Heni Susilowati<sup>1</sup> dan Supriatno<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departemen Biologi Mulut,

<sup>2</sup> Departemen Ilmu Penyakit Mulut,

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada

Yogyakarta - Indonesia

### ABSTRACT

**Background:** Aspirin has been widely used as an anti-inflammatory, antipyretic, and analgesics drugs. It has seriously side effects like gastrointestinal ulceration, delayed healing ulcer, and oral mucosal ulceration when Aspirin is administered for long time.

**Purpose:** The aim of study was to examine the effect of Aspirin administration period on Kiehl-67 (KI-67) protein expressions and oral mucosal epithelial thickness in male Wistar mice. **Methods:** Experimental laboratory study with post-test only control group design was performed and 40 male Wistar mice were used in this experiment. The samples were divided into 2 groups. Group I was treated with Aspirin, whereas group II was receive aquadest. Each group was divided into 5 subgroups for assessment of the length administration effect. All of mice were sacrificed on day 1, 3, 5, 7 and 10 after treatment. Aspirin was orally administrated with doses of 9 mg/kg body weight. The buccal right of mice oral mucosal tissue was sliced and delivered for immunohistochemistry staining using anti-KI-67. Hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to measure the oral epithelial thickness. Examination of KI-67 expressions and oral epithelial thickness were performed by using ImageJ software. Two-way Anova and Kruskall-Wallis test were carried-out for data analysis with significant level of 95%. **Results:** The results revealed that the administration of Aspirin in mice on day 1, 3, 5, 7, and 10 was markedly decreased in the KI-67 protein expressions and oral epithelial thickness compared with that of control ( $p < 0.05$ ), otherwise the duration of Aspirin administration did not affect mucosal epithelial thickness. **Conclusion:** Aspirin administration period has the potential to suppress the KI-67 protein expression within 10 days; the effect in line with the length of duration. The epithelial thickness was not influenced by the length of Aspirin administration.

**Key words:** Aspirin, KI-67 expression, oral mucosal epithelial thickness, Wistar mice

### ABSTRAK

**Latar belakang:** Aspirin digunakan sebagai anti inflamasi, anti demam, dan anti nyeri. Aspirin merupakan obat yang aman, namun dilaporkan menimbulkan efek samping berupa kerusakan gastrointestinal dan kerusakan mukosa rongga mulut apabila dikonsumsi dalam jangka panjang. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama pemberian Aspirin terhadap ekspresi KI-67 dan ketebalan epitel rongga mulut tikus galur Wistar. **Metode:** Jenis penelitian eksperimental laboratories dan menggunakan 40 tikus jantan galur Wistar. Hewan coba dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok perlakuan Aspirin dan kontrol akuades. Masing-masing kelompok dibagi menjadi 5 subkelompok berdasarkan lama pemberian Aspirin, yaitu 1, 3, 5, 7 dan 10 hari. Dosis yang diberikan 9 mg/kg berat badan sekali per hari. Mukosa bukal tikus kemudian dipotong untuk pengecatan KI-67 dan hematoxylin-eosin (HE). Ekspresi KI-67 dan ketebalan epitel diukur menggunakan software ImageJ. Data dianalisis menggunakan Two-way Anova and Kruskall-Wallis dengan tingkat kepercayaan 95%. **Hasil:** Lama pemberian Aspirin hari ke 1, 3, 5, 7 dan 10 dapat menurunkan ekspresi KI-67

( $p < 0.05$ ) dan ketebalan epitel dibandingkan kontrol, namun lama pemberian tidak berpengaruh terhadap mukosa epitel. Aspirin dapat menurunkan ketebalan epitel rongga mulut dibandingkan kontrol ( $p < 0.05$ ). **Simpulan:** Pemberian Aspirin dapat menurunkan ekspresi KI-67 pada sel epitel mukosa rongga mulut tikus galur Wistar; efek tersebut berbanding lurus dengan durasi pemberian sampai hari ke-10. Lama pemberian Aspirin tidak berpengaruh terhadap ketebalan mukosa rongga mulut tikus galur Wistar.

**Kata kunci:** Aspirin, ekspresi KI-67, ketebalan mukosa rongga mulut, tikus Wistar

Korespondensi (*correspondence*): Dian Yosi Arinawati, Departemen Biologi Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada. Jl. Denta I, Sekip Utara, Yogyakarta 55281. Email: dianyosi@gmail.com.

## PENDAHULUAN

Jaringan lunak rongga mulut dilindungi oleh mukosa yang merupakan lapisan terluar rongga mulut. Mukosa melindungi jaringan dibawahnya dari kerusakan dan masuknya mikroorganisme serta agen berbahaya. Lapisan terluar mukosa dilindungi oleh epitel skuamosa berlapis yang mempunyai mekanisme adaptasi pertahanan yang berbeda-beda tergantung letaknya.<sup>1</sup> Jaringan epitel rongga mulut mempunyai struktur tidak stabil yang secara teratur selalu beregenerasi melalui aktivitas pembelahan sel. Pembelahan sel jaringan epitel berlapis terjadi pada lapisan germinal, yaitu sel-sel yang paling dekat dengan lamina basalis, selanjutnya sel akan meninggalkan lapisan basalis dan masuk ke tahap diferensiasi.<sup>2</sup> Aktivitas pembelahan sel dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya infiltrasi ringan sel inflamasi subepitel yang akan menstimulasi pembelahan sel, sedangkan inflamasi berat menyebabkan penurunan aktifitas proliferasi. Proliferasi sel epitel distimulasi oleh *peptide growth factor* yang disebut sitokin, yaitu *epidermal growth factor* (EGF), *transforming growth factor- $\alpha$*  (TGF- $\alpha$ ), *platelet derived growth factor* (PDGF), dan interleukin 1 (IL-1).

Obat-obatan dan radiasi juga dapat membatasi aktivitas proliferasi epitel sehingga menjadi lebih tipis dan memudahkan terbentuknya ulkus.<sup>1,2</sup> Kerusakan mukosa rongga mulut yang terjadi akibat penggunaan obat topikal maupun obat per oral salah satunya Aspirin yang digunakan untuk mengatasi nyeri gigi telah banyak dilaporkan. Gejala yang timbul antara lain rasa terbakar, atau nekrosis koagulasi yang ditandai dengan terbentuknya mukosa berwarna putih yang berangsur-angsur mengelupas membentuk lesi ulseratif berwarna merah. Aspirin merupakan golongan obat NSAID yang sering digunakan untuk pereda atau penghilang nyeri. Efek samping penggunaan obat Aspirin banyak dilaporkan pada kasus saluran gastrointestinal. Penggunaan dosis Aspirin 500 mg/kg pada tikus satu kali sehari secara per oral dapat menimbulkan ulkus di lambung dengan *ulcer index* sebesar 3,2.<sup>3</sup>

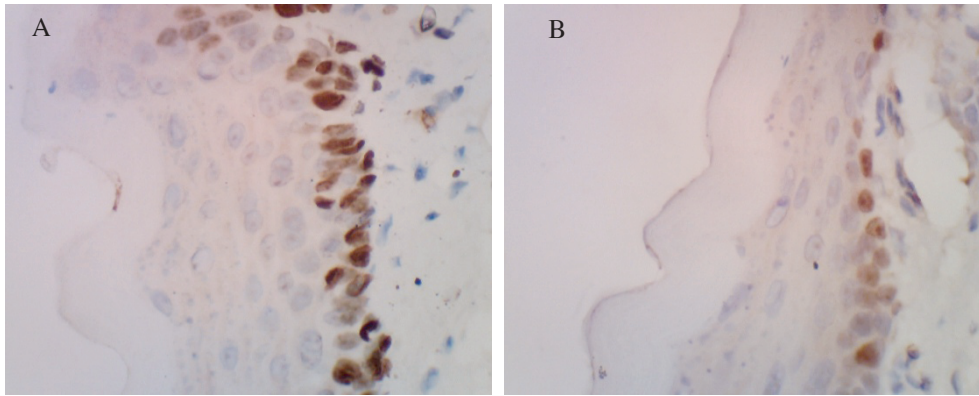
Mekanisme kerja Aspirin, yaitu dengan menghambat jalur *cyclooxygenase* (COX) dan sintesis prostaglandin. Penghambatan COX dapat menurunkan sekresi cairan mukus dan sekresi bikarbonat, menyebabkan kerusakan vaskular, pembentukan akumulasi leukosit, dan menghambat diferensiasi sel.<sup>4</sup> Prostaglandin (PGE<sub>2</sub>) saliva berkurang

selama tahap ulseratif dari stomatitis.<sup>5</sup> Peranan PGE<sub>2</sub> pada epitel mukosa lambung dan epitel mukosa rongga mulut diduga karena adanya persamaan struktur. Indikasi lama pemberian Aspirin disarankan tidak lebih dari 10 hari untuk mengatasi nyeri.<sup>6</sup>

Aspirin dapat menyebabkan penghambatan regenerasi mukosa.<sup>7</sup> Dalam keadaan normal, sel basalis dapat berproliferasi secara berkelanjutan, kemudian sel tersebut menggantikan sel di lapisan permukaan yang hilang, sehingga integritas mukosa tetap terjaga. Penghambatan aktifitas proliferasi sel menyebabkan epitel menjadi tipis dan terbentuk ulkus.<sup>1,2</sup> Proliferasi sel pada lapisan suprabasalis dapat diamati menggunakan marker KI-67.<sup>8</sup> Protein KI-67 terdeteksi di semua siklus sel kecuali fase G0 dan mencapai puncak tertinggi saat terjadi pembelahan sel.<sup>9</sup> Tujuan penelitian ini untuk menguji pengaruh lama pemberian Aspirin terhadap ekspresi KI-67 dan ketebalan epitel mukosa rongga mulut tikus galur Wistar.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada no. 561/KKEP/FGK-UGM/EC/2014. Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *post-test only control group design*. Penelitian ini menggunakan 40 ekor tikus putih jantan galur Wistar, umur 3 bulan, berat badan 200-300 gram yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Tikus dibagi menjadi 2 kelompok secara acak. Kelompok perlakuan, terdiri dari 20 ekor tikus wistar yang diberi Aspirin per oral dalam dosis 9 mg/kg BB satu kali per hari selama 10 hari. Kelompok kontrol negatif, terdiri dari 20 ekor tikus Wistar yang diberi akuades per oral. Masing-masing 4 ekor tikus dari kelompok perlakuan dan kontrol dikorbankan pada hari ke-1, 3, 5, 7 dan 10 setelah perlakuan. Tahap selanjutnya adalah pengorbanan tikus dari kelompok kontrol maupun perlakuan pada hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5, hari ke-7, dan hari ke-10 setelah dilakukan perlakuan. Tahap selanjutnya diambil sampel jaringan pada mukosa bukal sepanjang gigi molar pertama sampai terakhir dilanjutkan difiksasi menggunakan larutan PBS formalin 10% dan dilakukan pembuatan sediaan



**Gambar 1.** A) Ekspresi KI-67 pada lapisan basalis dan suprabasalis setelah pemberian aquades setelah hari ke-1; B) Ekspresi KI-67 pada lapisan basalis dan suprabasalis setelah pemberian Aspirin setelah hari ke-1.

histologis. Pewarnaan dengan metode imunohistokimia dilakukan untuk mengamati ekspresi KI-67, sementara itu *Hematoxylin eosin* untuk pengamatan ketebalan epitel.

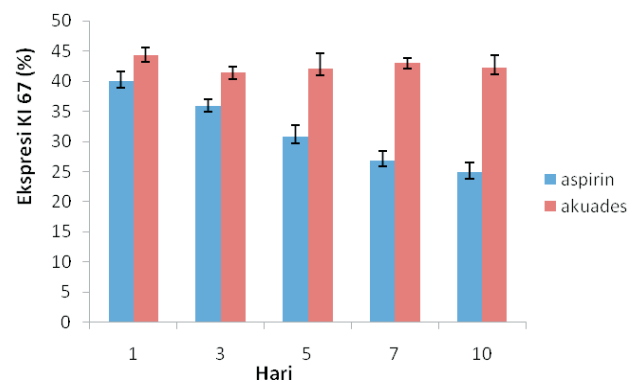
Pengamatan ekspresi KI-67 dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x pada daerah basalis dan suprabasalis dengan 3 lapang pandang yang berbeda di sepanjang area preparat. Sel yang positif dihitung pada masing-masing lapang pandang kemudian dijumlahkan dan dibagi 3. Rerata sel yang positif mengekspresikan KI-67 kemudian disajikan dalam bentuk persentase (%).

Pengukuran epitel dilakukan pada ketebalan maksimal epitel, yaitu jarak paling panjang yang diukur dari batas terbawah lapisan sel basal sampai dengan lapisan terluar sel superfisial dan ketebalan minimal epitel. Hasil pengukuran ketebalan lapisan epitel didapat dari penjumlahan ketebalan maksimal dan minimal kemudian dibagi dua. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan ekspresi KI-67 dan ketebalan epitel berskala ratio. Hasil pengamatan diuji secara statistik dengan menggunakan analisis parametrik *two way ANOVA* dilanjutkan uji LSD dan analisis non parametrik *Kruskal-Wallis*. Analisis data dilakukan dengan level signifikansi 95%.

## HASIL

Pengukuran ekspresi KI-67 dilakukan setelah prosedur histologis dan teknik imunohistokimia menggunakan antibody KI-67. Representatif jumlah sel yang mengekspresikan KI-67 pada sel epitel mukosa yang diberi aquades lebih banyak dibandingkan dengan kelompok Aspirin (Gambar 1 A, B).

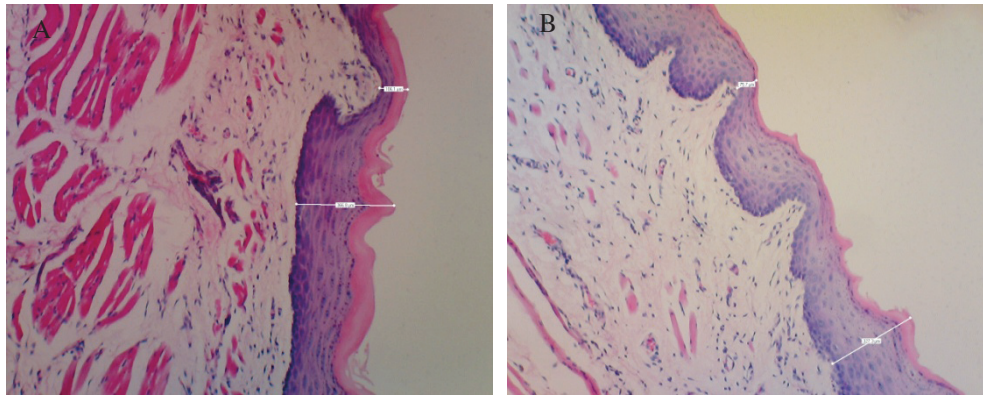
Rerata ekspresi KI-67 pada kelompok perlakuan Aspirin yang semakin menurun dari pemberian hari ke-1 sampai hari ke-10, sedangkan perlakuan menggunakan aquades menunjukkan kondisi yang relatif konstan (Gambar 2). Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa data yang diuji mempunyai nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) berarti data terdistribusi normal dan



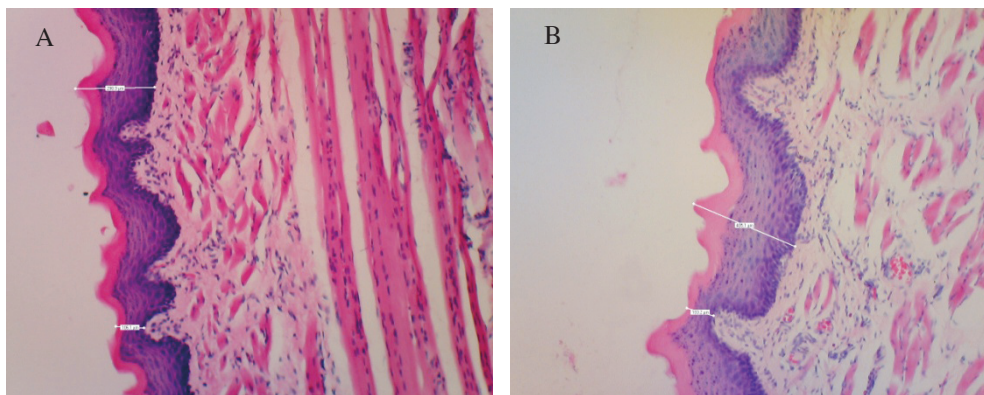
**Gambar 2.** Rerata ekspresi KI-67 pada kelompok perlakuan dan hari perlakuan.

homogen sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik dengan menggunakan uji *two way ANOVA*. Hasil uji *two way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara ekspresi KI-67 pada masing-masing hari dan kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Hasil ini berarti bahwa hari pengamatan, kelompok perlakuan dan interaksi antara hari pengamatan dan kelompok perlakuan berbeda bermakna terhadap ekspresi KI-67. Selanjutnya untuk mengetahui perbandingan ekspresi KI-67 antara masing-masing subkelompok hari perlakuan, dilakukan uji *Least Significant Different (LSD)*. Hasil analisis statistik menggunakan uji LSD menunjukkan bahwa sebagian besar subkelompok mempunyai nilai probabilitas kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ), hal tersebut mengindikasikan sebagian besar kelompok mempunyai perbedaan yang bermakna antar hari perlakuan.

Pengukuran ketebalan epitel dilakukan menggunakan *software ImageJ* setelah pengecatan preparat menggunakan *Hematoxylin-eosin* dan pengambilan gambar mikroskopis menggunakan kamera optilab. Ketebalan epitel maksimal dan minimal pada mukosa yang diberi Aspirin dapat dilihat pada Gambar 3A-B, sedang ketebalan epitel maksimal



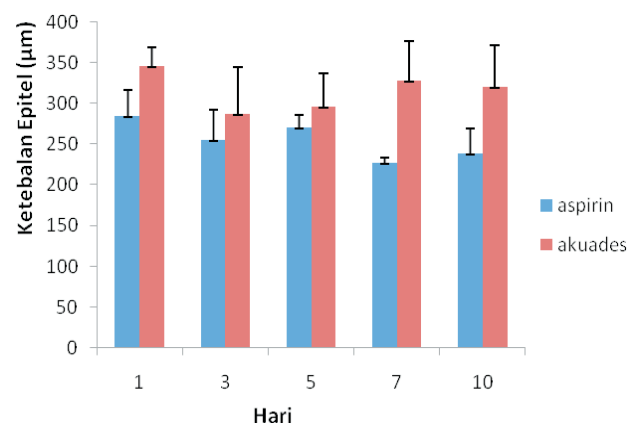
**Gambar 3.** A) Ketebalan epitel maksimal dan minimal setelah pemberian Aspirin hari ke-1; B) Ketebalan epitel maksimal dan minimal setelah pemberian Aspirin hari ke-10.



**Gambar 4.** A) Ketebalan epitel maksimal dan minimal setelah pemberian akuades setelah hari ke-1; B) Ketebalan epitel maksimal dan minimal setelah pemberian akuades setelah hari ke-10.

dan minimal pada mukosa yang diberi akuades dapat dilihat pada Gambar 4A-B. Perbandingan rerata ketebalan epitel kelompok perlakuan dan kontrol dapat dilihat pada Gambar 5.

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data yang diuji mempunyai nilai signifikansi lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) berarti data terdistribusi normal. Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data yang diuji mempunyai signifikansi kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ) mengindikasikan data tidak homogen sehingga tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik dengan menggunakan *two way ANOVA*. Analisis dilanjutkan menggunakan uji non parametrik menggunakan *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan Aspirin dibandingkan akuades ( $p < 0,05$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa semua subkelompok pada perlakuan Aspirin dibandingkan akuades mempunyai perbedaan bermakna terhadap ketebalan epitel. Kelompok perlakuan akuades mempunyai epitel yang lebih tebal dibandingkan kelompok perlakuan Aspirin, sedangkan nilai ketebalan epitel antar subkelompok berdasarkan lama perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ( $p > 0,05$ ). Hasil ini mengindikasikan bahwa hari pengamatan tidak berpengaruh secara signifikan terhadap ketebalan epitel.



**Gambar 5.** Rerata ketebalan epitel mukosa bukal rongga mulut tikus galur *Wistar* pada kelompok perlakuan dan kontrol.

## PEMBAHASAN

Aspirin merupakan golongan asam asetil salisilat yang banyak digunakan sebagai pereda nyeri, peradangan atau anti trombosis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian Aspirin dosis 9 mg/kg BB peroral pada tikus galur *Wistar* dapat menurunkan jumlah ekspresi KI-67

dibandingkan dengan kontrol (akuades). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat penurunan indeks proliferasi dari pemberian hari pertama sampai hari kesepuluh. Aspirin dilaporkan mempunyai efek anti proliferasi disebabkan oleh menurunnya faktor-faktor pertumbuhan (*growth factors*) dalam sel. Penghambatan proliferasi sel disebabkan mekanismenya dalam menghambat *platelet-derived growth factor* (PDGF). Dilaporkan pula bahwa ekspresi *transforming growth factor* (TGF- $\beta$ ) menurun sebanding dengan penghambatan beberapa *growth factors* lainnya.<sup>10</sup> TGF- $\beta$  merupakan molekul yang dibutuhkan oleh sel dalam melakukan proliferasi sel di lambung, usus, kulit, rongga mulut, dan mekanisme penyembuhan luka. Aspirin dilaporkan dapat menyebabkan perdarahan lambung dan penurunan integritas mukosa.<sup>6</sup> Kegagalan pemeliharaan integritas mukosa terjadi akibat penurunan ekspresi prostaglandin. Penurunan prostaglandin diakibatkan oleh penghambatan enzim *cyclooxygenase*. *Cyclooxygenase* (COX) merupakan enzim yang berperan penting sebagai katalisator konversi asam arakhidonat menjadi *cyclic-prostaglandin endoperoxides*. Prostaglandin (PGE<sub>2</sub>) adalah suatu agen penting dalam saliva yang mempunyai peran melindungi mukosa mulut. Dilaporkan bahwa penderita stomatitis mempunyai kadar PGE<sub>2</sub> yang menurun.<sup>5</sup> Prostaglandin dalam saliva mempunyai peran sebagai mekanisme pertahanan mukosa mulut seperti peran prostaglandin dalam pertahanan mukosa di lambung. Penghambatan COX-1 pada mukosa lambung memicu terjadinya penurunan mukus dan bikarbonat pada lambung, mengurangi aliran darah mukosa, kerusakan vaskular, akumulasi leukosit, penurunan kemampuan *turnover*, dan semua faktor yang berkontribusi pada perbaikan mukosa.<sup>4</sup>

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan ekspresi KI-67 dari hari pertama pemberian Aspirin sampai hari kesepuluh. Hal ini kemungkinan disebabkan karena protein KI-67 responsif terhadap Aspirin. Protein KI-67 terekspresi pada semua sel selama berlangsungnya siklus sel. Ekspresi tersebut terdeteksi pada semua fase siklus sel pada G1, S, G2, dan M (mitosis), kecuali fase G0.<sup>11</sup> Pengaruh Aspirin terhadap ekspresi KI-67 terdeteksi paling tinggi pada fase G1. Aspirin menahan fase G1 sehingga proses pembelahan sel terhambat.<sup>12</sup>

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa hari pengamatan tidak berpengaruh secara signifikan terhadap ketebalan epitel. Pemberian Aspirin hari pertama sampai hari kesepuluh tidak menyebabkan perubahan ketebalan epitel yang bermakna. Data membuktikan bahwa Aspirin dapat menurunkan ketebalan epitel mukosa bukal tikus galur *Wistar*, tetapi lama pemberiannya tidak berpengaruh secara signifikan. Data tersebut sesuai dengan penelitian Lacy dkk. bahwa pemberian salin pada mukosa lambung tikus tidak mengakibatkan perubahan morfologi, fisiologi, maupun ketebalan epitel.<sup>13</sup> Sebaliknya mukosa lambung yang mendapat iritan dalam jangka waktu 2 minggu menyebabkan penurunan ketebalan epitel sebesar 50%.

Penurunan ketebalan terjadi akibat iritasi kronis pada permukaan epitel mukosa lambung.<sup>13</sup> Aspirin mempunyai efek lokal yang lebih tinggi pada mukosa lambung dibandingkan mukosa lain,<sup>14</sup> sehingga meskipun dilaporkan terjadi penurunan ketebalan epitel mukosa lambung, ketebalan epitel mukosa bukal rongga mulut tikus galur *Wistar* tidak terpengaruh. Penggunaan Aspirin per oral dapat diabsorpsi sebanyak 70% di lambung dan sisanya diabsorpsi di usus halus bagian atas. Aspirin akan menyebar ke seluruh tubuh dan cairan transeluler setelah diabsorpsi, seperti cairan sinovial, cairan spinal, saliva dan air susu.<sup>14</sup> Respon mukosa rongga mulut tidak sama dengan mukosa lambung karena efek lokal di lambung tidak sama seperti efek secara sistemik. Rongga mulut subjek pada penelitian ini adalah normal.

Rongga mulut dan lambung mempunyai persamaan struktur penyusunnya, yaitu sama-sama dilapisi oleh membran mukosa pada lapisan terluarnya, lamina propria pada lapisan dibawahnya serta jaringan yang dapat memproduksi kelenjar. Perbedaan membran mukosa keduanya terletak pada lapisan penyusun epitel. Lapisan mukosa lambung tersusun atas epitel selapis kolumnar (*simple columnar epithelium*), sedangkan rongga mulut tersusun atas epitel berlapis gepeng (*stratified squamous epithelium*). Secara fisiologi, keduanya mempunyai persamaan dalam fungsi pencernaan dan motorik.<sup>1</sup> Aspirin dapat menurunkan ekspresi KI-67 pada penelitian ini kemungkinan karena persamaan struktur dan fisiologi jaringan lambung dan rongga mulut, sedang lama pemberian Aspirin tidak menurunkan ketebalan epitel kemungkinan karena perbedaan lapisan epitel yang menyusun kedua jaringan tersebut. Penelitian ini menunjukkan bahwa Aspirin dalam waktu pemberian 10 hari mempengaruhi ekspresi KI-67, namun tidak berpengaruh pada ketebalan epitel mukosa bukal.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Squire CA, Mary JK. Biology of oral mucosal and esophagus. *J of Nat Can Ins Mon* 2001; 29: 7-15.
2. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Jaringan epitel dalam histologi dasar. Sugiarto K, Santoso A, editors. Jakarta: EGC; 1995. h. 62-90.
3. Shah JS, Patel JR. Short communication: anti-ulcer activity of lucer against experimentally induced gastric ulcers in rats. *Ayu J* 2012; 33(2): 314-6.
4. Halter F, Tarnawski AS, Schmassmann A, Peskar BM. Cyclooxygenase 2- implications on maintenance of gastric mucosal integrity and ulcer healing: controversial issues and perspectives. *Gut* 2001; 49(3): 443-53.
5. Wang CYW, Patel M, Feng J, Milles M, Wang SL. Decreased levels of salivary prostaglandin E2 and epidermal growth factor in recurrent aphthous stomatitis. *Archs Oral Biol* 1995; 40 (2): 1093-8.
6. Yagiela JA, Dowd FJ, Neidle EA. Pharmacology and therapeutics for dentistry. 5<sup>th</sup> ed. Missouli: Mosby; 2004. p. 337-52.
7. Selem HS, Ghobashy HA, Zolfakar AS. Effect of Aspirin versus aspirin and vitamin C on gastric mucosal (fundus) of adult male albino rats. *Histological and Morphometric Study Egypt J Histol* 2010; 33(2): 313-26.

8. Gonzales-Moles, Bravo, Ruiz-avila, Acebal F, Gil-Monyoya JA, Brener S, Esteban F. Ki-67 expression in non-tumour epithelium adjacent to oral cancer as risk marker for multiple oral tumours. *J Oral Dis* 2009; 16(1): 68-75.
9. Jonat W, Arnold N. Is the Ki-67 labelling index ready for clinical use?. *Ann Oncol* 2011; 22(3): 500-2.
10. Hoefer IE, Grundman S, Schirmer S, Royen VN, Meder B, Bode C, Piek JJ, Buschmann IR. Aspirin, but not clopidogrel, reduces collateral conductance in a rabbit model of femoral artery occlusion. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46(6): 994-1001.
11. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J cell Physiol* 2000; 182(3): 311-22.
12. Redondo S, Santos-Gallego CG, Ganado P, García M, Rico L, Del Río M, Tejerina T. Acetylsalicylic acid inhibits cell proliferation by involving transforming growth factor- $\beta$ . *Circulation* 2003; 107(4): 626-9.
13. Lacy ER, Cowart K S, King JS, DelValle, J, Smolka AJ. Epithelial response of the rat gastric mucosal to chronic superficial injury. *Yale J Biol Med* 1996; 69(2): 105-8.
14. Wimana FF. Analgesik-antipiretik analgesik anti-inflamasi steroid dan obat pirai. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 1995. h. 207-22.