

# **DISERTASI**

## **GAMBARAN ATEROSKLEROSIS ARTERI KAROTIS PADA SUBYEK PEROKOK BERDASARKAN ULTRASONOGRAFI**

*TINJAUAN TERHADAP PERAN VARIASI GENETIK CYP2A6, FAKTOR  
INFLAMASI DAN DISFUNGSI ENDOTEL*

## **ULTRASOUND IMAGING OF THE CAROTID ATHEROSCLEROSIS IN SMOKERS**

*FOCUS ON THE ROLE OF CYP2A6 GENETIC VARIATION, INFLAMMATION  
FACTORS AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTIONS*



**MIRNA MUIS**

**P0200307064**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2012**

## DISERTASI

### GAMBARAN ATEROSKLEROSIS ARTERI KAROTIS PADA SUBYEK PEROKOK BERDASARKAN ULTRASONOGRAFI

### TINJAUAN TERHADAP PERAN VARIASI GENETIK CYP2A6, FAKTOR INFLAMASI DAN DISFUNGSI ENDOTEL

Disusun dan diajukan oleh

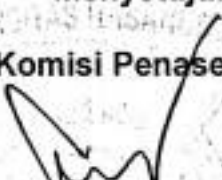
MIRNA MUIS  
Nomor Pokok P0200307064

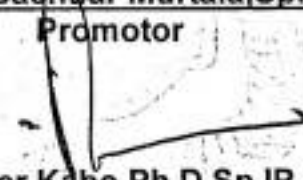
Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi  
pada tanggal 11 Desember 2012

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

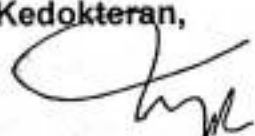
Menyetujui

Komisi Penasehat,

  
Prof. Dr. dr. Bachtjar Murtala, SpRad(K)  
Promotor

  
Prof. dr. Peter Kabo, Ph.D, SpJP, SpFM  
Ko-Promotor

Ketua Program Studi  
Ilmu Kedokteran,

  
Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc.

Dekan Fakultas Kedokteran

  
Prof. dr. Irawan Yusuf, Ph.D.

Direktur Program Pascasarjana  
Univesitas Hasanuddin

  
Prof. Dr. Ir. Mursalim, M.Sc

**LEMBAR PERSETUJUAN UJIAN PROMOSI**

**GAMBARAN ATEROSKLEROSIS ARTERI KAROTIS PADA SUBYEK  
PEROKOK BERDASARKAN ULTRASONOGRAFI**

**TINJAUAN TERHADAP PERAN VARIASI GENETIK CYP2A6, FAKTOR  
INFLAMASI DAN DISFUNGSI ENDOTEL**

**ULTRASOUND IMAGING OF THE CAROTID ATHEROSCLEROSIS  
IN SMOKERS**

**FOCUS ON THE ROLE OF CYP2A6 GENETIC VARIATION, INFLAMATION  
FACTORS AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTIONS**

Diajukan oleh:

**MIRNA MUIS**

**Nomor Pokok : P0200307064**

Menyetujui,

**KOMISI PENASEHAT,**

Prof. Dr. Peter Kabo, SpFK, SpJP, Ph.D.

**Ko-Promotor**

Prof. DR. Dr. Bachtiar Murtala, SpRad(K)

**Promotor**

**Ketua Program Studi (S3)**

**Ilmu Kedokteran,**

**Dekan Fakultas Kedokteran**

Prof. DR. Dr. Suryani As'ad, M.Sc

Prof. Dr. Irawan Yusuf, Ph.D

## DAFTAR TIM PENGUJI

Promotor : Prof. DR. Dr. Bachtiar Murtala, SpRad (K)  
Ko-Promotor : Prof. Dr. Peter Kabo, SpFK, SpJP, Ph.D  
Anggota : Drs. Andi Wijaya, Ph.D  
Prof. Dr. Irawan Yusuf, Ph.D  
Prof. DR. Dr. Syakib Bakri, SpPD. KGH  
Prof. DR.Dr. Muhammad Ilyas, Sp.Rad (K)  
DR.Dr. Budu Mannulusi, SpM. Ph.D

## PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Mirna Muis

No Induk Mahasiswa : P0200307064

Program Studi : S3 Ilmu Kedokteran Program Pasca Sarjana  
Universitas Hasanuddin

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar adalah hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini adalah hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 9 November 2012

Yang Menyatakan,

**Mirna Muis**

## PRAKATA

*Bismillahirrahmanirrahim.*

*Assalamum 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.*

Alhamdulillahirabbil' alamin saya panjatkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayahNya sehingga saya mampu menyelesaikan disertasi ini.

Pertama-tama saya haturkan ucapan terima kasih setulus-tulusnya kepada orang tua saya tercinta, ayahanda **H. Abd. Muis Hamid (Alm)** dan ibunda **Hj. Murni Muis** yang telah membesarkan, mendidik dengan penuh kasih sayang dan menanamkan pekerti luhur serta semangat yang tertanam di jiwa dan pemikiran saya sejak kecil, sehingga saya mampu seperti sekarang ini.

Banyak tantangan dan pengalaman berharga telah dihadapi dalam rangka penyusunan disertasi ini. Namun berkat bantuan berbagai pihak maka penelitian ini dapat diselesaikan dan dituangkan dalam bentuk disertasi. Dalam kesempatan ini dengan tulus dan rasa hormat saya menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

**Prof. Dr. dr. Idrus A. Paturusi**, selaku Rektor Universitas Hasanuddin, **Prof. dr. Irawan Yusuf, Ph.D.**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan **Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, Msc**, selaku Ketua Program Studi Pascasarjana Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin, yang telah berkenan memberi kesempatan kepada kami untuk mengikuti Program Pendidikan Doktor. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan membalas amal kebaikan beliau.

**Prof. Dr. dr. Bachtiar Murtala**, selaku promotor dan guru yang selalu memberi motivasi, semangat, bimbingan serta nasehat yang sangat berharga,

**Prof. dr. Peter Kabo, Ph.D**, selaku ko-promotor atas bimbingan, arahan dan koreksinya yang sangat bermanfaat dalam penyempurnaan disertasi ini.

**Prof. dr. Irawan Yusuf, Ph.D**, selaku penguji yang telah memberi ide awal penelitian ini dan membuka wawasan dan minat terhadap permasalahan penelitian, pelaksanaan penelitian dan proses mengatasi hambatan dalam penyusunan disertasi.

**Prof. Dr. dr. Syakib Bakri**, selaku penguji yang disela waktu beliau yang padat selalu menyempatkan membimbing, mengarahkan dan memberi petunjuk yang sangat berguna di dalam sistematika berpikir, alur penelitian, arah dan hipotesis penelitian, sampai dengan penyusunan disertasi ini. Semoga segala waktu yang diberikan diridhoi Allah SWT.

**Drs. Andi Wijaya, Ph.D**, sebagai penguji eksternal dan Komisaris Utama serta Presiden Group dari PT.Prodia Widyahusada yang telah memberi fasilitas, mengarahkan dan memberi petunjuk dan koreksi sejak awal hingga akhir penelitian ini.

**Prof. Dr. dr. Muhammad Ilyas dan Dr. dr. Budu Mannulusi, Ph.D**, selaku penguji yang juga menyempatkan untuk membimbing dan memberi koreksi pada disertasi ini.

**Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, MS** atas kesediaan beliau membimbing, mengarahkan dan memberi solusi atas berbagai permasalahan dalam penyusunan disertasi ini. Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan beliau.

Ucapan terima kasih dan hormat penulis sampaikan pula kepada:

**Dr. Rahmawati Minhajat, Sp.PD, Ph.D**, selaku atasan pada Bagian Histology Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin beserta guru-guru saya **Prof. Dr. dr. Sabbele N.Rewa, dr. Robby Lianuri, dr. Arthur Koswandi, dr. Yusuf Manguma,** dan **dr. Elisa Budiman**, serta rekan-rekan, **Dr. dr. Batari T. Umar, dr. Selli Salma** dan **dr. Trihastuti Hatta**, atas pengertian dan dukungannya sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini.

Yang sangat saya hormati : **Prof. dr. Misbahuddin Adnan, Prof. Dr. dr. Bachtiar Razak, Prof. dr. M. Arief Gella, dr. Frans Liyadi, dr. Sjahrir Ilyas** dan **dr. Nyoman Djigeh**, guru-guru yang telah memberi ilmu yang sangat berharga kepada saya. Semoga Tuhan YME memberi balasan atas segala amal kebaikan beliau.

**dr. Nurlaili Idris** selaku Ketua SMF Radiologi beserta para senior, rekan-rekan serta adik-adik peserta PPDS di Bagian Radiologi RS. Wahidin Sudirohusodo dan RS.Pendidikan Univ. Hasanuddin, atas segala bantuan dan dukungannya.

**Dr. Agus Sulaeman MSi**, kawan diskusi dan mentor yang telah menyediakan waktunya, memberi bimbingan dan masukan yang sangat berharga terutama di awal penulisan disertasi ini.

**Pimpinan beserta seluruh staf Laboratorium Prodia Makassar** yang telah banyak membantu terlaksananya pengambilan dan pengumpulan sampel, pengerjaan pemeriksaan penelitian, serta pengumpulan dan pengolahan data penelitian.

**Direktur RS. Wahidin Sudirohusodo dan RSP. Universitas Hasanuddin** atas fasilitas dan kesempatan yang diberikan dalam melaksanakan penelitian ini.



**Staf Bagian Histologi, Radiologi dan Program S3 Program Studi Ilmu Kedokteran**, yang telah banyak membantu kelancaran pendidikan dan penyelesaian disertasi ini.

Kakak-kakakku tersayang, **Dra. Machrina M. Muhajier, Prof. Dr. Mahlia M. Pahlevi, Misfani Muis, SE, MSi dan Ir. Minarfa M. Narundana, MT** atas kasih sayang, perhatian, kebersamaan serta dukungan semangatnya.

Sahabat-sahabatku terkasih, teman berbagi suka dan duka selama menempuh pendidikan dasar kedokteran hingga pendidikan doktor.

Yang sangat saya hormati, mertua saya, Ayahanda **Drs. H. Andi Mappangara** dan Ibunda **Hj. Darmi Mappangara** atas nasehat, dukungan dan doanya dalam mengiringi kehidupan kami.

Akhirnya ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada suami tercinta **dr. Idar Mappangara, Sp.PD, SpJP** dan keempat permata hati kebanggaan kami, **Fathur, Dinda, Fatah dan Mirza** atas kasih sayang, pengertian, kesabaran dan doa tulus yang selalu diberikan. Semoga hasil karya ini menjadi motivasi bagi anak-anakku dalam mencintai ilmu dan menggapai cita-cita. Amin.

Akhir kata, saya persembahkan disertasi ini untuk almamater tercinta **Universitas Hasanuddin**, semoga membawa manfaat dan berkah bagi kita semua terutama bagi lahirnya penelitian-penelitian di bidang radiologi di masa datang.

Makassar, Desember 2012

**Mirna Muis**

## ABSTRAK

**MIRNA MUIS.** *Gambaran Atherosklerosis Arteri Karotis pada Subjek Perokok Berdasarkan Ultrasonografi : Tinjauan terhadap Peran Variasi Genetik CYP2A6 Faktor Inflamasi dan Disfungsi Endotel (dibimbing oleh Bachtiar Murtala dan Peter Kabo)*

Penelitian ini bertujuan mengetahui hubungan gambaran USG aterosklerosis arteri karotis terhadap variasi genetik CYP2A6, faktor inflamasi dan disfungsi endotel.

Penelitian ini merupakan penelitian dengan desain potong lintang untuk melihat hubungan antara : peran variasi genetik CYP2A6, OxLDL, dan ADMA terhadap gambaran USG aterosklerosis arteri karotis pada subjek perokok.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi genetik CYP2A6 yang berperan dalam metabolisme nikotin dalam tubuh tidak mempengaruhi gambaran USG arteri karotis pada perokok. Variasi genetik CYP2A6 tidak mempengaruhi ketebalan dan echogenitas KIM arteri karotis pada perokok. Faktor inflamasi (oxLDL) berpengaruh terhadap gambaran USG arteri karotis pada perokok. Disfungsi endotel (kadar ADMA) yang tinggi berpengaruh terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada perokok.

f 23  
11 12

## ABSTRACT

**MIRNA MUIS.** *The Image of Carotid Artery Atherosclerosis on Smokers Based on Ultrasonography (A Study on the Role of CYP2A6 Genetic Variation, Inflammation Factor, and Endothelial Dysfunction (supervised by Bachtiar Murtala and Peter Kabo)*

The aim of the research is to find out the relationship between the image of ultrasound of carotid artery atherosclerosis and CYP2A6 genetic variation, inflammation factor, and endothelial dysfunction.

The research used cross sectional design to find out the correlation between the role of CYP2A6 genetic variation, oxLDL, and ADMA and the image of ultrasound of carotid artery atherosclerosis on smokers.

The results of the research reveal that CYP2A6 genetic variation playing a role in metabolism of nicotine does not affect the image of ultrasound of carotid artery on smokers. CYP2A6 genetic variation does not affect the thickness and KIM echogenicity of carotid artery on smokers. Inflammation factor (oxLDL) affects the image of carotid artery ultrasound on smokers. High endothelial dysfunction (ADMA content) affects KIM echogenicity of carotid artery on smokers. Thus, it can be concluded that the number of daily cigarette consumptions affects the level of oxLDL, NO, and ADMA on smokers. The echogenicity complex of intima media of carotid artery on smokers is affected by oxLDL content and ADMA. CYP2A6 genetic variation of does not play a role on the thickness and echogenicity of carotid artery on smokers.



## DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
DAFTAR TIM PENGUJI	iii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI	v
PRAKATA	vi
ABSTRAK	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR TABEL	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	7
1. Tujuan Umum	7
2. Tujuan Khusus	7
D. Manfaat Penelitian	8
1. Untuk Pengembangan Ilmu	8
2. Untuk Pengembangan Diagnostik	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
A. Rokok dan Metabolisme Nikotin	9
B. Disfungsi Endotel dan Proses Aterosklerosis	10
C. Asymmetric Dimethylarginine (ADMA)	12
D. Faktor Inflamasi dan Proses Aterosklerosis	13
E. Modalitas imaging dan Aterosklerosis	15
F. Ultrasonografi (USG) Arteri Karotis	23
G. Pengukuran Kompleks Intima Media	24

G. Karakteristik Echogenitas Plak	25
H. Peran Variasi Gen CYP2A6 terhadap Tingkat Adiksi pada Rokok	26
I. Kerangka Teori	28
J. Kerangka Konsep	29
K. Variabel Penelitian	30
L. Hipotesis Penelitian	30
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b>	<b>31</b>
A. Rancangan Penelitian	30
B. Populasi Penelitian	30
C. Tempat dan Waktu Penelitian	30
D. Besar Sampel	31
E. Metode Pengumpulan Data	32
F. Etika	32
G. Informed Consent	33
H. Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif	34
I. Cara Pemeriksaan	34
J. Metode Analisis Data	40
K. Alur Penelitian	41
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN</b>	<b>42</b>
1. Gambaran Umum Subyek Penelitian	42
2. Ketebalan dan Echogenitas KIM arteri karotis pada Subyek Penelitian	43
3. Analisis Hubungan Intensitas Merokok terhadap Ketebalan KIM arteri karotis pada perokok	44
4. Analisis hubungan Variasi genetik CYP2A6 terhadap Ketebalan KIM arteri karotis pada perokok	46
5. Analisis hubungan Variasi Genetik CYP2A6 dan Intensitas Merokok terhadap Ketebalan dan Echogenitas KIM arteri karotis pada perokok	50
6. Analisis hubungan Variasi Genetik CYP2A6 Faktor Inflamsi dan Disfungsi Endotel pada Subyek Perokok	52

7. Analisis hubungan Faktor Inflamasi Terhadap Ketebalan KIM Arteri karotis pada Subyek Perokok	54
8. Analisis hubungan Disfungsi Endotel Terhadap Ketebalan KIM pada Subyek Perokok	56
PEMBAHASAN	59
1. Ketebalan dan Echogenitas KIM arteri karotis pada Subyek Penelitian	60
2. Analisis Hubungan Intensitas Merokok terhadap Ketebalan KIM arteri karotis pada perokok	61
3. Analisis hubungan Variasi genetik CYP2A6 terhadap Ketebalan KIM arteri karotis pada perokok	62
4. Analisis hubungan Variasi Genetik CYP2A6 dan Intensitas Merokok terhadap Ketebalan dan Echogenitas KIM arteri karotis pada perokok	63
5. Analisis hubungan Variasi Genetik CYP2A6 Faktor Inflamsi dan Disfungsi Endotel pada Subyek Perokok	64
6. Analisis hubungan Faktor Inflamasi Terhadap Ketebalan KIM Arteri karotis pada Subyek Perokok	66
7. Analisis hubungan Disfungsi Endotel Terhadap Ketebalan KIM pada Subyek Perokok	67
Ringkasan	68
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	69
B. Saran	69
DAFTAR PUSTAKA	70
LAMPIRAN	78

## DAFTAR GAMBAR

No. Gambar	halaman
Gambar 1. Proses atherosclerosis	14
Gambar 2. Angiografi Arteri Karotis	16
Gambar 3. Deteksi Aterosklerosis dengan IVUS	18
Gambar 4. CTA Arteri Karotis	19
Gambar 5. MRA Arteri Karotis	21
Gambar 6. Lesi Aterosklerosis dengan Pemeriksaan	22
Gambar 7. Pengukuran KIM pada Far Wall	25
Gambar 8. Penebalan KIM disertai terbentuknya Plak	25
Gambar 9. Rerata Ketebalan KIM Arteri karotis Pda Perokok	43
Gambar 10. Sebaran Echogenitas KIM	49
Gambar 11. Hasil GEL Elektroforesis gen CYP2A6	47
Gambar 12. Frekuensi Genitip CYP2A6	48
Gambar 13. Hubungan Kadar oxLDL Terhadap Ketebalan KIM	55
Gambar 14. Hubungan Kadar ADMA Terhadap Ketebalan KIM	57

## DAFTAR TABEL

No. Tabel	halaman
Tabel 1. Comparison Among Atherosclerosis Imaging Modality	24
Tabel 2. Karakteristik Umum Subyek Penelitian	43
Tabel 3. Hubungan intensitas merokok terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada subyek perokok	45
Tabel 4. Hubungan intensitas merokok terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok	46
Tabel 5. Hubungan variasi genetik CYP2A6 terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada subyek perokok.	48
Tabel 6. Hubungan variasi genetik CYP2A6 terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok	49
Tabel 7. Hubungan variasi genetik CYP2A6 dan intensitas merokok terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada subyek perokok	50
Tabel 8. Hubungan variasi genetik CYP2A6 dan intensitas merokok terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok	51
Tabel 9. Hubungan variasi genetik CYP2A6 terhadap kadar oxLDL pada subyek perokok.	53
Tabel 10. Hubungan variasi genetik CYP2A6 terhadap kadar ADMA pada Subyek perokok.	54
Tabel 11. Hubungan kadar oxLDL terhadap ketebalan KIM arteri Karotis pada subyek perokok.	55
Tabel 12. Hubungan kadar oxLDL terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok	56
Tabel 13. Hubungan kadar ADMA terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada subyek perokok.	57
Tabel 14. Hubungan kadar ADMA terhadap echogenitas KIM arteri karotis	58





## BAB I PENDAHULUAN

### A. LATAR BELAKANG MASALAH

Rokok adalah problem kesehatan yang bersifat global dan menjadi masalah kesehatan *preventable* utama di negara berkembang. Mortalitas akibat rokok meningkat secara signifikan dan lebih tinggi dibanding kematian akibat alkohol, AIDS bahkan kecelakaan lalu lintas (Fagerstorm K, 2003). Bila pada tahun 1995 kematian akibat rokok mencapai tiga juta pertahun maka pada tahun 2025 diperkirakan akan mencapai 10 juta pertahun, dimana 70% diantaranya terjadi di negara berkembang (WHO, 2009). Di Indonesia pada tahun 2011, Global Adult Tobacco Survey (GATS), sebuah survei global untuk memonitor penggunaan tembakau di suatu negara, menunjukkan prevalensi perokok aktif pria di Indonesia sebesar 67,4%, angka ini meningkat dibandingkan Survei Sosial Ekonomi Nasional (Susenas) 1995 yang menunjukkan prevalensi perokok pria sebesar 53,9% (Kristanto TA, 2012).

Berbagai penelitian telah membuktikan efek rokok terhadap gangguan kesehatan meliputi berbagai jenis penyakit keganasan, kardiovaskuler, stroke, obstruksi paru kronis, penyakit vaskuler perifer, serta menjadi penyebab utama kelahiran prematur diseluruh dunia (WHO, 2009)

Rokok dapat menginisiasi maupun mengakselerasi aterosklerosis baik secara langsung yaitu menyebabkan disfungsi endotel dan proliferasi abnormal sel otot polos pada dinding arteri, maupun secara tidak langsung dengan mempengaruhi faktor

resiko lainnya seperti: abnormalitas lemak, status prokoagulan serta stres oksidatif (Libby P, Ridker P.M, Maseri A, 2002).

Aterosklerosis adalah kondisi sistemik berupa penebalan dinding dan penyempitan lumen arteri yang utamanya terjadi pada arteri elastika, seperti aorta dan arteri karotis (Baroncini LA, Oliveira A, 2008). Saat ini aterosklerosis merupakan penyebab kematian utama di negara maju dan diperkirakan kurang dari 25 tahun mendatang akan pula menjadi penyebab utama kematian di negara berkembang, seiring dengan perubahan pola diet, gaya hidup dan meningkatnya prevalensi perokok usia muda (Fagerstrom K, 2003)

Baik secara langsung maupun tidak, efek rokok yang berbeda antara satu individu dengan individu lainnya juga ditentukan oleh latar belakang genetik setiap individu (Wang XL, 2003)

Dari berbagai penelitian telah terbukti peranan gen CYP2A6 dalam metabolisme nikotin (Kwon JT, Nakajima M, 2001). Nikotin adalah senyawa utama dalam tembakau yang menimbulkan ketergantungan pada rokok. (Tricker AR, 2003; Tutka P, Mosiewicz J, Wielosz M. 2005). Variasi gen CYP2A6 diidentifikasi sebagai penyebab adanya perbedaan antar individu di dalam kebiasaan merokok dan ketergantungannya pada nikotin. Beberapa mutasi alel menyebabkan penurunan dan delesi aktifitas enzim CYP2A6. Variasi metabolisme nikotin pada tiap individu berperan dalam tingkat adiksi seseorang terhadap rokok dan juga berpengaruh pada pola merokok. Metabolisme nikotin yang lambat menyebabkan paparan yang lebih panjang terhadap nikotin sehingga konsumsi rokok perharinya lebih sedikit. Sebaliknya, metabolisme nikotin cepat akan menyebabkan orang mengkonsumsi lebih banyak rokok karena nikotin

dalam plasma cepat hilang, sehingga tingkat adiksi juga lebih tinggi (Kwon JT, Nakajima M, 2001).

Selain nikotin di dalam rokok juga terkandung berbagai jenis radikal bebas yang berada dalam fasa tar/partikel maupun fasa gas asap rokok (Ambrose,2004). Sampai saat ini belum jelas diketahui apakah nikotin, radikal bebas atau zat toksik lainnya yang paling berpengaruh terhadap terjadinya stres oksidatif, peningkatan inflamasi dan disfungsi endotel yang berujung pada terjadinya aterosklerosis. (Ambrose, 2004)

Aterosklerosis merupakan proses yang sangat kompleks baik meliputi disfungsi vasomotor, proses inflamasi, proliferasi *smooth muscles cells* (SMC) maupun proses koagulasi. Disfungsi vasomotor, proses inflamasi dan proliferasi SMC adalah tiga komponen integral yang memulai dan menyebabkan progresifitas aterosklerosis (Barua RS, Ambrose JA, 2003). Gangguan fungsi vasomotor merupakan salah satu efek patologis paling awal dari berbagai faktor resiko aterosklerosis, mendahului perubahan morfologi dinding pembuluh darah. Regulasi fasomotor sangat diperankan oleh keseimbangan faktor vasoregulasi nitrit oksida (NO) sebagai vasodilator dan endotelin-1 (ET-1) sebagai vasokonstriksi kuat. NO secara kontinyu disintesa oleh endothelial NO synthase (eNOS). Penurunan produksi NO dapat memfasilitasi proses inflamasi serta menyebabkan keseimbangan selular lebih proaterogenik dan protrombotik (Barua RS, Ambrose JA, 2001)

Asymetric dimethylarginine (ADMA) adalah asam amino alami yang bersirkulasi dalam darah. ADMA merupakan inhibitor potensial terhadap sintesa NO, sehingga peningkatan kadar ADMA sangat signifikan terhadap penurunan sintesa NO (Cooke JP, 2004). Plasma ADMA meningkat pada keadaan hiperkolesterol, hipertrigliserida,

resistensi insulin, diabetes mellitus dan hipetensi. Kadar ADMA juga berkorelasi positif dengan usia, tekanan darah sistolik, merokok, CRP dan homosistein. Peningkatan kadar ADMA berhubungan erat dengan tingkat keparahan aterosklerosis (Vallace P, Leiper J. 2004; Meinitzer A. 2007).

Proses inflamasi berperan besar pada tiap tahap terjadinya aterosklerosis mulai saat inisiasi sampai terlepasnya plak dan terjadinya komplikasi. Proses inflamasi terlibat dalam perlukaan sel endotel, disfungsi endotel, pengerahan sel inflamasi, proliferasi sel otot polos, akumulasi lipid serta mempengaruhi terbentuknya *vulnerable plaque* atau plak yang tidak stabil/rapuh. (Spagnoli LG, Bonanno E. 2007).

Rokok berhubungan dengan peningkatan kadar oxLDL, dimana telah dilakukan studi pada morfologi KIM pasien yang telah menjalani *endarterectomy*, didapatkan kadar oxLDL KIM yg diperoleh dari *endarterectomy* 7 kali lebih tinggi dari kadar oxLDL plasma. Kadar oxLDL juga didapatkan tinggi pada plak yang kaya makrofag dibanding plak dengan kadar makrofag rendah (Witztum JL, 2001). Paparan terhadap ekstrak asap rokok juga dapat menurunkan aktivitas plasma paroxanase yaitu enzim yang bersifat protektif terhadap oxLDL (Pech-Amsellem MA, Myara I, Storogento M. 1996).

Metode intervensi dan non intervensi secara luas digunakan untuk mendeteksi aterosklerosis (Potter K, Reed CJ, Green DJ. 2008; Finn AV, Kolodgie FD, Virmani R, 2009). Radiologi memiliki sejumlah modalitas imaging untuk mengevaluasi aterosklerosis, antara lain Ultrasonografi (USG), *Computed Tomography Scanning (CT Scan)*, *Magnetic Resonance Imaging (MRI)*, *Computed Tomography Angiography (CTA)*, *Magnetic Resonance Angiography (MRA)*, *Intravascular Ultrasound (IVUS)* dll.

Ultrasonografi sebagai salah satu modalitas *imaging* vaskuler non invasif memiliki beberapa kelebihan dibanding modalitas *imaging* lainnya, antara lain: ketersediaanya yang lebih luas, mudah dilakukan, *mobile*, aman dari radiasi sinar X serta dapat menampilkan visualisasi dinding arteri pada tiap tahapan aterosklerosis, dari normal sampai terjadinya oklusi arteri total. (Stein JH, Korcarz CE, Hurst T. 2008; Potter K, Reed CJ, Green DJ. 2008; Sharma P, Lohani B. 2009)

Morfologi vaskuler yang dapat dicitrakan oleh USG untuk evaluasi aterosklerosis, antara lain: ketebalan dinding arteri (kompleks intima-media), tekstur (echogenitas) dinding arteri, adanya penonjolan ke dalam lumen (plak), dsb (Halenka M. 2001).

Arteri karotis menjadi pilihan pengukuran kompleks intima-media (KIM) dibanding arteri lainnya disebabkan letak arteri karotis sangat superfisial, tanpa ada struktur tulang yang menutupi dan bayangan udara yang menghalangi serta jauh dari struktur yang bergerak, seperti jantung. USG karotis dapat mengevaluasi diameter lumen pembuluh darah, ketebalan dan echogenitas KIM serta menilai derajat stenosis (Jegelevicius D, Lukosevicius. 2002; Stein JH, Korcarz CE, Hurst T. 2008)

Penilaian kompleks intima-media arteri karotis menggunakan USG dalam penelitian kedokteran banyak mengalami peningkatan sejak pertengahan tahun 1990an (Jegelevicius D, Lukosevicius. 2002). *American Heart Assosiation* (AHA) merekomendasikan penilaian KIM sebagai metode non intervensi paling baik untuk identifikasi aterosklerosis. Hal ini disebabkan kualitas penebalan Kompleks Intima Media (KIM) yang dievaluasi melalui USG merupakan petanda awal terjadinya aterosklerosis. KIM juga digunakan sebagai petanda untuk mengevaluasi regresi dan progresi aterosklerosis (Stein JH, Korcarz CE, Hurst T. 2008)

Berbagai penelitian telah membuktikan hubungan rokok terhadap terjadinya aterosklerosis, namun bagaimana gambaran radiologi terkait hubungan tersebut belum banyak diteliti. USG sebagai modalitas *imaging* vaskuler non invasif dapat mengukur ketebalan dan echogenitas kompleks intima-media arteri karotis untuk menilai proses aterosklerosis dan faktor-faktor yang mempengaruhinya.

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas maka kami terdorong untuk melakukan penelitian untuk mengetahui bagaimana gambaran USG aterosklerosis arteri karotis pada perokok dalam hubungannya dengan intensitas merokok, variasi genetik CYP2A6 serta faktor inflamasi dan disfungsi endotel.

## **B. PERUMUSAN MASALAH**

Beberapa rumusan masalah yang muncul dari latar belakang di atas adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana ketebalan dan echogenitas kompleks intima-media (KIM) arteri karotis pada subyek perokok?
2. Apakah intensitas merokok berhubungan dengan ketebalan dan echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok?
3. Bagaimana hubungan variasi genetik CYP2A6 terhadap ketebalan dan echogenitas KIM arteri karotis?
4. Bagaimana hubungan antara variasi genetik CYP2A6 dan intensitas merokok terhadap ketebalan dan echogenitas KIM arteri karotis?
5. Bagaimana hubungan variasi genetik CYP2A6 terhadap faktor inflamasi dan disfungsi endotel?

6. Bagaimana hubungan faktor inflamasi dan disfungsi endotel terhadap ketebalan dan echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok?

### **C. TUJUAN PENELITIAN**

#### **1. Tujuan Umum**

Mengetahui bagaimana gambaran ultrasonografi aterosklerosis arteri karotis dalam hubungannya dengan intensitas merokok, variasi genetik CYP2A6, faktor inflamasi dan disfungsi endotel.

#### **2. Tujuan Khusus**

1. Bagaimana ketebalan dan echogenitas kompleks intima-media (KIM) arteri karotis pada subyek perokok?
2. Apakah Intensitas merokok berhubungan dengan ketebalan dan echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok?
3. Bagaimana hubungan variasi genetik CYP2A6 terhadap ketebalan dan echogenitas KIM arteri karotis?
4. Bagaimana hubungan variasi genetik CYP2A6 dan intensitas merokok terhadap ketebalan dan echogenitas KIM arteri karotis?
5. Bagaimana hubungan variasi genetik CYP2A6 terhadap faktor inflamasi dan disfungsi endotel ?
6. Bagaimana hubungan faktor inflamasi dan disfungsi endotel terhadap ketebalan dan echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok?

#### **D. MANFAAT PENELITIAN**

##### **1. Untuk pengembangan ilmu :**

Memberikan tambahan informasi tentang gambaran aterosklerosis melalui pemeriksaan USG arteri karotis yang dihubungkan dengan intensitas merokok, variasi genetik CYP2A6, faktor inflamasi dan disfungsi endotel.

##### **2. Untuk pengembangan diagnostik :**

Mengidentifikasi proses aterosklerosis melalui pemeriksaan USG yang non invasif, aman, mudah dilakukan, dengan ketersediaan yang luas, pada penderita yang beresiko tinggi diharapkan dapat memprediksi dan mencegah timbulnya manifestasi klinis lanjut.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Rokok dan Metabolisme Nikotin

: Rokok terdiri dari dua komponen utama yaitu : fase gas dan fase tar. Fase tar mengandung nikotin yang merupakan bahan adiktif dari asap rokok. Tar sendiri mengandung banyak zat kimia, antara lain: benzene dan benzo(a)pyrene. Adapun fase gas mengandung karbon monoksida, amonia, dimetilnitrosamin, formaldehida, hidrogen sianida dan akrolein (Ambrose JA, Barua RS, 2004)

Rokok yang dihisap terdiri dari *main stream* (aliran utama) dan *side stream* (aliran samping). Aliran utama adalah asap yang masuk ke dalam mulut seorang perokok. Aliran samping adalah asap yang dipancarkan dari ujung rokok yang dibakar. Asap rokok yang ada di lingkungan adalah kombinasi antara asap aliran samping (85%) dan fraksi kecil dari asap rokok aliran utama yang dihembuskan keluar oleh perokok (15%). Asap rokok aliran samping mengandung konsentrasi komponen gas toksik yang relatif tinggi, dibandingkan dengan asap rokok aliran utama. Nikotin adalah komponen fasa tar yang merupakan bahan adiktif dari asap rokok (Ambrose JA, Barua RS. 2004).

Nikotin adalah suatu *highly lipid-soluble alkaloid*, yang akan menguap saat rokok dinyalakan, membentuk droplet yang asapnya dihisap oleh perokok, kemudian diserap oleh tubuh dan sampai ke otak dalam waktu 10-19 detik, dan menstimulasi sistem syaraf pusat, meningkatkan denyut jantung dan tekanan darah, yang mengakibatkan jantung memerlukan lebih banyak oksigen (Nakajima M, 2001).

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Rokok dan Metabolisme Nikotin

Rokok terdiri dari dua komponen utama yaitu : fase gas dan fase tar. Fase tar mengandung nikotin yang merupakan bahan adiktif dari asap rokok. Fase tar mengandung banyak zat kimia, antara lain: benzene dan benzo(a)pyrene. Adapun fase gas mengandung karbon monoksida, amonia, dimetilnitrosamin, formaldehid, hidrosianida dan akrolein (Ambrose JA, Barua RS, 2004)

Rokok yang dihisap terdiri dari *main stream* (aliran utama) dan *side stream* (aliran samping). Aliran utama adalah asap yang masuk ke dalam mulut seorang perokok. Aliran samping adalah asap yang dipancarkan dari ujung rokok yang dibakar. Asap rokok yang ada di lingkungan adalah kombinasi antara asap aliran samping (85%) dan fraksi kecil dari asap rokok aliran utama yang dihembuskan keluar oleh perokok (15%). Asap rokok aliran samping mengandung konsentrasi komponen gas toksik yang relatif tinggi, dibandingkan dengan asap rokok aliran utama. Nikotin adalah komponen fase tar yang merupakan bahan adiktif dari asap rokok (Ambrose JA, Barua RS, 2004)

Nikotin adalah suatu *highly lipid-soluble alkaloid*, yang akan berikatan dengan sel-sel dinyalakan, membentuk droplet yang asapnya dihisap oleh perokok. Nikotin diserap oleh tubuh dan sampai ke otak dalam waktu 10-19 detik, merangsang sistem saraf pusat, meningkatkan denyut jantung dan tekanan darah. Nikotin juga berperan dalam pembentukan radikal bebas seperti superoxide yang membentuk

Nikotin diinaktifasi menjadi kotinin melalui kerja enzim CYP2A6, yang mengkatalisis sekitar 85-90% reaksi biotransformasi ini. Metabolisme nikotin menjadi kotinin melalui dua tahap yang melibatkan enzim *cytochrome P450* (CYP450) dan *aldehyde oxidase*. Nikotin dieliminasi terutama oleh metabolisme di hati melalui C-oksidasi menjadi kotinin sebagai metabolit utamanya. Nikotin mempunyai waktu paruh yang relatif singkat yaitu sekitar 2 jam, sedangkan kotinin 15-20 jam. Oleh karenanya kotinin merupakan penanda keterpaparan nikotin yang lebih stabil daripada nikotin (Nakajima M. 2001)

## **B. Komponen Rokok dan Disfungsi Vaskular**

Dalam rokok terkandung ribuan komponen, namun hanya sebagian kecil dari komponen ini yang sudah diisolasi. Karbon monoksida (CO) adalah salah satu komponen yang dahulu dianggap bertanggung jawab terhadap terjadinya aterosklerosis, namun beberapa data terakhir tidak menguatkan dugaan ini. Nikotin adalah komponen dalam rokok yang paling banyak diteliti yang mempengaruhi fungsi vasodilatasi endotel (Ambrose JA, Barua RS. 2004). Dari beberapa penelitian *in vitro* ditemukan bahwa nikotin berhubungan dengan penurunan ketersediaan NO yang merupakan vasodilator utama yang berasal dari sel endotel. Penelitian Barua RS dkk menunjukkan bahwa penurunan availabilitas NO baik yang berasal dari *human umbilical endothelial cells* (HUVECs) dan *human coronary artery endothelial cells* melalui perubahan ekspresi dan aktifitas sintesa NO endotel (Ambrose JA, Barua RS. 2004).

Saat ini radikal bebas yang dimediasi stres oksidatif juga diyakini berperan terhadap terjadinya aterosklerosis. Reaksi antara radikal bebas, seperti *superoxide* dengan NO, tidak hanya menurunkan ketersediaan NO tapi juga membentuk

*peroxynitrite* yang menguatkan stres oksidatif seluler. Meningkatnya stress oksidatif dan hilangnya fungsi protektif NO mempengaruhi keseimbangan antara proaterogenik dan protrombotik (Barua RS, Ambrose JA, 2001)

### C. Peran variasi gen CYP2A6 terhadap tingkat adiksi pada rokok.

Adanya variasi metabolime nikotin berperan terhadap berat ringannya tingkat adiksi seseorang terhadap rokok. Seseorang dengan metabolime nikotin yang lambat mengakibatkan paparan yang lebih panjang terhadap nikotin, sehingga konsumsi rokok perharinya lebih sedikit dibandingkan orang dengan metabolime nikotin yang cepat, mengkonsumsi lebih banyak rokok perharinya untuk menjaga kadar nikotin dalam plasma, sehingga lebih berisiko menjadi pecandu rokok (Malaiyandi V, Sellers E.M, Tyndale R.F. 2005)

Polimorfisme genetik CYP2A6 berperan pada efek yang ditimbulkan oleh rokok. Beberapa alel gen CYP2A6, yaitu: CYP2A6\*1A merupakan gen *wild type* (aktivitas metabolime normal). Pada alel CYP2A6\*4 tidak ada aktivitas metabolik karena terjadi delesi gen secara penuh (*whole deletion*), sedangkan pada alel CYP2A6\*7 dan CYP2A6\*10 aktivitas metabolime nikotin terganggu dan pada individu yang memiliki alel gen CYP2A6\*9 ekspresi enzim berkurang sehingga metabolime nikotin juga berkurang (Kwon JT, Nakajima M, 2001)

Metabolime lambat nikotin akan menyebabkan paparan lebih lama dengan nikotin dan dapat menyebabkan frekuensi merokok perhari juga berkurang. Sebaliknya seseorang dengan metabolime cepat akan cenderung mengisap rokok lebih banyak untuk mempertahankan kadar nikotin dalam darah. Benowitz NL (2010) dalam

penelitiannya mendapatkan populasi Latin dan kulit putih secara signifikan mengkonsumsi nikotin lebih banyak dibanding populasi china-Amerika. Caraballo RS, 2008 pada studinya terhadap 7182 orang menemukan kadar kotinin yang lebih tinggi pada perokok kulit hitam dibanding perokok kulit putih dan amerika latin.

#### **D. Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) dan Proses Aterosklerosis**

Asymmetric dimethylarginine (ADMA) adalah inhibitor kompetitif endogen bagi enzim NOS. ADMA merupakan asam amino alami yang bersirkulasi dalam darah. ADMA disintesis ketika residu arginin pada protein mengalami metilasi oleh enzim *protein arginine methyltransferases* (PMRTs). Arginin termetilasi merupakan produk modifikasi *post translasi*, dimana terjadi penambahan 1 atau 2 gugus metil pada nitrogen gugus guanidin (Vallance P, Leiper J, 2004).

Enzim PMRT terbagi dalam 2 kelompok besar, PRMT tipe 1 mengkatalisis pembentukan ADMA dan PRMT tipe 2 yang memetilasi kedua nitrogen pada gugus guanidin membentuk simetrik dimetilarginin (SDMA). Kedua tipe PRMT juga dapat menghasilkan monometil arginin (L-NMMA). Metil arginin dihasilkan bila protein yang termetilasi mengalami hidrolisis. Sampai saat ini belum diketahui adanya pembentukan ADMA langsung dari L-arginin bebas. ADMA dan L-NMMA merupakan inhibitor terhadap NOS, sedangkan SDMA tidak. Kadar ADMA dalam darah jauh lebih besar dibandingkan kadar L-NMMA sehingga peningkatan kadar ADMA sangat signifikan terhadap penurunan sintesis NO (Cooke JP, 2004; Vallance P, Leiper J, 2004).

## **E. Faktor Inflamasi dan Proses Aterosklerosis**

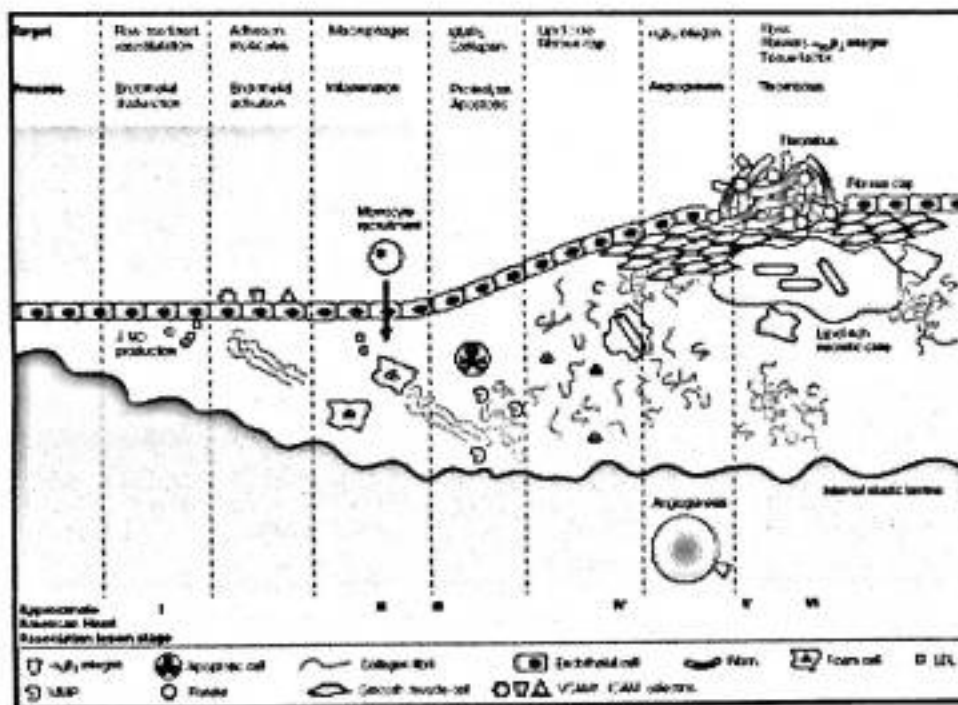
Aterosklerosis adalah kondisi sistemik yang utamanya terjadi pada arteri elastika, antara lain aorta, arteri karotis, arteri iliaka serta arteri muskularis besar maupun sedang. Terjadinya aterosklerotik pada arteri karotis merupakan jendela bagi perubahan sistemik pada seluruh arteri. Plak aterosklerosis mulai berkembang pada arteri karotis dan aorta secara simultan mendahului timbulnya plak pada arteri koroner.

Aterosklerosis merupakan proses patologik yang ditandai oleh pembentukan neointima dan akumulasi lipid. Inflamasi menyertai semua fase terjadinya aterosklerosis, mulai saat inisiasi sampai terlepasnya plak dan terjadinya komplikasi. Proses inflamasi terlibat dalam perlukaan sel endotel, disfungsi endotel, pengerahan sel inflamasi, proliferasi sel otot polos dan akumulasi lipid, sehingga dapat dikatakan aterosklerosis merupakan penyakit inflamasi vascular (Libby P, Ridker P.M, Maseri A. 2002)

Leukosit adalah sel utama pada proses inflamasi. Terdapat bukti yang signifikan peranan leukosit dan eksaserbasinya pada kejadian aterosklerosis. Pertama, leukosit adalah salah satu komponen utama dalam proses aterosklerosis. Interaksi antara sel endotel dan leukosit yang menyebabkan perlukaan dan disfungsi endotel diyakini merupakan langkah awal terjadinya aterosklerosis. Kedua, akumulasi leukosit pada dinding pembuluh darah mengakibatkan fagositosis lipid sehingga terbentuk sel busa. Ketiga, leukosit berinteraksi dengan sel-sel otot polos menyebabkan proliferasi sel-sel otot polos. Selanjutnya, leukosit juga sangat berperan terhadap ketidakstabilan dan rupturnya plak. Infeksi yang mengakibatkan peningkatan jumlah dan aktifitas leukosit, baik pada sirkulasi maupun dinding pembuluh darah berperan penting dalam terjadinya

aterosklerosis dan komplikasi yang ditimbulkannya (Libby P, Ridker P.M, Maseri A. 2002)

Disfungsi endotel memicu proses inflamasi yang akan menghasilkan komponen-komponen inflamasi, yaitu: leukosit, chemokine, cytokine dan ekspresi *Cellular Adhesion Molecules*. Aktifasi dan degranulasi leukosit mengakibatkan pelepasan enzyme myeloperoksidase yang akan menyebabkan *neointimal hyperplasia* yang pada akhirnya mengakibatkan penebalan tunika intima. Selain itu proses inflamasi yang terus berlanjut mengakibatkan pembentukan sel busa melalui adhesi dan infiltrasi monosit ke dalam tunika intima yang berdiferensiasi menjadi makrofag yang akan memfagositosis kolesterol. Penumpukan sel-sel busa akan membentuk inti lipid (*lipid core*) dalam tunika intima yang dikenal sebagai *plaque formation* (Crowther MA, 2005).



Gambar 1 : Proses aterosklerosis (Crowther MA. 2005)

## E. Modalitas Imaging Aterosklerosis

Modalitas imaging aterosklerosis terus berkembang seiring dengan perkembangan teknologi. Tabel 1 menunjukkan beberapa modalitas imaging untuk evaluasi aterosklerosis yang ada saat ini disertai kelebihan dan kekurangannya masing-masing.

**Tabel 1. Comparison among atherosclerosis imaging modalities**  
(Tardif JC, Lesage F, Harel F, 2011)

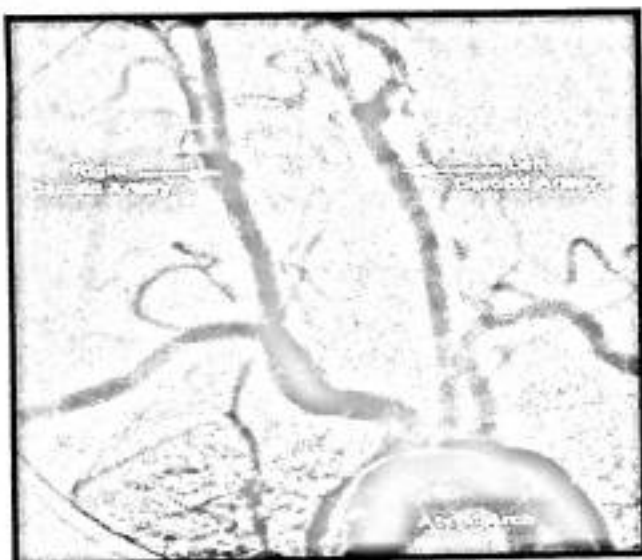
Imaging modalities	Imaging Targets	Resolution	Radiation	Invasiveness	Advantages & Disadvantages
Coronary angiography	coronary lumen	0,4mm	yes	yes	2 dimensional silhouette of lumen only, assesment with CV events, accepted surrogate for expants Indication
IVUS	coronary arterial wall	0,08-0,1mm	no	yes	Tomographic, volumetric assesment of changes in plaque burden & vascular remodeling with excelent resolution
Ultrasonography	IMT & plaque	0,15mm	no	no	wide availability, clinical trial experience, low cost, technically demanding, further validation of plaque assesment required.
CT-scan	coronary lumen & wall	0,4mm	yes	no	rapid acquisition, limited image resolution for plaque burden, radiation exposure.
MRI	carotid lumen & wall	0,5-1mm	no	no	plaque characterization possible, no validation with clinical events
PET	metabolic activity in carotid & aorta	4mm	yes	no	limited image resolution, limited ability to visualise coronary artery, no validation with clinical events.
OCT	coronary arterial lumen & wall	excellent 0,01mm	no	yes	best images resolution, limited depth of view, requires flushing of lumen

## Angiografi

Angiografi adalah tehnik pencitraan invasif dengan menyuntikkan zat kontras ionik maupun non ionik ke dalam pembuluh darah arteri maupun vena untuk menilai lumen pembuluh darah (Tardif JC, Lesage F, Harel F 2011)



Lima puluh tahun sejak ditemukannya, angiografi telah menjadi tehnik standar untuk evaluasi stenosis arteri. Kelebihan angiografi antara lain, aksesibilitas dan kemampuannya sudah dikenal secara luas oleh masyarakat serta hasilnya dapat didokumentasikan untuk keperluan *follow up* selanjutnya. Kecepatan dan sistem analisis menggunakan komputer menyebabkan angiografi merupakan modalitas yang reproduibel dan akurat dalam menunjukkan lokasi stenosis, derajat stenosis serta dapat mengukur diameter lumen pembuluh darah, sehingga angiografi dapat memprediksi progresifitas aterosklerosis. Kekurangan angiografi antara lain, menggunakan radiasi pengion yang sangat besar dosisnya serta memiliki keterbatas biologi meliputi, perbedaan tonus vasomotor, *blushing*, vasa vasorum ikut terisi kontras dan kemungkinan toksisitas zat kontras. Keterbatasan lain dari angiografi adalah ketidakmampuannya dalam melihat plak, sehingga seringkali stenosis yang kurang dari 50% tidak dianggap sebagai target revaskularisasi, padahal meskipun derajat stenosis masih ringan namun komposisi plak yang menyertainya sangat rapuh, maka ruptur plak dapat saja terjadi dan menyebabkan manifestasi klinis yang berat (Teo KSL, 2007)



**Gambar 2: Angiografi arteri karotis.**  
(Tardif JC, Lesage F, Harel F 2011)

## Vascular Ultrasound (IVUS)

IVUS merupakan modalitas imaging invasif yang menggunakan kateter yang didisain secara khusus dengan *probe ultrasound* mini ditempatkan pada bagian distal kateter sedangkan bagian proximal kateter dihubungkan dengan komputer USG, sehingga dihasilkan gambaran lumen dan dinding pembuluh darah secara in vivo dengan resolusi yang sangat baik. IVUS dapat memperlihatkan intima-media pada daerah yang dibatasi oleh membran elastika eksterna. Berbeda dengan angiografi, IVUS dapat secara jelas mendeteksi plak aterosklerosis dan menilai perubahan ukuran plak dari waktu ke waktu. Oleh karenanya saat ini IVUS dinyatakan sebagai baku emas terbaru untuk imaging aterosklerosis (Tamakawa N, Sakai H, Nishimura Y. 2007)

Meskipun merupakan pemeriksaan invasif, IVUS relatif lebih aman, dan hal ini telah dibuktikan pada beberapa penelitian baik jangka pendek maupun jangka panjang. Sampai saat ini belum pernah dilaporkan adanya komplikasi seperti spasme arteri atau infark miokard saat dilakukan pemeriksaan IVUS. Disamping itu IVUS memiliki kemampuan menilai lesi-lesi pada daerah yang sulit misalnya lesi pada arteri koroner kiri atau pada daerah bifurkasi. (Teo KSL, 2007)

Walaupun saat ini IVUS lebih banyak didedikasikan untuk pemeriksaan angiografi koroner namun pemeriksaan pada arteri karotis, cerebral maupun perifer juga sudah sering dilakukan pada pusat pelayanan kesehatan yang telah dilengkapi dengan alat ini.

Gambar IVUS 2D dan 3D dapat menunjukkan ateroma dengan resolusi yang sangat baik, namun kemampuannya dalam menilai komposisi plak masih terbatas. Tamanaka N dkk dalam penelitiannya di tahun 2007 telah membuat algoritme yang

disebut *Virtual Histology*, yang menjelaskan tentang jenis plak didasarkan pada analisis spektral ultrasound yang ditransformasi secara matematika berdasarkan frekuensi gelombang radio untuk menghasilkan data sebagai representasi berbagai komposisi jaringan seperti, lemak, serat, kalsifikasi dan jaringan nekrotik. Berbagai penelitian terus dikembangkan untuk menyempurnakan kemampuan IVUS dalam mendeteksi dan menilai plak aterosklerosis.



**Gambar 3 : Deteksi atherosklerosis dengan IVUS.**  
(Tamakawa N, Sakai H, Nishimura Y 2007)

### **Computed Tomography Scanning (CT-Scan)**

CT scan adalah prosedur pencitraan medik yang menggunakan sinar X dan seperangkat komputer yang menghasilkan gambar tomografi atau irisan pada bagian tubuh tertentu. CT angiografi (CTA) adalah prosedur pemeriksaan CT scan dengan menyuntikkan kontras media ionik melalui pembuluh darah vena di lengan untuk menilai

berbagai kelainan pembuluh darah seperti aneurisma, aterosklerosis, obstruksi, diseksi, AVM dll ( Dillon EH, Leuwen MS, 1993).

Saat ini CT-scan telah berkembang menjadi Multidetector Computed Tomography (MDCT) yang menggunakan detektor sinar X yang terus berputar untuk mendapatkan sejumlah gambar irisan axial dengan ketebalan 0,3-0,7 mm pada satu kali tarikan nafas. MDCT dapat mendeteksi secara signifikan stenosis arteri koroner dan keberadaan plak. Suatu penelitian untuk membandingkan sensitifitas dan spesifitas MDCT dengan angiografi dalam mendeteksi stenosis (>50%) mendapatkan hasil 91%-100%, namun beberapa penelitian juga mendapatkan hasil yang kontroversial (Tardif JC, Lesage F, Harel F. 2011)

CT scan dengan *Hounsfield Unit* (HU) juga dapat menilai komposisi plak, dimana secara umum lesi dengan HU rendah berarti mengandung banyak lipid (*unstable plaque*) dan lesi dengan HU tinggi mengandung banyak kalsium (*stable plaque*) namun seringkali terdapat overlapping antara jaringan lemak, jaringan fibrous dan kalsium sehingga nilai HU yang didapatkan tidak terlalu akurat dalam menggambarkan komposisi plak. Keterbatasan lain dari MDCT adalah pasien dengan denyut nadi >70 kali/menit tidak dapat dilakukan MDCT sebab akan menimbulkan banyak artefak pada gambar yang dihasilkan. Disebabkan sejumlah keterbatasan ini, MDCT belum dapat digunakan sebagai pengganti angiografi koroner seutuhnya (Josephson SA, Bryant SO, Mak HK. 2004)



**Gambar 4. Computed Tomography Angiography (CTA) arteri karotis.**  
(Josephson SA, et al., 2004)

### **Magnetic Resonance Imaging (MRI)**

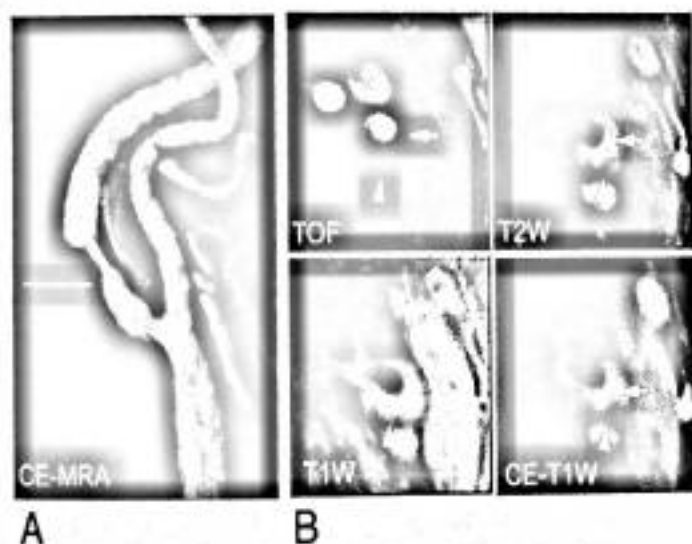
MRI adalah modalitas multiparameter dan multiplanar yang tidak menggunakan radiasi pengion dan menghasilkan resolusi spasial dengan ketebalan 2-5mm sedangkan MR angiografi (MRA) dikhususkan untuk evaluasi pembuluh darah, dengan menyuntikkan zat kontras ke dalam vena. MRA menghasilkan gambar dengan resolusi yang tinggi sehingga menjadi salah satu modalitas imaging yang dapat diandalkan untuk menilai aterosklerosis.

Dibandingkan toksisitas zat kontras pada CTA, zat kontras yang digunakan pada MRA memiliki toksisitas yang lebih rendah. Namun MRI mempunyai keterbatasan dalam resolusi spasial dengan prosedur pemeriksaan memakan waktu lebih lama dan harga yang relatif lebih mahal dibanding prosedur lainnya (De Marco JK, Ota H, Underhill DC. 2010)

Dengan resolusi gambar yang sangat baik, MRI dapat membedakan plak yg stabil dan plak tidak stabil. Plak yang mengandung banyak unsur lipid akan tampak

isointens pada T1 *weighted* dan hypointens pada T2 *weighted*, sedangkan plak yang mengandung banyak kalsium akan terlihat hypointens baik pada T1 maupun T2 *weighted*. Disamping itu MRI juga dapat menilai ketebalan *fibrous cap* ateroma serta dapat membedakan cap yang intact dan *cap* yang berpotensi ruptur. Oleh sebab itu MRI mempunyai potensi yang sangat besar dalam menilai kemungkinan terjadinya *transient ischemic attack* atau stroke (Corti R, Fuster V, 2011)

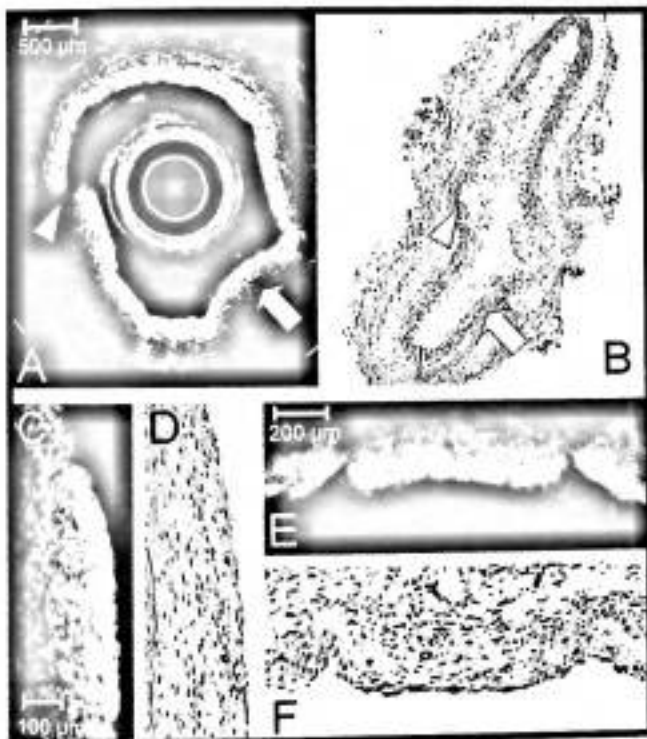
Saat ini teknologi pencitraan molekuler yang terintegrasi dengan PET CT maupun PET MRI sangat menjanjikan untuk menilai aktifitas makrofag, infiltrasi lipid, respon inflamasi, perdarahan intraplak hingga ruptur plak pada aterosklerosis. (Corti R, Fuster V, 2011)



**Gambar 5. MRA memperlihatkan stenosis arteri karotis kiri (A) dan intensitas tinggi pd T1W & T2W menunjukkan fibrous cap yang tebal, necrotic core yang kaya lipid terlihat low intens pada T1W dan iso-low intens pada T2W (B). (Corti R, Fuster V, 2011)**

## Optical Coherence Tomography (OCT)

OCT adalah pemeriksaan invasif yang mengukur intensitas refleksi sinar infra merah dari jaringan. Resolusi gambar yang dihasilkan OCT sangat tinggi ( $\pm 10\mu\text{m}$ ). Saat ini OCT banyak digunakan dalam intervensi percutaneous coroner, antara lain untuk menilai: aposisi stent pada dinding pembuluh darah, diseksi arteri serta *in-stent* neointimal proliferasi. Walaupun OCT mampu menilai ketebalan *fibrous cap* dan karakteristik plak namun keterbatasan kedalaman penetrasi menyebabkan OCT sulit berkembang sebagai biomarker imaging untuk aterosklerosis (Yobushita H, Bouma BE, 2002)



**Gambar 6. Lesi aterosklerosis arteri karotis pada pemeriksaan OCT**  
(Zimarino M, Prati F, 2007)

## **Ultrasonografi (USG) Arteri Karotis**

Konsensus Mannheim dan Konsensus American Society of Echocardiography (ASE) tentang penebalan intima media arteri karotis, merekomendasikan pengukuran intima media arteri karotis pada penderita yang beresiko terhadap penyakit kardiovaskular (Stein JH, Korcarz CE, Hurst T, Lonn E. 2008)

Tehnik pencitraan USG telah berkembang ke tahap dimana arteri-arteri superfisial dapat dicitrakan secara non invasif, seketika dan dengan resolusi tinggi (Coskun U, Yildiz A, Esen OB, Baskurt M. 2009). Pencitraan USG dapat menampilkan visualisasi dinding arteri pada tiap tahapan aterosklerosis, dari normal sampai terjadinya oklusi arteri total. Arteri karotis menjadi pilihan pengukuran KIM dibanding arteri lainnya disebabkan letak arteri karotis sangat superfisial, tanpa ada struktur tulang yang menutupi dan bayangan udara yang menghalangi serta jauh dari struktur yang bergerak, seperti jantung. USG karotis dapat mengevaluasi diameter lumen pembuluh darah, ketebalan kompleks intima media (KIM), dan menilai karakteristik plak serta luasannya (Halenka M, 2001; Golemati S, 2003)

Untuk mengevaluasi arteri karotis digunakan pesawat USG B-mode resolusi tinggi dengan transduser linear 7-10 MHz. Transduser frekuensi tinggi ini dapat memperlihatkan detail anatomi vaskuler termasuk KIM (Halenka M, 1999; Golemati S, Tegos TJ, 2003)

## **Pengukuran Kompleks Intima Media**

Pengukuran tunika intima media arteri karotis dengan USG dimulai pada proyeksi transversal dan dilakukan pemeriksaan sepanjang alur arteri karotis servikal.



Dimulai dari daerah supraklavikular ke arah *cranial* sampai *angulus mandibula*. Bulbus karotis tampak sebagai pelebaran arteri karotis interna dekat bifurkasio (Jegelevicius D, 2002)

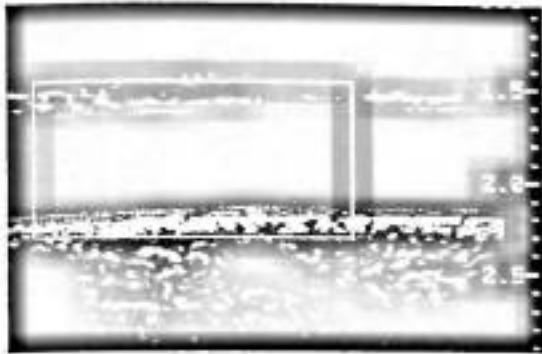
Proyeksi longitudinal arteri karotis normal memperlihatkan lapisan dinding karotis sebagai dua garis ekhogenik yang sejajar, dipisahkan oleh daerah hipoekhoik atau anekhoik. Echo pertama membatasi lumen pembuluh darah dengan tunika intima, echo kedua menggambarkan pertemuan tunika media-adventisia. Tunika media adalah zona anekhoik atau hipoekhoik antara garis-garis echoik. Jarak antara dua garis echoik dan dipisahkan oleh daerah hipoekhoik disebut sebagai kompleks intima media (KIM). (Jegelevicius D, Lukosevicius. 2002)

Wendelhag I dan Wiklund O (1992) menyatakan, pengukuran ketebalan KIM arteri karotis bisa dilakukan pada *near wall* (dinding anterior) maupun *far wall* (dinding posterior) tetapi *near wall* KIM kadang lebih sulit dicitrakan karena struktur echogenik tunika adventisia mengaburkannya. Wikstrand J (1992) membuat kesimpulan bahwa hanya *far wall* KIM yang dapat diukur secara akurat dengan USG karotis.

Terdapatnya lesi pada lapisan dalam pembuluh darah arteri ditetapkan berdasarkan adanya kelainan ketebalan dinding arteri, bentuk lesi (penonjolan ke dalam lumen, hilangnya keselarasan dengan tepi arteri sekitar, tepi arteri yang kasar) serta tekstur (echo) lebih tinggi dari sekitarnya. (Halenka M, 2001)

Dari penelitian yang telah dilakukan, didapatkan variasi ketebalan KIM pada individu normal diantaranya, Salonen JT, Liu ML, Ylitalo K (2004) mendapatkan tebal KIM pada subyek normal adalah  $< 0,7$  mm, sedangkan Coskun U, Yildiz A. Esen OB, Baskurt M (2009) menyatakan penebalan KIM  $> 1,0$  mm merupakan keadaan abnormal

dan ini merupakan perubahan paling awal aterosklerosis. Adapun Maarifat NN (2005) mendapatkan rerata ketebalan KIM pada kelompok usia 20-30 tahun adalah 0,4 cm.



Gambar 7 : Pengukuran KIM pada far wall A.Karotis. (Baroncini LA, Oliveira A. 2008)



Gambar 8 : Penebalan KIM disertai terbentuknya plak pada Arteri Karotis. (Tegos TJ, Sabetai MM, Nicolaidis AN, Pare G. 2000)

### Karakteristik Echogenitas Plak

Plak adalah dilatasi focal dengan penonjolan ke dalam lumen, terdiri dari deposit kalsium atau kombinasi kalsium dan non kalsium dengan ketebalan  $> 50\%$  dari sisi sekitar atau penebalan  $\geq 1,2$  mm (Gray W, Graham JC, Burnett JR. 1998)

Plak aterosklerosis mengandung infiltrate inflamasi, yaitu : monosit, makrofag, limfosit T dan *foam cell* . Instabilitas plak aterosklerosis tidak hanya berhubungan dengan derajat stenosis tapi juga dengan ekhogenitas plak. Ultrasonografi dapat memberikan informasi penting tentang komponen materi anechoik maupun echogenik. Material echogenik merefleksikan signal ultrasound dengan kuat, contohnya jaringan

fibrous dan deposit kalsium sedangkan material anechoik kurang merefleksikan signal ultrasound, contohnya darah dan lemak. Dari beberapa penelitian telah dibuktikan bahwa plak anechoik lebih banyak menyebabkan gejala neurovaskuler dibanding plak echogenik (Gray W, Graham JC, Burnett JR. 1998)

Gambaran lesi aterosklerotik dengan USG yaitu :

### 1. Fatty Streak

Pada USG terlihat sebagai penebalan KIM dengan era hipoekhoik berbentuk pita abu-abu. Pita ini tidak menimbulkan obstruksi maupun *acoustic shadow*.

### 2. Fibrous Plaque/fibrofatty plaque

Karakteristik pada USG bervariasi tergantung densitas plak. Area hipoekhoik menandakan lesi adalah *soft plaque* dan mudah terpecah pecah.

### 3. Lesi Komplikasi

Karakteristik dari lesi komplikasi adalah terdapat kalsium di dalam plak. Densitasnya lebih tinggi/hiperechoik dan terdapat *acoustic shadow*.

Penilaian plak arteri karotis harus dievaluasi dengan lebih hati-hati dan ditentukan perluasannya, lokasi, kontur permukaan serta tekstur plak tersebut. Tekstur plak di klasifikasikan menjadi plak homogen dan plak heterogen. Plak homogen struktur echonya seragam dan permukaannya halus. Plak heterogen, struktur echonya kompleks dan terdapat satu atau lebih area hipoekhoik fokal. Plak ulserasi pada USG terlihat sebagai area anechoik dalam plak yang keluar ke permukaan tanpa ada echo antara lumen dan area anechoik tersebut (Gray W, Graham JC, Burnett JR. 1998)

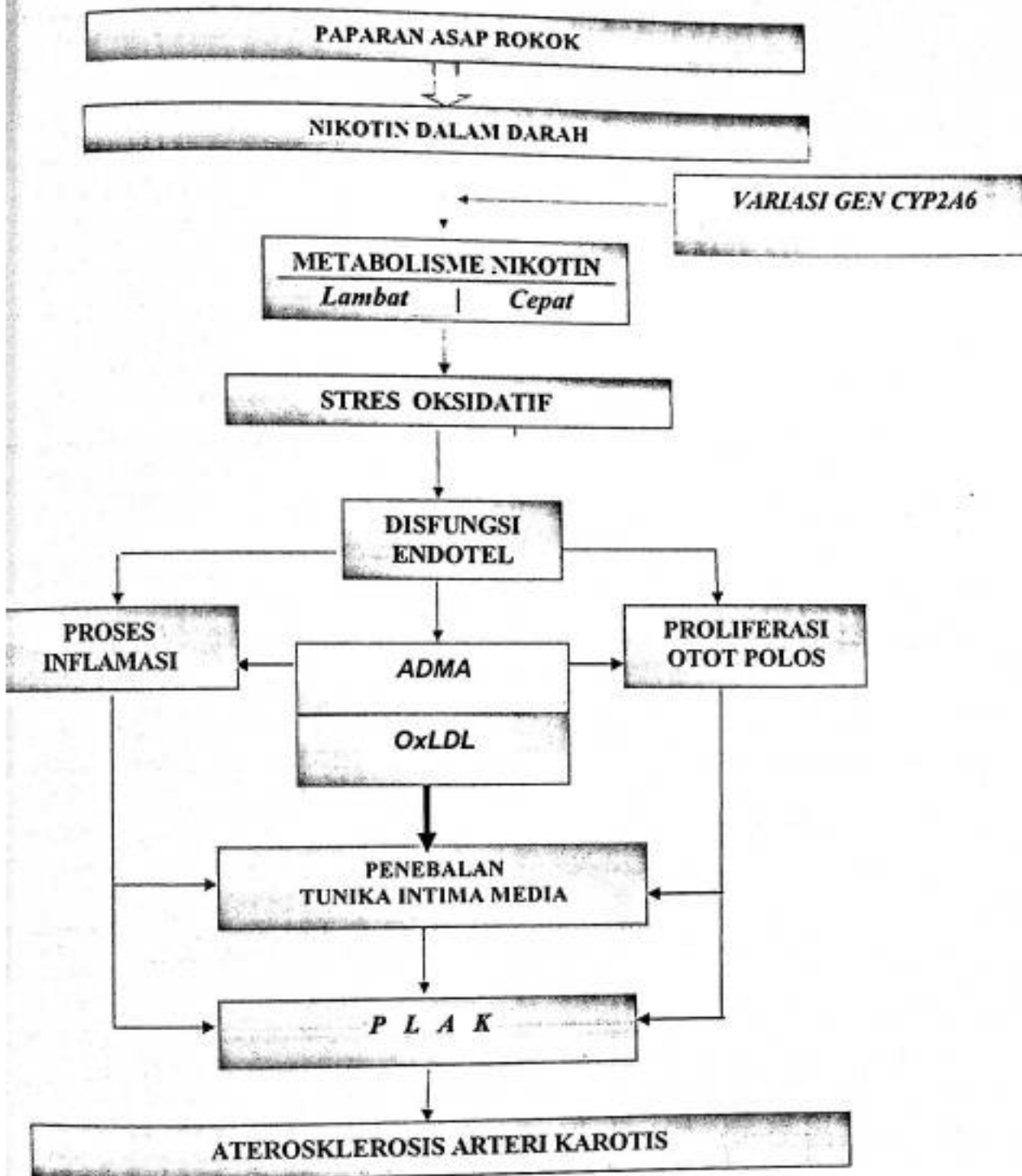
Dari beberapa penelitian yang membandingkan echogenitas dan struktur histologi plak diketahui bahwa plak echolusen berisi *intraplaque hemorrhage* dan material halus lainnya yang rapuh sedangkan plak hiperechoik mengandung jaringan fibrous yang lebih padat sehingga lebih stabil.

Gray W, Graham JC, Burnett JR (1998) membuat klasifikasi plak berdasarkan empat tipe, yaitu:

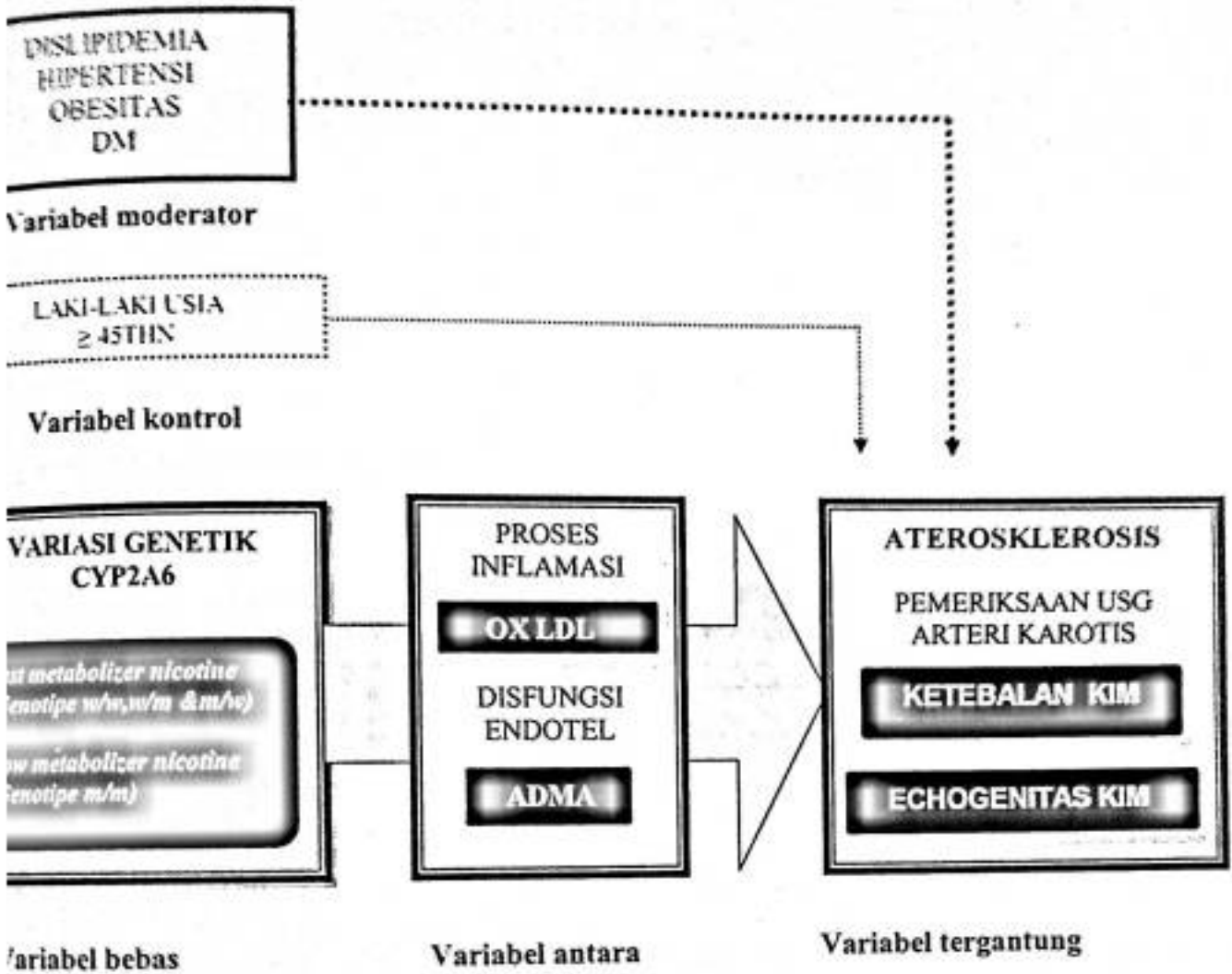
1. Dominan hipoechoik plak dengan echogenik *cap* yang tipis.
2. Sebagian hipoechoik dengan area echogenik minimal.
3. Dominan echogenik dengan area hipoechoik minimal
4. Echogenik /hiperechoik homogen.

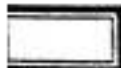
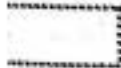
Berdasarkan klasifikasi ini, telah dilakukan penelitian dan didapatkan bahwa frekuensi gejala neurovaskular lebih banyak terdapat pada plak tipe 1 dan 2 adalah plak yang tidak stabil (*vulnerable plaque*) sedangkan tipe 3 dan 4 bersifat lebih stabil (*stable plaque*) dan umumnya asimtomatik.

## B. KERANGKA TEORI



**C. KERANGKA KONSEP**



 Variable yang diteliti  
 Variable yang tidak diteliti

#### **D. VARIABEL PENELITIAN**

1. Variabel bebas : Variasi genetik CYP2A6
2. Variabel antara : OxLDL dan ADMA
3. Variabel tergantung : Ketebalan KIM, echogenitas KIM
4. Variabel kontrol : Laki-laki, usia  $\geq$  45 thn
5. Variabel moderator : Dislipidemi, hipertensi, obesitas dan DM

#### **E. HIPOTESIS PENELITIAN**

1. Terjadi penebalan dan echogenitas hypoechoik pada kompleks intima-media (KIM) arteri karotis pada subyek perokok.
2. Terdapat hubungan antara intensitas merokok dengan ketebalan dan echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok.
3. Terdapat hubungan antara variasi genetik CYP2A6 terhadap ketebalan dan echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok.
4. Terdapat hubungan antara variasi genetik CYP2A6 dan intensitas merokok terhadap ketebalan dan echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok
5. Terdapat hubungan antara variasi genetik CYP2A6 terhadap faktor inflamasi dan disfungsi endotel.
6. Terdapat hubungan faktor inflamasi dan disfungsi endotel terhadap ketebalan dan echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok.

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. RANCANGAN PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan desain potong lintang untuk melihat gambaran ultrasonografi aterosklerosis arteri karotis dalam hubungannya dengan intensitas merokok, variasi genetik CYP2A6, kadar OxLDL dan ADMA pada subyek perokok.

#### B. POPULASI PENELITIAN

Populasi penelitian adalah subyek laki-laki perokok. Sample diambil dengan cara *consecutive sampling* pada kurun waktu penelitian (memenuhi syarat inklusi dan eksklusi) dimasukkan sebagai subyek penelitian, sampai tercapai besar sample yang diinginkan.

#### C. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN

Pemeriksaan fisik dan ultrasonografi dilakukan di bagian Radiologi dan *Cardiac Centre* RS Dr Wahidin Sudirohusodo. Pemeriksaan biokimia darah oxLDL dan ADMA serta variasi genetik CYP2A6 dilakukan di Laboratorium Klinik Prodia pusat di Jakarta. Penelitian dimulai pada bulan Agustus 2011 sampai selesai.

#### D. BESAR SAMPEL

Perhitungan besar sampel berdasarkan rumus :

$$n = \left\{ \frac{Z\alpha + Z\beta}{0,5 \ln(1+r)(1-r)} \right\}^2 + 3$$



$n$  = besar sampel

$Z\alpha$  : kesalahan tipe I, dipakai  $\alpha = 5\% \rightarrow Z\alpha = 1,96$

$Z\beta$  : kesalahan tipe 2, dipakai  $\beta = 20\% \rightarrow Z\beta = 0,842$

$r$  : perkiraan koefisien korelasi, ditetapkan 0,3

Sehingga didapatkan besar sampel minimal 60 sampel.

Serta memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, sebagai berikut :

**Kriteria inklusi adalah :**

- Pria
- Usia 45 tahun ke atas
- Bersedia mengikuti prosedur dan pemeriksaan penelitian

**Kriteria eksklusi adalah:**

- Subyek yang tidak dapat dilakukan pemeriksaan USG arteri karotis.

## **E. METODE PENGUMPULAN DATA**

- Wawancara yaitu untuk memperoleh informasi tentang karakteristik dan keadaan umum subyek misalnya umur, etnik, pola/kebiasaan merokok, aktivitas olah raga, riwayat penyakit dll, dengan menggunakan lembar pertanyaan yang telah disiapkan sebelumnya.
- Pemeriksaan ultrasonografi untuk mengukur ketebalan dan echogenitas KIM pada arteri karotis.
- Pemeriksaan kadar oxLDL serum.
- Pemeriksaan kadar ADMA serum
- Pemeriksaan variasi genetik CYP2A6

## F. ETIKA

Hasil penelitian ini telah mendapat persetujuan komisi etik penelitian biomedis pada manusia Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Nomor: 0183/H04.8.4.5.31/PP36-KOMETIK/2010.

## G. INFORMED CONSENT

Penderita yang bersedia menjadi subyek penelitian diminta menandatangani formulir persetujuan setelah penjelasan (*informed consent*).

## H. DEFINISI OPERASIONAL, KRITERIA OBYEKTIF DAN CARA

### PEMERIKSAAN

1. **Ketebalan Komplek Intima Media (KIM) Arteri Karotis Komunis** adalah jarak antara garis hiperekoik pertama (*lumen-intima interface*) ke garis hiperekoik kedua (*media-adventitia interface*) pada arteri karotis komunis berdasarkan ultrasonografi *transcutaneous real time gray scale mode (real time B-mode)* transduser linear frekuensi 7 MHz. KIM diukur pada daerah yang paling menebal dari arteri karotis komunis.

#### Kriteria Objektif :

- Normal : < 1 mm
- Menebal : 1mm – 1,2 mm
- Plak : > 1,2 mm

#### Cara Pemeriksaan :

- Dilakukan oleh dokter ahli radiologi menggunakan pesawat ultrasonografi *transcutaneous real time gray scale mode (real time B mode)* transduser linear frekuensi 7 MHz. Jenis Pemeriksaan *P-Vascular*

- Pemeriksaan arteri karotis dilakukan dengan posisi pasien tidur terlentang, leher sedikit ekstensi, dan kepala dipalingkan ke arah berlawanan dari lokasi yang akan diperiksa. Pemeriksa mengevaluasi penderita dengan duduk pada sisi penderita atau di atas kepala penderita.
- Transduser diletakkan di leher, digerakkan mulai dari daerah supraklavikular sampai sudut mandibula, dimulai dengan potongan transversal dilanjutkan dengan potongan longitudinal
- Pemeriksaan dilakukan pada arteri karotis
- Pengukuran ketebalan KIM dilakukan pada daerah paling tebal yang terdapat pada dinding distal (*far wall*) arteri karotis.

## 2. Echogenitas Kompleks Intima Media (KIM)

Echogenitas KIM adalah nilai GSM dengan skala 0-255 yang merupakan hasil analisa komputer menggunakan komputer (*software Corel Photo-Paint X5-SP2* versi 15.2.0.661 *Corel Corporation* tahun 2010).

### Kriteria Objektif :

Echogenitas hypoechoik : GSM 6-92 gray scale

Echogenitas hyperechoik : GSM 93- 179 gray scale

### Cara pemeriksaan :

- Kompleks Intima Media yang paling tebal selanjutnya direkam pada proyeksi terbaik dan *frame* disimpan dalam *local hard disk* untuk selanjutnya dipindahkan ke dalam *removable disc* ataupun *CD writer* dalam format TIFF (*Tagged Image File Format*) yang merupakan salah satu bentuk *flexible bitmap image* dan *support* terhadap *software* dalam komputer yang akan digunakan.

- *Frame* yang telah direkam tersebut selanjutnya dipindahkan ke dalam komputer dan dibuka dengan menggunakan *software Corel Photo-Paint X5-SP2* versi 15.2.0.661 tahun 2010.
- Dilakukan proses normalisasi dengan menggunakan dua *sonographic anatomic reference points* yaitu GSM darah dan GSM adventisia. Kedua *sonographic anatomic reference points* ini (darah dan adventisia) mudah dan jelas dikenali pada gambar yang terscan, berlokasi sekitar KIM dan terbentuk dari dua batasan *gray scale* yang jelas (darah= gelap dan adventisia = terang).

Normalisasi transformasi *gray scale* menggunakan skala linear dengan *range gray tones* dari 0 hingga 255. Proses ini memodifikasi semua gambar sebagai gambar yang dinormalisasi dimana GSM darah berada pada kisaran 0-5 dan GSM adventisia berada di kisaran 180-255.

- Analisa gambar KIM yang telah dinormalisasi dengan menentukan GSM KIM arteri karotis.

3. **Variasi genetik CYP2A6** adalah suatu perbedaan di dalam urutan DNA antar individu satu dengan lainnya, kelompok satu dengan lainnya, atau populasi satu dengan lainnya. Yang termasuk alel *wildtype* yaitu: CYP2A6\*1A dan CYP2A6\*1B, sedangkan alel mutan yaitu: CYP2A6\*4A, CYP2A6\*7, CYP2A6\*8, CYP2A6\*9 dan CYP2A6\*10. Pemeriksaan variasi gen CYP2A6 menggunakan metode *polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)* berdasarkan metode Nakajima et al (2004).

**Kriteria objektif :** Genotyping CYP2A6 adalah penentuan alel-alel gen subyek dengan menggunakan primer gen CYP2A6. Kriteria penentuan jenis alel apabila didapatkan hasil skuensing yang sesuai dengan salah satu primer gen CYP2A6.

Dikatakan *fast metabolizer nicotine* (metabolisme nikotin cepat) bila subyek mempunyai genotip CYP2A6 *wildtype* homozigot (*wildtype/wildtype*) dan *wildtype* heterozigot (*wildtype/mutan* atau *mutan/wildtype*) sedangkan *slow metabolizer nicotine* (metabolisme nikotin lambat) adalah subyek yang mempunyai genotip mutan homozigot (*mutan/mutan*)

#### **Cara Pemeriksaan :**

Sampel darah diambil sebanyak 5 mL untuk setiap subyek. Genom DNA diekstraksi dari limfosit perifer menggunakan kit isolasi DNA. Sample genom DNA sebanyak 0,5  $\mu$ g sampel DNA ditambahkan ke dalam reagen PCR *mixtures* (25  $\mu$ L) yang mengandung buffer 1X PCR, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,4  $\mu$ M dari masing-masing primer, 250  $\mu$ M dNTPs, dan 1 U DNA *Taq* polymerase. Setelah denaturasi tahap pertama pada 94 °C selama 3 menit, amplifikasi dilakukan dengan denaturasi berikutnya pada 94 °C selama 30 detik, *annealing* pada 53 °C selama 30 detik, dan ekstensi pada 72 °C selama 2 menit. Siklus amplifikasi dilakukan sebanyak 30 siklus, diikuti dengan ekstensi terakhir pada 72 °C selama 5 menit. Produk PCR dipecah di tiga lokasi (*triple digested*) dengan enzim restriksi *Eco811*, *Accll*, dan *Stul*. Pola pecahan gen ditentukan dengan metode elektroforesis di atas gel agarose 2%. Pola skematik RFLP digunakan untuk menetapkan polimorfisme genetik CYP2A6. PCR primers yang digunakan dalam penelitian ini adalah

Primer untuk CYP2A6\*1

2A6Int8F : 5'CAA GTG TAC CTG GCA GGA AA3'

2A6reverse : 5'TAA TTG GGT TGT TTT CTA TTG AGT3'

Primer untuk CYP2A6\*4

2A7Int8F : 5'CAA GTG TAT CTG GCA AGA AG3'

2A6reverse : 5'TAA TTG GGT TGT TTT CTA TTG AGT3'

Primer allele spesifik PCR CYP2A6\*9

2AG\_9S : 5'GAT TCC TCT CCC CTG GAA C3'

2AG\_9AS\_wild type : 5'GGC TGG GGT GGT TTG CCT TTA3'

2AG\_9AS\_mutant : 5'GGC TGG GGT GGT TTG CCT TTC3'

4. **Asymetric Dymethile Arginine (ADMA)** adalah asam amino yang berasal dari intraseluler yang secara alami ditemukan dalam sirkulasi melalui plasma, urine, jaringan dan sel. Disintesa pada saat residu arginine dalam inti protein dimethylasi melalui aksi protein arginine methyltransferase (PRMTs), yang didistribusi secara luas dalam tubuh manusia. ADMA adalah molekul antagonis terhadap L-arginine, substrat utama dari NOS menyebabkan disfungsi endotel yang memicu terjadinya aterosklerosis.

**Kriteria Objektif :**

Kadar ADMA tinggi : > 0,75  $\mu\text{mol/L}$ .

Kadar ADMA rendah :  $\leq$  0,75  $\mu\text{mol/L}$ .

**Cara pemeriksaan :**

Diukur dengan metode ELISA menggunakan *Enzyme Immunoassay for Quantitative Determination of Endogenous Asymetric Dimethylarginine (ADMA)* dari DLD Diagnostic GMBH. Hasil dinyatakan dalam  $\mu\text{mol/L}$ .

- Sampel : 1 tabung plain sebanyak 4cc.
- Disimpan pada suhu kamar 2-4 jam
- Sentrifuge 2500 rpm selama 20 menit pada suhu 4 °C

- Simpan serum 0,5 cc di suhu  $-20^{\circ}\text{C}$
- Reagen product : R&D
- Batas deteksi : *Sample value* : 0,5-1,31  $\mu\text{mol/L}$ .

5. **Oxidized Low Density Lipoprotein (oxLDL)** adalah LDL yang telah teroksidasi yang dapat memicu terjadinya inflamasi pada dinding arteri sehingga mengakibatkan aterosklerosis. oxLDL dapat terjadi oleh inkubasi sel pada kultur (sel endotel, sel otot polos, atamakrofag), atau dengan inkubasi dengan ion logam berat seperti tembaga

**Kriteria Obyektif :**

Kadar oxLDL diukur dari plasma dengan menggunakan tehnik ELISA. Hasil dinyatakan dalam mmol/L

Kadar oxLDL tinggi :  $\geq 208$  mmol/L

Kadar oxLDL rendah :  $< 208$  mmol/L

**Cara Pemeriksaan oxLDL**

Aktifitas oxLDL dalam serum sampel yang diukur dengan menggunakan metode ELISA (*Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay*). Prinsip kerja : *Quantitative*

*Sandwich Immunoassay*

- Sampel : 1 tabung plain sebanyak 4cc.
- Disimpan pada suhu kamar 2-4 jam
- Sentrifuge 2500 rpm selama 20 menit pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$
- Simpan serum 0,5 cc di suhu  $-20^{\circ}\text{C}$
- Batas deteksi : *Sample value* : 70-282 mmol/L.

6. **Usia** adalah Usia subyek berdasarkan perhitungan tanggal lahir dari keterangan subyek atau yang tertera pada Kartu Tanda Penduduk. Perhitungan Usia dihitung sejak tanggal 1 pada bulan kelahiran sampai akhir bulan disaat penelitian.

**Kriteria objektif :** adalah Usia subyek berdasarkan perhitungan tanggal lahir dari keterangan subyek atau yang tertera pada Kartu Tanda Penduduk dan telah genap berusia 540 bulan (45 tahun) atau lebih.

7. **Perokok** adalah subyek yang mengisap rokok secara reguler minimal 1 batang per hari dan masih merokok sampai saat penelitian ini berlangsung.

8. **Intensitas Merokok** adalah intensitas paparan subyek terhadap rokok, yang dinilai berdasarkan lamanya merokok dan jumlah batang rokok yang diisap.

**Kriteria objektif :**

- Intensitas tinggi : bila subyek telah merokok lebih dari 20 tahun dengan jumlah rokok yang diisap lebih dari 20 batang perhari.
- Intensitas rendah : bila subyek merokok kurang dari 20 tahun dengan jumlah batang rokok yang diisap kurang dari 20 batang perhari.

**Metode pemeriksaan :** penentuan kategori intensitas merokok ditetapkan berdasarkan wawancara/anamnesis saat awal penelitian menggunakan kuesioner yang telah disiapkan.

9. **Hipertensi** adalah Subyek dengan pengukuran tekanan darah termasuk tinggi atau sementara mendapat pengobatan untuk hipertensi.

**Kriteria objektif :** Menurut *Joint national Committe (JNC) VII* disebut hipertensi bila tekanan darah sistolik  $\geq 140$  atau tekanan darah diastolik  $\geq 90$  mmHg pada dua kali pemeriksaan dalam dua waktu yang berbeda.



10. **Diabetes Melitus** adalah peningkatan glukosa darah yang ditentukan melalui anamnesia adanya gejala klasik disertai pemeriksaan gula darah.

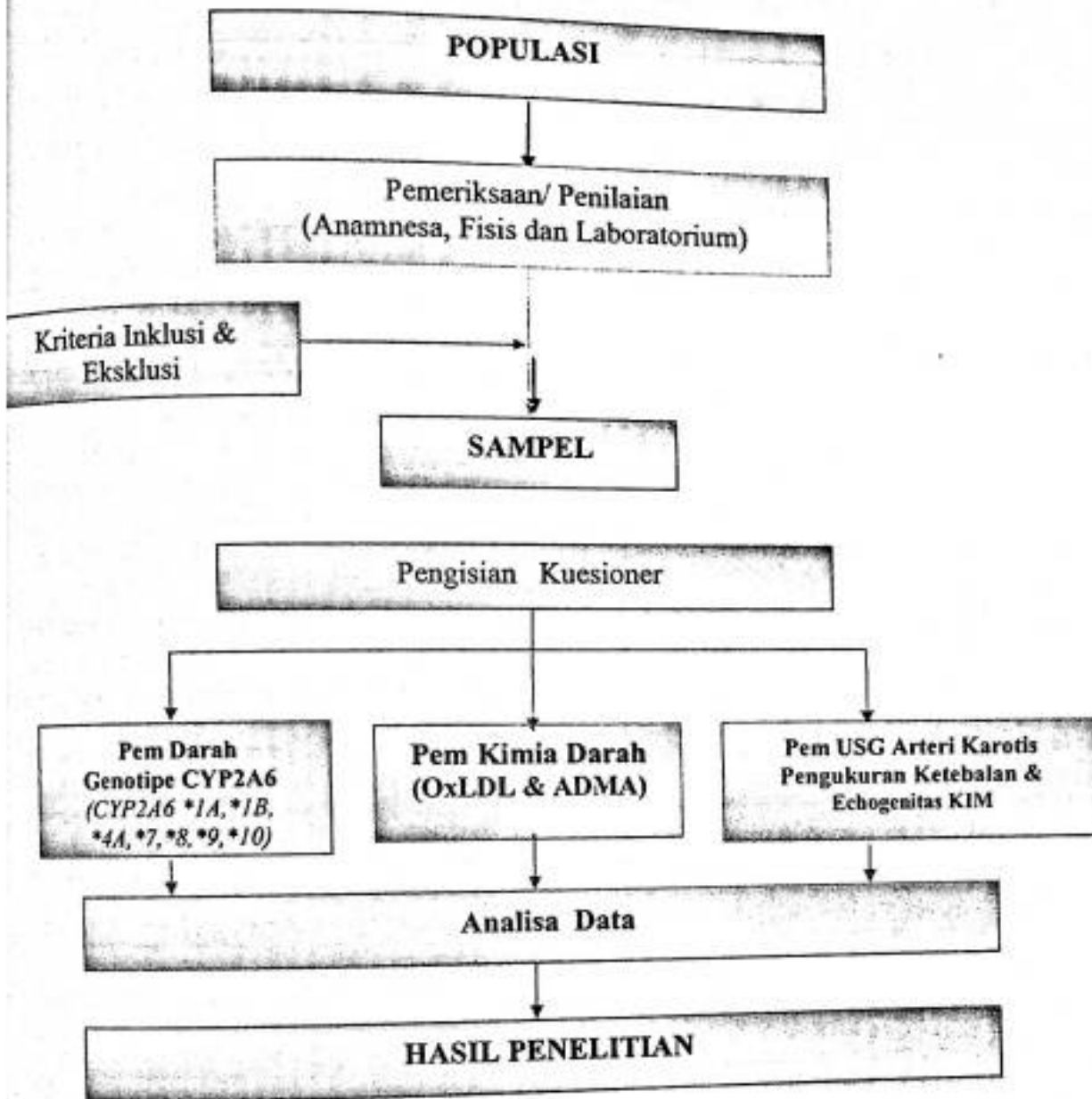
**Kriteria objektif** : Didiagnosis diabetes melitus bila terdapat gejala klasik poliuri, polidipsi, dan polifagi disertai glukosa darah sewaktu  $> 200$  mg/dL atau bila kadar glukosa darah puasa  $> 126$  mg/dL atau kadar glukosa plasma sesudah beban glukosa 75 gram pada tes toleransi glukosa oral  $>200$  mg/dL.

11. **Dislipidemia** adalah subyek dengan hasil pemeriksaan kolesterol darah terdapat abnormalitas atau sementara mendapat obat penurun lipid. Kriteria dislipidemia berdasarkan *National Cholesterol Education Program (NECP) Adult Treatment Panel (ATP) III* tahun 2001, apabila terdapat peningkatan dan atau penurunan salah satu fraksi lipid berikut: kolesterol total  $\geq 100$  mg/dl, trigliserida  $\geq 150$  mg/dl dan kolesterol HDL  $< 40$  mg/dl.

## J. METODE ANALISIS DATA

Data yang diperoleh dianalisis melalui program SPSS versi 17. Analisa data secara deskriptif umum, dengan metode univarian analisis. Analisa korelasi bivarian/multivarian untuk menganalisis korelasi antara variabel. Analisis *crosstab* digunakan untuk menghitung *Odds Ratio* (OR). Batas kemaknaan yang digunakan adalah  $\alpha \leq 0,05$ .

## K. ALUR PENELITIAN



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. GAMBARAN UMUM SUBYEK PENELITIAN

Penelitian ini diikuti oleh 80 penderita PJK perokok di Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo, Makassar. Setelah mengisi kuisisioner, dilakukan pemeriksaan petanda biokimia yang dilakukan dengan pendekatan potong lintang untuk mengukur kondisi petanda biokimia saat itu. Selanjutnya pada subyek penelitian dilakukan pemeriksaan ultrasonografi menggunakan pesawat ultrasonografi *transcutaneous real time gray scale mode (real time B mode)* transduser linear frekuensi 7 MHz, jenis pemeriksaan *P-Vascular*, untuk mengukur ketebalan kompleks intima media (KIM) arteri karotis serta menilai echogenitas KIM arteri karotis.

Setelah melalui serangkaian pemeriksaan untuk memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi maka diperoleh 63 sampel yang memenuhi kriteria.

Selanjutnya dilakukan pemeriksaan genotip pada setiap sampel di Laboratorium Biomolekuler Prodia Pusat di Jakarta.

#### 1. Karakteristik Klinis dan Biokimia Subyek Penelitian

Tabel 2 menjelaskan klinis dan biokimia subyek penelitian berupa nilai minimal, nilai maksimal, rerata dan simpangan baku. Dari tabel dapat dilihat usia subyek berkisar antara 45-76 thn.

Tabel 2. Karakteristik Subyek Penelitian

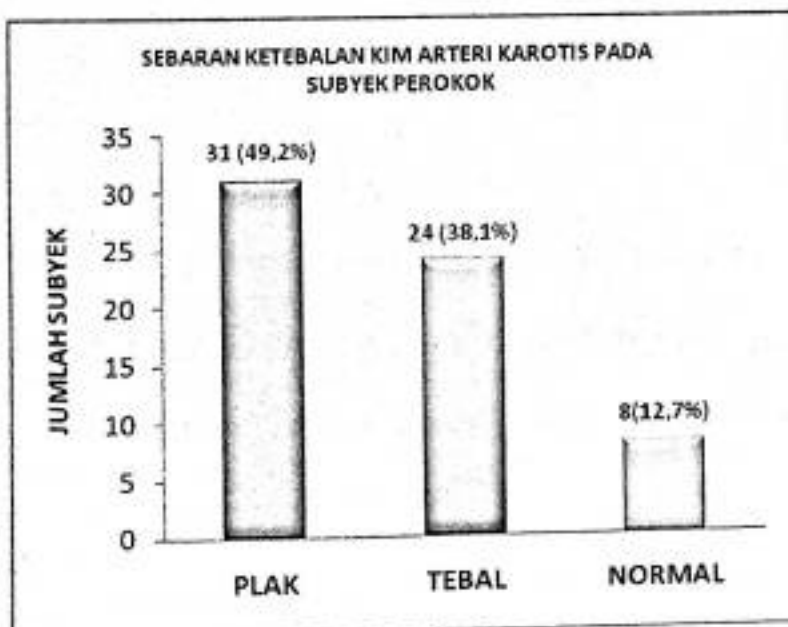
Parameter	Satuan	N	Min	Max	Rerata ± SB
Usia (tahun)	tahun	63	45	78	56 ± 8.37
Tekanan darah sistolik (TDS)	mmHg	63	100	130	120 ± 8.52
Tekanan darah diastolik (TDD)	mmHg	63	60	100	81 ± 8.00
Indeks Massa Tubuh (IMT)	(kg/m <sup>2</sup> )	63	16.8	32.9	24 ± 3.13
Kreatinin	mg/dL	63	0.67	1.83	1 ± 0.23
hs-CRP	mg/dL	63	0.39	135.85	16 ± 25.29
Apo B	mg/dL	63	60	154	101 ± 20.22
Cholesterol HDL	mg/dL	63	9	65	37 ± 10.23
Cholesterol LDL	mg/dL	63	65	197	126 ± 31.30
Cholesterol Total	mg/dL	63	112	295	185 ± 36.19
Trigliserida	mg/dL	63	41	549	142 ± 93.00
SGOT	U/L	63	9	160	33 ± 25.38
SGPT	U/L	63	12	279	33 ± 36.25

Keterangan :

hs CRP : high sensitivity C-Reactive Protein, Apo B : Apolipoprotein B, HDL : High density Lipoprotein, LDL : Low Density Lipoprotein, SGOT : Serum Glutamic Oxalacetatic Transaminase, SGPT : Serum Glutamic Piruvate Transaminase, SB : Simpang Baku

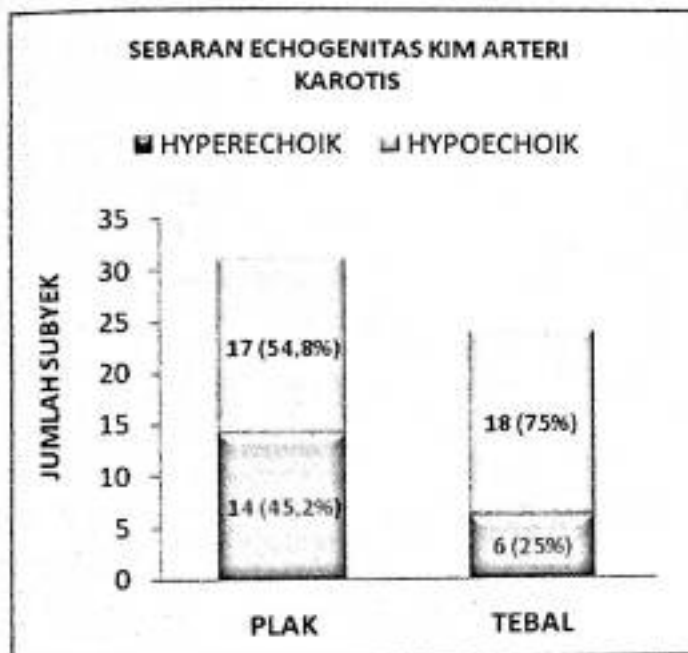
## 2. Ketebalan dan Echogenitas Kompleks Intima –Media Arteri Karotis pada Subyek Perokok.

Hasil yang didapatkan pada pengukuran ketebalan kompleks intima-media arteri karotis pada subyek penelitian terlihat pada gambar 9 berikut ini :



Gambar 9 : Rerata ketebalan KIM arteri karotis pada subyek perokok

Dari hasil pengukuran ketebalan tersebut selanjutnya dilakukan penilaian echogenitas KIM pada subyek yang telah mengalami penebalan maupun yang sudah terbentuk plak pada arteri karotisnya. Didapatkan hasil seperti terlihat pada gambar 10, dimana pada KIM yang telah terbentuk plak terdapat 17 (54,8%) hypoechoik (tidak stabil) dan 14 (49,2%) hyperechoik (stabil), sedangkan pada KIM yang tebal didapatkan 18 (75%) hypoechoik (tidak stabil) dan 6 (25%) hyperechoik (stabil).



**Gambar 10:**  
Sebaran echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok

### 3. Analisis Hubungan Antara Intensitas Merokok Terhadap Ketebalan

#### KIM Arteri Karotis pada Subyek Perokok.

##### A. Hubungan antara intensitas merokok terhadap ketebalan KIM

##### arteri karotis.

Untuk menilai hubungan antara intensitas merokok terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada subyek perokok maka dilakukan analisis statistik. Analisis statistik yang

digunakan adalah analisis deskriptif dengan pendekatan uji tabulasi silang untuk menganalisis hubungan antara intensitas merokok terhadap ketebalan KIM. Hasilnya terlihat pada tabel 3, dimana intensitas merokok berkorelasi positif secara bermakna ( $r=0,305$  dan  $p=0,05$ ) terhadap ketebalan KIM arteri karotis. Bila dihitung besar resiko maka subyek dengan intensitas merokok yang tinggi mempunyai resiko memiliki plak pada arteri karotis sebesar 3,111 kali (95%CI: 0,689-4,042) dibanding subyek dengan intensitas merokok yang rendah.

**Tabel 3. Hubungan intensitas merokok terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada subyek perokok**

Intensitas Merokok	Ketebalan KIM Arteri Karotis		p	OR	95% CI
	Plak	Tebal			
Tinggi	28 (60,9%)	18 (39,1%)	0,05	3,111	0,689-4,042
Rendah	3 (33,3%)	6 (66,6%)			

#### **B. Hubungan antara intensitas merokok terhadap echogenitas KIM arteri karotis**

Untuk menilai hubungan antara intensitas merokok terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok maka dilakukan analisis statistik. Analisis statistik yang digunakan adalah analisis deskriptif dengan pendekatan uji tabulasi silang untuk menganalisis hubungan antara intensitas merokok terhadap echogenitas KIM. Hasilnya terlihat pada table 4, dimana intensitas merokok berkorelasi negatif namun tidak bermakna ( $r= -0,135$  dan  $p=0,286$ ) terhadap echogenitas KIM. Bila dihitung besar resiko maka subyek dengan intensitas merokok yang tinggi mempunyai resiko memiliki KIM

hypoechoik (tidak stabil) sebesar 0,444 kali (95%CI: 0,083-2,383) dibanding subyek dengan intensitas merokok yang rendah.

**Tabel 4. Hubungan intensitas merokok terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok**

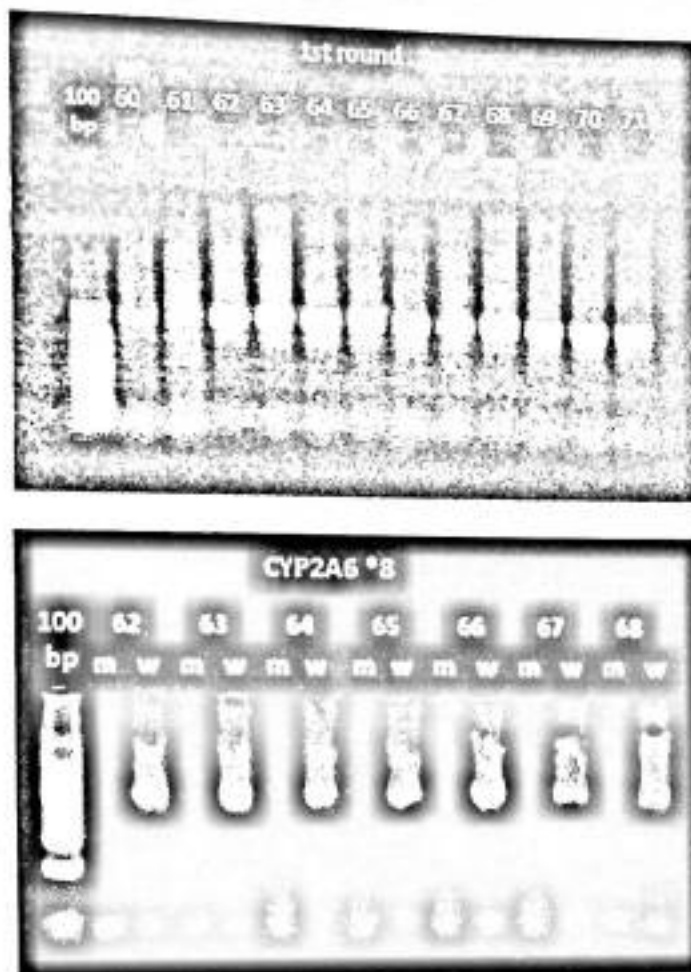
Intensitas Merokok	Echogenitas KIM Arteri Karotis		p	OR	95% CI
	Hypoechoik (tidak stabil)	Hyperechoik (stabil)			
Tinggi	28 (60,9%)	18 (39,1%)	0,286	0,444	0,083-2,383
Rendah	7 (77,8%)	2 (22,2%)			

#### 4. Analisis Hubungan Antara Variasi Genetik CYP2A6 Terhadap

##### Ketebalan dan Echogenitas KIM Arteri Karotis pada Subyek Perokok.

Penetapan genotype CYP2A6 pada perokok dilakukan dengan metode PCR dan dideteksi dengan cara elektroforesis menggunakan media gel, gambaran hasilnya terlihat pada gambar 11 .

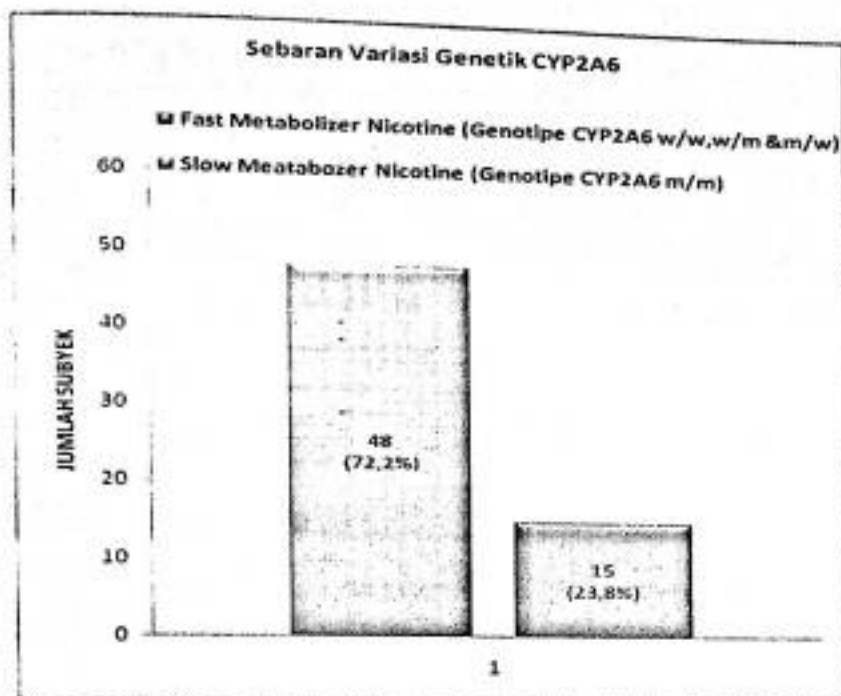
Dari 63 subyek penelitian, didapatkan frekuensi terbanyak variasi genetik CYP2A6, adalah kelompok genotip *wildtype* yaitu CYP2A6\*1A/\*B (23,8%), diikuti oleh CYP2A6\*1A/\*1A (12,7%) dan CYP2A6\*1B/\*1B (12,7%). Golongan mutan berada di urutan keempat dan seterusnya yaitu CYP2A6\*1A/\*7 (9,5%) dan CYP2A6\*1B/\*4A (9,5%), CYP2A6\*7/\*8 (6,3%), CYP2A6\*4A/\*4A (6,3%) diikuti genotype (CYP2A6\*1A/\*4A, CYP2A6\*1A/\*7, CYP2A6\*1A/\*8, CYP2A6\*1A/\*9, CYP2A6\*1B/\*7, CYP2A6\*1B/\*9, CYP2A6\*4A/\*4A, CYP2A6\*7/\*8, CYP2A6\*9/\*4A, CYP2A6\*9/\*9, CYP2A6\*10/\*10, dan CYP2A6\*10/\*4A.



Gambar 11. Hasil Gel elektroforesis Genotipe CYP2A6

Selanjutnya dilakukan pengelompokan berdasarkan kecepatan metabolisme nikotin. Dimana dibagi atas dua kelompok yaitu *fast metabolizer* (metabolisme nikotin cepat) dan *slow metabolizer* (metabolisme nikotin lambat). Kelompok *fast metabolizer* adalah subyek dengan genotip *wildtype* homozigot (w/w) dan *wildtype* heterozigot (w/m dan m/w). Sedangkan kelompok metabolisme lambat adalah genotip mutan homozigot (m/m). Pengelompokan ini digunakan dalam analisis statistik untuk mengetahui hubungan antara variasi genetik CYP2A6 pada subyek perokok terhadap gambaran aterosklerosis yang dinilai berdasarkan ketebalan dan echogenitas KIM arteri karotis.





Gambar 12. Frekuensi genotipe CYP2A6 fast metabolizer (alel w/w,w/m & m/w) dan slow metabolizer (alel m/m) pada subyek perokok.

#### A. Hubungan antara variasi genetik CYP2A6 terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada subyek perokok.

Untuk menilai hubungan antara variasi genetik CYP2A6 terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada subyek perokok maka dilakukan analisis statistik deskriptif dengan pendekatan uji tabulasi silang. Hasilnya terlihat pada tabel 5, dimana variasi gen CYP2A6 berkorelasi positif namun tidak bermakna ( $r = 0,215$  dan  $p = 0,197$ ) terhadap ketebalan KIM arteri karotis. Bila dihitung besar resiko maka subyek yang secara genetik merupakan *fast metabolizer* nikotin akan mempunyai resiko memiliki plak pada KIM sebesar 1,716 kali (95%CI: 0,490-6,003) dibanding subyek yang secara genetik merupakan *slow metabolizer* nikotin.

**Tabel 5. Hubungan variasi genetik CYP2A6 terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada subyek perokok**

Genotipe CYP2A6	Ketebalan KIM Arteri Karotis		p	OR	95% CI
	Plak	Tebal			
<b>Fast Metabolizer</b> alel wild type (w/w,w/m&m/w)	25 (59,5%)	17 (40,5%)	0,197	1,716	0,490-6,003
<b>Slow Metabolizer</b> alel mutan (m/m)	6 (46,2%)	7 (53,8%)			

**B. Hubungan antara variasi genetik CYP2A6 terhadap echogenitas**

**KIM arteri karotis pada subyek perokok**

Untuk menilai hubungan antara variasi genetik CYP2A6 terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok maka dilakukan analisis statistik deskriptif dengan pendekatan uji tabulasi silang. Hasilnya terlihat pada tabel 6, dimana pada seluruh subyek penelitian didapatkan variasi gen CYP2A6 berkorelasi positif namun tidak bermakna ( $r= 0,215$  dan  $p=0,122$ ) terhadap ketebalan KIM arteri karotis. Bila dihitung besar resiko maka subyek yang secara genetik merupakan *fast metabolizer* nikotin akan mempunyai resiko memiliki KIM hypoechoik (tidak stabil) sebesar 2,603 kali (95%CI: 0,730-9,282) dibanding subyek yang secara genetik merupakan *slow metabolizer* nikotin.

**Tabel 6. Hubungan variasi genetik CYP2A6 terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok**

Genotipe CYP2A6	Echogenitas KIM Arteri Karotis		p	OR	95% CI
	Hypoechoik (tidak stabil)	Hyperechoik (stabil)			
Fast Metabolizer alel <i>wild type</i> (w/w,w/m&m/w)	29 (69%)	13 (31%)	0,122	2,603	0,730-9,282
Slow Metabolizer alel mutan (m/m)	6 (46,2%)	7 (53,8%)			

**5. Analisis Hubungan Antara Variasi Genetik CYP2A6 dan Intensitas Merokok Terhadap Ketebalan dan Echogenitas KIM Arteri Karotis pada Subyek Perokok.**

**A. Hubungan antara variasi genetik CYP2A6 dan intensitas Merokok terhadap ketebalan KIM arteri karotis.**

Untuk menilai hubungan antara variasi genetik CYP2A6 dan intensitas merokok terhadap ketebalan KIM arteri karotis maka dilakukan analisis statistik deskriptif dengan pendekatan uji tabulasi silang. Hasilnya terlihat pada tabel 7, dimana variasi gen CYP2A6 dan intensitas merokok berkorelasi positif secara bermakna ( $p=0,047$ ) terhadap ketebalan KIM arteri karotis.

**Tabel 7. Hubungan variasi genetik CYP2A6 dan intensitas merokok terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada subyek perokok**

Genotipe CYP2A6 + Intensitas Merokok	Ketebalan KIM		P
	Plak	Tebal	
Fast Metabolizer (alel w/w, w/m & m/w) + Intensitas merokok tinggi	22 (62%)	14 (38%)	0, 047
Slow Metabolizer (alel m/m) + Intensitas merokok tinggi	6 (60%)	4 (40%)	
Fast Metabolizer (alel w/w, w/m & m/w) + Intensitas merokok rendah	3 (50%)	3 (50%)	
Slow Metabolizer (alel m/m) + Intensitas merokok rendah	0 (0%)	3 (100%)	

#### **B. Hubungan antara variasi genetik CYP2A6 dan intensitas merokok**

##### **Terhadap ehogenitas KIM arteri karotis.**

Untuk menilai hubungan antara variasi genetik CYP2A6 dan intensitas merokok terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada perokok maka dilakukan analisis statistik deskriptif dengan pendekatan uji tabulasi silang. Hasilnya terlihat pada tabel 8, dimana variasi gen CYP2A6 dan intensitas merokok berkorelasi terhadap echogenitas KIM arteri karotis namun secara statistik tidak bermakna ( $p=0,061$ ).

**Tabel 8. Hubungan variasi genetik CYP2A6 dan intensitas merokok terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok**

Genotipe CYP2A6 + Intensitas Merokok	Echogenitas KIM		P
	Hypoechoik	Hyperechoik	
Fast Metabolizer (alel w/w, w/m & m/w) + Intensitas merokok tinggi	24 (66,7%)	12 (33,3%)	0,061
Slow Metabolizer (alel m/m) + Intensitas merokok tinggi	4 (40%)	6 (60%)	
Fast Metabolizer (alel w/w, w/m & m/w) + Intensitas merokok rendah	5 (83,3%)	1 (16,7%)	
Slow Metabolizer (alel m/m) + Intensitas merokok rendah	2 (66,7%)	1 (33,7%)	

## 6. Analisis Hubungan Antara Variasi Genetik CYP2A6 Terhadap Faktor Inflamasi dan Disfungsi Endotel pada Subyek Perokok.

### A. Hubungan antara variasi genetik CYP2A6 terhadap faktor inflamasi (oxLDL)

Untuk menilai hubungan variasi genetik CYP2A6 terhadap faktor inflamasi (oxLDL) pada subyek perokok maka dilakukan analisis statistik. Analisis statistik yang digunakan adalah analisis deskriptif dengan pendekatan uji tabulasi silang untuk menganalisis hubungan antara variasi genetik CYP2A6 terhadap kadar oxLDL. Hasilnya terlihat pada table 9, dimana pada seluruh subyek penelitian variasi genetik CYP2A6 berkorelasi positif namun tidak bermakna ( $r= 0,097$  dan  $p=0,329$ ) terhadap kadar oxLDL. Bila dihitung besar resiko maka subyek yang secara genetik merupakan *fast metabolizer* nikotin mempunyai resiko memiliki kadar oxLDL tinggi sebesar 0,606 kali (95%CI: 0,168-2,191) dibanding subyek yang secara genetik merupakan *slow metabolizer* nikotin.

**Tabel 9. Hubungan variasi genetik CYP2A6 terhadap kadar oxLDL pada subyek perokok.**

Genotipe CYP2A6	Kadar oxLDL		p	OR	95% CI
	Tinggi	Rendah			
Fast Metabolizer (alel w/w,w/m & m/w)	30 (62,5%)	18 (37,5%)	0,329	0,606	0,168- 2,191
Slow Metabolizer (alel m/m)	11 (73,3%)	4 (26,7%)			

**B. Hubungan antara variasi genetik CYP2A6 terhadap disfungsi endotel (ADMA)**

Untuk menilai hubungan variasi genetik CYP2A6 terhadap disfungsi endotel (ADMA) pada subyek perokok maka dilakukan analisis statistik. Analisis statistik yang digunakan adalah analisis deskriptif dengan pendekatan uji tabulasi silang untuk menganalisis hubungan antara variasi genetik CYP2A6 terhadap kadar ADMA. Hasilnya terlihat pada table 10, dimana pada seluruh subyek penelitian variasi genetik CYP2A6 berkorelasi positif namun tidak bermakna ( $r= 0,126$  dan  $p=0,395$ ) terhadap kadar ADMA. Bila dihitung besar resiko maka subyek yang secara genetik merupakan *fast metabolizer* nikotin mempunyai resiko memiliki kadar ADMA tinggi sebesar 0,967 kali (95%CI: 0,302-3,092) dibanding subyek yang secara genetik merupakan *slow metabolizer* nikotin.

**Tabel 10. Hubungan variasi genetik CYP2A6 terhadap kadar ADMA pada Subyek perokok.**

Genotipe CYP2A6	Kadar ADMA		p	OR	95% CI
	Tinggi	Rendah			
Fast Metabolizer (alel w/w,w/m & m/w)	25 (52,1%)	23 (45,9%)	0,395	0,967	0,302- 3,092
Slow Metabolizer (alel m/m)	8 (53,3%)	7 (46,7%)			

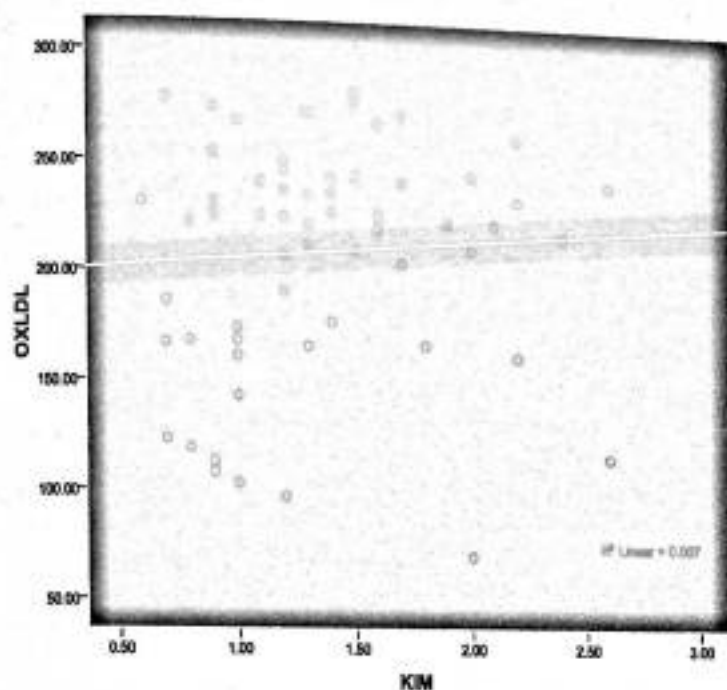
## 7. Analisis Hubungan Antara Faktor Inflamasi Terhadap Ketebalan dan Echogenitas KIM Arteri Karotis pada Subyek Perokok.

### A. Hubungan antara faktor inflamasi (oxLDL) terhadap ketebalan KIM

Untuk menilai hubungan antara faktor inflamasi terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada subyek perokok maka dilakukan analisis statistik. Analisis statistik yang digunakan adalah analisis deskriptif dengan pendekatan uji tabulasi silang untuk menganalisis hubungan antara kadar oxLDL terhadap ketebalan KIM arteri karotis. Hasilnya terlihat ada tabel 11 dimana didapatkan bahwa pada seluruh subyek penelitian, kadar oxLDL berkorelasi positif secara bermakna ( $r= 0,240$  dan  $p=0,05$ ) terhadap ketebalan KIM arteri karotis.

**Tabel 11. Hubungan kadar oxLDL terhadap ketebalan KIM arteri Karotis pada subyek perokok**

Kadar oxLDL mmol/L	Ketebalan KIM			P
	Plak	Tebal	Normal	
Tinggi	23 (56,1%)	15 (36,6%)	3 (7,3%)	0,05
Rendah	8 (36,4%)	9 (40,9%)	5 (22,7%)	



**Gambar 13. Hubungan kadar oxLDL terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada perokok**

### **B. Hubungan antara faktor inflamasi (oxLDL) terhadap echogenitas KIM**

Untuk menilai hubungan antara faktor inflamasi terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok maka dilakukan analisis statistik. Analisis statistik yang digunakan adalah analisis deskriptif dengan pendekatan uji tabulasi silang untuk menganalisis hubungan antara kadar oxLDL terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada subyek yang telah mengalami penebalan KIM maupun yang telah terbentuk plak pada arteri karotisnya. Hasilnya terlihat pada tabel 12 dimana didapatkan, kadar oxLDL berkorelasi negatif secara bermakna ( $r=-0,349$  dan  $p=0,04$ ) terhadap echogenitas KIM arteri karotis. Bila dihitung besar resiko maka subyek dengan kadar oxLDL tinggi mempunyai resiko memiliki plak yang tidak stabil sebesar 1,926 kali (95%CI: 0,596-6,221) dibanding subyek dengan kadar oxLDL rendah.



**Tabel 12. Hubungan kadar oxLDL terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok**

Kadar oxLDL (mmol/L)	Echogenitas KIM		P	OR	95% CI
	Hypoechoik (tidak stabil)	Hyperechoik (stabil)			
Tinggi	26 (68,4%)	12 (31,6%)	0,04	1,926	0,596-6,221
Rendah	8 (47,1%)	9 (52,9%)			

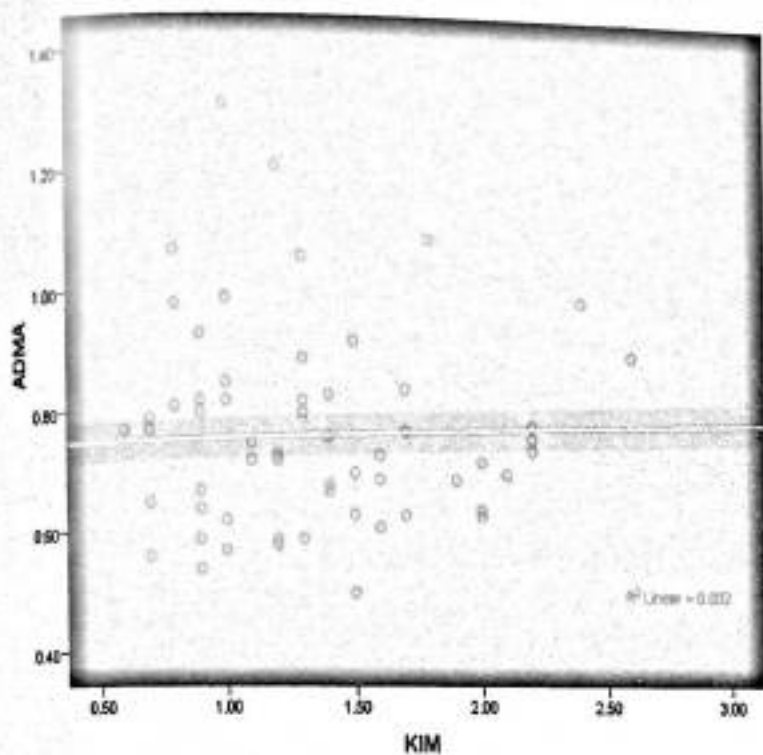
**8. Analisis Hubungan Antara Disfungsi Endotel Terhadap Ketebalan dan Echogenitas KIM Arteri Karotis pada Subyek Perokok.**

**A. Hubungan antara disfungsi endotel (ADMA) terhadap ketebalan KIM**

Untuk menilai hubungan antara disfungsi endotel terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada subyek perokok maka dilakukan analisis statistik. Analisis statistik yang digunakan adalah analisis deskriptif dengan pendekatan uji tabulasi silang untuk menganalisis hubungan antara kadar ADMA terhadap ketebalan KIM arteri karotis. Hasilnya terlihat pada tabel 13, dimana didapatkan bahwa pada seluruh subyek penelitian, kadar ADMA berkorelasi positif secara bermakna ( $r= 0,240$  dan  $p=0,042$ ) terhadap ketebalan KIM arteri karotis.

**Tabel 13. Hubungan kadar ADMA terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada subyek perokok**

Kadar ADMA ( $\mu\text{mol/L}$ )	Ketebalan KIM			P
	Plak	Tebal	Normal	
Tinggi	16 (48,5%)	15 (45,5%)	2 (5,9%)	0,042
Rendah	16 (53,3%)	8 (26,7%)	6 (20%)	



**Gambar 14. Hubungan kadar ADMA terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada perokok**

### **B. Hubungan antara disfungsi endotel (ADMA) terhadap echogenitas kompleks intima media**

Untuk menilai hubungan antara disfungsi endotel terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok maka dilakukan analisis statistik. Analisis statistik yang digunakan adalah analisis deskriptif dengan pendekatan uji tabulasi silang untuk menganalisis hubungan antara kadar ADMA terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada subyek yang telah mengalami penebalan KIM maupun yang telah terbentuk plak pada arteri karotis. Hasil yang di dapat menunjukkan kadar ADMA berkorelasi negatif secara bermakna ( $r=-0,279$  dan  $p=0,035$ ) terhadap echogenitas KIM arteri karotis. Bila dihitung besar resiko maka subyek dengan kadar ADMA tinggi mempunyai resiko memiliki plak yang tidak stabil sebesar 2,875 kali (95%CI: 0,924-8,942) dibanding subyek dengan kadar ADMA rendah.

**Tabel 14. Hubungan kadar ADMA terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok**

Kadar ADMA ( $\mu\text{mol/L}$ )	Echogenitas KIM		P	OR	95% CI
	Hypoechoik (tidak stabil)	Hyperechoik (stabil)			
Tinggi	23 (74,2%)	8 (25,8%)	0,035	2,875	0,924-8,942
Rendah	12 (50%)	12 (50%)			

## PEMBAHASAN

Metode intervensi dan non intervensi secara luas digunakan untuk mendeteksi aterosklerosis (Potter K. 2008; Finn AV. 2009). Salah satu modalitas *imaging* yang dapat diandalkan untuk menilai morfologi pembuluh darah adalah Ultrasonografi. Teknik pencitraan USG telah berkembang ke tahap dimana arteri-arteri superfisial dapat dicitrakan secara non invasif, seketika dan dengan resolusi tinggi. Dibanding modalitas *imaging* lainnya, dalam menilai lesi vaskuler USG memiliki kelebihan-kelebihan antara lain, ketersediaanya yang lebih luas, mudah dilakukan dan aman dari radiasi sinar X. USG juga dapat menampilkan visualisasi dinding arteri pada tiap tahapan aterosklerosis, dari normal sampai terjadinya oklusi arteri total. (Stein JH, et.al. 2008; Potter K, Reed CJ, Green DJ. 2008; Sharma P, Lohani B. 2009).

Arteri karotis adalah target pencitraan penilaian non invasif terhadap morfologi dinding pembuluh darah untuk mengetahui adanya aterosklerosis yang bermanifestasi pada berbagai kelainan kardiovaskuler. Hal ini disebabkan ukuran arteri karotis yang relatif besar, posisinya yang superfisial dekat permukaan kulit, serta letaknya yang terisolasi dari struktur yang bergerak seperti jantung, sehingga prosedur pemeriksaan USG arteri karotis lebih mudah dilakukan (Halenka M, 2001)

*American Heart Assosiation* (AHA) merekomendasikan pengukuran kompleks intima-media (KIM) sebagai metode paling baik untuk identifikasi aterosklerosis. Hal ini disebabkan kualitas penebalan tunika intima media merupakan petanda awal terjadinya aterosklerosis. Echogenitas KIM juga digunakan sebagai petanda untuk mengevaluasi regresi dan progresi aterosklerosis pada penyakit kardiovaskular (Stein JH, et.al.2008)

Intensitas merokok, faktor inflamasi dan disfungsi endotel adalah beberapa faktor yang antara lain dapat menyebabkan regresi dan progresi aterosklerosis, di samping faktor genetik yang melatarbelakangi.

Penelitian kami ditujukan untuk melihat gambaran ultrasonografi aterosklerosis arteri karotis pada perokok dalam hubungannya dengan intensitas merokok, variasi genetik CYP2A6, faktor inflamasi dan disfungsi endotel.

### **1. Ketebalan dan Echogenitas Kompleks Intima –Media Arteri Karotis pada Subyek Perokok.**

Hasil penelitian yang kami dapatkan dari 63 subyek perokok, 49,2% telah terbentuk plak pada arteri karotis, sekitar 12% masih mempunyai ketebalan KIM yang normal dan selebihnya telah mengalami penebalan KIM. Data ini memperkuat fakta besarnya pengaruh rokok terhadap terjadinya aterosklerosis. Penelitian sebelumnya oleh Amy ZF, Labrador MP, Iribarren (2006) telah membuktikan bahwa rokok menimbulkan efek fibrogenik spesifik yang menyebabkan penebalan lapisan intima dan telah dibuktikan melalui studi otopsi terhadap aorta dan arteri koroner.

Pada subyek perokok yang telah mengalami penebalan dan pembentukan plak pada arteri karotisnya dilakukan penilaian terhadap echogenitas kompleks intima-media arteri karotis dan didapatkan lebih dari 50% plak yang terbentuk termasuk dalam kriteria plak tidak stabil (hypoechoik) sedangkan pada KIM yang menebal bahkan 75% termasuk kategori penebalan yang tidak stabil. Menurut Amy ZF, Labrador MP, Iribarren (2006), terdapat tiga mekanisme putatif yang kemungkinan mendasari perubahan echogenitas kompleks intima media yang diakibatkan oleh rokok:

- Terjadi peregangan matriks makromolekul pada lapisan media yang dihasilkan oleh sel-sel otot polos (SMC) tanpa disertai kompensasi sintesa protein matriks.
- Terjadi apoptosis sel-sel otot polos yang mengakibatkan atrofi lapisan medial.
- Efek fibrogenik spesifik dari rokok tidak hanya menyebabkan penebalan intima tapi juga mengakibatkan inflamasi dan perubahan densitas/echogenitas lapisan media.

## 2. Analisis Hubungan Antara Intensitas Merokok Terhadap Ketebalan

### KIM Arteri Karotis pada Subyek Perokok.

Dikategorikan perokok dengan intensitas merokok tinggi bila telah mengkonsumsi rokok lebih dari 20 tahun secara terus menerus dengan jumlah batang rokok yang diisap lebih dari 20 batang perhari. Subyek penelitian kami sebagian besar adalah perokok dengan intensitas merokok tinggi. Hasil analisis statistik menunjukkan terdapat hubungan yang linear dan bermakna secara statistik antara intensitas merokok dengan ketebalan KIM aretri karotis. Fan M dkk (2009) juga melaporkan terdapat perbedaan yang signifikan antara ketebalan KIM arteri karotis pada perokok berat dan ringan pada populasi perokok usia muda di Finlandia, demikian pula hasil penelitian John U dkk (2007) menunjukkan adanya hubungan positif antara ketebalan KIM dengan konsumsi rokok perhari dan keadaan *overweight*.

Hasil tabulasi silang antara intensitas merokok terhadap echogenitas KIM arteri karotis menunjukkan, hubungan positif namun tidak bermakna secara statistik disebabkan baik pada subyek dengan intensitas merokok yang tinggi

maupun rendah, lebih dari 50% mempunyai echogenitas KIM yang hypoechoik atau tidak stabil. Hal ini menunjukkan individu yang mempunyai kebiasaan merokok baik perokok berat maupun ringan tetap rentan terhadap terjadinya ruptur plak yang dapat menimbulkan manifestasi klinik kardiovaskuler. Meskipun Schane RE dkk (2010) dalam penelitiannya membandingkan antara perokok berat dan perokok intermitten (*casual/social smokers*) menyimpulkan, individu yang merokok secara kontinyu dalam jumlah yang besar akan lebih rentan terhadap resiko penyakit kardiovaskuler dibanding perokok intermitten.

### 3. Analisis Hubungan Antara Variasi Genetik CYP2A6 Terhadap

#### Ketebalan dan Echogenitas KIM Arteri Karotis pada Subyek Perokok.

Frekuensi variasi genetik CYP2A6 yang kami dapatkan dalam penelitian ini relatif sama dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan Muliati D (2010) pada populasi PJK perokok di Indonesia, yang mendapatkan frekuensi genotip *wildtype* lebih banyak dibanding genotip mutan. Pada penelitian ini kami mendapatkan frekuensi terbanyak adalah genotip *wildtype* CYP2A6\*1A\*B (23,8%), diikuti oleh CYP2A6\*1A\*1A (12,7%) dan CYP2A6\*1B\*1B (12,7%). Golongan mutan berada di urutan keempat dan seterusnya yaitu CYP2A6\*1A\*7 (9,5%) dan CYP2A6\*1B\*4A (9,5%), CYP2A6\*7\*8 (6,3%), CYP2A6\*4A\*4A (6,3%) diikuti genotype (CYP2A6\*1A/\*4A, CYP2A6\*1A\*7, CYP2A6\*1A\*8, CYP2A6\*1A\*9, CYP2A6\*1B\*7, CYP2A6\*1B\*9, CYP2A6\*4A\*4A, CYP2A6\*7\*8, CYP2A6\*9\*4A, CYP2A6\*9\*9, CYP2A6\*10\*10, dan CYP2A6\*10\*4A.

Pada pengelompokan subyek penelitian berdasarkan kecepatan metabolisme nikotin, kami dapatkan lebih dari 80% subyek penelitian ini termasuk kategori *fast metabolizer* nikotin dan sisanya adalah *slow metabolizer* nikotin oleh karena itu dalam analisis statistik untuk menilai hubungan antara variasi gen terhadap ketebalan dan echogenitas KIM, didapatkan hubungan yang tidak bermakna secara statistik yang kemungkinan disebabkan jumlah sampel yang mewakili *slow metabolizer* relatif kecil. Namun berdasarkan perhitungan besar resiko (*odds ratio*) didapatkan bahwa subyek yang secara genetik tergolong *fast metabolizer* mempunyai resiko terbentuk plak pada arteri karotis sebesar 1,7 kali dibanding subyek yang secara genetik adalah *slow metabolizer*. Demikian pula analisis hubungan antara variasi genetik CYP2A6 terhadap echogenitas KIM menunjukkan, subyek *fast metabolizer* nikotin mempunyai resiko mendapatkan plak yang tidak stabil sebesar 2,6 kali dibanding subyek yang secara genetik merupakan *slow metabolizer*.

Telah banyak dilakukan penelitian peranan beberapa faktor genetik terhadap aterosklerotik arteri karotis, namun sepanjang penelusuran pustaka kami penelitian ini adalah yang pertama melihat hubungan antara variasi genetik CYP2A6 yang berperan terhadap metabolisme nikotin terhadap gambaran USG arteri karotis pada perokok.



#### 4. Analisis Hubungan antara Variasi genetik CYP2A6 dan Intensitas Merokok terhadap Ketebalan dan Echogenitas KIM Arteri Karotis.

Pada penelitian ini kami membagi subyek penelitian ke dalam empat kategori yaitu :

- Subyek *fast metabolizer* (alel *wild type* w/w, w/m dan m/w) dengan intensitas merokok tinggi
- Subyek *slow metabolizer* (alel mutan m/m) dengan intensitas merokok tinggi.
- Subyek *fast metabolizer* (alel *wild type* w/w, w/m dan m/w) dengan intensitas merokok rendah
- Subyek *slow metabolizer* (alel mutan m/m) dengan intensitas merokok rendah.

Hasil perhitungan tabulasi silang didapatkan variasi gen CYP2A6 dan intensitas merokok berkorelasi positif secara bermakna ( $p=0,047$ ) terhadap ketebalan KIM arteri karotis namun tabulasi silang antara variasi gen CYP2A6 dan intensitas merokok terhadap echogenitas KIM didapatkan hubungan yang secara statistik tidak bermakna ( $p=0,061$ ). Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa faktor gen CYP2A6 tidak dapat berdiri sendiri dalam menyebabkan penebalan arteri karotis pada perokok, diperlukan interaksi faktor lain yang dalam hal ini adalah intensitas merokok.

#### 5. Analisis Hubungan antara Variasi genetik CYP2A6 terhadap Faktor Inflamasi dan Disfungsi Endotel.

Pada penelitian ini kami dapatkan, kelompok *fast metabolizer* nikotin (alel w/w, w/m dan m/w) lebih banyak mempunyai kadar oxLDL tinggi dibanding kelompok

*slow metabolizer* (30 vs 11), meskipun secara statistik tidak menunjukkan hubungan yang bermakna. Hal ini sesuai dengan penemuan kami bahwa kelompok *fast metabolizer* mengkonsumsi lebih banyak rokok dibanding kelompok *slow metabolizer* sehingga proses inflamasi menjadi lebih tinggi pada kelompok ini. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Muliati D (2010) yang mendapatkan konsentrasi biomarker inflamasi (hsCRP) yang lebih tinggi pada kelompok PJK perokok dengan alel *wild type* gen CYP2A6.

Ambrose JA, Barua RS (2004) menyatakan, merokok meningkatkan modifikasi oxLDL dimana produk sirkulasi dari lipid peroksidasi dan titer autoantibodi untuk terbentuknya oxLDL meningkat secara signifikan pada perokok. Yakode M, Kita T, Arai H (1988) melaporkan dalam kultur biakan, paparan asap rokok menyebabkan modifikasi LDL yang secara aktif diambil oleh makrofag untuk membentuk sel busa. Frei B, Forte TM, Ames BN (1991), mengamati bahwa paparan plasma terhadap fase gas asap rokok menyebabkan modifikasi oxLDL plasma. Selanjutnya HUVECs yang diisolasi dari plasma perokok secara signifikan meningkatkan terjadinya modifikasi oxLDL dibandingkan HUVECs yang diisolasi dari plasma non perokok. Paparan terhadap ekstrak asap rokok juga dapat menurunkan aktivitas plasma paroxanase yaitu enzim yang bersifat protektif terhadap oxLDL. (Pech-Amsellem MA, Myara I, Storogento M. 1996).

Pada penelitian ini, Hasil analisis statistik untuk melihat hubungan antara variasi gen CYP2A6 terhadap kadar ADMA menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara kadar ADMA kelompok *fast metabolizer* nikotin (alel w/w, w/m dan m/w) dan kelompok *slow metabolizer* nikotin (alel m/m). Berdasarkan penelitian

Mayhan WG dan Sharpe GM (1999), keterpaparan nikotin secara tunggal tidak menyebabkan perubahan baik penurunan maupun peningkatan kadar ADMA.

#### 6. Analisis Hubungan Antara Faktor Inflamasi Terhadap Ketebalan dan Echogenitas KIM Arteri Karotis pada Subyek Perokok.

OxLDL sangat berperan dalam perkembangan dan progresifitas aterosklerosis. OxLDL yang terambil oleh makrofaq melalui reseptor *scavenger* akan memicu terbentuknya *foam cells* dan penebalan KIM.

Pada penelitian ini kami mendapatkan bahwa pada seluruh subyek penelitian, kadar oxLDL berkorelasi positif bermakna terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada perokok. Hasil ini sama dengan penelitian sebelumnya oleh Toikka JO dkk (2000) yang mendapatkan korelasi positif antara peningkatan oxLDL terhadap ketebalan KIM arteri karotis pada subyek pria dengan *borderline* hipertensi. Metso S dkk (2004) juga mendapatkan korelasi positif antara penebalan KIM terhadap peningkatan kadar oxLDL pada laki-laki usia dekade pertengahan.

Rokok berhubungan dengan peningkatan kadar oxLDL dimana telah dilakukan studi pada morfologi kompleks intima media (KIM) pasien yang telah menjalani *endarterectomy*, didapatkan kadar oxLDL KIM yg diperoleh dari *endarterectomy* 7 kali lebih tinggi dari kadar oxLDL plasma. Kadar oxLDL juga didapatkan tinggi pada plak yang kaya makrofag dibanding plak dengan kadar makrofag rendah (Witztum JL. 2001).

Pada penelitian ini didapatkan pula kadar oxLDL berhubungan secara bermakna terhadap echogenitas KIM arteri karotis pada perokok yang artinya,

subyek perokok dengan kadar oxLDL tinggi lebih rentan untuk terjadinya gejala neurovaskuler dibanding subyek perokok dengan kadar oxLDL rendah. Komponen oxLDL seperti *oxysteroids*, *ox-fatty acid* dan aldehid adalah pemicu utama produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Komponen oxLDL ini yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel-sel vaskuler. Monosit yang dihasilkan oleh *foam cells* berperan dalam inisiasi, promosi serta rupturnya plak (Witztum JL. 2001).

#### **7. Analisis Hubungan Antara Disfungsi Endotel Terhadap Ketebalan dan Echogenitas KIM Arteri Karotis pada Subyek Perokok.**

Asymetric dimethylarginine (ADMA) adalah asam amino alami yang bersirkulasi dalam darah. ADMA merupakan inhibitor potensial terhadap sintesa NO, sehingga peningkatan kadar ADMA sangat signifikan terhadap penurunan sintesa NO (Cooke JP, 2004). Plasma ADMA meningkat pada keadaan hiperkolesterol, hipertrigliserida, resistensi insulin, diabetes mellitus dan hipetensi. Kadar ADMA juga berkorelasi positif dengan usia, tekanan darah sistolik, merokok, CRP dan homosistein. Peningkatan kadar ADMA berhubungan erat dengan tingkat keparahan aterosklerosis (Vallace P, Leiper J, 2004; Meinitzer A, 2007).

Hasil penelitian kami menunjukkan kadar ADMA berhubungan secara bermakna dengan ketebalan KIM arteri karotis pada perokok dan hasil uji hubungan antara kadar ADMA dengan echogenitas KIM arteri karotis menunjukkan hubungan positif yang bermakna ( $p < 0,05$ ), artinya lebih banyak subyek perokok dengan kadar ADMA tinggi mempunyai KIM hypoechoik dibanding hyperechoik. Hasil yang kami dapatkan ini linear dengan beberapa penelitian sebelumnya antara lain yang dilakukan oleh Zoccali

C, Mallamaci F, Maas R, Banedetto FA (2002) yang mendapatkan korelasi negatif bermakna antara kadar plasma ADMA dengan echogenitas KIM penderita post haemodialisis dan Pamuk B, Kulaksizoglu M, Torun NA (2007) juga mendapatkan korelasi bermakna antara plasma ADMA terhadap wanita obesitas.

## RINGKASAN

- Pada penelitian ini 49,2% dari 63 subyek perokok telah mengalami pembentukan plak pada arteri karotisnya, 12% masih mempunyai ketebalan KIM yang normal dan selebihnya telah mengalami penebalan kompleks intima media arteri karotis. Pada subyek perokok yang telah mengalami penebalan dan pembentukan plak pada arteri karotisnya didapatkan lebih dari 50% plak yang terbentuk termasuk dalam kriteria plak tidak stabil (hypoechoik) sedangkan pada KIM yang menebal bahkan 75% termasuk kategori penebalan yang tidak stabil.
- Intensitas merokok berpengaruh terhadap ketebalan KIM arteri karotis namun intensitas merokok tidak berpengaruh pada echogenitas KIM arteri karotis. Hal ini kemungkinan disebabkan baik pada subyek dengan intensitas merokok yang tinggi maupun rendah, lebih dari 50% mempunyai echogenitas KIM hypoechoik atau tidak stabil.
- Faktor gen CYP2A6 yang berperan dalam metabolisme nikotin, tidak dapat berdiri sendiri dalam menyebabkan penebalan arteri karotis pada perokok, diperlukan interaksi faktor lain, dalam hal ini adalah intensitas merokok dalam menyebabkan penebalan arteri karotis.
- Variasi genetik CYP2A6 tidak memberikan pengaruh terhadap kadar oxLDL maupun ADMA pada subyek perokok.
- Kadar oxLDL dan ADMA berpengaruh baik terhadap ketebalan maupun echogenitas KIM arteri karotis pada subyek perokok.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### KESIMPULAN

- Berdasarkan pemeriksaan ultrasonografi didapatkan telah terjadi penebalan kompleks intima media dan pembentukan plak arteri karotis pada sebagian besar subyek perokok.
- Penebalan kompleks intima media, pembentukan plak dan ketidakstabilan plak meningkat seiring dengan meningkatnya intensitas merokok, terutama pada kelompok yang secara genetik merupakan *fast metabolizer* nikotin (genotipe CYP2A6 alel w/w, w/m dan m/w)

#### SARAN

##### **Untuk pengembangan ilmu:**

Pemeriksaan ultrasonografi seharusnya dijadikan modalitas untuk skrining dalam mendeteksi aterosklerosis arteri karotis.

##### **Untuk Kesehatan Masyarakat :**

Perlu intensifikasi upaya promotif dalam pencegahan kebiasaan merokok untuk menurunkan angka mortalitas & morbiditas yang diakibatkan oleh rokok.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ambrose JA, Barua RS, 2004, The Pathophysiology of Cigarette Smoking and Cardiovascular Disease. *J.Am Coll Cardiol*, 43:1731-1737
- Amy ZF, Labrador MP, Iribarren. 2006. Smoking Status and Common Carotid Artery IMT among Middle Aged Men and Women base of USG Measurement : A Cohort Study. *BMC Cardiac Disorders*, vol 6: 42-50
- Baroncini LA, Oliveira A, 2008, Appropriateness of Carotid Plaque and Intima-Media Thickness Assesment in Routine Clinical Practise. *Cardiovascular Ultrasound*. 6;52.
- Barua RS, Ambrose JA, 2001, Dysfunctional Endothelial nitric oxide biosynthesis in healthy smokers with impaired endothelium-dependent vasodilatation, *Circulation*. 104:1905-1910
- Barua RS, Ambrose JA, 2003, Reactive oxygen species are involved in smoking-induced dysfunction of nitric oxide biosynthesis and upregulation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. 107:2342-2347
- Benowitz NL. 2010. Nicotine Addiction. Mechanism of Disease. *NEJM*, 362: 2295-2303.
- Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A, 2003, Endothelial Dysfunction: A marker of Atherosclerotic Risk. *Atheroscler Thromb Vasc Biol*; 23:168-175
- Boyle JA, 2005, Macrophage Activation in Atherosclerosis: Pathogenesis and Pharmacology of Plaque Rupture, *Current Vascular Pharmacology*.;3;63-68.
- Caraballo RS, Giovino GA, Pechacek TF, Mowery PD, Richter PA. 2008. Racial and Ethnic Differences in Serum Cotinine Levels of Cigarette Smokers: Third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 280: 135-9.
- Cooke JP, 2004, Does ADMA Cause Endothelial Dysfunction?, *Atheroscler Thromb Vasc Biol*, 20: 2032-2037.
- Corti R, Fuster V. 2011. Imaging of Atherosclerosis : MRI. *European Heart Journal* 32; 1709-1719.
- Coskun U, Yildiz A, Esen OB, Baskurt M, , 2009, Relation Between Carotid Intima Media Thickness and Coronary Angiographic Finding. *Cardiovascular Ultrasound*; 7;59.
- Crowther MA. 2005, Pathogenesis of Atherosclerosis. *American Society of Hematology*. 436-441.





- Deem TL, Cook-Mills. 2004. Vascular Cells Adhesion Molecules1 (VCAM1) Activation of Endothelial Cell Matrix Metalloproteinases: Role of Reactive Oxygen Species. *Blood*. 104:2385-2393
- De Marco JK, Ota H, Underhill DC. 2010. MR Carotid Plaque Imaging, *AJNR* 31: 1395-1402.
- Dillon EH, Leuwen MS. 1993. Computed Tomography Angiography Application to Evaluate Carotid Atherosclerosis. *Circulation* 189: 211-219.
- Ebrahim S, Papacosta O, Whincup P. 2001, Carotid Plaque, Intima Media Thickness, Cardiovascular Risk Factors and Prevalent Cardiovascular Disease in Men and Women. The British Regional Heart Study. 841- 850.
- Enhardt L. 2009, Cigarette Smoking: An Undertreated Risk Factor for Cardiovascular Disease. *Atherosclerosis* 205.; 23-32.
- Fagerstrom K, 2003. The Epidemiology of Smoking, Health Consequences and Benefit of Cessation, *Adis International*, Vol 62 : 1-9.
- Fan M, Raitakari OT, Kahonen M. 2009. The Association between Cigarette Smoking and Carotid IMT : Cardiovascular Risk in Young Finland Study. *Am J Hypertens*. 22: 281-7.
- Finn AV, Kolodgie FD, Virmani R. . 2009, Correlation Between Intimal/Media Thickness and Atherosclerosis: A point of View from Pathology *Journal of AHA*; 177-181.
- Frei B, Forte TM, Ames BN. 1991. Gas phase Oxidant of Cigarette Smoke Induced Lipid Peroxidation and Change in Lipoprotein Properties in Human Blood Plasma. *Biochem J*, 277; 133-8.
- Freitas E, Brandao A. 2008, Study of Intima Media Thickening in Carotid Arteries of Healthy Elderly With High Blood Pressure. *Clinical Intervention in Imaging*3: 525-534.
- Gray Weale AC, Graham JC, Burnett JR: 1998, Carotid Artery Atheroma: Comparison of Preoperative B-Mode Ultrasound Appearance with Carotid Endarterectomy Specimen Pathology. *J Cardiovasc Surg*. 29;676.
- Golemati S, Tegos TJ, 2003, Echogenicity of B-Mode Sonographic Image of the Carotid Artery. *J Ultrasound Med.*;23;659-669.
- Halenka M. 2001, Noninvasive Measurement of Early Atherosclerosis by High Resolution B-Mode Ultrasonography. *Acta Univ. Palacki, Olomuc Fac.Med.*;142. 1-12.

- Hansson GK. 2005. Mechanism of Disease. Inflammation, Atherosclerosis and Coronary Artery Disease, *N Eng J Med.*; 352;16
- Hukkanen J, Jacob P, Benowitz N.L. 2005, Metabolism and Disposition Kinetics of Nicotine. *Pharmacol Rev*; 57:79-115
- Ishihara Y, Nagai A, Kagawa J. 1997. Comparisons of the Effect of Exposure to Filter and Non Filter Cigarette: The Antioxidant Biomarkers. *Inhalation Toxicity*, 9: 273-286.
- Izzo R, Di Renzo G, De Luca N. 2008, Smoking Selectively Accelerates Carotid Atherosclerosis in Hypertensive Patients. *High Blood Press Cardiovascular Prev*; 15 (4):269-273.
- Jegelevicius D, Lukosevicius. 2002, An Ultrasonic Measurement of Human Carotid Artery Wall Intima Media Thickness. *ISSN*. 1392-21.
- Jie JC, Thach C. 2007, Carotid Intima Media Thickness, Plaques, C-Reactive Protein. *Circulation*; 116;32-38.
- John U, Baumester SE, Kessler C. 2007. Association of Carotid IMT, Tobacco Smoking and Overweight in General Populations Samples. *Atherosclerosis*. Vol 195. 144-149.
- Josephson SA, Bryant SO, Mak HK. 2004. Evaluation of Carotid Stenosis Using CT Angio in the initial of Stroke and TIA. *North European Journal*, 63- 3: 457-460.
- Kassi E, Dalamaja M, 2009. Circulating OxLDL Levels, Current Smoking and Obesity in Woman. *Atherosclerosis*. Vol 205; 279-283.
- Kawashima S, Yokoyama M. 2003, Dysfunctional of Endothelial Nitric Oxide Synthase and Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 998-1002.
- Kerwin WS, 2007, Correlation of Carotid Arteri Pathology and Morphology in Imaging of Carotid Arteri Stenosis. Springer-Verlag Wien, NY. Karolinska Institute, Stockholm, Sweeden.; Chap1.2; 19-30.
- Kristanto TA. 2012. Menteri Kesehatan Prihatankan Jumlah Perokok. *Kompas*. 20 September; 5.
- Kwon JT, Nakajima M. 2001, Nicotine metabolism and CYP2A6 allele frequencies in Koreans. *Pharmacogenetics.*; 11:317-323
- Libby P, Ridker P.M., Maseri A., 2002. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation.*; 105:1135-1143

- Linna MS, Ahotupa M. 2008. Smoking and Low Serum Testosterone Association with High Concentrations of oxLDL. *Ann Med.* Vol 40(8): 634-40.
- Maarifat NN. 2005, Ketebalan Kompleks Intima Media Arteri Karotis pada Kelompok Khusus Usia 20-30 tahun di RSUPN-CM; 34-35.
- Malaiyandi V., Sellers E.M., Tyndale R.F. 2005, Implications of CYP2A6 genetic Variation for smoking behaviors and nicotine dependence. *Clin Pharmacol Ther*; 77:145-158
- Martijn D, Prissen O, Susan AM. Carotid Intima Media Thickness Is Different in Large and Small Vessel Ischemic.Stroke, 2007; 38;1371-1373.
- Mayhan W.G, Sharpe G.M. 1999, Effect of Cigarette Smoke Extract on Arteriolar Dilatation in vivo. *J Appl Physiol*; 86:1126-34.
- Meinitzer A, 2007, Asymetric Dimethylarginine Independently Predicts Total and Cardiovascular Morbidity in Individuals with Angiographic Coronary Artery Disease, *Clin Chem*, 53:273-283
- Metso S, Loimaala A, Mercuri MF, Nenonen A, Vouri I, Oja P, Bond MG. 2004, Circulating oxLDL and Common Carotid Artery Intima Media Thickness in a Random, Sample of Middle Age Men, *Journal of Biomedical Science*, 11, 3; 356-361.
- Moon-shong Tang. 1996, What's in Cigarette?. *Science* ; 274: 30-32
- Muliati D, 2010. CYP2A6 Gene Polymorphisms Impact to Nicotine Metabolism, *Medical Journal of Indonesia*, 1: 46-51.
- Mulvihill NT, Foley JB, Crean P, 2002. Prediction of Cardiovascular Risk Using Soluble cells Adhesion Molecules, *Eur Heart J*, 23: 1569-1574.
- Nakajima M. 2001, Relationship between interindividual differences in Nicotine Metabolism and CYP2A6 genetic polymorphism in humans. *ClinPharmacol Ther*; 68:72-78
- Nakajima M., Yoshida R. 2004, Novel human CYP2A6 alleles confound gene deletion analysis. *FEBS Lett* ; 569:75-81
- Nicholls SJ, Hazen SL. 2005, Myeloperoxidase and Cardiovascular Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*;25;1102-1111.
- O'Loughlin J., Paradis G., Kim W., DiFranza J.R., Meshkfedijan G., McMillan E. 2004, Genetically decreased CYP2A6 and the risk of tobacco dependence: a prospective study in novice smokers. *Tob Control.*; 13:422-8

- Oscarson M., Mc Lellan R.A., Gullsten H., Yue Q-Y., Lang M.A., Bernal M.L., 1999, Hirnoven A., et al Characterisation and PCR-based detection of a CYP2A6 gene deletion found at a high frequency in a Chinese population. *FEBS Letters*; 448:105-110
- Oscarson M., Mc Lellan R.A., Gullsten H., Agundez J.A.G., et al, 1999, Identification and characterization of novel polymorphisms in the CYP2A6 locus: implications for nicotine metabolism. *FEBS Letters*; 460:321-327
- Pamuk B, Kulaksizoglu M, Torun NA, 2007. ADMA Level and Carotid Intima Media Thickness. *Endocrine Journals*, 4:651-655.
- Packard RRS, Libby P. 2008, Inflammation in Atherosclerosis: From Vascular Biology to Biomarker Discovery and Risk Prediction. *Clinical Chemistry*. 54:1 24-38.
- Peamkrasatam S., Sriwatanakul K., Kiyotani K., Fujieda M., Yamazaki H, Kamataki T, Yoovathaworn K. 2006, In vivo evaluation of coumarin and nicotine as probe drugs to predict metabolic capacity of CYP2A6 due to genetic polymorphism in Thais. *Drug Metab. Pharmacokinet*. 21:475-484
- Pech-Amsellem MA, Myara I, Storogento M. 1996. Enhanced Modifications of LDL by Endothelial Cells from Smokers. *Cardiovasc Res*. 31; 975-83.
- Potter K, Reed CJ, Green DJ. 2008, Ultrasound Setting Significantly Alter Lumen and Wall Thickness Measurement. *Cardiovascular Ultrasound*
- Salonen JT, Liu ML, Ylitalo K, 2004, Circulating OxLDL and It's Association With Carotid Intima Media Thickness in Asymptomatic Members of Familial Combined Hyperlipidemia Families, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*.;24:1492-1497.
- Schane RE, Glantz S, Ling PM. 2009. Social Smoking Impressions for Public Health, *Clinical Practise and Interventional Research*, *Am.J.Prev.Med*. 37(2):124-31.
- Schoen FJ, 2005. Blood Vessels. In Robbins and Cotran: *Pathologic Basic of Disease*. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Philadelphia: Elsevier Inc, 7th Edition, 511-530.
- Sharma P, Lohani B.. 2009, Ultrasonographic Evaluation of Carotid Intima Media Thickness in Hypertensive and Normotensive Individuals. *Nepall Med Coll J*; 11(2): 133-135.
- Spagnoli LG, Bonanno E.. 2007, The Role of Inflammation in Atherosclerosis. *The Journal of Nuclear Medicine*.; Vol 48 no 11.
- Stein JH, Korcarz CE, Hurst T, Lonn E. 2008, Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluated Cardiovascular Disease Risk: A Consensus Statement from the American Society of Echocardiography Carotid

- Wikstrand J. 1992. Ultrasound Measurement of Intima Media Thickness in Common Carotid Artery. *Arteriosclerosis and Trombosis*. 70-76
- Witztum JL, 2001, Role of Oxidized Low Density Lipoprotein in Atherogenesis, *J Clin Invest*, 88: 1785-1792.
- Wolk R, Shamsuzzaan ASM, Svatikova A. 2005, Hemodynamic and Autonomic of Smokeless Tobacco in Healthy Young Men. *J, Am Coll Cardiol*. 45:910-914.
- World Health Organization (WHO) 2009, Update Status of the WHO Framework Convention on Tobacco Control. Available at <http://www.who.int/tobacco/framework/> Accessed Dec 15.
- Yakode M, Kita T, Arai H. 1988. Cholesteryl Esther Accumulation in Macrophages Incubated with LDL Pretreated with cigarette Smokes Extract. *Proc Natl Acad Sci*, 85: 2344-8
- Yamanaka H., Nakajima M. 2004, Metabolic profile of nicotine in subjects Whose CYP2A6 gene is deleted. *Europ. J. Pharmaceut. Sc.*; 22:419-4442.
- Yobushita H, Bouma BE. 2002. Characterization of Human Atherosclerosis by OCT, *Circulation*, 1640-1645.
- Zimarino M, Prati F. 2007. OCT Accurately Identified Intermediate Atherosclerotic Lesion: An in vivo Evaluation in the Rabbit Carotid Artery. *Atherosclerosis Journal*, vol 193:94-101.
- Zoccali C, Mallamaci F, Maas R, Banedetto FA, 2002. Left Ventrikel Hypertrophy, Carotid Intima Media Thyckness and ADMA levels in Healthy Patients. *Kidney Internationale*, 62; 339-346.