



PERBEDAAN POLIMORFISME GEN SLCO1B1*5 (SNP rs4149056T>C) DAN GEN CYP3A4*22 PADA EFIKASI SIMVASTATIN YANG DILIHAT DARI PERUBAHAN CIMT, FMD, DAN ABI SEBAGAI MARKER TERJADINYA ATEROSKLEROSIS SUBKLINIS PADA SUKU JAWA

DISERTASI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Doktor



Oleh
HERNI SUPRPTI
117070100011020

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
MINAT BIOMEDIK
PROGRAM PASCA SARJANA FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

DISERTASI

**PERBEDAAN POLIMORFISME GEN SLCO1B1*5 (SNP rs4149056T>C) DAN
GEN CYP3A4*22 PADA EFIKASI SIMVASTATIN YANG DILIHAT DARI
PERUBAHAN CIMT, FMD, DAN ABI SEBAGAI MARKER TERJADINYA
ATEROSKLEROSIS SUBKLINIS PADA SUKU JAWA**

Oleh :
Herni Suprapti
NIM : 117070100011020

Ujian Terbuka Disertasi
Pada Tanggal : 23 Juli 2019

Pembimbing

Prof.Dr.dr. Dianggan Sargowo, SpPD.,SpJP.(K).FIHA.,FACC.,FCAPC.,FESC.
Promotor

Dr.drq. Nur Permatasari, M.Si.
Ko Promotor 1

Prof.Dr.dr. Mulyohadi Ali.
Ko Promotor 2

PERNYATAAN ORISINALITAS DISERTASI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah DISERTASI ini tidak terdapat disertasi yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah disertasi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia DISERTASI ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (DOKTOR) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Malang, 2 April 2019

Mahasiswa,

Materai 6000

Nama : Herni Suprapti
 NIIM : 117070100011020
 PS : Ilmu Kedokteran
 Prog. : Pascasarjana
 Fak : Kedokteran UB

JUDUL DISERTASI:

PERBEDAAN POLIMORFISME GEN SLCO1B1*5 (SNP rs4149056T>C) DAN GEN CYP3A4*22 PADA EFIKASI SIMVASTATIN YANG DILIHAT DARI PERUBAHAN CIMT, FMD, DAN ABI SEBAGAI MARKER TERJADINYA ATEROSKLEROSIS SUBKLINIS PADA SUKU JAWA

Nama Mahasiswa : Herni Suprapti

NIM : 117070100011020

Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran

Minat : Biomedik

KOMISI PROMOTOR:

Promotor : Prof.Dr.dr. Djanggan Sargowo, SpPD.,SpJP.(K).
FIHA.,FACC.,FCAPC.,FESC.

Ko-promotor 1 : Dr.drg. Nur Permatasari, M.Si.

Ko-promotor 2 : Prof.Dr.dr. Mulyohadi Ali.

TIM DOSEN PENGUJI:

Dosen Penguji 1 : Prof. Dr. Djoko W. Soeatmadji, SpPD-KEMD

Dosen Penguji 2 : dr. Hidayat Sujuti, M.Sc., Ph.D., SpM

Dosen Penguji 3 : Dr. dr. PWM. Olly Indrayani, SpPD

Tgl. Ujian Tertutup : 18 Juni 2019

Tgl. Ujian Terbuka : 23 Juli 2019

SK Penguji :

KOMUNIKASI DAN PUBLIKASI ILMIAH

Herni Suprapti. Penatalaksanaan Pada Diabetic Peripheral Neuropathic Pain (DPNP) : Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma Volume 1, Nomor 2, Juli 2011.

Herni Suprapti. Interaksi Obat : Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma Volume Edisi Khusus Desember 2011.

Herni Suprapti, Sianny Suryawati. Efek Anti Malaria Ekstrak Brotowali (*Tinospora Crispa*) Pada Mencit Yang Di Infeksi *Plasmodium Berghei* : Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma Volume 1, Nomor 1, Januari 2007.

Herni Suprapti, Budhi Setiawan, Ernawati. Pengaruh Terapi Standar Dan Nutrisi Tambahan Terhadap Fungsi Fisik Dan Antropometri Penderita Tuberkulosis Paru : Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma Volume 3 Nomer 2 Edisi Oktober 2014.

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan disertasi yang berjudul:

PERBEDAAN POLIMORFISME GEN SLCO1B1*5 (SNP rs4149056T>C) DAN GEN CYP3A4*22 PADA EFIKASI SIMVASTATIN YANG DILIHAT DARI PERUBAHAN CIMT, FMD, DAN ABI SEBAGAI MARKER TERJADINYA ATEROSKLEROSIS SUBKLINIS PADA SUKU JAWA

Di dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi bidang farmakologi, genetika, dan kardiovaskuler.

Pendidikan S3 adalah tahap tertinggi dalam jenjang akademis. Menyelesaikan tahap ini tentu sangat patut disyukuri. Sebagai ungkapan pernyataan kebahagiaan karena telah dapat menyelesaikan jenjang pendidikan akademis tertinggi ini ijin saya menghaturkan ucapan terima kasih untuk semua bantuan pada saya. Tidak ada keberhasilan sebuah pekerjaan besar yang tidak dibantu orang lain. Untuk itu, saya berterimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

Para pasien yang sudah berkenan terlibat dalam penelitian ini, menjadi subjek penelitian. Salah satu aspek paling penting dalam keberhasilan penelitian. Yang karena kerjasama merekalah penelitian ini dapat diselesaikan. Yang merupakan sumber sangat berharga bagi kemajuan ilmu dan teknologi. Yang memberikan banyak sumbangsih bagi ilmu kedokteran dan tentunya kesejahteraan umat manusia.

Promotor saya, Prof. Dr. dr. Djangan Sargowo, SpPD.,SpJP.(K). FIHA.,FACC.,FCAPC.,FESC., untuk semua bimbingan, saran, dan perhatian



yang begitu besar. Beliau juga yang mendorong saya untuk menempuh studi S3 ini pada waktu menjadi Dekan FKUWKS.

Ko Promotor, Dr. drg. Nur Permatasari, M.Si., yang membimbing dengan lemah lembut, dan selalu memberikan semangat dengan memberikan pujian pada hasil penelitian saya, walau pun saya tahu hasilnya tidaklah sebaik pujian beliau.

Ko Promotor, Prof. Dr. dr. Mulyohadi Ali, yang selama bertahun-tahun bersedia membimbing saya sejak awal ide topik penelitian ini. Mungkin kalau tidak bertemu beliau, saya tidak bisa menyelesaikan penelitian ini. Beliau sangat memahami keadaan saya yang tengah menjalani proses kemoterapi dengan efek samping yang tidak ringan. Mencarikan referensi, bahkan berkenan datang ke Surabaya untuk diskusi dengan konsultan statistik.

Rektor Universitas Brawijaya Malang Prof. DR. Ir. Nuhfil Hanani AR., MS; Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang Dr. Wisnu Barlianto, dr., Msi.Med., Sp.A.(K).

Ketua Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang Prof. Dr. dr. Kusworini, M.Kes., SpPK, yang telah memberikan dukungan dan semangat sehingga saya bisa menyelesaikan pendidikan saya.

Rektor Universitas Wijaya Kusuma Surabaya saat ini Prof. H. Sri Harmadji, dr., SpTHT-KL(K) dan yang terdahulu Alm. Prof. Soedijono; Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya saat ini Prof. Dr. Suhartati, dr., MS dan terdahulu Prof. H. Soedarto, dr., DTM&H, Ph.D, Sp.Par.K, yang telah memberi kesempatan saya menjalani pendidikan S3 ini.

Penguji dan pembimbing, Prof. Dr. Djoko W. Soeatmadji, SpPD-KEMD, atas semua komentar, kritik, saran dan arahnya guna menyempurnakan pendidikan dan penelitian saya. Untuk kesediaan meluangkan waktu membaca,

menguji, dan memberi masukan. Juga untuk kesediaan datang memenuhi undangan ujian saya.

dr. Hidayat Sujuti, M.Sc., Ph.D., SpM, yang sangat sabar membimbing mengenai ilmu Biokimia pada vaskuler. Tidak jarang beliau mengantar saya ke stasiun kereta api saat pulang ke Surabaya.

Dr. dr. PWM. Oly Indrayani, SpPD, yang tulus selalu memberi semangat dan perhatian besar, sehingga memberikan jadwal beliau supaya saya bisa menentukan jadwal untuk konsultasi atau ujian.

Guru-guru dan dosen-dosen saya sejak TK, sekolah dasar sampai dengan menyelesaikan S-3. Terimakasih kepada guru-guru di TK Bopkri Yogyakarta, di SD Serayu Yogyakarta, SD Kartika Chandra Kirana Ujung Panjang, SMP Negeri 3 Ujung Pandang, SMA Negeri 1 Ujung Pandang, SMA Negeri 10 Surabaya.

Teman-teman FKUA angkatan 1985, yang selalu menyemangati saya. Terimakasih sudah membuat dunia tampak lebih indah.

Terimakasih kepada dosen-dosen saya di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, dan bagian Farmakologi FKUA.

Terimakasih kepada seluruh teman sejawat di Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, yang telah mendukung tugas-tugas saya.

Terimakasih kepada drg. Retno Dwi Wulandari, M.Kes., MSi.Med dan dr. Eva Diah Setijowati, Msi.Med Laboratorium Genetika FKUWKS, yang telah membantu proses penelitian selama ini.

Terima kasih kepada Dr Mia Puspitasari SpJP, yang telah membantu proses pemeriksaan Echocardiografi.

Terimakasih kepada Dr. Budi Utomo, dr., M.Kes dan Dr. Bernadette Dian Novita, dr., M.Ked, yang membantu dalam perhitungan statistik.

Terimakasih kepada Dr. Husnul Khotimah, Ssi., M.Kes, yang telah membantu proses Jurnal.

Terimakasih kepada Eko Purwanto, staf Farmakologi FK UWKS, yang membantu saya dalam mengetikkan disertasi dan lain-lain pekerjaan administrasi.

Terimakasih kepada semua pengurus RS Terapung Ksatria Airlangga, yang selalu mendukung, memberi semangat dan kebahagiaan selama ini. Dan maaf, saya banyak meninggalkan tugas sebagai pengurus saat menyelesaikan penelitian.

Terimakasih kepada Doca yang selama ini telah memberi semangat kepada saya untuk menyelesaikan pendidikan ini.

Kedua orang tua saya, Almarhumah Erna Suhadi dan Almarhum Ir Suhadi; yang sudah membesarkan, merawat, dan mendidik saya selama ini. Saya mempersembahkan penyelesaian pendidikan ini kepada mereka, sekalipun saya sadar hal ini tetap tidak sebanding dengan besarnya kebaikan yang telah saya terima.

Kedua mertua saya, Ibu Harpini dan Almarhum Ir. S Budihartono, yang mendukung saya dalam menyelesaikan studi ini.

Suami saya, dr Budi Arief Waskito SpJP FIHA, dan anak-anak kami, dr Tiara Amanna Amandita dan dr Nastiti Imana Intansari, yang selama ini sangat mendukung, membantu, dan banyak berkorban. Terimakasih dengan kemandirian selama ini, sehingga saya bisa fokus dalam menyelesaikan pendidikan ini. Semoga semua ini bisa sedikit memberi kebanggaan.

Tidak akan cukup tempat menuliskan semua ucapan terima kasih karena begitu banyak pihak yang telah sudi membantu. Kepada semua yang belum saya sebutkan, terimalah ucapan terima kasih saya yang setinggi-tingginya.



Saya juga mohon maaf apabila selama pendidikan dan penelitian ini ada hal yang kurang berkenan dari saya, baik yang saya sadari atau tidak. Semoga saya dapat memperbaiki diri dan menjadi lebih baik di kemudian hari. Akhirnya saya berharap semoga pendidikan, penelitian, dan gelar baru bagi saya, dapat memberikan banyak manfaat bagi kemaslahatan banyak pihak di dunia ini.

Herni Suprapti



RINGKASAN

Herni Suprapti, NIM. 117070100011020. Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, 17 Maret 2019. Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1*5 (Snp rs4149056T>C) dan Gen CYP3A4*22 pada Efikasi Simvastatin Yang Dilihat dari Perubahan CIMT, FMD, dan ABI Sebagai Marker Terjadinya Aterosklerosis Subklinis pada Suku Jawa

Aterosklerosis merupakan penyebab kematian hampir separuh orang berusia lebih dari 60 tahun di seluruh dunia. Simvastatin banyak digunakan, well-tolerated, dan efektif untuk menurunkan kolesterol LDL (low-density lipoprotein) dan menurunkan risiko serangan jantung. Statin dapat menurunkan kolesterol LDL sekitar ~40%, dan semakin besar penurunan kolesterol LDL akan makin besar juga penurunan risiko serangan jantung. Respons lipid terhadap statin dipengaruhi berbagai hal, termasuk faktor genetik, tetapi data interaksi farmakogenetik dan pengaruhnya pada risiko respons terhadap statin masih sangat terbatas. Masih belum jelas apakah variasi genetik menyebabkan perbedaan efek terapi statin dan mempengaruhi keadaan klinis pasien. Polimorfisme pada gen transporter obat dan/atau gen enzim metabolisme obat, berkontribusi pada variabilitas inter-individual pada farmakokinetik simvastatin. Carotid intima-media thickness (CIMT), FMD (Flow Mediated Dilation), dan Ankle-Brachial Index (ABI), merupakan marker untuk aterosklerosis subklinis.

Penelitian ini bertujuan untuk menemukan polimorfisme gen SLCO1B1*5 (snp rs4149056T>C) dan gen CYP3A4*22 pada pasien kardiovaskuler suku Jawa yang diberi terapi Simvastatin untuk mencegah terjadinya aterosklerosis akibat dislipidemia. Selain itu untuk mengetahui perbedaan efek polimorfisme gen SLCO1B1*5 (snp rs4149056T>C) dan gen CYP3A4*22 pada efikasi simvastatin yang dilihat dari perubahan cimt, fmd, dan abi, serta perbedaan polimorfisme gen SLCO1B1 dengan profil lipid (Kolesterol total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol Total/HDL, dan TG) dan faktor risiko aterosklerosis dini (Tekanan darah sistolik dan kebiasaan merokok). Studi deskriptif potong-lintang dilakukan di laboratorium genetika FK UWKS, sejak Januari 2016 sampai Desember 2017. Studi komparatif dilakukan untuk membandingkan polimorfisme gen SLCO1B1 dengan Marker aterosklerosis dini (CIMT, FMD, dan ABI), profil lipid (Kolesterol total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol Total/HDL, dan TG), faktor risiko aterosklerosis dini (Tekanan darah sistolik dan kebiasaan merokok), dan karakteristik subyek penelitian (jenis kelamin, usia, BMI, durasi simvastatin).

Delapan puluh tiga subjek penelitian pasien kardiovaskuler yang diberi terapi simvastatin minimal selama 3 bulan, direkrut dalam penelitian ini. Hasil analisis gen SLCO1B1*5 (snp rs4149056T>C) menunjukkan sebanyak 89% berupa alel homozygot TT (wild-type), 11% alel heterozygot TC (mutant-type), dan tidak didapatkan alel homozygot CC (0%). Persentase alel C 4,8%. Sedangkan hasil analisis gen CYP3A4*22 semua berupa alel homozygot TT (100%), tidak didapatkan alel heterozygot TC (0%) maupun homozygot TT (0%). Didapatkan perbedaan bermakna ($p=0,000$) alel homozygot TT dengan alel heterozygot TC pada Marker aterosklerosis dini (CIMT, FMD, dan ABI), profil lipid (Kolesterol total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol Total/HDL, dan TG), faktor risiko aterosklerosis dini (Tekanan darah sistolik dan kebiasaan merokok), dan karakteristik subyek penelitian (jenis kelamin, usia, BMI, durasi simvastatin).

Kesimpulan: Didapatkan adanya polimorfisme gen SLCO1B1 (snp rs4149056T>C) alel heterozygot TC sebanyak 11% pada suku Jawa. Adanya alel C menyebabkan perbedaan pada marker aterosklerosis dini (CIMT, FMD, dan ABI), profil lipid (Kolesterol total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol Total/HDL, dan TG), faktor risiko aterosklerosis dini (Tekanan darah sistolik dan kebiasaan merokok), dan karakteristik subyek penelitian (jenis kelamin, usia, BMI, durasi simvastatin).

Kata kunci: SLCO1B1*5, CYP3A4*22, Simvastatin, CIMT, FMD, ABI, Suku Jawa



SUMMARY

Herni Suprapti, NIM. 117070100011020. Postgraduate Program of the Medical Faculty of Brawijaya University Malang, March 17 2019. Difference of SLCO1B1*5 (Snp rs4149056T>C) and CYP3A4*22 Genes Polymorphism on Simvastatin Efficacy Seen from CIMT, FMD, and ABI Changes as Markers of the Occurrence of Subclinical Atherosclerosis in Javanese.

Atherosclerosis is a cause of death that has been separated for more than 60 years worldwide. Simvastatin is widely used, well tolerated, and effective for lowering LDL (low-density lipoprotein) cholesterol and reducing the risk of heart attack. Statins can reduce LDL cholesterol by about ~40%, and the greater the decrease in LDL cholesterol, the greater the risk of heart attack. Lipid responses to statins determine various things, including genetic factors, but data on pharmacogenetic interactions and their effects on responses to statins are still very limited. It is still unclear whether genetic variation causes differences in the effects of statins and affects the patient's clinical condition. Polymorphism in the transporter gene and / or enzyme gene contributing drugs, contributes to the variability between individuals in the pharmacokinetics of simvastatin. Carotid intima-media thickness (CIMT), FMD (Flow Mediated Dilatation), and Ankle-Brachial Index (ABI), are markers for subclinical atherosclerosis.

This study aims to find the SLCO1B1 (snp rs4149056T> C) gene and CYP3A4 gene polymorphism in Javanese cardiovascular patients who offer Simvastatin therapy to replace atherosclerosis due to dyslipidemia. In addition to see the effect on the SLCO1B1*5 (snp rs4149056T>C) gene polymorphism and CYP3A4*22 gene on the efficacy of simvastatin associated with CIMT, FMD, and ABI, as well as the SLCO1B1 gene polymorphism with lipid profiles (total cholesterol, LDL, HDL, total cholesterol/HDL ratio, and TG) and risk factors for early atherosclerosis (systolic blood pressure and smoking habits). Cross-sectional descriptive studies were carried out in the FK UWKS genetic laboratory from January 2016 to December 2017. A comparative study was conducted to compare the SLCO1B1 gene polymorphism with early atherosclerosis markers (CIMT, FMD, and ABI), lipid profiles (total cholesterol, LDL, HDL, Total cholesterol / HDL ratio, and TG), risk factors for early atherosclerosis, and characteristics of the study subjects (gender, age, BMI, duration of simvastatin).

Eighty-three subjects of cardiovascular patients who were given simvastatin therapy for at least 3 months were recruited in this study. The results of the SLCO1B1*5 (snp rs4149056T>C) gene analysis showed that 89% consisted of homozygot TT alleles (wild type), 11% TC heterozygot alleles (mutant type), and no homozygot CC alleles (0%). Percentage of C allele 4.8%. While the results of the CYP3A4*22 gene analysis all consisted of a homozygot TT allele (100%), not obtained heterozygot TC alleles (0%) or TT homozygots (0%). Significant differences (p = 0,000) homozygot allele TT with heterozygot TC alleles in early atherosclerosis markers (CIMT, FMD, and ABI), lipid profiles (total cholesterol, LDL, HDL, Total cholesterol ratio / HDL, and TG), early atherosclerosis and the characteristics of the research subjects (gender, age, BMI, duration of simvastatin).

Conclusion: There were 11% SLCO1B1 (snp rs4149056T> C) gene polymorphisms in TC heterozygot alleles in the Javanese. The presence of the C allele causes differences in the markers of early atherosclerosis (CIMT, FMD, and ABI), lipid profiles (total cholesterol, LDL, HDL, ratio of total cholesterol / HDL, and TG), risk factors for early atherosclerosis (systolic pressure and waiting), and characteristics of the research subjects (gender, age, BMI, duration of simvastatin).

Key words: SLCO1B1*5, CYP3A4*22, Simvastatin, CIMT, FMD, ABI, Javanese

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	vii
RINGKASAN.....	xii
SUMMARY.....	xiii
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xix
DAFTAR GAMBAR.....	xxi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xxv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan Penelitian.....	8
1.3.1 Tujuan Umum.....	8
1.3.2 Tujuan Khusus.....	8
1.4 Manfaat Penelitian.....	9
1.4.1 Klinis.....	9
1.4.2 Akademik.....	9
1.4.3 Kebijakan.....	9
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Biosintesis, Metabolisme dan Regulasi Kolesterol.....	10
2.1.1 Biosintesis Kolesterol.....	10
2.1.2 Metabolisme Kolesterol.....	25
2.1.3 Regulasi Jalur Biosintesis Kolesterol.....	41
2.1.4 Regulasi Proteolitik HMG-CoA.....	44
2.1.5 Regulasi Biosintesis Kolesterol pada Tingkat Transkripsi.....	45
2.2 Farmakogenomik: Variabel Genetik pada Respons Obat dan Penelitian Obat dengan Menggunakan Farmakogenomik.....	51
2.2.1 Farmakogenomik.....	51
2.2.2 Farmakokinetik Risiko tinggi.....	52
2.2.3 Farmakogenomik Klinis.....	54
2.2.4 Farmakogenetik Kombinasi.....	55





2.2.5 Variasi Genetik yang Digunakan untuk Memprediksi Respons Obat.....	56
2.2.6 Identifikasi Kontribusi Genetik Pada Berbagai Efek Obat.....	57
2.2.7 Variabel Efek Obat dan Varian Gen Tunggal.....	59
2.2.8 Efek-Luas Varian pada Gen-gen Lainnya.....	60
2.2.9 Uji Unbiased untuk Identifikasi Gen yang Memodulasi Efek Obat.....	62
2.2.10 Ras dan Farmakogenetik.....	63
2.3 Myopathy Akibat Simvastatin dan Variant SLCO1B1.....	66
2.3.1 Epidemiologi Myopathy Akibat Statin.....	67
2.3.2 Faktor Risiko Myopathy Akibat Statin.....	67
2.3.3 Mekanisme Myopathy Akibat Statin.....	68
2.3.4 Keadaan Klinis Myopathy.....	69
2.3.5 Penentuan Risiko Secara Klinis.....	69
2.3.6 Interaksi Obat.....	70
2.4 Variant Genetik SLCO1B1 Pada Myopathy.....	71
2.4.1 SCLO1B1.....	71
2.4.2 Nomenklatur.....	72
2.4.3 rs4149056 dan Kinetik Statin	72
2.4.4 rs4149056 dan Risiko Myopathy.....	73
2.4.5 Pilihan Uji Genetik.....	76
2.4.6 Penentuan Dosis Berdasarkan Gen.....	77
2.4.7 Keuntungan Potensial dan Risiko Pasien.....	78
2.5 Pengaruh Polimorfisme Genetik pada Farmakokinetik dan Farmakodinamik yang Berkaitan dengan Respons Obat.....	81
2.5.1 Variabilitas Individual pada Terapi Obat.....	81
2.5.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Respons Obat Individual.....	83
2.5.3 Genetik pada Respons Obat.....	85
2.5.4 Polimorfisme Genetik Target Obat.....	90
2.5.5 Polimorfisme Genetik Enzim Metabolisme Obat.....	90
2.5.5.1 Cytochromes P450.....	90
2.5.5.2 Enzim Metabolisme Obat yang Lain.....	92
2.6 Polimorfisme Genetik Transporter Ambilan Obat Hepatik: Organic Anion Transporting Polypeptide 1B1.....	92
2.6.1 Istilah Genomik.....	92
2.6.2 Struktur.....	93
2.6.3 Regulasi Ekspresi dan Transkripsional.....	94
2.6.4 Fungsi OATP1B1.....	96
2.6.5 Substrat Organic Anion Transporting Polypeptide 1B1.....	97
2.6.6 Senyawa Endogen.....	100
2.6.7 Obat.....	100
2.7 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Organic Anion Transporting.....	101
2.7.1 Studi Variant SLCO1B1 dan Fungsinya.....	101

2.7.2	Genetik Populasi.....	103
2.7.3	Efek pada Disposisi Obat In Vivo.....	105
2.7.4	Efek pada Disposisi Senyawa Endogen.....	109
2.7.5	Implikasi Klinis.....	111
2.8	SLCO1B1 sebagai Marker Prediksi.....	115
2.8.1	Fisiologi SLCO1B1.....	115
2.8.2	Farmakokinetik Efek Samping.....	117
2.8.3	Bukti Klinis.....	118
2.8.4	SLCO1B1 sebagai Intervensi Kepatuhan.....	121
2.9	<i>Carotid Intima-Media Thickness</i>	122
2.9.1	Hubungan <i>Carotid Intima-Media Thickness</i> dengan risiko Penyakit Jantung (<i>Cardiovascular Disease</i>).....	123
2.9.2	Nilai dan Limitasi <i>Carotid Intima-Media Thickness</i>	124
2.9.3	Pemeriksa <i>Carotid Intima-Media Thickness</i>	127
2.9.4	<i>Interpretasi Data Carotid Intima-Media Thickness</i>	127
2.9.5	Obat Jantung yang mempengaruhi <i>Carotid Intima-Media Thickness</i>	129
2.9.5.1	Obat Antihipertensi.....	130
2.9.5.2	<i>Niacin</i>	130
2.9.5.3	Statin.....	131
2.9.6	Potensi Nilai Klinis <i>Carotid Intima-Media Thickness</i>	132
2.9.7	Indikasi Pemeriksaan <i>Carotid Intima-Media Thickness</i>	132
2.10	Flow-Mediated Dilation.....	133
2.10.1	Pemeriksaan Flow-Mediated Dilation menggunakan Ultrasound.....	133
2.10.2	Pengukuran FMD.....	135
2.10.3	Persiapan Subyek.....	138
2.10.4	Pengukuran Baseline.....	141
2.10.5	Oklusi Vaskuler.....	144
2.10.6	Pengukuran Reactive Hyperemia (Post-cuff Release).....	146
2.10.7	Analisis FMD.....	148
2.10.8	Kalkulasi FMD.....	149
2.11	Ankle-Brachial Index (ABI).....	153
2.11.1	Terminologi dan Fisiologi ABI.....	154
2.11.2	Kondisi fisiologis yang mempengaruhi ABI saat istirahat.....	155
2.11.3	ABI pada Praktek Klinis.....	157
2.11.4	ABI Post-exercise.....	160
2.11.5	ABI tinggi abnormal.....	160
2.11.6	ABI dan monitoring pasien dengan PAD.....	161
2.11.7	ABI: Marker untuk risiko dan kejadian CVD.....	162
2.11.8	Hubungan antara ABI yang tinggi dengan factor risiko Kardiovaskuler dan Prevalensi Penyakit.....	164
2.11.9	Kondisi untuk Pengukuran ABI.....	167
2.11.10	Pengukuran ABI.....	169
2.11.11	Standar Kalkulasi ABI.....	174
2.11.12	Mode Kalkulasi ABI dan Prevensi CVD.....	178



2.11.13 Standar Pelaporan ABI pada Laporan Ilmiah.....	179
BAB 3 KERANGKA KONSEP PENELITIAN.....	181
3.1 Kerangka Konsep.....	181
3.2 Hipotesis Penelitian.....	191
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	192
4.1 Jenis dan Rancangan/Desain Penelitian.....	192
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	192
4.3 Populasi, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel.....	192
4.3.1 Populasi Penelitian.....	192
4.3.2 Besar Sampel.....	192
4.3.3 Teknik Pengambilan Sampel.....	193
4.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	193
4.4.1 Kriteria Inklusi.....	193
4.4.2 Kriteria Eksklusi.....	193
4.4.3 Kriteria <i>Drop Out</i>	193
4.5 Variabel Penelitian.....	193
4.5.1 Variabel Independen.....	193
4.5.2 Variabel Dependen.....	194
4.6 Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	194
4.7 Instrumen Penelitian.....	195
4.8 Bahan dan Alat.....	195
4.8.1 Bahan.....	195
4.8.2 Alat.....	195
4.9 Metode Pemeriksaan.....	195
4.9.1 Metode PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism).....	196
4.10 Alur Penelitian.....	198
BAB 5 HASIL.....	199
5.1 Karakteristik Subjek Penelitian.....	199
5.2 Frekuensi Gen SLCO1B1 dan Gen CYP3A4 pada Suku Jawa.....	201
5.3 Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Marker Aterosklerosis Dini (CIMT, FMD, ABI).....	202
5.4 Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Profil Lipid (Kolesterol total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol/HDL, dan TG).....	203
5.5 Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Faktor Risiko Aterosklerosis.....	204
5.6 Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Karakteristik Subjek Penelitian.....	205
5.7 Perbedaan antara Marker Aterosklerosis Dini (CIMT, FMD, ABI) dengan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol /HDL, TG).....	206
5.8 Perbedaan antara Marker Aterosklerosis Dini (CIMT, FMD, ABI) dengan Faktor Risiko Aterosklerosis Dini (Tekanan Darah Sistolik dan	



Un	Kebiasaan Merokok).....	209
Un	5.9 Perbedaan antara Marker Aterosklerosis Dini (CIMT, FMD, ABI) dengan Karakteristik Pasien (Usia, Jenis kelamin, BMI, Durasi Simvastatin).....	212
Un	5.10 Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol/HDL, TG) dengan Risiko Aterosklerosis Dini (Tekanan Darah Sistolik dan Kebiasaan Merokok).....	215
Un	5.11 Perbedaan Karakteristik Subjek Penelitian (Usia, Jenis kelamin, BMI, Durasi Simvastatin) dengan Risiko Aterosklerosis Dini (Tekanan Darah Sistolik dan Kebiasaan Merokok).....	217
Un	5.12 Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, TG) dengan Karakteristik Pasien (Usia, Jenis kelamin, BMI, Durasi Simvastatin).....	219
Un	BAB 6 PEMBAHASAN.....	224
Un	BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	249
Un	7.1 Kesimpulan.....	249
Un	7.2 Saran.....	254
Un	REFERENSI.....	255
Un	LAMPIRAN.....	287

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Jenis Lipoprotein -6	15
Tabel 2.2 Klasifikasi HDL -10	19
Tabel 2.3 Apolipoprotein -14	23
Tabel 2.4 Obat-obat yang Mencantumkan Informasi Farmakogenomik pada Labelnya	54
Table 2.5 Uji Identifikasi dan Validasi Pengaruh Genetik pada Respons Obat	58
Tabel 2.6 Varian Genetik yang Mempengaruhi Obat Kardiovaskuler	61
Tabel 2.7 Proporsi keanggotaan masing-masing populasi sampel pada structure-defined subclusters (Wilson J, 2001)	65
Tabel 2.8 Faktor Risiko Terjadinya Myopathy Akibat Statin	67
Tabel 2.9 Daftar Statin untuk Terapi Hiperkolesterolemia*	68
Table 2.10 Fenotip SLCO1B1 Berdasarkan pada Genotip	75
Tabel 2.11 Dosis untuk Simvastatin Apabila Terdapat Genotip rs4149056 (atau Fenotipnya)	80
Tabel 2.12 Efikasi dan Toksisitas <i>Dose-Dependent</i> Pemberian Simvastatin Selama 6 Minggu	83
Tabel 2.13 Polimorfisme CYP2D6 dan Sifatnya	87
Tabel 2.14 Substrat Endogen OATP1B1	97
Tabel 2.15 Substrat Xenobiotik OATP1B1	98
Tabel 2.16 Variasi Sekuens Nonsynonymous pada Gen <i>SLCO1B1</i>	102
Tabel 2.17 Efek Variasi Genetik <i>SLCO1B1</i> pada Farmakokinetik Obat	106
Tabel 2.18 Haplotipe <i>SLCO1B1</i> pada Berbagai Kelompok Etnik (Oshiro <i>et al.</i> , 2010)	116
Tabel 2.19 Sifat Farmakologi Statin	117
Tabel 2.20 <i>SLCO1B1</i> dan Risiko Myopathy	118
Tabel 2.21 Risiko Myopathy pada SEARCH yang distratifikasi oleh Genotip <i>SLCO1B1</i>	119
Tabel 2.22 Mean CIMT Karotis Dinding Jauh dan 75th persentil	127
Tabel 2.23 <i>Definiton of Risk and General Treatment Strategies After Atherosclerosis Screenig</i>	133
Tabel 2.24 Perubahan Velocity Darah sebagai akibat Insonation Angle	137
Tabel 2.25 Perbedaan pada FMD dengan menggunakan Data Smoothing Average 3, 5, dan 10 detik	141
Tabel 2.26 Perbedaan absolute dan variabilitas antara manual dan software evaluasi penentuan FMD	142
Tabel 2.27 Hasil diagnostic Ankle-Brachial Index versus metode lainnya: Receiver-Operating Characteristic Curve Analysis	158
Tabel 2.28 Studi penilaian Ankle-Brachial Index cutoff optimal untuk diagnosis penyakit arteri perifer	159

Tabel 4.1	Definisi Operasional Variabel Penelitian	194
Tabel 4.2	Campuran Seting Reagen	196
Tabel 4.3	Programming LightCycler 480 Instrument	197
Tabel 5.1	Karakteristik Subjek Penelitian	199
Tabel 5.2	Frekuensi Gen SLCO1B1 dan Gen CYP3A4 pada Suku Jawa	201
Tabel 5.3	Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Marker Aterosklerosis Dini (CIMT, FMD, ABI)	202
Tabel 5.4	Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol/HDL, dan TG)	203
Tabel 5.5	Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Faktor Risiko Aterosklerosis	204
Tabel 5.6	Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Karakteristik Subjek Penelitian	205
Tabel 5.7.1	Perbedaan antara CIMT dengan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol /HDL,TG)	206
Tabel 5.7.2	Perbedaan antara FMD dengan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol /HDL,TG)	207
Tabel 5.7.3	Perbedaan antara ABI dengan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol /HDL,TG)	208
Tabel 5.8.1	Perbedaan antara CIMT dengan Faktor Risiko Aterosklerosis Dini (Tekanan Darah Sistolik dan Kebiasaan Merokok)	209
Tabel 5.8.2	Perbedaan antara FMD dengan Faktor Risiko Aterosklerosis Dini	210
Tabel 5.8.3	Perbedaan antara ABI dengan Faktor Risiko Aterosklerosis Dini	211
Tabel 5.9.1	Perbedaan antara CIMT dengan Karakteristik Subjek Penelitian	212
Tabel 5.9.2	Perbedaan antara FMD dengan Karakteristik Subjek Penelitian	213
Tabel 5.9.3	Perbedaan antara ABI dengan Karakteristik Subjek Penelitian	214
Tabel 5.10.1	Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol , TG) dengan Tekanan Darah Sistolik	215
Tabel 5.10.2	Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol , TG) dengan Kebiasaan Merokok	216
Tabel 5.11.1	Perbedaan Karakter Subjek Penelitian (Usia, Jenis Kelamin, BMI, Durasi Simvastatin) dengan Tekanan Darah Sistolik	217
Tabel 5.11.2	Perbedaan Karakteristik Subjek Penelitian (Usia, Jenis kelamin, BMI, Durasi Simvastatin) dengan Kebiasaan Merokok	218
Tabel 5.12.1	Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, TG) dengan Usia	219
Tabel 5.12.2	Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, TG) dengan Jenis Kelamin	220
Tabel 5.12.3	Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, TG) dengan BMI	221
Tabel 5.12.4	Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, TG) dengan Durasi Simvastatin	222



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Biosintesis Kolesterol	11
Gambar 2.2 Jalur biosintesis kolesterol post squalene	13
Gambar 2.3 Struktur Lipoprotein (Biochemistry 39: 9763, 2000)	15
Gambar 2.4 Jenis Lipoprotein (Advances Protein Chemistry 45:303, 1994)	16
Gambar 2.5 Jalur Reseptor LDL (Annual Review of Biochemistry 46: 897, 1977)	24
Gambar 2.6 Jalur SREBP (Journal of Lipid Research 50: Supp S15, 2009)	24
Gambar 2.7 Diagram skematik transport kolesterol di jaringan, beserta tempat kerja obat-obat yang mempengaruhi metabolisme kolesterol.	26
Gambar 2.8 Jalur Lipoprotein Eksogen	29
Gambar 2.9 Sel Intestinal dan Metabolisme Sterol	30
Gambar 2.10 Jalur Lipoprotein Endogen	34
Gambar 2.11 Metabolisme HDL	37
Gambar 2.12 Regulasi HMG-CoA reductase	43
Gambar 2.13 Efluks Kolesterol dari Makrofag	49
Gambar 2.14 Lp (a)	50
Gambar 2.15 Farmakokinetik Risiko Tinggi	53
Gambar 2.16 PREDICT (Pharmacogenomics Resource for Enhanced Decisions in Clinical Care and Treatment) algorithm untuk simvastatin. Algorithm diaktivasi oleh pilihan dosis simvastatin saat proses peresepan secara elektronik pada Vanderbilt University Medical Center.	77
Gambar 2.17 Ilustrasi Kurva Dosis Respons Obat	82
Gambar 2.18 Simulasi Distribusi Fenotip Respons Obat	89
Gambar 2.19 Gen <i>SLCO1B1</i> Terletak di <i>Cluster</i> Lengan Pendek Kromosom 12	93
Gambar 2.20 Struktur transmembran OATP1B1, pada Posisi Nonsynonymous Single Nucleotide Polymorphisms.	94
Gambar 2.21 Transporter untuk senyawa endogen dan xenobiotik, ekspresi pada membran sinusoidal dan canalicular hepatosit (Klaassen and Aleksunes, 2010).	95
Gambar 2.22 Distribusi Global <i>SLCO1B1</i> *1A (c.388A-c.521T), Haplotype *1B (c.388G-c.521T), *5 (c.388A-c.521C), dan *15 (c.388G-c.521C) (Pasanen <i>et al.</i> 2008b)	104
Gambar 2.23 Efek Variant <i>SLCO1B1</i> c.521T>C pada Paparan (Area Under the Plasma Statin Concentration-Time Curve) berbagai Statin yang Berbeda (Niemi <i>et al.</i> (2006b) dan Pasanen <i>et al.</i> (2006b, 2007)).	109
Gambar 2.24 Efek variant <i>SLCO1B1</i> c.521T>C	113



Gambar 2.25	Jalur Uptake Statin	116
Gambar 2.26	Gambaran Arteri Karotis	126
Gambar 2.27	Representasi usia vaskuler berdasarkan pada CIMT.	132
Gambar 2.28	Skema Elemen Esensial untuk pemeriksaan Ultrasound FMD	136
Gambar 2.29	Kualitas gambar B-mode menggunakan probe yang frekuensinya berbeda-beda. A, 6 MHz; B, 9 MHz; C, 10 MHz; and D, 12 MHz. Tampak permukaan intima ke intima (I-I) dan media ke media (M-M). Gunakan probe 10-MHz untuk identifikasi endothelium yang sangat jelas.	138
Gambar 2.30	Penentuan velocity darah dan aliran darah menggunakan penempatan yang berbeda dari Doppler sample gate. A, terluar; B, pertengahan; C, terdalam. Perhatikan perbedaan velocity dan aliran darah diantara perbedaan penempatan sample gate.	144
Gambar 2.31	Hubungan antara FMD dengan penilaian shear rate yang berbeda yang dipertimbangkan pada saat normalisasi FMD: A: FMD vs peak shear; B: FMD vs shear AUC sampai diameter puncak; C: FMD vs total shear AUC pada 2 menit. Tatahan untuk masing-masing panel menggambarkan hubungan shear rate (shaded) yang digunakan pada analisis.	152
Gambar 2.32	Hazard ratio untuk mortalitas total pada laki-laki dan perempuan berdasarkan ankle-brachial index baseline semua studi gabungan pada ABI Collaboration (Fowkes <i>et al.</i> , 2008).	166
Gambar 2.33	Pengukuran tekanan ankle menggunakan probe Doppler: arteri posterior tibial (A) dan dorsalis pedis (B).	170
Gambar 2.34	Perbedaan antara tekanan ankle diukur dengan alat osilometrik (CASMED 740) dengan Doppler (sumbu y) sesuai band tekanan ankle yang diperoleh dari Doppler (sumbu x). Dalam plot kotak, garis menunjukkan persentil median dan marker luar menunjukkan 5% dan 95% persentil (Korno <i>et al.</i> , 2009).	173
Gambar 3.1	Pengaruh Farmakogenetika (SNP SLCO1B1 dan SNP CYP3A4) pada variasi respons terapi Simvastatin	181
Gambar 4.1	Grafik Melting rs414905	197
Gambar 4.2		198
Gambar 6.1	Kadar relative apolipoprotein B (ApoB) pada lipoprotein sirkulasi pada individu normolipidemic. Isi ApoB dihitung dalam nanomole per liter menggunakan 500.000 sebagai massa molekul (yaitu, low-density lipoprotein (LDL) 100 mg/dL atau 2000 nmol/L, very low-density lipoprotein (VLDL) 5 mg/dL atau 100 nmol/L, intermediate density lipoprotein (IDL) remnants 5 mg/dL atau 100 nmol/L dan lipoprotein(a) 10 nmol/L*]. *Berdasarkan median populasi.	243
Gambar 6.2.	Efek paparan low-density lipoprotein kolesterol (LDL-C) yang rendah oleh mekanisme penurunan LDL-C. Panel A menunjukkan efek varian genetic atau skor genetic yang menggabungkan berbagai variants pada gen yang mengkode target terapi penurunan LDL-C, disesuaikan dengan penurunan standard LDL-C sebesar 0,35 mmol/L, dibandingkan dengan efek penurunan LDL-C yang dimediasi	246



oleh variant pada gen reseptor LDL. Panel B menunjukkan efek terapi yang kerjanya promoter menurunkan LDL-C melalui jalur reseptor LDL, disesuaikan per milimol per liter penurunan LDL-C. data genetic random pada Panel A dan data uji random pada Panel B keduanya menunjukkan bahwa efek LDL-C pada risiko kejadian kardiovaskuler kira-kira hampir sama dengan perubahan per unit LDL-C untuk setiap mekanisme penurunan LDL-C via up-regulation reseptor LDL dimana perubahan LDL-C (yang digunakan pada obat klinis untuk memperkirakan perubahan kadar partikel LDL) sesuai dengan perubahan kadar partikel LDL.

Gambar 7.1. Skema yang memperlihatkan terapi untuk menurunkan low-density lipoprotein (LDL) via jalur reseptor LDL, up-regulate reseptor LDL sehingga meningkatkan klirens LDL.

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Sertifikat Etik.....	287
Lampiran 2 Surat Keterangan Bebas Plagiat.....	288
Lampiran 3 Genotyping.....	289
Lampiran 4 Hasil Uji Statistik.....	293
Lampiran 5 Dokumentasi.....	305

DAFTAR SINGKATAN

- 4S : Scandinavian Simvastatin Survival Study
- AA : African American
- ABC : ATP-binding cassette
- ABC : ATP-binding cassette transporters
- ABCA1 : ATP-binding cassette protein A1
- ABCG1 : ATP-binding cassette transporter G1
- ABI : Ankle-Brachial Index
- ACAT : acyl-CoA cholesterol acyl transferase
- ACE : angiotensin I-converting enzyme
- AD : Alzheimer's disease
- ADD1 : adipocyte differentiation-1
- ADME : absorption, distribution, metabolism, excretion
- ADR : adverse drug reaction
- AhR : aromatic hydrocarbon receptor
- ALT : alanine aminotransferase.
- AMPK : adenosine mono phosphate-activated protein kinase
- Apo A-II : Apolipoprotein A-II
- Apo : apolipoprotein
- ARBITER : Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of
- ARIC : Atherosclerosis Risk in Communities
- As : Asian
- AUC : under the plasma concentration-time curve
- BCR-ABL : breakpoint cluster region-Abelson kinase fusion protein
- BCRP : breast cancer resistance protein
- b-HLH : basic helix-loop-helix
- BMI : Body mass index
- BSEP : bile salt export pump
- C : Cholesterol
- CACS : calcification score
- CAD : coronary artery disease
- CAD : coronary artery disease
- CAE : composite adverse event
- Calu/CALU : calumenin
- CaMKK β : calmodulin-dependent protein kinase kinase-beta
- CARE : Cholesterol and Recurrent Events trial
- CBZ : carbamazepine
- CCK-8 : cholecystokinin octapeptide
- CCR : C-C chemokine receptor
- CDCA-NBD : chenodeoxychilyl-(Nepsilon-NBD)- lysine
- CE : Cholesteryl ester
- CETP : Cholesteryl ester transfer protein
- CgamF : cholyl-glycylamido-fluorescein
- CHO : Chinese hamster ovary
- CI : confidence interval
- CIMT : Carotid intima-media thickness
- CK : creatine kinase
- CLAS : Cholesterol-Lowering Atherosclerosis Study
- CLF : choly1-1,-lysyl-fluorescein
- CML : chronic myeloid leukemia
- CNV : copy number variant



- CTD : C-terminal domain
- CTT : Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration
- CV : coefficient of variation
- CVD : cardiovascular disease
- CYP : cytochrome P450 isoenzymes
- D : deletion
- DADLE : [D-Ala²-Leu⁵]-enkephalin (opioid peptide analog)
- DDI : drug-drug interaction
- Depkes : departemen kesehatan
- DGAT : diacylglycerol transferase
- DHEAS : dehydroepiandrosterone sulfate
- DHR : drug hypersensitivity reaction
- DILI : drug-induced liver injury
- DIT : diffuse intimal thickening
- DMPK : drug metabolism and pharmacokinetics
- DPDPE : [D-penicillamine]enkephalin (opioid-receptor antagonist)
- E1S : estrone-3-sulfate
- E217 β G : estradiol-17 β -D-glucuronide
- ECM : extracellular matrix
- EE2S : 17 α -ethinylestradiol sulfate
- EM : extensive metabolizer
- ENHANCE : Hypercholesterolemia Enhances Atherosclerosis Regression
- ER : endoplasmic reticulum
- ER α : estrogen receptor alpha
- FATP4 : Fatty acid transport protein 4
- FATPs : Fatty acid transport proteins
- FDA : Food and Drug Administration
- FEV1 : forced expiratory volume in 1 s
- FMD : Flow-Mediated Dilatation
- FRS : Framingham Risk Score
- FXR : farnesoid X receptor
- Gd-EOB-DTPA : gadolinium-ethoxybenzyl-diethylenetriamine pen-taacetic acid
- GGCX : γ -glutamyl carboxylase
- GIST : gastrointestinal stromal tumor
- GO-DARTS : Genetics of Diabetes Audit and Research
- GPIHBP1 : Glycosylphosphatidylinositol anchored high density lipoprotein
- GR : glucocorticoid receptor
- GWAS : genome-wide association study
- HDL : high-density lipoprotein
- HEK293 : human embryonic kidney 293 cells
- HepG2 : a human liver carcinoma cell line
- HLA : human leukocyte antigen
- HMGCoA : 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA
- HMGR : 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase
- HMGR : HMG-CoA reductase
- HNF1 : hepatocyte nuclear factor 1
- HOPE : Heart Outcomes Prevention Evaluation
- HS : Taken at bedtime
- Hsp70 : 70-kDa heat-shock protein
- I : insertion
- IDL : Intermediate density lipoproteins
- IDOL : Inducible degrader of the low-density lipoprotein receptor

IM : intermediate metabolizer.
 INR : international normalized ratio
 Insig : insulin regulated protein (Insig)
 IPP : isopentenyl pyrophosphate
 J : Japanese
 LCAT : Lecithin cholesterol acyltransferase
 LD : linkage disequilibrium
 LDL : low-density lipoprotein
 LDL-C : low-density lipoprotein cholesterol
 LIPID : Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease
 Lp (a) : Lipoprotein (a)
 LQTS : long QT syndrome
 LRP : LDL receptor related protein
 LXRs : liver X receptor
 MAF : minor allele frequency
 MATE1 : multidrug and toxin extrusion protein 1
 MDCKII : Madin-Darby canine kidney cells
 METEOR : Measuring Effects on Intima-Media Thickness: study Evaluation
 MGAT : monoacylglycerol acyltransferase
 MHC : major histocompatibility complex
 MI : myocardial infarction
 miR : microRNA
 MRP : multidrug resistance-associated protein
 MTP : Microsomal triglyceride transfer protein
 MVA : mevalonate
 NAFLD : non-alcoholic fatty liver disease
 NASH : non-alcoholic steatohepatitis
 NAT : N-acetyltransferase
 NAT2 : N-acetyltransferase 2
 NCEP : National Cholesterol Education Program
 NCEP-ATP III : National Cholesterol Education Program – Adult Treatment
 NHLBI : National Heart, Lung, and Blood Institute
 NNRTI : non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor
 NPC1L1 : Niemann-Pick C1-like 1
 NTCP : sodium/taurocholate cotransporting peptide
 OAT : organic anion transporter
 OATP : organic anion-transporting polypeptide
 OATP1B1 : organic anion-transporting polypeptide 1B1
 OCT : organic cation transporter
 OR : odds ratio
 OST α -OST β : heteromeric organic solute transporter.
 P450 : cytochrome P450
 PAD : peripheral artery disease
 PBREM : phenobarbital-responsive enhancer module
 PCR : polymerase chain reaction
 PDGFR : platelet-derived growth factor receptor
 Pgp : P-glycoprotein
 PJK : penyakit jantung koroner
 PJS : Peutz-Jeghers syndrome
 PKA : protein kinase
 PLTP : phospholipid transfer protein
 PM : poor metabolizer
 POR NADPH : cytochrome P450 oxidoreductase

PP2C : protein phosphatase 2C
 PPI-1 : phosphatase inhibitor-1
 PPM : peroxisome proliferator-activated receptor
 PPV : positive predictive value
 PREDICT : Pharmacogenomics Resource for Enhanced Decisions in Clinical
 QD : Once Dialy
 Riskedas : riset kesehatan dasar
 RR : relative risk
 RXRs : retinoid X receptors
 S1P : site-1 protease
 S2P : site-2 protease
 SCAP : SREBP cleavage-activating protein
 SCFR : mast/stem cell growth factor receptor
 SEARCH : Study of the Effectiveness of Additional Reductions in
 Cholesterol and Homocysteine
 SERM : selective estrogen receptor modulator
 SHAPE : Screening for Heart Attack Prevention and Education
 SJS : Stevens-Johnson syndrome
 SLC : solute carrier group of membrane transporters
 SLCO : solute carrier organic anion transporter
 SLCO1B1 : organic anion transporting polypeptide 1B1
 SNP : single-nucleotide polymorphism
 SNPs : snips
 SR-B1 : scavenger receptor B1
 SRE-1 : sterol regulatory element-1
 SREBP : sterol regulated element binding protein
 SSD : sterol-sensing domain
 STRENGTH : Statin Response Examined by Genetic Haplotype Markers
 TEN : toxic epidermal necrosis
 TG : triglyceride
 TNF : tumor necrosis factor
 TPMT : thiopurine S-methyltransferase
 UGT : UDP glucuronosyl transferase
 UGT1 : UDP-glucuronosyltransferase-1
 ULN : Upper Limit of Normal
 UM : ultrarapid metabolizer
 VDR : vitamin D receptor
 VKOR : vitamin K epoxide reductase
 VKORC1 : VKOR complex subunit 1
 VLDL : Very low density lipoproteins
 WOSCOPS : West of Scotland Coronary Prevention Study
 XO : Xenopus laevis oocyte
 XREM : xenobiotics-responsive enhancer module.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit jantung merupakan penyebab utama kematian di Amerika Serikat, dengan hampir sekitar 80 juta pasien dengan penyakit jantung (*cardiovascular disease (CVD)*) (*National Heart, Lung, and Blood Institute*). Prevalensi Penyakit Jantung Koroner di Indonesia dari data Riskesdas Depkes 2013 sebesar 0,5 persen, dan berdasarkan terdiagnosis dokter atau gejala sebesar 1,5 persen.

Prevalensi Penyakit Jantung Koroner di Jawa Timur pada umur ≥ 15 tahun adalah 0,5 persen. Prevalensi PJK meningkat seiring dengan bertambahnya umur, tertinggi pada kelompok umur 65-74 tahun yaitu 2,0 persen dan 3,6 persen, menurun sedikit pada kelompok umur ≥ 75 tahun. Prevalensi PJK yang didiagnosis dokter maupun berdasarkan diagnosis dokter atau gejala lebih tinggi pada perempuan (0,5% dan 1,5%). Prevalensi PJK lebih tinggi pada masyarakat tidak bersekolah dan tidak bekerja. Berdasar PJK terdiagnosis dokter prevalensi lebih tinggi di perkotaan, namun berdasarkan terdiagnosis dokter dan gejala lebih tinggi di pedesaan dan pada kuintil indeks kepemilikan terbawah (Riskesdas Depkes 2013).

Hasil Riskesdas 2018: Prevalensi penyakit Jantung (diagnosis dokter) pada penduduk semua umur: Indonesia: 1,5%, Jatim: 1,5%. Prevalensi Hipertensi berdasarkan diagnosis dokter pada penduduk umur ≥ 18 tahun: Indonesia: 8,4%, Jatim: 8%. Prevalensi Hipertensi berdasarkan diagnosis dokter atau minum obat antihipertensi pada penduduk umur ≥ 18 tahun: Indonesia: 8,8%, Jatim: 8,6%.

Prevalensi hipertensi berdasarkan hasil pengukuran pada penduduk umur ≥ 18 tahun: Indonesia 34,1%. Jatim: 36,3%.

Dislipidemia, hipertensi dan diabetes melitus merupakan faktor-faktor risiko yang penting untuk CVD. Data epidemiologis di negara-negara berkembang menunjukkan prevalensi ketiga faktor risiko tersebut masih cukup tinggi, karena masih belum ada program pencegahan yang terencana dan komprehensif yang dilaksanakan di tingkat populasi (Santoso, 2009).

Dislipidemia merupakan masalah kesehatan yang tidak dapat dipisahkan dari berbagai penyakit kardiovaskular. Dalam praktek sehari-hari pun penanganan masalah dislipidemia menjadi bagian yang penting dan ikut menentukan keberhasilan penatalaksanaan penyakit kardiovaskular (Soerianata, 2009).

Kadar lipid dan lipoprotein darah, di antara beberapa faktor risiko utama aterosklerosis, telah terbukti sebagai faktor risiko yang sangat kuat dan meyakinkan terhadap proses aterosklerosis secara umum, maupun dengan PJK secara khusus. Tingginya kadar kolesterol total maupun kolesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*) dalam suatu populasi berkaitan sangat erat dengan tingginya kejadian PJK, begitu pula sebaliknya. Sumber ganda (*dual source*) kolesterol sangat mempengaruhi kadar kolesterol seseorang, yaitu sumber eksogen (berasal dari makanan), maupun sumber endogen (berasal dari sintesis kolesterol di hati) (Rifqi, 2009).

Kolesterol-LDL masih merupakan target utama dan untuk menentukan target kolesterol-LDL yang perlu dicapai dengan tetap mempertimbangkan adanya faktor risiko PJK lain (*global risk score* dengan menggunakan *Framingham point score*). Dengan cara ini dapat ditentukan tingkat risiko seseorang apakah termasuk risiko rendah, sedang, atau tinggi. Makin tinggi risiko seseorang untuk terkena PJK makin rendah target kolesterol LDL yang harus dicapai. Penentuan kolesterol LDL sebagai target utama terapi dislipidemia

didasari oleh temuan penelitian dasar, penelitian pada hewan, studi epidemiologi, dan studi klinis (Rifqi, 2009).

Perilaku konsumsi makanan berisiko, antara lain kebiasaan mengonsumsi makanan/minuman manis, asin, berlemak, dibakar/dipanggang, berkafein, dan berpenyedap adalah perilaku berisiko penyakit degeneratif. Proporsi nasional penduduk dengan perilaku konsumsi makanan berlemak, berkolesterol dan makanan gorengan ≥ 1 kali per hari 40,7 persen. Lima provinsi tertinggi di atas rerata nasional adalah Jawa Tengah (60,3%), DI Yogyakarta (50,7%), Jawa Barat (50,1%), Jawa Timur (49,5%), dan Banten (49,8%) (Riskesdas Depkes 2013).

Proporsi penduduk usia ≥ 15 tahun dengan kadar LDL di atas nilai optimal, dan penentuan nilai *cut off* merujuk pada NCEP-ATP III, didapatkan kelompok penduduk dengan kategori *near optimal / above optimal* (nilai LDL 100-129 mg/dl), *borderline* tinggi (nilai LDL 130-159 mg/dl), tinggi (nilai LDL 160-189 mg/dl), dan sangat tinggi (nilai LDL ≥ 190 mg/dl). Secara keseluruhan didapatkan sebagian besar penduduk Indonesia masuk dalam kategori *near optimal / above optimal* (60,3%), dan lebih dari 15,9 persen penduduk dengan kadar LDL tinggi dan sangat tinggi. Secara umum, angka proporsi kategori gabungan *near optimal* dan *borderline* hampir sama menurut statistik (Riskesdas Depkes 2013).

Simvastatin merupakan obat golongan statin, obat kolesterol yang banyak digunakan, *well-tolerated*, dan efektif untuk menurunkan kadar kolesterol-LDL dan menurunkan risiko PJK (*Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration*. Lancet 2010).

Simvastatin dosis standard dapat menurunkan kadar kolesterol LDL sekitar $\sim 40\%$ (Jones *et al.*, 1998), dan semakin besar penurunan kadar kolesterol LDL akan makin besar pula penurunan risiko PJK (*Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration*. Lancet, 2010). Respons terhadap terapi simvastatin sangat bervariasi antar individual dan ada pengaruh genetik

(Mangravite *et al.*, 2006). Namun evidens farmakogenetik dan pengaruh respons risiko terhadap statin masih sangat terbatas. Jadi masih belum jelas apakah variasi genetik berhubungan dengan efek dan manajemen klinis terapi simvastatin.

Hubungan genetik dengan respons lipid terhadap terapi simvastatin telah dibuktikan (misalnya dengan APOE, SLCO1B1, LPA, PCSK9, dan HMGCR), tetapi efeknya relatif sedang dan replikasinya tidak konsisten (Thompson *et al.*, 2009). Selain itu, masih sangat sedikit yang diketahui mengenai pengaruh variant yang berhubungan dengan respons lipid pada penurunan PJK dengan terapi simvastatin. Sebagian besar studi terdahulu mengenai respons lipid terhadap simvastatin menggunakan pendekatan kandidat-gen (Mega *et al.*, 2009). Hubungan respons lipid yang paling baik adalah dengan gen-gen yang mempunyai hubungan yang valid dengan efek samping akibat simvastatin atau kadar lipid (SEARCH Collaborative Group, 2008). Selain itu, gen-gen yang berhubungan dengan farmakokinetik dan farmakodinamik simvastatin (Link, 2009) dan risiko PJK (Schunkert *et al.*, 2011) merupakan kandidat yang baik untuk variasi respons terhadap terapi statin.

Respons pasien terhadap pemberian suatu obat tidaklah sama. Perbedaan yang terjadi adalah akibat adanya variasi genetik terhadap respons obat. Salah satu cara menganalisa efikasi dan efek samping suatu obat adalah dengan melalui pendekatan genetik. Tujuannya untuk mengetahui keadaan tubuh sehingga dapat meningkatkan keberhasilan suatu terapi.

Pada populasi yang besar, terapi yang diberikan kepada pasien kadang berhasil kadang tidak berhasil. Kegagalan terapi menyebabkan efek samping yang parah, sampai kematian. Variabilitas individual yang besar pada efikasi dan keamanan obat serta hubungannya dengan respons obat, masih belum sepenuhnya dipahami. Faktor-faktor yang menyebabkan variasi pada respons

obat sangatlah banyak dan kompleks. Dari hasil penelitian klinis pada akhir tahun 1950, didapatkan bahwa variasi genetik pada manusia merupakan penentu penting pada variabilitas individual terhadap respons obat (Eichelbaum *et al.*, 2006). Dari pasien yang diteliti, didapatkan kadar obat dalam darah dan urin pasien yang sangat tinggi atau sangat rendah, berupa fenotip spesifik respons obat, dan pembawa sifat biokimia yang menyebabkan variasi kadar obat yang diwariskan. Variasi individual respons obat didapatkan lebih besar pada anggota populasi (variabilitas populasi) dibandingkan dengan pada individu yang sama pada waktu yang berbeda (variabilitas intrapatient), dan hal ini menunjukkan bahwa faktor keturunan merupakan penentu utama respons obat (Kalow *et al.*, 1998). Penemuan klinis ini menjadikan farmakogenetik sebagai kontributor genetik pada variabilitas individual obat.

Terdapat beberapa gen yang bertanggung jawab pada perbedaan metabolisme dan respons obat. Salah satunya adalah gen cytochrome P450 (CYP). Gen ini mengkode enzim metabolisme cytochrome P450 dan didapatkan di liver. Enzim ini berperan pada pemecahan dan klirens berbagai obat. Lebih dari 80 persen obat, dimetabolisme oleh 5 enzim utama cytochrome P450, yaitu CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9, dan CYP3A4/5 (Ingelman-Sundberg, 2005).

Dalam 10 tahun terakhir ini, penelitian mengenai peran transporter membran pada farmakokinetik dan respons obat semakin meningkat (Giacomini *et al.*, 2010). Transporter *influx* dan *efflux*, ekspresinya pada membran plasma sel-sel terpoliarisasi pada jaringan, yang berperan dalam farmakokinetik, jadi mempengaruhi absorpsi, distribusi jaringan, dan eliminasi obat. Transporter juga berperan menentukan kadar obat dalam plasma dan jaringan perifer, jadi mempengaruhi efikasi dan toksisitas obat. Untuk dapat dieliminasi, senyawa endogen dan xenobiotik termasuk obat, harus melalui liver. *Organic anion-transporting polypeptide 1B1* (OATP1B1) merupakan transporter *influx* utama

yang ekspresinya pada membran basolateral hepatosit (Klaassen & Aleksunes, 2010).

Risiko CVD dapat diturunkan dengan mengubah gaya hidup dan terapi obat. Terapi untuk menurunkan risiko harus diberikan pada pasien dengan risiko absolut (*Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults*). Aterosklerosis merupakan salah satu penyebab CVD, tidak selalu dapat diketahui dengan pemeriksaan biasa. Carotid intima-media thickness (CIMT), diperiksa dengan *B-mode ultrasound* merupakan marker untuk aterosklerosis dan dapat digunakan untuk mendeteksi proses penyakit bahkan pada aterosklerosis subklinis. Karena aterosklerosis merupakan komponen patologis CVD yang baik, maka marker aterosklerosis seperti CIMT dapat digunakan untuk menyaring risiko CVD dan mengoptimalkan pencegahan. Kelebihan CIMT yaitu: *non-invasive*, relatif tidak mahal, dan dapat diulangi tanpa efek samping. Carotid intima-media thickness berhubungan dengan CVD dan merupakan prediktor independen stroke dan infark miokard. Jadi, CIMT berguna untuk klarifikasi risiko CVD, terutama pada pasien dengan risiko intermediet pada pemeriksaan risiko konvensional. Skrining untuk penyakit subklinis walaupun pada pasien dengan risiko kecil sangat berguna, terutama pada pasien dengan riwayat keluarga CVD prematur atau pasien dengan faktor risiko. Deteksi aterosklerosis subklinis membuat klinisi dapat menekankan pencegahan sebelum terjadinya CVD dan untuk pemeriksaan peningkatan ketebalan arteri, seperti pada *occult underlying insulin-resistant condition* atau residual lipid risk markers.

Terapi dengan obat dapat menghentikan progresifitas atau menurunkan CIMT.

Carotid intima-media thickness diukur menggunakan *B-mode ultrasound* yang menggambarkan ketebalan lapisan intima dan lapisan media arteri karotis. Walaupun penyebab penebalan dinding arteri berhubungan dengan faktor-faktor non-aterosklerotik (yaitu, proses adaptasi yang sangat berhubungan dengan usia

dan tekanan darah), penebalan arteri juga dapat berhubungan dengan mekanisme yang menyebabkan aterosklerosis. Tipe penebalan ini secara patologis berbeda dengan penebalan adaptasi dan merupakan perkembangan awal aterosklerosis (Finn *et al.*, 2009).

Plak aterosklerosis secara signifikan meningkatkan ketebalan dinding arteri. Definisi plak menurut *The Mannheim Intima-media Thickness Consensus*

Panel yaitu *isolated* CIMT sebesar $\geq 1,5$ mm atau $\geq 50\%$ di sekeliling IMT (Touboul *et al.*, 2004), sedangkan menurut Spence JD, ketebalan maksimal 1 mm sudah merupakan plak (Spence, 2006). CIMT dapat mengidentifikasi aterosklerosis dengan atau tanpa stenosis, aterosklerosis non-obstruksi. Hal ini penting karena sebagian besar serangan jantung (*cardiovascular events*) melibatkan plak arterial non-stenosis (Little *et al.*, 1988). Jadi, CIMT dapat mendeteksi progresifitas penyakit aterosklerosis dan aterosklerosis subklinis (Sharma *et al.*, 2009).

Pemeriksaan fungsi endotel dengan FMD mencerminkan bioassay fungsional untuk bioavailabilitas endothelium-derived NO (Green, 2005). Saat uji FMD, vasodilatasi terjadi setelah peningkatan akut aliran darah, yang diinduksi via tahanan sirkulasi pada lengan (*suprasystolic cuff occlusion*) selama jangka waktu tertentu. Secara khusus, hiperemia ini meningkatkan laminar *shear-forces* *paralel* dengan aksis panjang pembuluh darah (Niebauer dan Cooke, 1996) yang ditransduksi via luminal mechanoreceptor ke sel endotelial. Kejadian ini meningkatkan ekspresi G-protein phosphokinaseA, menandakan peningkatan aktivitas endothelial NO synthase, yang mengkatalisa konversi L-arginine menjadi NO (Sessa, 2004). NO kemudian berdifusi ke dalam tunica media, dimana terjadi aktivasi soluble guanylate cyclase, yang kemudian mengubah GTP menjadi GMP untuk menginduksi relaksasi otot polos dan kemudian terjadi vasodilatasi. Peningkatan diameter arterial, sebagai akibat dari hiperemia reaktif,

dibandingkan dengan diameter baseline dan dinyatakan dengan persentase diameter baseline (% FMD).

Ankle-brachial index (ABI) merupakan rasio tekanan darah sistolik pada ankle terhadap tekanan darah sistolik pada arteri brachialis. Istilah ini digunakan pertama kali oleh Winsor (Winsor, 1950) pada tahun 1950, yang awalnya bertujuan untuk diagnosis noninvasif peripheral artery disease (PAD) tungkai (Yao *et al.*, 1969). Kini ABI digunakan sebagai indikator aterosklerosis vaskuler dan sebagai marker prognostik untuk penyakit kardiovaskuler, walaupun belum timbul keluhan PAD (Ankle Brachial Index Collaboration, Fowkes FG *et al.*, 2008).

1.2 Rumusan Masalah

- a. Apakah ada polimorfisme gen SLCO1B1 dan gen CYP3A4 pada suku Jawa yang menggunakan simvastatin.
- b. Apakah ada perbedaan profile lipid dan marker aterosklerosis dini pada pasien dengan dan tanpa polimorfisme gen SLCO1B1 dan gen CYP3A4 pasien suku Jawa yang menggunakan simvastatin.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mempelajari Polimorfisme gen SLCO1B1 dan gen CYP3A4 pasien suku Jawa yang menggunakan simvastatin dan perbedaan profile lipid dan marker aterosklerosis dini pada pasien dengan dan tanpa polimorfisme gen SLCO1B1 dan gen CYP3A4.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui frekuensi polimorfisme gen SLCO1B1
- b. Mengetahui frekuensi polimorfisme gen CYP3A4

c. Analisa perbedaan gen SLCO1B1 pada marker aterosklerosis dini (CIMT, FMD, ABI)

d. Analisa perbedaan polimorfisme gen SLCO1B1 pada profil lipid (Kolesterol total, LDL, HDL, Rasio kolesterol, TG)

e. Analisa perbedaan polimorfisme gen SLCO1B1 pada risiko aterosklerosis dini (Kebiasaan merokok, Tekanan Darah Sistolik)

f. Analisa perbedaan polimorfisme gen SLCO1B1 pada karakteristik subjek penelitian (Usia, Jenis kelamin, BMI, Durasi Simvastatin)

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Klinis

Bila didapatkan data mengenai polimorfisme gen SLCO1B1 (Snpr rs4149056T>C) dan gen CYP3A4, maka pemberian terapi simvastatin akan sesuai dengan genotip masing-masing pasien.

1.4.2 Akademik

- a. Bidang farmakogenomik dapat dilakukan di Surabaya, Indonesia
- b. Adanya data mengenai polimorfisme gen SLCO1B1 dan gen CYP3A4 pada suku Jawa

1.4.3 Kebijakan

Pemberian simvastatin tidak lagi pada seluruh pasien dislipidemia, tetapi sesuai pola genetik, untuk menghindari efek samping dan meningkatkan efikasinya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biosintesis, Metabolisme dan Regulasi Kolesterol

2.1.1 Biosintesis Kolesterol

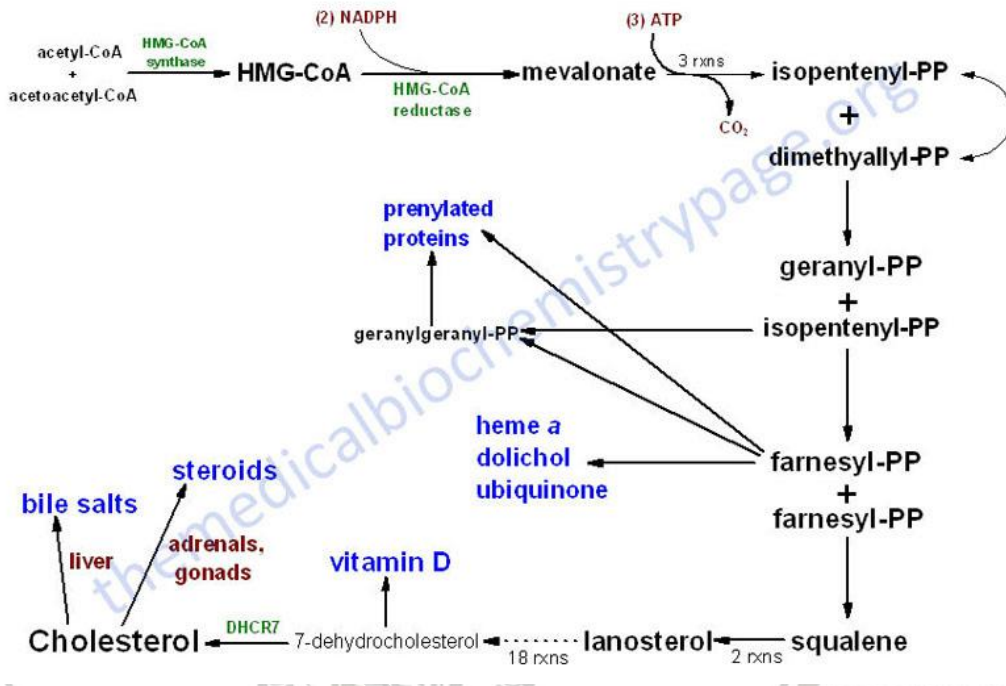
Kolesterol (cholesterol), berasal dari bahasa Yunani: *chole* artinya empedu, *stereos* artinya solid/padat, dan *ol* artinya alkohol. Kolesterol merupakan senyawa kimia organik, *waxy* steroid dari lemak. Kolesterol merupakan komponen struktural esensial membran sel. Selain itu kolesterol juga berfungsi sebagai prekursor untuk biosintesis hormon steroid, asam empedu, dan vitamin D (Hanukoglu, 1992). Kolesterol merupakan sterol utama yang disintesa oleh hewan, terutama di liver. Sedangkan tumbuhan tidak mengandung kolesterol, tetapi ada senyawa yang strukturnya mirip dengan sterol yaitu phytosterol.

Walaupun diperlukan oleh tubuh, apabila berlebihan maka kolesterol meningkatkan risiko terjadinya penyakit kardiovaskuler. Framingham Heart Study, National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) – melakukan banyak penelitian untuk mencari penyebab penyakit jantung dan stroke. Jumlah penderita penyakit jantung (cardiovascular disease – CVD) terus meningkat dan telah menjadi suatu endemis di Amerika. Penelitian yang dilakukan di Universitas Boston, hasilnya menyatakan bahwa pada suatu populasi, pasien dengan kadar kolesterol total yang tinggi, maka insidens terjadinya coronary artery disease (CAD) juga tinggi (Olin, 1998).

Kolesterol ada dua jenis: kolesterol HDL (yang disebut dengan 'kolesterol baik') dan kolesterol LDL (yang disebut dengan 'kolesterol jahat'). Bakteri atau senyawa infeksius lainnya dapat menyebabkan kerusakan dinding pembuluh darah arteri. Kolesterol menempel pada dinding pembuluh darah yang kasar ini, sehingga kemudian terjadi proses aterosclerosis.

Semua sel-sel dalam tubuh membentuk kolesterol, tetapi kecepatan dan jumlah produksinya berbeda-beda tergantung jenis sel dan fungsi organnya.

Sekitar 20–25% dari total produksi kolesterol harian terjadi di liver; sedangkan organ lain yang sintesa kolesterolnya lumayan banyak adalah intestin, kelenjar adrenal, dan organ reproduksi.



Gambar 2.1 Biosintesis Kolesterol

Lima tahapan proses sintesis kolesterol:

1. Acetyl-CoA dikonversi menjadi 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMGCoA)
2. HMG-CoA dikonversi menjadi mevalonate
3. Mevalonate dikonversi menjadi isoprene based molecule, isopentenyl pyrophosphate (IPP), dengan melepaskan CO₂
4. IPP dikonversi menjadi squalene
5. Squalene dikonversi menjadi kolesterol

Proses biosintesis kolesterol diawali dari konversi acetyl-CoA dan acetoacetyl-CoA menjadi HMG-CoA (3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA) dengan

bantuan enzim HMG-CoA sintase (Gambar 2.1). Acetyl-CoA berasal dari fatty acid non esensial, trans-fatty acid, lemak jenuh, serta karbohidrat. Dengan kata lain, kolesterol dibentuk dari kelebihan kalori dari karbohidrat dan lemak. Selain dari sintesis ini, HMG-CoA dapat berasal dari sintesis badan keton di mitokondria, perbedaannya HMG-CoA ini disintesis di sitoplasma, sedangkan jalur dan enzim-enzimnya sama saja.

HMG-CoA dengan bantuan enzim HMG-CoA reductase (HMGR) akan direduksi menjadi mevalonate. HMGR merupakan enzim yang terdapat pada endoplasmic reticulum. Katalisis oleh HMGR ini merupakan sintesis kolesterol yang bersifat *rate limiting* dan irreversibel, dan enzim ini merupakan tempat kerja obat penurun kadar kolesterol jenis statin (HMG-CoA reductase competitive inhibitor).

Mevalonate kemudian dikonversi menjadi 3-isopentenyl pyrophosphate dalam tiga reaksi dengan bantuan ATP. Mevalonate di-dekarboksilasi menjadi isopentenyl pyrophosphate, yang merupakan metabolit penting untuk berbagai reaksi biologis. Tiga molekul isopentenyl pyrophosphate berkondensasi membentuk farnesyl pyrophosphate dengan bantuan geranyl transferase. Dua molekul farnesyl pyrophosphate kemudian berkondensasi membentuk squalene dengan bantuan squalene synthase di endoplasmic reticulum. Oxidosqualene cyclase kemudian mensiklisasi squalene untuk membentuk lanosterol. Akhirnya, lanosterol dikonversi menjadi kolesterol melalui 19 proses yang rumit (Berg, 2002).

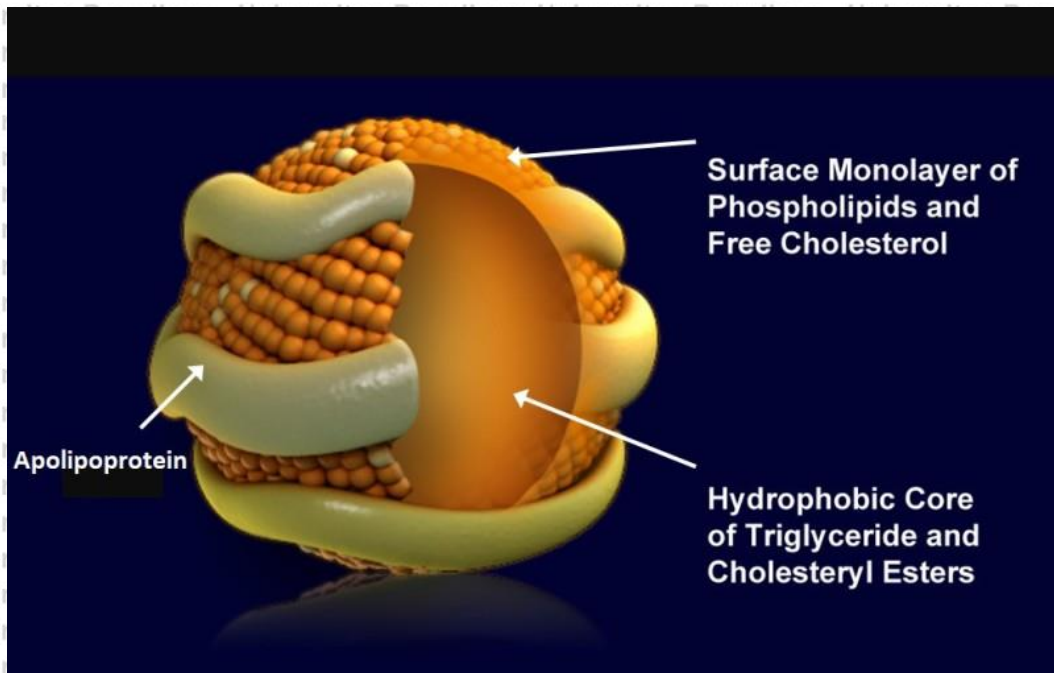
Mekanisme dan regulasi kolesterol ini ditemukan oleh Konrad Bloch dan Feodor Lynen, yang pada tahun 1964 mendapat hadiah Nobel.

Lipid dan Lipoprotein

Kolesterol dan trigliserida merupakan lipid yang tidak larut dalam air, sehingga ditransport bersama dengan protein dalam sirkulasi. Fatty acid dalam jumlah besar dari makanan ditransport sebagai trigliserida untuk mencegah toksisitas. Lipoprotein ini berperan penting pada absorpsi dan transport lipid dietary oleh usus halus, pada transport lipid dari liver ke jaringan perifer, dan transport lipid dari jaringan perifer ke liver dan intestin (transport kolesterol reverse). Fungsi sekundernya adalah transport senyawa toksik asing hidrofobik dan amphipathic, seperti endotoksik bacterial, dari area invasi dan infeksi (Feingold dan Grunfeld, 2012).

Struktur Lipoprotein

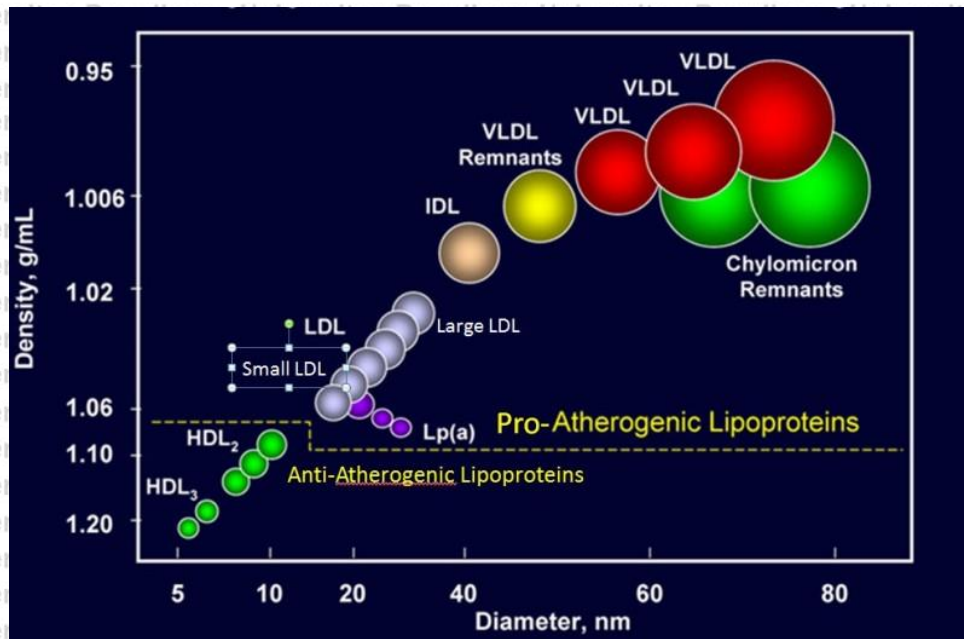
Lipoprotein merupakan partikel kompleks yang memiliki inti hidrofobik sentral dari lipid non-polar, terutama kolesterol ester dan trigliserida. Inti hidrofobik ini dikelilingi oleh membran hidrofilik yang terdiri dari fosfolipid, free kolesterol, dan apolipoprotein (Gambar 2.1). Lipoprotein plasma dibagi menjadi tujuh kelas berdasarkan ukuran, komposisi lipid, dan apolipoprotein (Tabel 2.1 dan Gambar 2.2).



Gambar 2.3 Struktur Lipoprotein (Biochemistry 39: 9763, 2000)

Tabel 2.1 Jenis Lipoprotein

Lipoprotein	Densitas (g/ml)	Ukuran (nm)	Lipid utama	Apoprotein utama
Kilomikron	<0.930	75-1200	Trigliserida	Apo B-48, Apo C, Apo E, Apo A-I, A-II, A-IV
Kilomikron Remnants	0,930-1,006	30-80	Trigliserida Kolesterol	Apo B-48, Apo E
VLDL	0,930- 1,006	30-80	Trigliserida	Apo B-100, Apo E, Apo C
IDL	1,006- 1,019	25-35	Trigliserida Kolesterol	Apo B-100, Apo E, Apo C
LDL	1,019- 1,063	18- 25	Kolesterol	Apo B-100
HDL	1,063- 1,210	5- 12	Kolesterol Fosfolipid	Apo A-I, Apo A-II, Apo C, Apo E
Lp (a)	1,055- 1,085	~30	Kolesterol	Apo B-100, Apo (a)



Gambar 2.4 Jenis Lipoprotein (Advances Protein Chemistry 45:303, 1994)

Kilomikron: merupakan partikel besar yang kaya trigliserida, diproduksi oleh intestin, berperan pada transport trigliserida dan kolesterol dari makanan ke jaringan perifer dan liver. Hal ini disebut dengan jalur eksogen transport lipid, sedangkan lipoprotein membawa kolesterol ke dalam dan dari liver ke sel perifer disebut dengan jalur endogen. Partikel ini mengandung apolipoprotein A-I, A-II, A-IV, A-V, B-48, C-II, C-III, dan E. Apo B-48 adalah protein struktural inti dan setiap partikel kilomikron mengandung satu molekul Apo B-48. Ukuran kilomikron bervariasi tergantung pada jumlah lemak yang dicerna. Makanan tinggi lemak menyebabkan pembentukan partikel kilomikron yang besar karena peningkatan jumlah trigliserida yang diangkut, sedangkan dalam keadaan puasa partikel kilomikron berukuran kecil membawa trigliserida yang jumlahnya menurun. Kilomikron dikeluarkan dari aliran darah oleh lipoprotein lipase setelah 12-14 jam.

Kilomikron remnant: Keluarnya trigliserida dari kilomikron oleh jaringan perifer menyebabkan ukuran partikel menjadi lebih kecil, disebut kilomikron remnant. Bila dibandingkan dengan kilomikron, partikel ini kaya kolesterol dan

bersifat pro-aterogenik. Cepat dikeluarkan oleh liver dan tidak dikonversi menjadi LDL.

Very low density lipoproteins (VLDL): Partikel ini diproduksi oleh liver dan kaya trigliserida. Mengandung apolipoprotein B-100, C-I, C-II, C-III, dan E. Apo B-100 merupakan protein struktural inti dan masing-masing partikel VLDL mengandung satu molekul Apo B-100. Mirip dengan kilomikron, ukuran partikel VLDL bervariasi tergantung pada jumlah trigliserida dalam partikel. Apabila produksi trigliserida di liver meningkat, banyak sekresi partikel VLDL. Partikel VLDL lebih kecil daripada kilomikron. Lipoprotein ini mengandung 15-20% kolesterol total dalam darah dan sebagian besar trigliserida dalam tubuh (McKenney, 1995). Karena partikel-partikel ini cukup besar, maka ia tidak terlibat dalam proses terjadinya aterosklerosis.

Intermediate density lipoproteins (IDL; VLDL remnants): Keluarnya trigliserida dari VLDL oleh otot dan jaringan adipose menghasilkan partikel IDL yang diperkaya dengan kolesterol. Partikel ini mengandung apolipoprotein B-100 dan E. Partikel IDL ini bersifat pro-aterogenik. Setelah partikel VLDL disekresi dari liver ke dalam sirkulasi, trigliseridanya kemudian dirilis, proses ini dimediasi oleh enzim lipoprotein lipase, yang terdapat di endotelium adipose dan kapiler jaringan otot. Obat-obat yang meningkatkan efek lipoprotein lipase akan menurunkan kadar trigliserida. VLDL minus trigliserida disebut dengan IDL, yang akan kembali ke liver atau dikonversi menjadi lipoprotein yang mengandung banyak kolesterol, yaitu LDL, yang mengandung 60-70% kolesterol dalam darah total. Jumlah dan densitas partikel LDL sistemik berhubungan dengan risiko terjadinya aterosklerosis, dan peningkatan kadar LDL menunjukkan bahwa seseorang berpotensi besar terjadi aterosklerosis.

Low density lipoproteins (LDL): Partikel ini berasal dari partikel VLDL dan IDL dan diperkaya dengan kolesterol. LDL membawa sebagian besar kolesterol

di sirkulasi. Apolipoprotein yang predominan adalah B-100 dan tiap partikel LDL mengandung satu molekul Apo B-100. LDL terdiri dari partikel yang spektrum ukuran dan densitasnya bervariasi. Banyaknya partikel LDL small dense berhubungan dengan hipertrigliseridemia, kadar HDL yang rendah, obesitas, diabetes tipe 2 (yaitu pasien sindroma metabolik) dan pasien infeksi dan inflamasi. Partikel LDL small dense bersifat lebih pro-aterogenik daripada partikel LDL yang besar. Partikel LDL small dense menurunkan afinitas terhadap reseptor LDL sehingga menyebabkan waktu retensi di sirkulasi memanjang.

Selain itu, ia lebih mudah memasuki dinding arterial dan mengikat lebih banyak intra-arterial proteoglycans, yang menjebak mereka di dinding arterial. Partikel LDL small dense lebih rentan terhadap oksidasi, yang dapat menyebabkan peningkatan uptake oleh makrofag.

High density lipoproteins (HDL): merupakan lipoprotein yang paling kecil dan paling padat. Partikel ini berperan penting pada transport kolesterol reverse dari jaringan perifer ke dalam liver, baik secara langsung ataupun setelah ditransfer menjadi LDL dan VLDL. Hal ini merupakan salah satu mekanisme potensial efek anti-aterogenik HDL. Partikel LDL dikeluarkan dari plasma oleh reseptor LDL di liver, dan kadar reseptor LDL hepatic secara umum mengontrol kadar LDL sirkulasi. Kadar HDL yang tinggi sangat menguntungkan dan melawan terjadinya efek aterogenik dari LDL. Mekanisme transport ini mencegah akumulasi kolesterol di dinding arteri, sehingga merupakan proteksi terjadinya aterosklerosis. Selain itu, partikel HDL mempunyai efek anti-oksidan, anti-inflamasi, anti-trombotik, dan anti-apoptosis, yang berkontribusi pada kemampuannya untuk inhibisi aterosklerosis. Partikel HDL diperkaya dengan kolesterol dan fosfolipid. Apolipoproteins A-I, A-II, A-IV, C-I, C-II, C-III, dan E berkaitan dengan partikel ini. Apo A-I merupakan protein struktur inti dan tiap partikel HDL mengandung banyak molekul Apo A-I. Partikel HDL sangat

heterogen dan diklasifikasikan berdasarkan densitas, ukuran, muatan, atau komposisi apolipoprotein (Tabel 2).

Tabel 2.2 Klasifikasi HDL

Metode klasifikasi	Tipe HDL
Density gradient ultracentrifugation	HDL ₂ , HDL ₃ , Very high density HDL
Nuclear magnetic resonance	Besar, sedang, dan kecil
Gradient gel electrophoresis	HDL 2a, 2b, 3a, 3b, 3c
2-dimensional gel electrophoresis	pre-beta 1 dan 2, alpha 1, 2, 3, 4
Komposisi Apolipoprotein	Partikel A-I, A-II: partikel A-II, A-I: partikel E

Lipoprotein (a) (Lp (a)): Lp (a) merupakan partikel LDL yang mempunyai apolipoprotein (a) yang melekat pada Apo B-100 dengan ikatan disulfida. Partikel ini bersifat pro-aterogenik. Fungsi fisiologis lipoprotein ini tidak diketahui.

Apolipoprotein

Lipoprotein mengandung protein di permukaannya yang disebut apolipoprotein. Protein ini mempunyai berbagai fungsi: sebagai ligan untuk reseptor sel, mengaktifasi enzim pada metabolisme lipoprotein dan sebagai struktur lipoprotein. Bila metabolisme apolipoprotein terganggu, terjadi peningkatan risiko terjadinya aterosklerosis; jadi untuk evaluasi gangguan lipid, perlu pemeriksaan kadar apolipoprotein dalam darah.

Apolipoprotein memiliki empat fungsi utama, yaitu 1) sebagai struktur, 2) sebagai ligan untuk reseptor lipoprotein, 3) membimbing pembentukan lipoprotein, dan 4) sebagai aktivator atau inhibitor enzim pada metabolisme lipoprotein (Tabel 3) . Apolipoprotein berperan penting pada metabolisme lipoprotein.

Apolipoprotein A-I: Apo A-I disintesis di liver dan intestin, dan merupakan protein struktural utama dari HDL yang menyumbang sekitar 70% protein HDL. Ia juga berperan pada interaksi HDL dengan ATP-binding cassette protein A1 (ABCA1), ABCG1, dan kelas B, type I scavenger receptor (SR-B1). Apo A-I

merupakan aktivator lesitin: kolesterol acyltransferase (LCAT), suatu enzim yang mengubah kolesterol bebas menjadi ester kolesterol.

Apolipoprotein A-II: Apo A-II disintesis di liver dan merupakan protein paling banyak kedua pada HDL, sekitar 20% dari protein HDL.

Apolipoprotein A-IV (Wang et al., 2015): Apo A-IV disintesis di intestin selama absorpsi lemak. Apo A-IV dikaitkan dengan kilomikron dan high-density lipoproteins, tetapi juga ditemukan pada lipoprotein-free fraction. Perannya pada metabolisme lipoprotein masih belum jelas, tetapi hasil penelitian menunjukkan adanya peran untuk Apo A-IV pada regulasi asupan makanan.

Apolipoprotein A-V (Hubacek, 2016): Apo A-V disintesis di liver dan berhubungan dengan lipoprotein kaya trigliserida. Merupakan aktivator lipolisis yang dimediasi LPL dan berperan penting pada metabolisme lipoprotein kaya trigliserida.

Apolipoprotein B-48: Apo B-48 disintesis di intestin dan merupakan protein struktural utama dari kilomikron dan kilomikron remnants. Terdapat satu molekul apo B-48 per partikel kilomikron. Terdapat gen apolipoprotein B tunggal yang terekspresi di liver dan intestin. Intestin mengekspresikan protein yang ukurannya sekitar $\frac{1}{2}$ ukuran liver karena pengeditan mRNA. Apobec-1 editing complex terekspresi di intestin dan mengedit sitidin spesifik menjadi urasil pada mRNA apo B di intestin yang membuat kodon stop yang menyebabkan penghentian translasi protein dan Apo B yang lebih pendek (Apo B-48). Sehingga Apo B-48 tidak dikenali oleh reseptor LDL.

Apolipoprotein B-100: Apo B-100 disintesis di liver dan merupakan komponen struktural utama VLDL, IDL, dan LDL. Terdapat satu molekul Apo B-100 per partikel VLDL, IDL, dan LDL. Apo B-100 merupakan ligan untuk reseptor LDL dan berperan penting pada klirens partikel lipoprotein.

Apolipoprotein C: Apolipoprotein C disintesis terutama di liver dan secara bebas bertukar dengan partikel lipoprotein dan oleh karena itu berhubungan dengan kilomikron, VLDL, dan HDL.

Apo C-II merupakan ko-faktor lipoprotein lipase (LPL) dan menstimuli hidrolisis trigliserida (Wolska et al., 2017). Hilangnya fungsi mutasi pada Apo C-II mengakibatkan hipertrigliseridemia akibat gagalnya metabolisme lipoprotein kaya trigliserida.

Apo C-III adalah inhibitor LPL (Taskinen dan Boren, 2016). Selain itu, Apo C-III menginhibisi interaksi lipoprotein kaya trigliserida dengan reseptornya. Hasil studi terbaru menunjukkan bahwa hilangnya fungsi mutasi pada Apo C-III menyebabkan penurunan kadar trigliserida serum dan penurunan risiko penyakit kardiovaskular. Inhibisi ekspresi Apo C-III menyebabkan penurunan kadar trigliserida serum bahkan pada pasien yang kekurangan lipoprotein lipase, hal ini menunjukkan bahwa kemampuan Apo C-III untuk memodulasi kadar trigliserida serum tidak bergantung semata-mata hanya pada aktivitas lipase lipoprotein.

Apolipoprotein E (Mahley, 2016): Apolipoprotein E disintesis di berbagai jaringan, tetapi liver dan intestin merupakan sumber utama Apo E sirkulasi. Apo E bertukar antara partikel lipoprotein dan berhubungan dengan kilomikron, kilomikron remnant, VLDL, IDL, dan subkelompok dari partikel HDL. Terdapat tiga varian genetik dari Apo E (Apo E2, E3, dan E4). ApoE2 berbeda dari isoform yang biasa, Apo E3, merupakan substitusi asam amino tunggal, sedangkan sistein merupakan substitusi untuk arginin pada residu 158. Apo E4 berbeda dari Apo E3 pada residu 112, dimana arginin merupakan substitusi untuk sistein. Apo E3 dan E4 merupakan ligan untuk reseptor LDL, sedangkan Apo E2 sulit dikenali oleh reseptor LDL. Pasien yang homozigot Apo E2 dapat mengalami familial dysbetalipoproteinemia. Apo E4 berhubungan dengan peningkatan risiko penyakit Alzheimer dan peningkatan risiko aterosklerosis.

Apolipoprotein (a) (Nordestgaard dan Langsted, 2016): Apo (a) disintesis di liver. Protein ini adalah homolog dari plasminogen dan berat molekulnya bervariasi dari 300.000 hingga 800.000. Ia melekat pada Apo B-100 dengan ikatan disulfida. Kadar Apo (a) yang tinggi dikaitkan dengan peningkatan risiko aterosklerosis. Apo (a) adalah inhibitor fibrinolisis dan juga dapat meningkatkan uptake lipoprotein oleh makrofag, yang keduanya dapat meningkatkan risiko aterosklerosis. Fungsi fisiologis Apo (a) tidak diketahui. Apolipoprotein ini hanya terdapat pada primata, tidak pada spesies lain.

Reseptor LIPOPROTEIN dan transporter LIPID

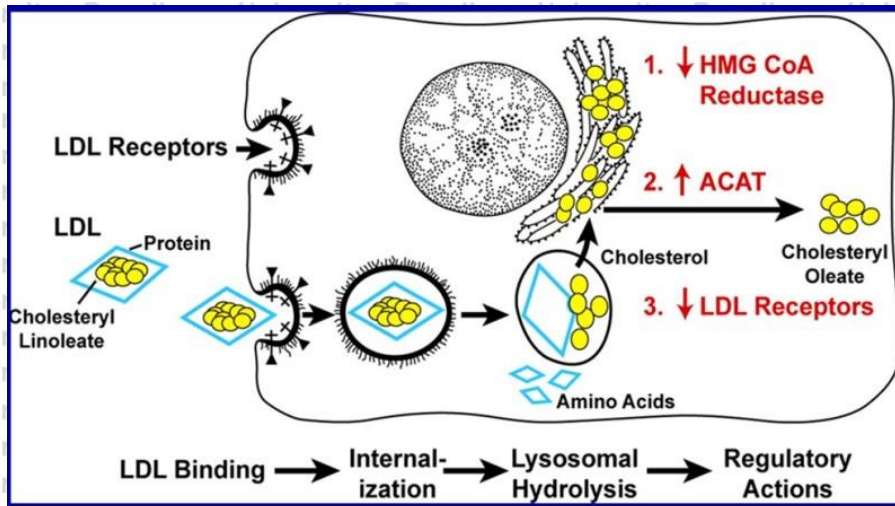
Terdapat beberapa reseptor dan transporter yang mempunyai peran penting pada metabolisme lipoprotein.

Reseptor LDL (Goldstein dan Brown, 2009): Reseptor LDL terdapat di liver dan jaringan lain. Ia mengenali Apo B-100 dan Apo E, sehingga dapat memediasi uptake LDL, kilomikron remnant, dan IDL, yang terjadi via endositosis (Gambar 3). Setelah proses internalisasi, partikel lipoprotein terdegradasi dalam lisosom dan melepaskan kolesterol. Pengiriman kolesterol ke sel menurunkan aktivitas HMGCoA reductase, enzim utama biosintesis kolesterol, dan ekspresi reseptor LDL. Reseptor LDL di liver berperan dalam menentukan kadar LDL plasma (jumlah kecil reseptor berhubungan dengan dengan kadar LDL plasma yang tinggi, sedangkan sejumlah besar reseptor LDL liver berhubungan dengan kadar LDL plasma yang rendah). Jumlah reseptor LDL diatur oleh kadar kolesterol sel (Goldstein et al., 2006). Ketika kadar kolesterol seluler menurun, faktor transkripsi SREBP diangkut dari retikulum endoplasma ke golgi tempat protease membelah dan mengaktifkan SREBP, yang kemudian bermigrasi ke nukleus dan menstimulasi ekspresi reseptor LDL (Gambar 4). Sebaliknya, ketika

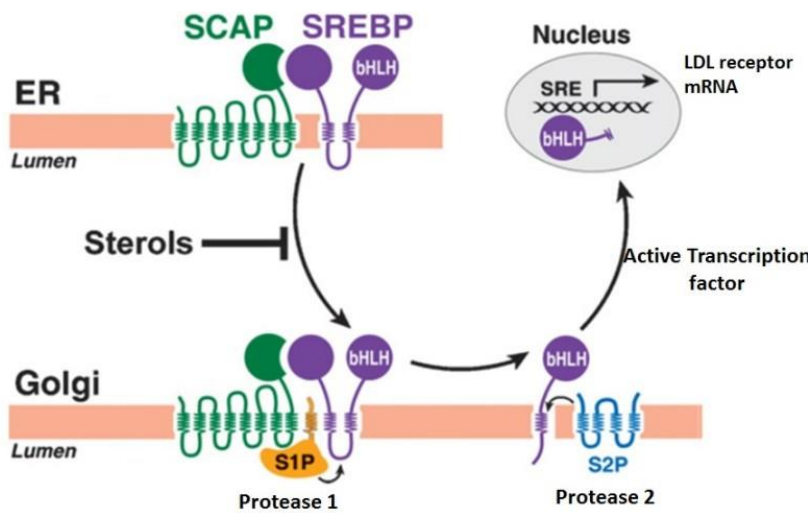
kadar kolesterol seluler tinggi SREBP tetap berada dalam retikulum endoplasma dalam bentuk tidak aktif dan ekspresi reseptor LDL rendah.

Tabel 2.3 Apolipoprotein

Apolipoprotein	BM	Sumber primer	Hubungan Lipoprotein	Fungsi
Apo A-I	28,000	Liver, Intestine	HDL, kilomikron	Struktur protein untuk HDL, Aktivasi LCAT
Apo A-II	17,000	Liver	HDL, kilomikron	Struktur protein untuk HDL, Aktivasi hepatic lipase
Apo A-IV	45,000	Intestine	HDL, kilomikron	Tidak diketahui
Apo A-V	39,000	Liver	VLDL, kilomikron, HDL	Merangsang LPL yang dimediasi oleh TG lipolysis
Apo B-48	241,000	Intestine	kilomikron	Struktur protein untuk kilomikron
Apo B-100	512,000	Liver	VLDL, IDL, LDL, Lp (a)	Struktur protein, Ligan untuk reseptor LDL
Apo C-I	6,600	Liver	Kilomikron, VLDL, HDL	Aktivasi LCAT
Apo C-II	8,800	Liver	Kilomikron, VLDL, HDL	Ko-faktor untuk LPL
Apo C-III	8,800	Liver	Kilomikron, VLDL, HDL	Inhibisi LPL dan uptake lipoprotein
Apo E	34,000	Liver	Kilomikron remnants, HDL	Ligan untuk reseptor IDL, LDL
Apo (a)	250,000-800,00	Liver	Lp (a)	Inhibisi aktivasi plasminogen



Gambar 2.5 Jalur Reseptor LDL (Annual Review of Biochemistry 46: 897, 1977)



Gambar 2.6 Jalur SREBP (Journal of Lipid Research 50: Supp S15, 2009)

LDL receptor related protein (LRP) (van de Sluis et al., 2017): LRP merupakan anggota dari family reseptor LDL. Ia terekspresi di berbagai jaringan, antara lain di liver. LRP mengenali Apo E dan memediasi uptake kilomikron remnants dan LDL.

Class B scavenger receptor B1 (SR-B1) (Trigatti, 2017): SR-B1 terekspresi di liver, kelenjar adrenal, ovarium, testis, makrofag, dan sel lain. Pada liver dan

sel penghasil steroid, ia memediasi uptake kolesterol ester selektif dari partikel HDL. Pada makrofag dan sel lain, ia memfasilitasi efluks kolesterol dari sel ke dalam partikel HDL.

ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) (Wang dan Smith, 2014): ABCA1 terekspresi di berbagai sel, antara lain hepatosit, enterosit, dan makrofag. Ia memediasi transport kolesterol dan fosfolipid dari sel ke dalam partikel HDL yang lipidnya sedikit (pre-beta-HDL).

ATP-binding cassette transporter G1 (ABCG1) (Baldan et al., 2006): ABCG1 terekspresi pada berbagai jenis sel yang berbeda-beda dan memediasi efluks kolesterol dari sel ke dalam partikel HDL.

ATP-binding cassette transporter G5 and G8 (ABCG5/ABCG8) (Kidambi dan Patel, 2008): ABCG5 dan ABCG8 terekspresi di liver dan intestin dan membentuk suatu heterodimer. Di dalam intestin, transporter ini memediasi pergerakan sterol tumbuhan dan kolesterol dari dalam enterosit ke lumen intestinal, sehingga menurunkan absorpsinya dan membatasi uptake sterol tumbuhan dari makanan. Pada liver, transporter ini berperan pada pergerakan kolesterol dan sterol tumbuhan ke dalam empedu, memfasilitasi ekskresi sterol tumbuhan.

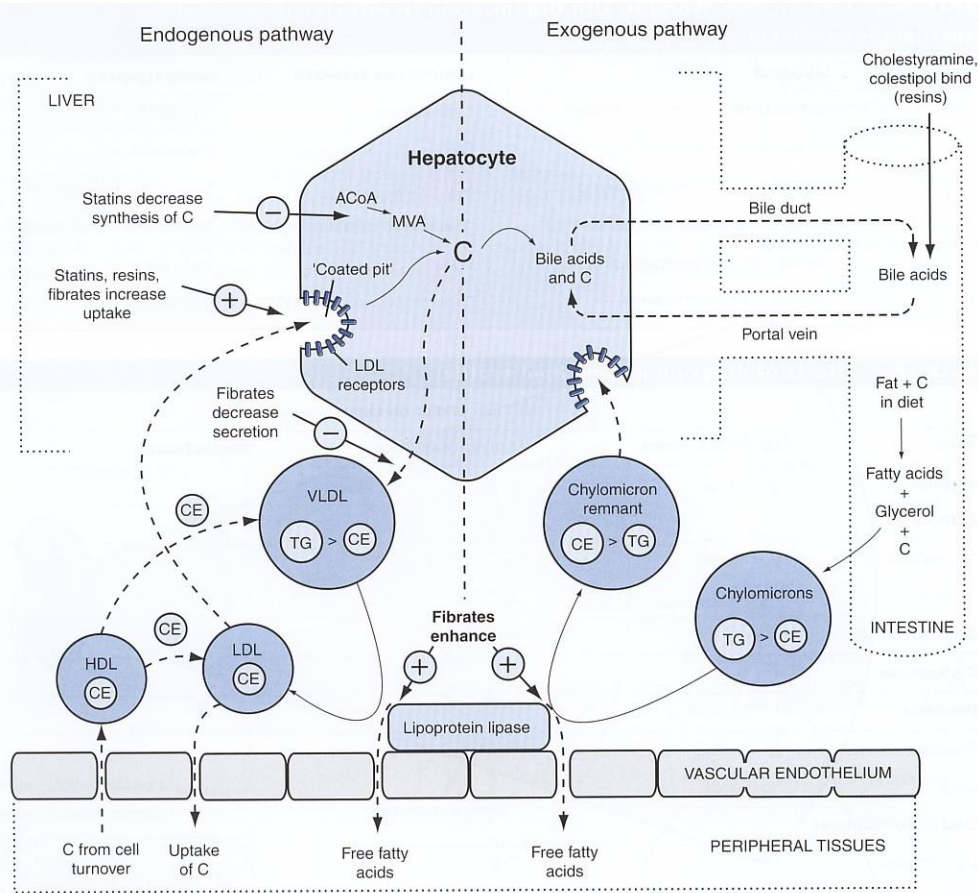
Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) (Kidambi dan Patel, 2008): NPC1L1 terekspresi di intestin dan memediasi uptake kolesterol dan sterol tumbuhan dari lumen intestinal ke dalam enterosit.

2.1.2 Metabolisme Kolesterol

Ada tiga jenis lipoprotein di dalam tubuh, yaitu very-low-density lipoprotein (VLDL), low-density lipoprotein (LDL), dan high-density lipoprotein (HDL).

Sedangkan intermediate density lipoprotein (IDL) waktu paruhnya singkat

(beberapa menit sampai beberapa jam) sehingga kadarnya dalam plasma sangat rendah.



Gambar 2.7 Diagram skematik transport kolesterol di jaringan, beserta tempat kerja obat-obat yang mempengaruhi metabolisme kolesterol.

C = Kolesterol; CE = Kolesteryl ester; TG = triglyceride; MVA = mevalonate; HMG-CoA reductase = 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase; VLDL = very-low-density lipoprotein; LDL = low-density lipoprotein; HDL = high-density lipoprotein. Dikutip dari Rang, Dale and Ritter, 1999.

Gambar 2.7 memperlihatkan sistem transport lipid normal dan tempat kerja obat-obat kolesterol. Lemak dan kolesterol dari makanan diangkut ke dalam sistem sebagai kilomikron melalui jalur eksogen. Sedangkan jalur endogen adalah sintesis kolesterol dan trigliserida di liver, yang kemudian dibawa dari liver ke jaringan perifer sebagai partikel VLDL. HDL berfungsi membawa sekitar 25% kolesterol plasma dari perifer kembali ke liver, yang kemudian diproses kembali

menjadi asam empedu (bile acid). Karena kolesterol HDL menyebabkan ekskresi maka disebut dengan kolesterol 'baik'. Sebaliknya, LDL membawa lebih dari 50% kolesterol dan menyebabkan aterosklerosis sehingga disebut dengan kolesterol 'jahat'. Lipoprotein plasma selalu dalam keadaan keseimbangan yang dinamis (dynamic equilibrium). Bila liver dan jaringan lain memerlukan kolesterol maka mereka meningkatkan sintesis reseptor LDL pada permukaan selnya (Gambar 2.3). Reseptor-reseptor ini diperlukan untuk mengikat LDL, sehingga terjadi rilis asam lemak bebas (free fatty acid). Bila kebutuhan kolesterol seluler telah terpenuhi, maka sintesis reseptor LDL menurun, dan hal ini mengontrol kadar LDL. Modulasi jumlah reseptor LDL hepatic merupakan bagian dari penatalaksanaan hiperkolesterolemia.

Enzim Dan Protein Transfer Pada Metabolisme Lipoprotein

Terdapat beberapa enzim dan protein transfer yang berperan pada metabolisme lipoprotein.

Lipoprotein lipase (LPL) (Olivecrona, 2016): LPL disintesis di otot, jantung, dan jaringan adipose, kemudian disekresi dan melekat pada endotelium kapiler darah yang terdekat. Enzim ini menghidrolisis trigliserida yang dibawa kilomikron dan VLDL menjadi fatty acid, yang kemudian diambil oleh sel. Katabolisme trigliserida menyebabkan konversi kilomikron menjadi kilomikron remnants dan VLDL menjadi IDL. Enzim ini memerlukan Apo C-II sebagai ko-faktor. Apo A-V juga berperan pada aktivasi enzim ini. Sebaliknya, Apo C-III dan Apo A-II menghambat aktivitas LPL. Insulin menstimulasi ekspresi LPL dan aktivitas LPL menurun pada pasien diabetes yang tidak terkontrol, yang dapat merusak metabolisme trigliserida yang kaya lipoprotein sehingga menyebabkan hipertrigliseridemia.

Hepatic lipase (Kobayashi et al., 2015): Hepatic lipase terletak di permukaan sinusoid sel liver, memediasi hidrolisis trigliserida dan fosfolipid pada IDL dan LDL yang menyebabkan partikel menjadi lebih kecil (IDL dikonversi menjadi LDL; LDL dikonversi dari LDL besar menjadi LDL kecil). Ia juga memediasi hidrolisis trigliserida dan fosfolipid pada HDL yang menghasilkan partikel HDL yang lebih kecil.

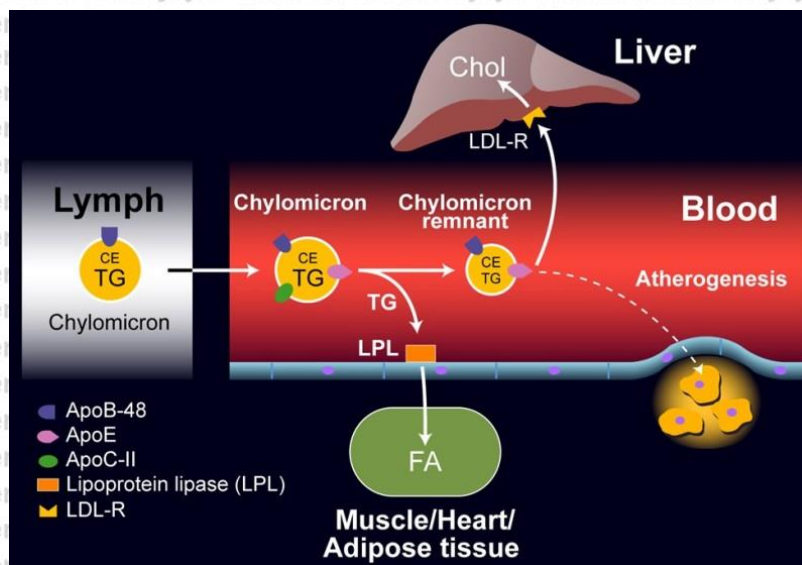
Endothelial lipase (Yasuda et al., 2010): Lipase ini berperan penting pada hidrolisis fosfolipid pada HDL.

Lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) (Ossoli et al., 2016): LCAT dibuat di dalam liver. Di plasma, ia mengkatalisis sintesis kolesterol ester pada HDL dengan memfasilitasi transfer fatty acid dari posisi 2 lecithin menjadi kolesterol. Hal ini menyebabkan transfer kolesterol dari permukaan partikel HDL (kolesterol bebas) ke inti partikel HDL (kolesterol ester), yang memfasilitasi kelanjutan uptake free kolesterol oleh partikel HDL dengan menurunkan kadar kolesterol pada permukaan HDL.

Cholesteryl ester transfer protein (CETP): Protein ini disintesis di liver dan dalam plasma memediasi transfer ester kolesterol dari HDL ke VLDL, kilomikron, dan LDL serta transfer trigliserida dari VLDL dan kilomikron ke HDL. Penghambatan aktivitas CETP menyebabkan peningkatan kolesterol HDL dan penurunan kolesterol LDL.

Cholesteryl ester transfer protein (CETP) (Mabuchi et al., 2014): Protein ini disintesis di liver dan di plasma, memediasi transfer kolesterol ester dari HDL ke VLDL, kilomikron, dan LDL dan transfer trigliserida dari VLDL dan kilomikron ke HDL. Inhibisi aktivitas CETP menyebabkan peningkatan kolesterol HDL dan penurunan kolesterol LDL.

Jalur Lipoprotein Eksogen (Kilomikron)



Gambar 2.8 Jalur Lipoprotein Eksogen

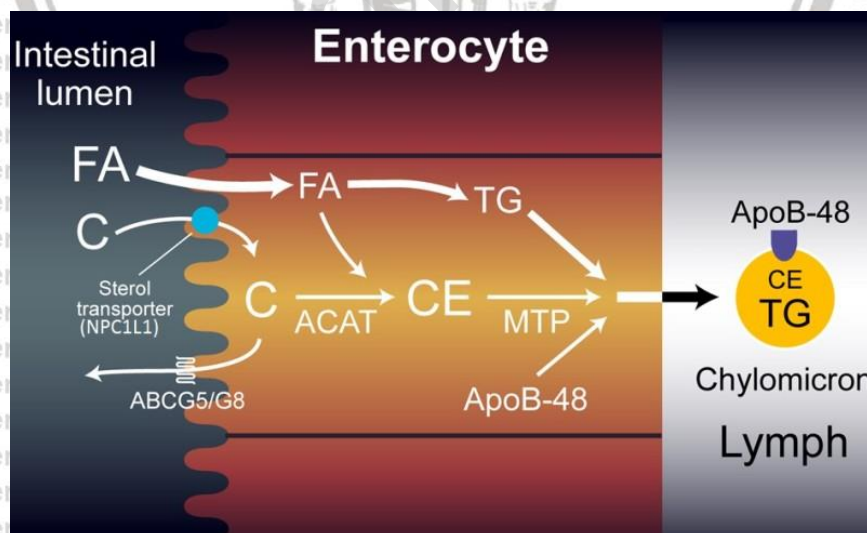
Absorpsi Lemak (D'Aquila et al., 2016)

Jalur lipoprotein eksogen dimulai dari intestin. Trigliserida dari makanan (sekitar 100 gram sehari) dihidrolisis menjadi free fatty acid dan monoacylglycerol oleh intestinal lipase dan mengalami emulsi dengan bile acid, kolesterol, sterol tumbuhan, dan vitamin yang larut lemak, membentuk micelles.

Fatty acid dalam intestin berasal dari asupan makanan, sedangkan kolesterol dalam lumen intestinal didapatkan dari empedu (sekitar 800-1200 mg kolesterol dari empedu vs. 300-500 mg dari diet). Sterol tumbuhan sekitar 25% asupan sterol diet (sekitar 100-150 mg/hari). Kolesterol, sterol tumbuhan, fatty acid, monoacylglycerol, dan vitamin larut lemak, semua merupakan kandungan micelles yang kemudian ditransport ke dalam sel intestinal. Uptake kolesterol dan sterol tumbuhan dari lumen intestinal ke dalam sel intestinal difasilitasi oleh transporter sterol, Niemann-Pick C1- like 1 protein (NPC1L1) (Gambar 6).

Ezetimibe, obat yang menghambat uptake kolesterol intestinal dan sterol tumbuhan, berikatan dengan NPC1L1 dan menghambat aktivitasnya. Begitu

masuk sel intestinal, kolesterol dan sterol tumbuhan ditransport kembali ke dalam lumen intestinal, proses ini dimediasi oleh ABCG5 dan ABCG8, atau dikonversi menjadi sterol ester oleh acyl-CoA cholesterol acyl transferase (ACAT), yang melekatkan fatty acid pada sterol. Dibandingkan dengan kolesterol, sterol tumbuhan merupakan substrat yang buruk untuk ACAT, sehingga pembentukan sterol ester tumbuhan tidak efisien seperti pembentukan kolesterol ester. Pada manusia, hanya <5% sterol tumbuhan dari diet yang diabsorpsi dan sebagian besar ditransport keluar dari sel intestin, proses ini dimediasi oleh ABCG5 dan ABCG8, yang sangat efisien mengeluarkan sterol tumbuhan dari sel intestinal ke lumen intestinal. Pasien dengan sitosterolemia mengalami mutasi pada ABCG5 atau ABCG8 dan jumlah absorpsi sterol tumbuhan dari diet akan meningkat (absorpsi 20-30% vs. < 5% pada subjek normal). Jadi, ABCG5 dan ABCG8 bersama dengan ACAT berfungsi sebagai penjaga gerbang dan memblokir uptake sterol tumbuhan dan berperan penting dalam menentukan efisiensi absorpsi kolesterol (manusia hanya mengabsorpsi sekitar 50% kolesterol diet dengan rentang 25-75%).



Gambar 2.9 Sel Intestinal dan Metabolisme Sterol

Jalur absorpsi free fatty acid masih belum diketahui, kemungkinan dengan difusi pasif dan dengan transporter yang spesifik. Transporter fatty acid CD36 terekspresi sangat kuat di sepertiga proksimal intestin dan terdapat di villi. Transporter berperan pada uptake fatty acid oleh sel intestinal, transporter ini tidak esensial bagi manusia, pada mencit yang defisien protein ini tidak mengalami malabsorption lemak. Namun, pada mencit defisien CD36 terjadi pergeseran absorpsi lipid ke distal intestin, yang merupakan jalur yang dapat mengkompensasi ketiadaan CD36. Fatty acid transport protein 4 (FATP4) juga terekspresi tinggi di intestin. Namun, tikus dengan defisiensi FATP4 tidak mengalami abnormalitas pada absorpsi lemak. Jalur monoacylglycerol yang diabsorpsi oleh sel intestinal masih belum diketahui.

Pembentukan Kilomikron (Abumrad dan Davidson, 2012)

Fatty acid dan monoacylglycerol yang diabsorpsi, digunakan untuk sintesis trigliserida. Enzim yang diperlukan untuk sintesis trigliserida adalah monoacylglycerol acyltransferase (MGAT) dan diacylglycerol transferase (DGAT). MGAT mengkatalisis penambahan fatty acid pada monoacylglycerol sedangkan DGAT mengkatalisis penambahan fatty acid pada diacylglycerol yang menyebabkan pembentukan trigliserida. Seperti yang telah disebutkan di atas, mayoritas kolesterol diabsorpsi oleh intestin akan diesterifikasi menjadi kolesterol ester oleh ACAT. Trigliseridan dan kolesterol ester menjadi kilomikron di dalam endoplasmic reticulum. Ukuran dan komposisi kilomikron yang terbentuk di intestin tergantung pada jumlah lemak dari makanan dan diabsorpsi oleh intestin dan jenis lemak yang diabsorpsi. Peningkatan absorpsi lemak menyebabkan kilomikron yang lebih besar. Pembentukan kilomikron pada endoplasmic reticulum memerlukan sintesis Apo B-48 oleh sel intestinal (Gambar 6). Microsomal triglyceride transfer protein (MTP) diperlukan untuk pergerakan lipid

dari endoplasmic reticulum ke dalam Apo B-48. Tidak adanya MTP menyebabkan ketidakmampuan untuk membentuk kilomikron (Abetalipoproteinemia). Lomitapide menghambat fungsi MTP dan digunakan untuk terapi pasien Familial Hypercholesterolemia homozigot.

Metabolisme Kilomikron (Fong et al., 2016)

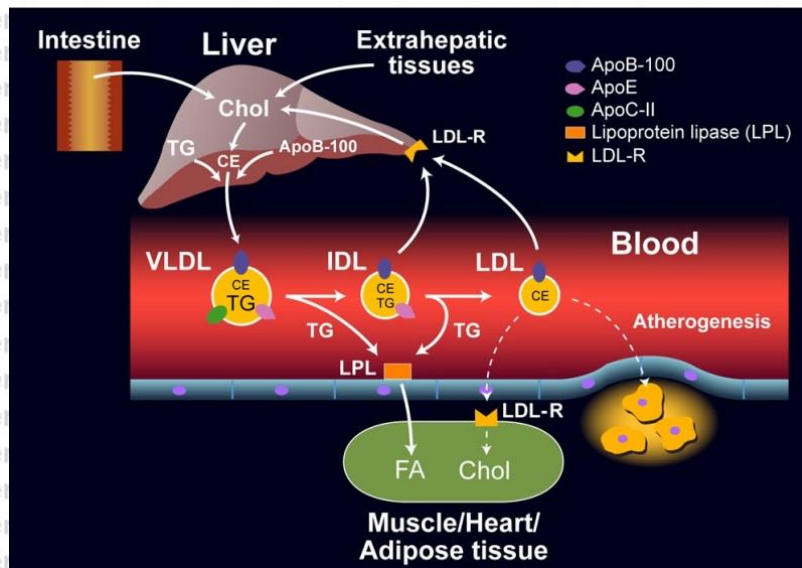
Kilomikron disekresi ke dalam getah bening dan dikirim via duktus torasikus ke sirkulasi. Proses ini menghasilkan kilomikron yang baru, yang dikirim ke sirkulasi sistemik dan tidak dikirim langsung ke liver via sirkulasi portal. Hal ini memfasilitasi pengiriman nutrisi yang terkandung dalam kilomikron ke otot dan jaringan adipose. Pada otot dan jaringan adipose, lipoprotein lipase (LPL) terekspresi dalam kadar tinggi. LPL disintesis di otot dan adiposit dan ditransport ke permukaan luminal kapiler. Lipase maturation factor 1 berperan pada stabilisasi dan pergerakan LPL dari sel otot dan adiposit ke permukaan sel endotelial kapiler. Glycosylphosphatidylinositol anchored high density lipoprotein binding protein 1 (GPIHBP1) mengikat LPL dengan endotelium kapiler. Aktivasi LPL oleh Apo C-II, terjadi pada kilomikron, menyebabkan hidrolisis trigliserida yang dibawa oleh kilomikron, yang menyebabkan pembentukan free fatty acid, yang dapat diambil oleh sel otot adjacent dan adiposit untuk produksi atau penyimpanan energi. Fatty acid transport proteins (FATPs) dan CD36 memfasilitasi uptake fatty acid ke dalam adiposit dan sel otot. Beberapa free fatty acid dirilis dari kilomikron dan berikatan dengan albumin dan dapat ditransport ke jaringan lain. Apo A-V juga berperan pada aktivasi LPL. Hilangnya fungsi mutasi LPL, Apo C-II, GPIHBP1, lipase maturation factor 1, dan Apo A-V menyebabkan hipertrigliseridemia (kilomikronemia) yang sangat tinggi. Selain itu, terdapat tiga protein menghambat aktivitas LPL. Apo C-III menghambat aktivitas LPL dan hilangnya fungsi mutasi pada gen ini berhubungan dengan peningkatan aktivitas

LPL dan penurunan kadar trigliserida plasma. Angiopoietin like protein 3 dan 4, yang merupakan target LPL untuk inaktivasi, meregulasi aktivitas LPL. Hilangnya fungsi mutasi pada protein ini juga berhubungan dengan penurunan kadar trigliserida plasma. Ekspresi LPL oleh sel otot dan adiposit diregulasi oleh hormon (terutama insulin), status gizi, dan inflamasi.

Metabolisme trigliserida yang dibawa oleh kilomikron menyebabkan penurunan ukuran partikel ini sehingga menghasilkan pembentukan kilomikron remnant, yang kaya kolesterol ester dan memperoleh Apo E. Karena partikel ini ukuran fosfolipidnya menurun dan apolipoprotein (Apo A dan C) pada permukaan kilomikron ditransfer ke lipoprotein lain, terutama HDL. Transfer Apo C-II dari kilomikron ke HDL menurunkan kemampuan LPL untuk memecah trigliserida. Kilomikron remnant ini diklirens dari sirkulasi oleh liver. Apo E pada kilomikron remnant mengikat reseptor LDL dan reseptor hepatik lainnya seperti LRP dan syndecan-4 dan seluruh partikel diambil oleh hepatosit. Apo E penting pada proses ini dan mutasi pada Apo E (misalnya Apo E2 isoform) menyebabkan penurunan klirens kilomikron dan peningkatan kadar kolesterol dan trigliserida plasma (Familial dysbetalipoproteinemia).

Jalur lipoprotein eksogen menyebabkan transfer efisien fatty acid diet ke dalam otot dan jaringan adipose untuk utilisasi dan penyimpanan energi. Kolesterol dikirim ke liver, digunakan untuk pembentukan VLDL, bile acid, atau disekresi kembali ke intestin via empedu. Pada individu normal, jalur ini dapat menangani lemak dalam jumlah besar (100 gram atau lebih per hari) tanpa menyebabkan peningkatan kadar trigliserida plasma. Faktanya, pada individu normal, makanan yang mengandung 75 gram lemak hanya akan menyebabkan sedikit peningkatan kadar trigliserida postprandial.

Jalur Lipoprotein Endogen (VLDL dan LDL)



Gambar 2.10 Jalur Lipoprotein Endogen

Pembentukan VLDL (Hooper et al., 2015)

Pada liver, trigliserida dan kolesterol ester ditransfer ke endoplasmic reticulum ke Apo B-100 yang baru disintesis. Sama dengan yang di intestin, transfer ini dimediasi oleh MTP. Ketersediaan trigliserida merupakan penentu utama laju sintesis VLDL. Apabila suplai trigliserida terbatas, maka Apo B yang baru disintesa akan segera didegradasi. Jadi, kebalikan dari berbagai protein, kecepatan sintesis Apo B-100 bukan penentu utama laju sekresi. Jumlah lipid yang tersedia, menentukan apakah Apo B-100 didegradasi atau disekresi. MTP diperlukan untuk penambahan awal lipid menjadi partikel Apo B-100, tetapi tambahan lipid yang ditambahkan via jalur tidak memerlukan MTP. Hilangnya fungsi mutasi pada Apo B-100 atau MTP menyebabkan kegagalan produksi VLDL dan menyebabkan penurunan kadar trigliserida dan kolesterol plasma (Familial hypobetalipoproteinemia atau abetalipoproteinemia).

Metabolisme VLDL (Dallinga-Thie et al., 2010)

Partikel VLDL ditransport ke jaringan perifer dimana trigliserida dihidrolisis oleh LPL dan fatty acid dirilis. Proses ini mirip dengan kilomikron dan terjadi kompetisi antara metabolisme kilomikron dengan VLDL. Kadar tinggi kilomikron dapat menginhibisi klirens VLDL. Keluarnya trigliserida dari VLDL menyebabkan pembentukan VLDL remnant (Intermediate density lipoproteins (IDL)). Partikel IDL ini relatif kaya akan kolesterol ester dan memperoleh Apo E dari partikel HDL. Pada jalur yang analog dengan keluarnya kilomikron remnant, partikel IDL dapat dikeluarkan dari sirkulasi oleh liver via ikatan Apo E dengan LDL dan reseptor LRP. Namun, sementara sebagian besar kilomikron remnant cepat diklirens dari sirkulasi oleh liver, hanya sebagian partikel IDL yang diklirens (sekitar 50%). Sisa trigliserida pada partikel IDL dihidrolisis oleh hepatic lipase yang menyebabkan penurunan kandungan trigliserida dan exchangeable apolipoprotein ditransfer dari partikel IDL ke lipoprotein lain yang menyebabkan pembentukan LDL. Partikel LDL ini predominan mengandung kolesterol ester dan Apo B-100. Jadi, LDL merupakan produk metabolisme VLDL.

Metabolisme LDL (Brown, 2017)

Kadar LDL plasma ditentukan oleh laju produksi LDL dan laju klirens LDL, keduanya diregulasi oleh reseptor LDL di liver. Laju produksi LDL dari VLDL ditentukan oleh aktivitas reseptor LDL hepatic, aktivitas reseptor LDL yang tinggi menyebabkan penurunan produksi LDL karena peningkatan uptake IDL.

Sebaliknya, aktivitas reseptor LDL yang rendah menyebabkan peningkatan produksi LDL karena penurunan uptake IDL. Sehubungan dengan klirens LDL, sekitar 70% LDL sirkulasi diklirens via reseptor LDL hepatosit yang dimediasi endositosis, sedangkan sisanya diambil oleh jaringan ekstrahepatik. Peningkatan jumlah reseptor LDL hepatic akan meningkatkan klirens LDL yang kemudian

menyebabkan penurunan kadar LDL plasma. Sebaliknya, penurunan reseptor LDL hepatic, akan memperlambat klirens LDL yang kemudian menyebabkan peningkatan kadar LDL plasma. Jadi, kadar reseptor LDL hepatic berperan pada regulasi kadar LDL plasma.

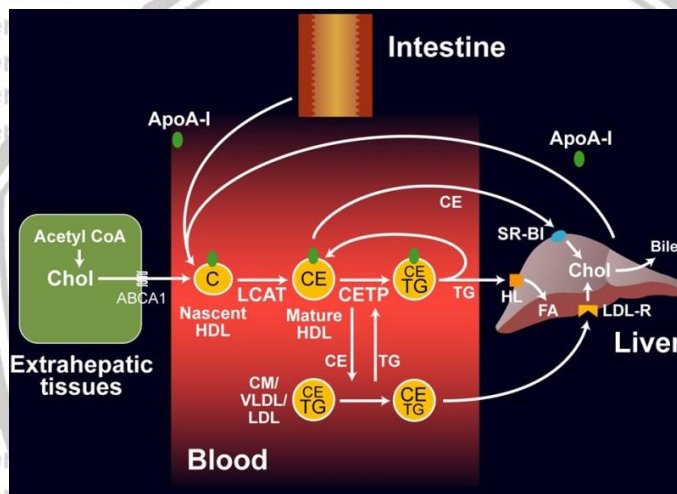
Kadar reseptor LDL di liver terutama diregulasi oleh kandungan kolesterol di hepatosit. Apabila kadar kolesterol di sel menurun, inactive sterol regulatory element binding proteins (SREBPs), yang merupakan faktor transkripsi yang memediasi ekspresi reseptor LDL dan gen lainnya yang terlibat pada metabolisme kolesterol dan fatty acid, ditransport dari endoplasmic reticulum ke golgi dimana protease memecah SREBP menjadi faktor transkripsi aktif (Gambar 4). SREBPs aktif ini masuk ke nukleus dimana ia menstimulasi transkripsi reseptor LDL dan gen lainnya, antara lain HMG-CoA reductase, enzim rate limiting pada sintesis kolesterol. Apabila kadar kolesterol pada sel tinggi, maka SREBPs akan tetap berada di endoplasmic reticulum dalam bentuk inaktif dan tidak menstimulasi sintesis reseptor LDL. Selain itu, kolesterol di dalam sel mengalami oksidasi dan oxidized sterols activate LXR, suatu reseptor nuclear hormone yang merupakan faktor transkripsi, yang menstimulasi transkripsi E3 ubiquitin ligase yang memediasi ubiquitination dan degradasi reseptor low-density lipoprotein (Inducible degrader of the low-density lipoprotein receptor (IDOL)). Jadi, sel dapat mengetahui ketersediaan kolesterol dan meregulasi aktivitas reseptor LDL. Apabila kadar kolesterol dalam sel menurun, maka aktivitas reseptor LDL meningkat untuk meningkatkan uptake kolesterol.

Sebaliknya, apabila kadar kolesterol pada sel meningkat, maka aktivitas reseptor LDL akan menurun dan uptake LDL oleh sel akan berkurang. Pada akhirnya, reseptor LDL merupakan target untuk degradasi oleh PCSK9, suatu protein sekresi yang diikat oleh reseptor LDL dan meningkatkan degradasi reseptor LDL di lysosomes. Hilangnya fungsi mutasi PCSK9 menyebabkan peningkatan

aktivitas reseptor LDL dan penurunan kadar LDL menguntungkan fungsi mutasi pada PCSK9 yang menyebabkan penurunan aktivitas reseptor LDL dan peningkatan kadar LDL.

Jadi, jalur lipoprotein endogen memfasilitasi pergerakan trigliserida yang telah disintesis di liver ke otot dan jaringan adipose. Selain itu, terdapat jalur transport kolesterol dari liver ke perifer.

Metabolisme Hdl Dan Transport Kolesterol Reverse (Rye Dan Barter, 2014)



Gambar 2.11 Metabolisme HDL

Pembentukan HDL

Diperlukan beberapa tahapan untuk membuat partikel HDL yang matur. Tahapan pertama adalah sintesis struktur utama protein pada HDL, Apo A-I. Apo A-I disintesis terutama di liver dan intestin. Setelah Apo A-I disekresi, ia memperoleh kolesterol dan fosfolipid yang diefluks dari hepatosit dan enterosit. Efluks kolesterol dan fosfolipid ke newly synthesized Apo A-I (pre-beta HDL) difasilitasi oleh ABCA1. Pasien dengan hilangnya fungsi mutasi ABCA1 (penyakit Tangiers) tidak dapat lipodate Apo A-I yang baru disekresi, menyebabkan

katabolisme cepat Apo A-I dan kadar HDL sangat rendah. Penelitian pada mencit targeted knock-out of ABCA1 memperlihatkan bahwa kadar kolesterol HDL menurun 80% pada mencit yang tidak mempunyai ABCA1 di liver dan 30% mencit yang tidak mempunyai ABCA1 di intestin. Pada awalnya kolesterol dan fosfolipid didapatkan dari liver dan intestin, HDL juga memperoleh lipid dari jaringan dan dari lipoprotein lain. Sel otot, adiposit, dan jaringan lain mengekspresi ABCA1 dan dapat mentransfer kolesterol dan fosfolipid menjadi partikel Apo A-I yang lipidnya sedikit. Selain itu, HDL yang baru dibentuk juga memperoleh kolesterol dan fosfolipid dari kilomikron dan VLDL selama proses lipolisis oleh LPL. Pasien dengan kadar trigliserida plasma yang tinggi akibat penurunan klirens seringkali mempunyai kadar kolesterol HDL yang rendah. Selain itu, phospholipid transfer protein (PLTP) memfasilitasi perpindahan fosfolipid antara lipoprotein; mencit yang tidak mempunyai PLTP, kadar kolesterol HDL dan Apo A-I nya menurun. Lipolisis lipoprotein yang kaya dengan trigliserida juga menyebabkan transfer apolipoproteins dari partikel ini ke HDL.

Esterifikasi Kolesterol HDL

Seperti telah dijelaskan di atas, kolesterol pada inti HDL sudah mengalami esterifikasi (kolesterol ester). Kolesterol yang di-efluks dari sel ke HDL, tidak mengandung kolesterol dan terletak di permukaan partikel HDL. Untuk membentuk partikel HDL spherical besar yang matur dengan inti kolesterol ester, free kolesterol ditransfer dari sel ke permukaan partikel HDL, harus mengalami esterifikasi terlebih dahulu. LCAT, suatu enzim yang berhubungan dengan HDL mengkatalisis transfer fatty acid dari fosfolipid menjadi free kolesterol menyebabkan pembentukan kolesterol ester. Kolesterol ester yang terbentuk kemudian dipindahkan dari permukaan partikel HDL ke dalam inti. Apo A-I merupakan aktivator LCAT dan memfasilitasi proses esterifikasi ini. Aktivitas

LCAT diperlukan untuk pembentukan partikel HDL yang besar. Defisiensi LCAT pada manusia menyebabkan penurunan kadar kolesterol HDL dan Apo A-I dan partikel HDL kecil lebih tinggi persentasenya.

Metabolisme HDL

Lipase dan protein transfer berperan pada penentuan ukuran dan komposisi partikel HDL. Kolesterol ester pada inti partikel HDL dapat ditransfer ke partikel yang mengandung Apo B yang ditukar dengan trigliserida. Transfer ini dimediasi oleh CETP dan menghasilkan HDL yang kaya trigliserida yang kemudian dimetabolisme oleh lipase. Manusia dengan defisiensi aktivitas CETP mempunyai kadar kolesterol HDL yang sangat tinggi dan partikel HDL yang besar. CETP juga berdampak pada kadar kolesterol LDL dan ketiadaan CETP menyebabkan penurunan kolesterol LDL. Mencit tidak mempunyai CETP dan kadar kolesterol HDL nya relatif tinggi dan kadar kolesterol LDL nya rendah. Hepatic lipase menghidrolisis trigliserida dan fosfolipid di HDL. Trigliserida yang ditransfer ke HDL oleh aktivitas CETP dikatabolisme oleh hepatic lipase menghasilkan pembentukan partikel HDL yang kecil, rilis Apo A-I, dan peningkatan degradasi Apo A-I. Defisiensi genetik hepatic lipase menyebabkan peningkatan kadar kolesterol HDL dan partikel HDL besar. Aktivitas hepatic lipase meningkat pada keadaan resistensi insulin dan hal ini berhubungan dengan penurunan kadar kolesterol HDL. Endothelial cell lipase merupakan fosfolipase yang menghidrolisis fosfolipid pada partikel HDL. Pada mencit, peningkatan aktivitas endothelial lipase menyebabkan penurunan kadar kolesterol HDL, sedangkan penurunan aktivitas endothelial lipase akan meningkatkan kadar kolesterol HDL.

Kolesterol pada HDL terutama dikirim ke liver. Uptake kolesterol HDL oleh liver dimediasi oleh SR-BI, yang mencetuskan uptake selektif kolesterol HDL.

Partikel HDL berikatan dengan SR-BI dan kolesterol pada HDL ditransport ke dalam liver tanpa internalisasi partikel HDL. Terbentuklah partikel kolesterol HDL yang lebih kecil, yang kemudian dirilis kembali ke sirkulasi. Pada mencit defisien SR-BI, terjadi peningkatan kadar kolesterol HDL. Risiko aterosklerosis meningkat pada defisien SR-BI walaupun terjadi peningkatan kadar kolesterol HDL. Perlu diperhatikan, pada saat kadar kolesterol HDL meningkat pada mencit defisiensi SR-BI, terjadi penurunan jalur transport kolesterol reverse. Pada mencit, fisiologis jalur SR-BI hepatic jelas, tetapi perannya pada manusia masih belum jelas. Pada manusia, polimorfisme gen SR-BI berpengaruh pada kadar kolesterol HDL, tetapi efeknya pada aterosklerosis minimal. Pada mencit, perpindahan kolesterol dari jaringan perifer ke liver hanya tergantung pada SR-BI sedangkan pada manusia CETP dapat memfasilitasi transport kolesterol dari HDL ke Apo B yang mengandung lipoprotein, yang merupakan jalur alternatif transport kolesterol ke liver.

Apo A-I dimetabolisme independen dari kolesterol HDL. Sebagian besar Apo A-I dikatabolisme oleh ginjal, sisanya dikatabolisme oleh liver. Apo A-I yang bebas lipid atau hanya mengandung sedikit lipid, difiltrasi oleh ginjal dan kemudian diambil oleh tubulus renalis. Ukuran partikel Apo A-I menentukan apakah ia dapat difiltrasi oleh ginjal dan derajat lipidasi Apo A-I menentukan rate katabolisme. Keadaan suatu penyakit (misalnya Tangiers disease, yang disebabkan karena mutasi ABCA1 atau defisiensi LCAT) yang menyebabkan HDL yang lipidnya sedikit untuk mempercepat katabolisme Apo A-I oleh ginjal.

Apo A-I mengikat cubilin, yang berkonjugasi dengan megalin, anggota dari family gen reseptor LDL, yang menyebabkan uptake dan degradasi Apo A-I yang difiltrasi oleh sel tubulus renalis. Di liver juga berlangsung katabolisme Apo A-I, yang mekanismenya masih belum jelas. Partikel HDL mengandung Apo E dan

kemungkinan Apo E yang mengandung partikel HDL diambil via reseptor LDL dan reseptor Apo E lain di liver dan mengalami degradasi.

Transport Kolesterol Reverse (Lee-Rueckert et al., 2016)

Sel perifer mengakumulasi kolesterol melalui uptake lipoprotein sirkulasi dan sintesis kolesterol de novo. Sebagian besar sel tidak mempunyai mekanisme katabolisme kolesterol. Sel yang mensintesis hormon steroid dapat mengkonversi kolesterol menjadi glucocorticoid, estrogen, testosteron, dll. Sel intestinal, sebocyte, dan keratinocyte dapat mensekresi kolesterol ke dalam lumen intestinal atau ke permukaan kulit dan kemudian mengeliminasi kolesterol. Namun demikian, agar sebagian besar sel dapat menurunkan kadar kolesterolnya, maka diperlukan transport kolesterol reverse. Dari sudut pandang klinis, kemampuan makrofag untuk meng-efluks kolesterol secara efisien menjadi kolesterol reverse, berperan penting pada prevensi aterosklerosis.

2.1.3 Regulasi Jalur Biosintesis Kolesterol

Regulasi jalur dengan sterol-mediated feedback dari transkripsi beberapa gen, rate-limiting enzyme HMGCR dan HMG-CoA synthase, serta berbagai mekanisme post-transkripsi. Sekarang ini yang menjadi pusat perhatian adalah regulasi degradasi HMGCR di ER. Suplai kolesterol seluler dipertahankan dalam keadaan steady level dengan empat mekanisme berbeda:

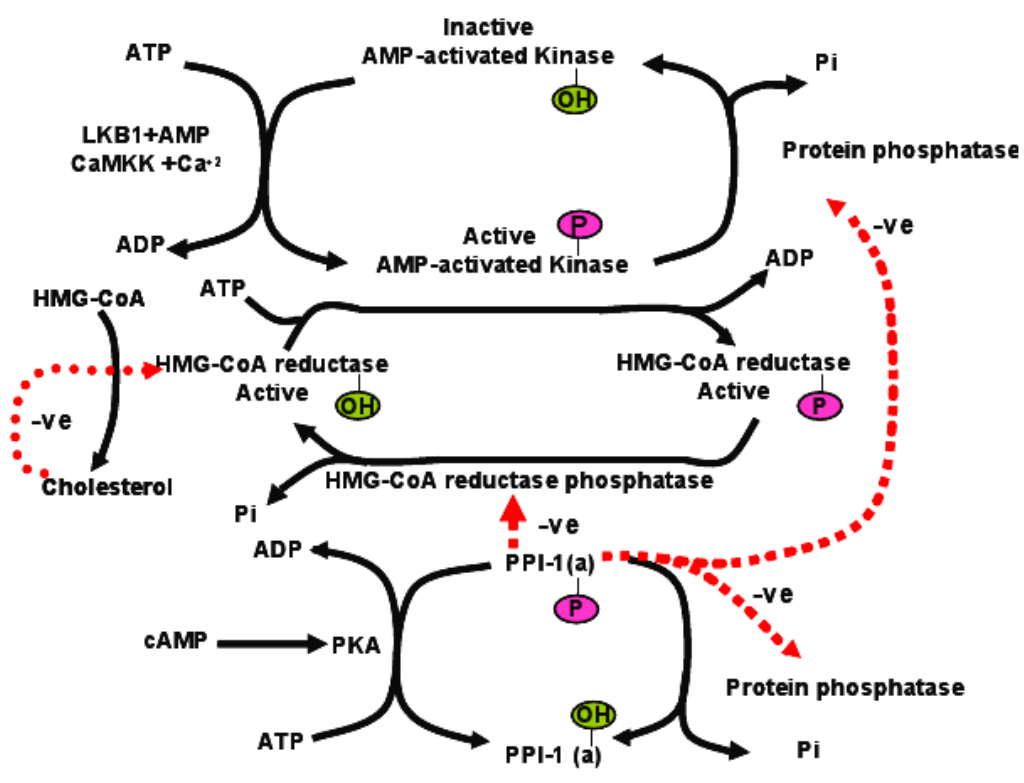
1. Regulasi aktivitas dan kadar HMGCR (regulasi upstream biosintesis kolesterol)
2. Regulasi aktivitas sequalene mono-oxygenase oleh faktor sequalene supernant protein (biosintesis kolesterol secara down stream). Apabila terjadi tahapan ini maka biosintesis kolesterol berakhir.

3. Regulasi kelebihan kolesterol bebas intraseluler melalui aktivitas acyl-CoA:cholesterol acyltransferase, ACAT (internalisasi kelebihan kolesterol).
4. Regulasi kadar kolesterol plasma via LDL receptor-mediated uptake dan mediated reverse transport.

Tujuh enzim pertama biosintesis kolesterol merupakan protein solubel dengan pengecualian 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase (HMGR), yang merupakan integral endoplasmic reticulum (ER) membrane protein (Kovacs *et al.*, 2002). HMG-CoA untuk biosintesis kolesterol dibuat di dalam sitosol. Ia juga disintesis di dalam mitokondria dimana terjadi hidrolisis oleh HMG-CoA lyase yang membuat keton untuk energi saat puasa (Herman, 2003). Reaksi yang membuat mevalonate juga dapat terjadi di dalam peroksisom, reaksi selanjutnya menghasilkan farnesyl-pyrophosphate khusus peroxisomal. Peningkat reaksi biosintesis di ER dengan enzim dan substrat yang terikat membran. Jadi enzim-enzim biosintesis kolesterol yang terdapat di sitosol, ER dan/atau peroxisome, menambah tingkat kerumitan regulasi jalur metabolik ini. Secara khusus, regulasi langsung aktivitas HMGRCoA reductase berarti mengontrol kadar biosintesis kolesterol. Sekarang ini sedang banyak diteliti mengenai regulasi degradasi HMGR di ER.

Pada *in vivo*, aktivitas HMGRCoA reductase dikontrol dengan empat mekanisme yang berbeda: inhibisi feed-back, kontrol ekspresi gen, laju degradasi enzim dan fosforilasi-defosforilasi. Kolesterol mengontrol sendiri tiga mekanisme yang pertama karena kolesterol dapat bertindak sebagai inhibitor feed-back HMGR serta induksi degradasi enzim secara cepat. Induksi degradasi enzim merupakan hasil kolesterol-induced polyubiquitination dari HMGR dan didegradasi di proteosome. Kemampuan kolesterol ini merupakan akibat dari sterol sensing domain, SSD dari HMGR. Selain itu, bila jumlah mRNA kolesterol

berlebihan maka HMGR akan menurun akibat turunnya ekspresi gen. Modifikasi kovalen HMG-reductase melalui proses fosforilasi/defosforilasi berperan penting pada regulasi HMGR.



Gambar 2.12 Regulasi HMG-CoA reductase

Enzim ini lebih aktif dalam bentuk asal. Fosforilasi enzim akan menurunkan aktivitasnya (Gambar 2.4). HMGR difosforilasi oleh adenosine mono phosphate-activated protein kinase, (AMPK) yang mengaktifasi diri sendiri via fosforilasi yang dikatalisis dengan 2 enzim. LKB1 merupakan kinase utama yang sensitif terhadap peningkatan kadar AMP yang awalnya diidentifikasi sebagai gen pada manusia dengan mutasi autosomal dominant pada Peutz-Jeghers syndrome, PJS dan mutasi pada adenokarsinoma paru. Enzim AMPK phosphorylating yang kedua adalah calmodulin-dependent protein kinase kinase-beta (CaMKK β) yang

menginduksi fosforilasi oleh AMPK yang disebabkan peningkatan kadar Ca^{2+} intraseluler akibat kontraksi otot. Aktivitas HMGR merupakan kontrol lainnya oleh jalur signaling cAMP (Gambar 2.4). Peningkatan kadar cAMP menyebabkan aktivasi cAMP dependent protein kinase, PKA. Pada konteks regulasi HMGR, PKA mem-fosforilasi phosphoprotein, phosphatase inhibitor-1 (PPI-1) yang menyebabkan peningkatan aktivitasnya. PPI-1 dapat menghambat aktivitas berbagai fosfatase antara lain protein phosphatase 2C (PP2C) dan HMG-CoA reductase phosphatase dengan melepaskan fosfat dari AMPK dan HMGR. Hal ini akan mempertahankan AMPK dalam keadaan fosforilasi dan aktif, dan HMGR dalam keadaan fosforilasi dan tidak aktif. Apabila stimulus yang menyebabkan peningkatan produksi cAMP dihilangkan, maka fosforilasi akan menurun dan defosforilasi meningkat. Hasil akhirnya adalah kembalinya aktivitas HMGR kadar tinggi. Kadar cAMP intraseluler sendiri diregulasi oleh stimulus hormonal, jadi regulasi biosintesis kolesterol dikontrol oleh hormon. Salah satu hormon yang paling banyak adalah insulin, yang dapat menyebabkan penurunan cAMP, yang kemudian mengaktifasi biosintesis kolesterol. Sebaliknya, glucagon dan epinephrine meningkatkan cAMP sehingga menyebabkan inhibisi biosintesis kolesterol. Fungsi dasar hormon epinephrine dan glucagon adalah untuk mengontrol availabilitas dan pengantaran energi pada semua sel di dalam tubuh. Degradasi HMGR dan inhibisi biosintesisnya, merupakan dua proses regulasi jangka panjang biosintesis kolesterol, selain itu apabila kadar kolesterol tinggi, maka terjadi reduksi ekspresi gen HMGR. Sebaliknya, apabila kadar kolesterol rendah maka akan mengaktifasi ekspresi gen tersebut.

2.1.4 Regulasi Proteolitik HMG-CoA

Stabilitas HMGR diregulasi sesuai perubahan laju aliran pada jalur sintesis mevalonate. Apabila aliran tinggi maka laju degradasi HMGR juga tinggi. Apabila

aliran rendah, maka degradasi HMGR menurun. Fenomena ini dapat dengan mudah dilihat apabila ada obat statin. HMGR terletak di ER dan seperti SREBP, mengandung sterol-sensing domain, SSD. Apabila kadar sterol di dalam sel meningkat maka laju degradasi HMGR juga meningkat. Degradasi HMGR berlangsung di dalam proteosome, suatu multiprotein complex untuk degradasi protein. Signal utama protein untuk proteosome adalah ubiquitination. Ubiquitin merupakan 7.6kDa protein yang berikatan secara kovalen dengan protein yang menjadi target degradasi oleh ubiquitin ligases (Kimura and Tanaka, 2010). Enzim-enzim ini banyak menempel pada ubiquitin untuk dikenali oleh proteosome. HMGR mengalami ubiquitinated dulu baru kemudian degradasi. Sterol utama yang mengatur degradasi HMGR adalah kolesterol itu sendiri. Bila kadar kolesterol di dalam sel meningkat, maka laju degradasi HMGR juga meningkat.

2.1.5 Regulasi Biosintesis Kolesterol pada Tingkat Transkripsi

Apabila sel-sel membutuhkan sterol lebih banyak maka mereka akan menginduksi sintesis dan ambilannya, sebaliknya bila kebutuhan menurun maka sintesis dan ambilannya menurun. Regulasi ini terutama dilakukan oleh transkripsi sterol-regulated dari enzim rate limiting dan oleh regulasi degradasi HMGR. Aktivasi kontrol transkripsional timbul melalui regulasi cleavage faktor transkripsi membrane-bound sterol regulated element binding protein (SREBP).

Seperti yang telah di bahas di atas, degradasi HMGR dikontrol oleh ubiquitin-mediated pathway untuk proteolysis. Kontrol sterol pada transkripsi mempengaruhi lebih dari 30 gen yang terlibat pada biosintesis kolesterol, triacylglycerol, fosfolipid dan fatty acid. Kontrol transkripsi memerlukan adanya rangkaian octamer pada gen-gen yang disebut dengan sterol regulatory element-1 (SRE-1). SREBP merupakan faktor transkripsi yang berikatan dengan elemen

SRE-1. Ada dua jenis gen SREBR yang berbeda, SREBP-1 dan SREBP-2.

Selain itu, gen SREBP-1 meng-encode 2 protein, SREBP-1a dan SREBP-1c/ADD1 (ADD1 adalah adipocyte differentiation-1) sebagai konsekuensi penggunaan axon alternatif. SREBP-1a meregulasi semua gen-gen SREBP-responsive pada jalur biosintesis kolesterol dan fatty acid. SREBP-1c mengontrol ekspresi gen-gen yang terlibat dalam sintesis fatty acid dan yang terlibat dalam diferensiasi adiposit. SREBP-1c juga merupakan faktor transkripsi esensial downstream kerja insulin pada metabolisme karbohidrat dan lipid. SREBP-2 merupakan bentuk predominan faktor transkripsi ini di liver dan itu menunjukkan preferensi pada kontrol ekspresi gen pada homeostasis kolesterol, termasuk semua gen-gen encoding enzim-enzim biosintesis sterol. Selain itu SREBP-2 mengontrol ekspresi gen reseptor LDL.

Regulasi ekspresi SREBPs rumit, karena efek sterol berbeda pada gen SREBP-1 versus gen SREBP-2. Sterol yang banyak mengaktivasi ekspresi gen SREBP-1 tetapi efek ini tidak mempengaruhi gen SREBP-2. Aktivasi sterol-mediated gen SREBP-1 via kerja liver X receptor (LXRs). LXRs merupakan anggota hormon super familysteroid/thyroid dari cytosolic ligand binding receptor yang bermigrasi ke nukleus atas ligand binding dan regulasi ekspresi gen dengan mengikat rangkaian target spesifik. Ada dua jenis LXRs: LXR α dan LXR β . LXRs bentuknya heterodimer dengan retinoid X receptors (RXRs) dan dapat meregulasi ekspresi gen atas ikatan oxysterol (mis 22R-hydroxycholesterol) atau 9-cis-retinoic acid. Ketiga SREBP semuanya diaktivasi secara proteolitik dan proteolisisnya dikontrol oleh kadar sterol di dalam sel.

Seluruh panjang SREBP mempunyai beberapa domain dan melekat di membran endoplasmic reticulum (ER). Domain N-terminal mengandung motif faktor transkripsi domain dari jenis basic helix-loop-helix (b-HLH) yang diekspos ke bagian sitoplasmik ER. Ada 2 domain transmembrane spanning yang diikuti oleh

domain C-terminal yang besar yang juga terekspos ke bagian sitosolik. C-terminal domain (CTD) berinteraksi dengan protein yang disebut dengan SREBP cleavage-activating protein (SCAP). SCAP merupakan protein yang besar yang didapatkan pada membran ER dan mengandung paling tidak 8 span transmembrane. Pada bagian C-terminal, yang memanjang sampai ke sitosol, terlihat berinteraksi dengan domain C-terminal dari SREBP. Bagian C-terminal SCAT ini mengandung 4 motif yang disebut dengan WD40 repeats. WD40 repeats diperlukan untuk interaksi SCAP dengan SREBP. Regulasi aktivitas SREBP kemudian dikontrol di dalam ER oleh interaksi SCAP dengan insulin regulated protein (Insig). Apabila sel memiliki jumlah sterol yang cukup maka SREBP dan SCAP akan tetap berada di ER via interaksi SCAP-Insig. N-terminus SCAP, antara lain membrane spans 2-6, mirip dengan HMGR yang merupakan subyek degradasi sterol-stimulated. Motif disebut dengan sterol sensing domain (SSD) dan sebagai konsekwesinya fungsi domain SCAP ini adalah sebagai sensor kolesterol pada kompleks protein. Apabila sel mempunyai sterol dalam jumlah yang cukup, maka SCAP akan mengikat kolesterol yang mencetuskan interaksi dengan Insig dan yang lebih kompleks akan dipertahankan di ER.

Protein Insig berikatan dengan oxysterol yang kemudian mempengaruhi interaksinya dengan SCAP. Protein Insig dapat menyebabkan retensi ER pada SREBP/SCAP complex. Selain itu mereka berperan dalam regulasi gen sterol-dependent regulasi, kedua protein Insig mengaktifasi degradasi sterol-dependent dari HMGR.

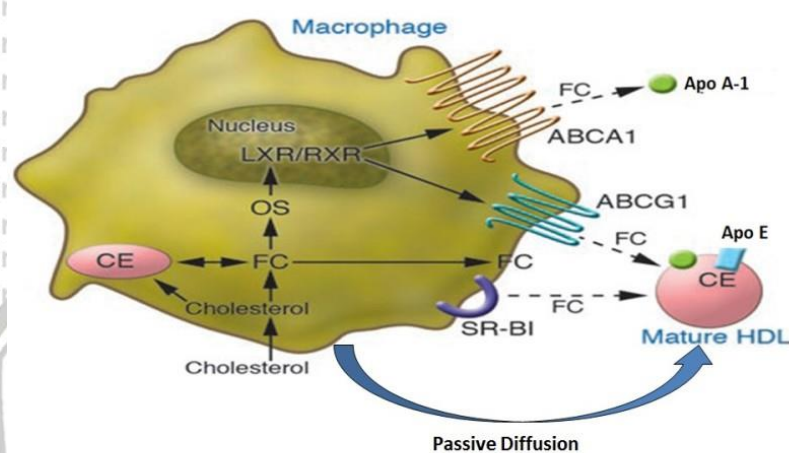
Bila sterol langka maka SCAP tidak bersama dengan Insig. Dalam keadaan ini kompleks SREBP-SCAT ini bermigrasi ke Golgi sedangkan pada SREBP terjadi proteolisis. Pembelahan SREBP dilakukan oleh 2 enzim yang berbeda. Regulasi pembelahan terjadi di luminal loop di antara 2 transmembrane domain. Pembelahan ini dikatalisa oleh site-1 protease, S1P. Fungsi SCAP adalah

stimulasi positif pembelahan S1P-mediated dari SREBP. Pembelahan kedua dikatalisa oleh site-2 protease, S2P, terjadi di span pertama transmembrane, menyebabkan rilis SREBP yang aktif. Agar S2P berefek pada SREBP, site-1 harus siap dibelah. Hasil pembelahan S2P adalah rilis N-terminal bHLH motif ke dalam sirosol. Domain bHLH kemudian bermigrasi ke dalam nukleus dimana akan terjadi dimerisasi dan membentuk kompleks dengan koaktifator transkripsional yang menyebabkan aktivasi gen-gen yang mengandung SRE motif. Untuk mengontrol transkripsi SREBP-mediated, domain bHLH yang solubel menjadi subyek sendiri terhadap proteolysis cepat.

ABCA1 berperan pada efluks kolesterol yang kemudian menjadi partikel pre-beta Apo A-I yang mengandung sedikit lipid (Gambar 9). ABCG1 berperan penting pada efluks kolesterol dari sel menjadi partikel HDL yang matur. Hasil dari beberapa studi, SR-B1 juga berperan pada efluks kolesterol menjadi partikel HDL yang matur. Selain itu, difusi pasif kolesterol dari membran plasma ke HDL berkontribusi pada efluks kolesterol. Kadar ABCA1 dan ABCG1 meningkat akibat aktivasi LXR. LXR adalah nuclear hormone transcription factor yang diaktivasi oleh oxysterol. Pada saat kadar kolesterol pada sel meningkat, pembentukan oxysterol meningkat menyebabkan aktivasi LXR yang menghasilkan peningkatan ekspresi ABCA1 dan ABCG1, yang menyebabkan peningkatan efluks kolesterol dari sel ke HDL. Selain itu, ABCA1 dan ABCG1 mRNAs merupakan target untuk degradasi oleh miR-33, suatu microRNA yang tertanam di dalam gen SREBP2.

Peningkatan kolesterol seluler akan menurunkan ekspresi SREBP2 yang menyebabkan penurunan miR-33 yang menyebabkan peningkatan ekspresi LXR. Jadi, penurunan transkripsi SREBP2 akan menyebabkan penurunan aktivitas reseptor LDL dan menurunkan uptake kolesterol, yang secara simultan, terjadinya penurunan miR-33 akan menyebabkan peningkatan aktivitas LXR, menstimulasi ekspresi ABCA1 dan ABCG1, menyebabkan peningkatan efluks

kolesterol. Sebaliknya, penurunan kadar kolesterol seluler akan meningkatkan ekspresi SREBP2 yang menyebabkan meningkatnya aktivitas reseptor LDL dan meningkatnya miR-33, menyebabkan penurunan aktivitas LXR, menurunnya ekspresi ABCA1 dan ABCG1, dan reduksi efluks kolesterol. Perubahan uptake kolesterol dimediasi oleh reseptor LDL dan efluks kolesterol dimediasi oleh ABCA1 dan ABCG1 yang mempertahankan homeostasis kolesterol seluler.



Gambar 2.13 Efluks Kolesterol dari Makrofag
(J. Clinical Investigation 116: 3090, 2006)

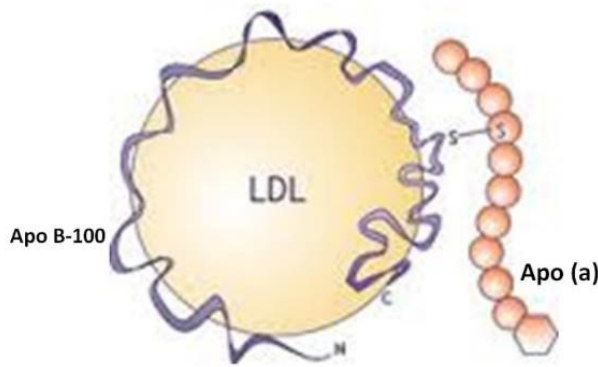
Setelah kolesterol ditansfer dari sel ke HDL, terjadi dua jalur untuk kolesterol diambil oleh liver. HDL dapat berinteraksi dengan reseptor SR-BI hepatic yang menyebabkan uptake selektif kolesterol dari partikel HDL. Cara lain, CETP dari mentransfer kolesterol dari partikel HDL ke Apo B yang mengandung partikel dengan uptake Apo B berikutnya yang mengandung lipoproteins oleh liver. Setelah kolesterol diantar ke liver, ada beberapa jalur dimana kolesterol akan dieliminasi. Kolesterol dapat dikonversi menjadi bile acid dan disekresi di empedu. Cara lain, kolesterol dapat langsung disekresi ke dalam empedu. ABCG5 dan ABCG8 mencetuskan transport kolesterol ke empedu dan ekspresi gen ini ditingkatkan oleh aktivasi LXR. Jadi, peningkatan kadar kolesterol hepatic

menyebabkan peningkatan produksi oxysterol yang akan mengaktifasi LXR yang menyebabkan peningkatan ekspresi ABCG5 dan ABCG8 memfasilitasi sekresi kolesterol di empedu.

Bukti-bukti menyatakan bahwa transport kolesterol reverse berperan pada proteksi perkembangan aterosklerosis. Perlu diperhatikan bahwa kadar kolesterol HDL bukan merupakan indikasi rate transport kolesterol reverse.

Transport kolesterol reverse terjadi dalam beberapa tahapan dan kadar kolesterol HDL tidak merefleksikan tahapan ini. Misalnya, hasil studi menunjukkan bahwa kemampuan HDL untuk mencetuskan efluks kolesterol dari makrofag dapat bermacam-macam. Jadi, kadar kolesterol HDL yang sama tidak berarti mempunyai kemampuan yang ekuivalen untuk memediasi tahap awal transport kolesterol reverse.

Lipoprotein (a) (Schmidt et al., 2016)



Gambar 2.14 Lp (a)

Lp (a) terdiri dari molekul LDL dan apolipoprotein (a) yang unik, yang melekat pada Apo B-100 dari LDL via ikatan disulfide tunggal. Lp (a) terdiri dari Apo (a) dan Apo B-100 dengan rasio molar 1:1. Seperti Apo B-100, apo (a) juga dibuat oleh hepatosit. Apo (a) terdiri dari multiple kringle motifs yang mirip

dengan kringle repeats pada plasminogen. Jumlah kringle repeats dapat berbeda-beda dan berat molekuler apo (a) dari 250.000 sampai 800.000. Kadar Lp (a) dalam plasma dapat bervariasi lebih dari 1000 kali lipat, dari tak terdeteksi sampai lebih besar dari 100 mg/dl. Kadar Lp (a) yang besar menunjukkan produksi Lp (a), yang regulasi promoter secara genetik. Individu dengan protein Apo (a) berat molekul tinggi cenderung mempunyai kadar Lp (a) yang rendah sedangkan individu dengan Apo (a) berat molekul rendah cenderung mempunyai kadar yang lebih tinggi. Hipotesisnya adalah liver kurang efisien dalam mensekresi Apo (a) berat molekul tinggi. Mekanisme klirens Lp (a) tidak jelas tetapi tidak melibatkan reseptor LDL. Peningkatan kadar plasma Lp(a) berhubungan dengan peningkatan risiko aterosklerosis. Terapi yang mempercepat klirens LDL dan menurunkan kadar LDL tidak menurunkan kadar Lp (a) (misalnya terapi statin). Ginjal berperan pada klirens Lp (a) jadi penyakit ginjal berhubungan dengan melambatnya klirens dan peningkatan kadar Lp (a).

2.2 Farmakogenomik: Variabel Genetik pada Respons Obat dan Penelitian Obat dengan Menggunakan Farmakogenomik

2.2.1 Farmakogenomik

Respons seorang pasien terhadap pemberian suatu obat, baik respons positif atau respons negatif, merupakan sifat (trait) rumit yang dipengaruhi berbagai jenis gen yang berbeda-beda. Untuk memprediksi respons pasien terhadap suatu obat tertentu diperlukan uji genetik guna mencari gen yang terlibat pada respons obat. Apabila ditemukan gen yang mengalami variasi (perubahan) pada nukleotida (DNA base), maka dapat dilakukan uji perubahan genetik untuk memprediksi respons suatu obat. Pada kasus ini farmakogenomik berarti ilmu yang memeriksa variasi gen yang berperan pada respons obat dan

digunakan untuk memprediksi respons pasien terhadap suatu obat, apakah berespons baik, buruk atau sama sekali tidak berespons.

Perbedaan farmakogenomik dengan farmakogenetik:

- Farmakogenomik adalah ilmu yang mempelajari perbedaan gen yang menentukan sifat obat.

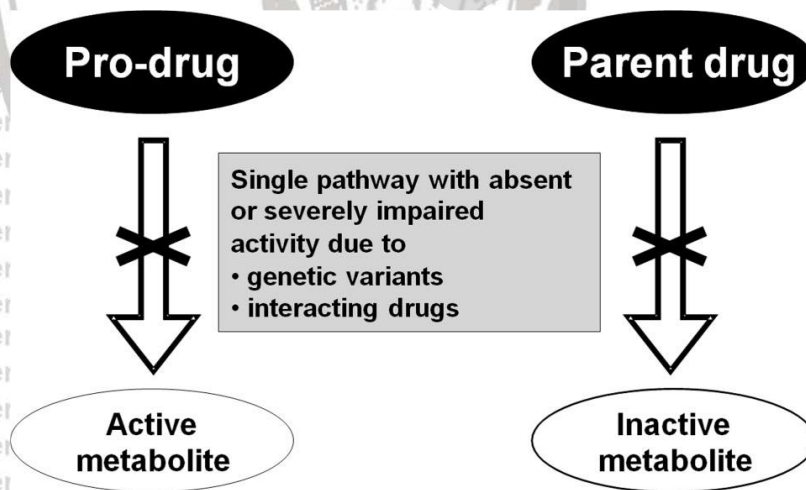
- Farmakogenetik adalah ilmu yang mempelajari perbedaan yang diturunkan (variasi) pada metabolisme dan respons obat.

Perbedaan kedua istilah tersebut masih belum tegas dan masih digunakan terbalik-balik.

2.2.2 Farmakokinetik Risiko tinggi

Pada obat yang dieliminasi dengan beberapa jalur, ketiadaan 1 jalur (karena variasi genetik atau karena adanya interaksi dengan obat inhibitor) tidak menyebabkan perubahan besar pada kadar obat di tempat kerjanya, juga pada efek obat tersebut. Tetapi, kadar obat akan sangat meningkat bila obat dimetabolisme dengan jalur tunggal, keadaan ini disebut dengan farmakokinetik risiko-tinggi (*high-risk pharmacokinetics*) (Roden and Stein, 2009). Ada 2 keadaan yang dapat timbul (Gambar 2.5). Keadaan pertama adalah suatu prodrug yang harus dimetabolisme, atau bioaktivasi, untuk menimbulkan efek farmakologis. Pada keadaan dimana bioaktivasi dengan enzim yang varian fungsinya hilang, metabolismenya buruk, sehingga efek obat menurun; contohnya adalah obat kardiovaskuler clopidogrel dan losartan (lihat Tabel 2.2), contoh lainnya adalah codeine dan tamoxifen. Pemberian bersama dengan obat lain yang sifatnya inhibisi enzim bioaktivasi dapat menyebabkan phenocopy metaboliser yang buruk yang diturunkan: jadi, orang-orang yang secara genetik metaboliser baik maka hasil farmakologisnya sama dengan metaboliser buruk apabila diberikan obat yang dapat berinteraksi dengannya.

Keadaan farmakokinetik risiko-tinggi yang kedua terjadi apabila substrat obat mengalami bioinaktivasi via jalur metabolik tunggal. Bila jalur ini tidak ada, maka obat induk yang aktif akan terakumulasi. Untuk obat yang margin terapetiknya lebar, bila terakumulasi maka efeknya tidak terlalu berpengaruh secara klinis; sebaliknya pada obat-obat yang margin terapetiknya sempit, maka bila terkumulasi dapat menyebabkan toksisitas yang serius. Misalnya adalah warfarin S-enantiomer yang aktif, metabolismenya dimediasi oleh CYP2C9 yang menjadikannya inaktif (Gambar 2.6). (“Contoh Warfarin”) Pada pasien dengan allele yang fungsinya menurun, maka kadar S-warfarin-nya lebih tinggi, jadi untuk mencapai steady-state antikoagulan diberikan dosis kecil. Walaupun jarang tetapi ada pula pasien dengan fungsi CYP2C9 yang hanya sedikit terganggu (homozygote pada *3 variant yang timbul dari 1075AC encoding I359L), pada pasien ini penanganan klinisnya sulit karena memerlukan dosis warfarin yang kecil, sering tidak stabil.



Gambar 2.15 Farmakokinetik Risiko Tinggi

Obat yang dieliminasi dengan jalur tunggal dapat menimbulkan respons aberrant bila ternyata jalur itu tidak ada karena genetik atau karena pemberian obat lain yang sifatnya inhibisi. Pada gambar ini tampak 2 keadaan yang mendasari kondisi farmakokinetik risiko tinggi. Yang pertama (kiri) adalah

pemberian obat yang bersifat tidak aktif yang memerlukan metabolisme untuk menjadi aktif; tidak adanya pathway (jalur) menyebabkan tidak timbulnya efek obat. Ini terjadi pada respons terhadap clopidogrel, tamoxifen, losartan, dan codeine. Yang kedua (kanan) adalah obat yang dieliminasi dengan jalur tunggal. Ketiadaan jalur ini menyebabkan akumulasi obat asal sehingga timbul toksisitas.

Diadaptasi dari Roden and Stein. Copyright © 2009, the American Heart Association.

2.2.3 Farmakogenomik Klinis

Tabel 2.4 Obat-obat yang Mencantumkan Informasi Farmakogenomik pada Labelnya

Obat	Gen
Abacavir (<i>Ziagen</i>)	HLA-B*5701
Aripiprazole (<i>Abilify</i>)	CYP2D6
Arsenic Trioxide (<i>Trisenox</i>)	PML/RARA
Atomoxetine (<i>Strattera</i>)	CYP2D6
Atorvastatin (<i>Lipitor</i>)	
Azathioprine (<i>Imuran</i>)	TPMT
Busulfan (<i>Myleran</i>)	Philadelphia (Ph1) chromosome
Capecitabine (<i>Xeloda</i>)	DPYD
Carbamazepine (<i>Tegretol</i>)	HLA-B*1502
Carvedilol (<i>Coreg</i>)	CYP2D6
Celecoxib (<i>Celebrex</i>)	CYP2C9
Cetuximab (<i>Erbix</i>)	EGFR
Cevimeline (<i>Evoxac</i>)	CYP2D6
Chloroquine (<i>Aralen</i>)	G6PD
Clopidogrel (<i>Plavix</i>)	CYP2C19
Clozapine (<i>Clozaril</i>)	CYP2D6
Dapsone (<i>ACZONE</i>)	G6PD
Dasatinib (<i>Sprycel</i>)	BCR-ABL
Diazepam (<i>Valium</i>)	CYP2C19
Doxepin	CYP2D6
Drospirenone and Ethinyl Estradiol (<i>Yasmin</i>)	CYP2C19
Erlotinib (<i>Tarceva</i>)	EGFR
Esomeprazole (<i>Nexium</i>)	CYP2C19
Fluorouracil (<i>Efudex</i>)	DPYD
Fluoxetine (<i>Prozac</i>)	CYP2D6
Fluoxetine and Olanzapine (<i>Symbyax</i>)	CYP2D6
Fulvestrant (<i>Faslodex</i>)	Estrogen receptors
Gefitinib (<i>Irissa</i>)	EGFR
Imatinib (<i>Gleevec</i>)	BCR-ABL
Irinotecan (<i>Camptosar</i>)	UGT1A1
Isosorbide and Hydralazine (<i>BiDil</i>)	NAT1 and NAT2
Lapatinib (<i>Tykerb</i>)	ERBB2 (HER2)
Lenalidomide (<i>Revlimid</i>)	Chromosome 5q
Maraviroc (<i>Selzentry</i>)	CCR5

Mercaptopurine	TPMT
Metoprolol (<i>Lopressor</i>)	CYP2D6
Nelfinavir (<i>Viracept</i>)	CYP3A, CYP2C19
Nilotinib (<i>Tasigna</i>)	Philadelphia chromosome, and UGT1A1
Panitumumab (<i>Vectibix</i>)	KRAS
Propafenone (<i>Rythmol</i>)	CYP2D6
Propranolol (<i>Inderal</i>)	CYP2D6
Protriptyline (<i>Vivactil</i>)	CYP2D6
Quinidine	CYP2D6
Rabeprazole (<i>Aciphex</i>)	CYP2C19
Rasburicase (<i>Elitek</i>)	G6PD
Rifampin, Isoniazid and Pyrazinamide (<i>RIFATER</i>)	NAT1 and NAT2
Risperidone (<i>Risperdal</i>)	CYP2D6
Sodium Phenylacetate and Sodium Benzoate (<i>Ammonul</i>)	NAGS, CPS1, OTC, ASS1, ASL and ARG1
Sodium Phenylbutyrate (<i>Buphenyl</i>)	CPS1, OTC and ASS1
Tamoxifen (<i>Nolvadex</i>)	Estrogen receptors
Terbinafine (<i>Lamisil</i>)	CYP2D6
Tetrabenazine (<i>Xenazine</i>)	CYP2D6
Thioguanine (<i>Tabloid</i>)	TPMT
Thioridazine (<i>Mellaril</i>)	CYP2D6
Timolol (<i>Istalol</i>)	CYP2D6
Tiotropium (<i>Spiriva</i>)	CYP2D6
Tolterodine (<i>Detrol</i>)	CYP2D6
Tositumomab (<i>Bexxar</i>)	MS4A2
Tramadol - Acetaminophen (<i>Ultracet</i>)	CYP2D6
Trastuzumab (<i>Herceptin</i>)	ERBB2 (HER2)
Tretinoin (<i>Vesanoid</i>)	PML/RARA
Valproic acid (<i>Stavzor</i>)	
Venlafaxine (<i>Effexor</i>)	CYP2D6
Voriconazole (<i>VFEND</i>)	CYP2C19
Warfarin (<i>Coumadin</i>)	CYP2C9, VKORC1

2.2.4 Farmakogenetik Kombinasi

Cara lain untuk menganalisis variabilitas pada complex traits seperti gagal jantung dan responsnya terhadap obat diteliti tidak pada varian genetik tunggal, tetapi pada kombinasi gen-gen multiple (Wilke *et al.*, 2005). Ada dua contoh, yaitu warfarin dan clopidogrel, yang menggambarkan bagaimana interogasi data klinis yang sangat banyak untuk kandidat polymorphism pada gen-gen kandidat multiple pada kombinasi dapat membantu menunjukkan peran varian-varian ini pada penentuan efek obat. Berikut ini dijelaskan mengenai mengenai efek luas relatif dari varian genetik tunggal dapat me-modulasi efek obat ini, yang menjadi

dasar US Food and Drug Administration untuk memasukkan informasi genetik pada label suatu obat.

Selanjutnya, dilakukan pemeriksaan ratusan SNP pada gen-gen multipel kandidat untuk identifikasi lokus modulasi respons obat. Perpanjangan interval QT yang diinduksi oleh obat juga dianalisa disini. Kebanyakan obat yang memperpanjang QT kerjanya memblok arus kalium spesifik jantung, IKr.

Penelitian yang memeriksa variasi pada interval QT atau respons terhadap obat berimplikasi multiple selain kanal ion dan gen-gen lainnya. Hal ini memberikan pandangan dimana kontrol interval QT berdasarkan pada mekanisme yang beragam (hampir semua tidak berhubungan dengan IKr), dan variasi pada mekanisme-mekanisme ini menyebabkan timbulnya variabilitas dalam sejauh mana blok IKr memperpanjang QT. Hal ini disebut dengan cadangan repolarisasi (repolarization reserve), yang merupakan contoh spesifik yang lebih umum bahwa variabilitas dalam fisiologis dan fenotip respons obat mencerminkan interaksi dari beberapa jalur biologis.

2.2.5 Variasi Genetik yang Digunakan untuk Memprediksi Respons Obat

DNA sequencing adalah cara menentukan urutan nukleotida pada molekul DNA. Saat ini dirasakan perlu untuk membuat katalog variasi genetik yang terdapat pada genom manusia. Variasi yang biasanya disebut dengan SNPs (snips) dapat digunakan sebagai alat diagnostik untuk memprediksi respons seseorang terhadap suatu obat. SNPs didapatkan dari hasil pemeriksaan sequencing DNA untuk SNPs spesifik. Yang masih menjadi kendala adalah tehnik sequencing gen masih sangat lambat dan biayanya yang mahal sehingga penggunaan SNPs sebagai alat diagnostik masih sangat terbatas. DNA microarrays (atau DNA chips) memerlukan teknologi canggih, gunanya agar dokter dapat memeriksa adanya SNPs yang spesifik dengan cepat dan tepat.

Microarray tunggal dapat digunakan untuk skrining 100.000 SNPs pada genom pasien dalam waktu beberapa jam. Perkembangan teknologi DNA microarray di masa depan bertujuan menemukan metode skrining SNP yang dapat dilakukan di praktek dokter sehingga dapat langsung digunakan untuk memeriksa respons pasien terhadap obat sebelum dokter menuliskan resep.

2.2.6 Identifikasi Kontribusi Genetik Pada Berbagai Efek Obat

Faktor Keturunan dan Respons Obat

Penelitian pada satu keluarga dilakukan untuk mengetahui apakah penyakit jantung mempunyai komponen fenotip yang dapat diturunkan. Tetapi hal ini belum dapat digunakan untuk mengetahui fenotip respons obat pada saudara-saudara pasien dengan penyakit yang sama; jadi, komponen keturunan untuk variabilitas efek obat belum ditemukan. Secara *in vitro* telah ditemukan efek sitotoksik yang diturunkan dari senyawa antikanker, yaitu akibat paparan obat pada lymphoblastoid cell lines pasien (Watters *et al.*, 2004). Besarnya angka menurunnya (heritability) sitotoksitas dengan menggunakan metode ini adalah sekitar 0.25-0.65; sebuah penelitian menggunakan analisis linkage untuk mengidentifikasi lokus yang memediasi toksisitas ini (Dolan *et al.*, 2004). Hasil penelitian yang dilakukan pada orang kembar mengenai ekskresi isoniazid via urin, menunjukkan adanya variabilitas yang lebih banyak pada kembar dizigot daripada kembar monozigot, hal ini membuktikan adanya faktor yang diturunkan, yaitu variabel N-acetylation yang berkaitan dengan genetik. Klirens digoxin lebih mirip pada kembar monozigot daripada dizigot, besarnya keturunan *area under the curve* sekitar >79% (Birkenfeld *et al.*, 2009). Penelitian pada suku Amish yang merupakan populasi dengan catatan genetik yang lengkap, mengenai kadar adenosine diphosphate (efeknya menstimulasi agregasi trombosit) sebelum dan sesudah diberi clopidogrel, hasilnya menunjukkan adanya faktor

keturunan (heretabilitas) dasar dari 0.33 sebelum diberi obat, menjadi 0.73 setelah diberi obat. Hal ini menunjukkan komponen genetik yang kuat pada respons obat (Shuldiner *et al.*, 2009).

Table 2.5 Uji Identifikasi dan Validasi Pengaruh Genetik pada Respons Obat

Kandidat dan Jenis Uji	Keuntungan	Kerugian	Contoh
<u>Kandidat biologis</u>			
Gen Kandidat berdasarkan pada variabel farmakokinetik	Variabilitas pada proses ini menentukan variabel efek obat	Identifikasi & replikasi hubungan antara varian genotip dan respons obat memerlukan populasi yang besar, tergantung pada besarnya efek genetik dan frekwensi varian alel	Warfarin/CYP2C9, Simvastatin/S LCO1B1, Clopidogrel/CYP2C19, Metoprolol/CYP2D6, Atorvastatin/CYP3A5.
Gen Kandidat berdasarkan pada variabel farmakodinamik	Gen-gen kandidat sering diidentifikasi	Identifikasi dan replikasi hubungan antara varian genotip dan respons obat memerlukan populasi yang besar, tergantung pada besarnya efek genetik dan frekwensi varian alel	Bucindolol/ADRB1, β -blockers in heart failure/ACE, Antiarrhythmics in atrial fibrillation/ACE, Warfarin/VKORC1
Analisis jalur kandidat	Kemungkinan kurang bias daripada uji gen-tunggal	Memerlukan interrogasi SNP banyak sekali; sulit replikasi	HMG-CoA reductase haplotype sebagai prediktor respons statin
<u>Uji Unbiased</u>			
Gen kandidat dipilih dari GWAS atau uji unbiased lainnya	Unbiased	Harus ada kesimpulan GWAS; replikasi sulit	NOS1AP sebagai prediktor mortalitas pada pemberian kalsium bloker
GWAS	Unbiased	Kasus dan kontrol harus banyak; replikasi sulit	Simvastatin/SLCO1B1, Warfarin/VKORC1, CYP2C9, CYP4F2, Clopidogrel/CYP2C9/locus
Respons obat pada organisme model dengan genetik yang telah dimanipulasi	Unbiased	Pengujian sulit dilakukan; translasi dari organisme model ke manusia tidak bisa sempurna	QT prolongation/GINS3 locus

2.2.7 Variabel Efek Obat dan Varian Gen Tunggal

Varian Enzim Metabolisme Obat

Pada tahun 1950, McKusick dan Price-Evans menemukan variabel N-acetylation, suatu kontributor penting untuk variable hepatotoksik isoniazid dan sindroma lupus pada pasien yang diterapi dengan procainamide dan hydralazine.

Pada tahun 1970, 2 grup peneliti meneliti obat yang berbeda (debrisoquine, obat antihipertensi (Mahgoub *et al.*, 1977) dan sparteine, obat antiaritmia (Eichelbaum *et al.*, 1995) hasilnya adalah 5-10% subyek yang mengalami efek samping yang disebabkan tidak adanya enzim penting untuk bioinaktivasi obat. Enzim ini dulunya disebut dengan debrisoquine 4-hydroxylase dan sparteine N-oxidase, tapi kemudian ditemukan bahwa defeknya sama, sehingga kini disebut dengan representasi homozygosity untuk hilangnya fungsi enzim metabolisme obat yang penting yaitu superfamily cytochrome P450 (CYP), CYP2D6. Kini telah ditemukan berbagai varian yang dapat menurunkan atau mengeliminasi fungsi CYP2D6.

Coding region varian pada berbagai anggota superfamily ini, seperti CYP2C9 dan CYP2C19, menyebabkan timbulnya populasi yang metabolismenya buruk untuk substrat masing-masing enzim ini. Suatu hal yang menarik adalah bahwa CYP3A4, enzim yang paling banyak berimplikasi pada metabolisme obat-obat tidak termasuk coding region polymorphism yang mengubah fungsi; selain itu, berbagai aktivitas CYP3A4 yang berbeda timbul pada masing-masing individu, dan beberapa variasi ini disebabkan karena variasi genetik pada regulasi ekspresi gen CYP3A4. (Lamba *et al.*, 2010). Kontributor lainnya untuk terjadinya variasi pada aktivitas CYP3A adalah intronic single-nucleotide polymorphism (SNP) pada gen kerabat dekat, CYP3A5 (Kuehl *et al.*, 2001) varian allele CYP3A5*3 mempengaruhi messenger RNA dengan membuat tempat sambatan yang baru.

Insidens alel CYP yang fungsinya sangat penting, sangat dipengaruhi oleh keturunan (vary strikingly by ancestry). Misalnya, metaboliser yang buruk dan tidak berfungsinya CYP2D6 didapatkan pada 5-10% populasi Eropa dan Afrika, tetapi nilainya lebih kecil pada orang Asia. Sebaliknya, metaboliser CYP2C19 yang buruk lebih banyak didapatkan pada orang Asia dibandingkan kedua grup lain, dan frekwensi varian CYP3A5*3 lebih tinggi pada orang kulit putih (0.85) dibandingkan orang kulit hitam (0.55), yang berhubungan dengan ekspresi CYP3A5 hepatic yang lebih tinggi pada orang kulit hitam.

2.2.8 Efek-Luas Varian pada Gen-gen Lainnya

Gen varian tunggal yang tidak terlibat pada metabolisme obat, dapat juga menyebabkan risiko tinggi variabel respons obat. Hal ini melibatkan varian pada gen-gen encoding molekul target atau pathway dimana terjadi interaksi obat, atau gen-gen encoding yang tidak berhubungan dengan efek terapeutik. Pada kelompok yang terakhir, ada satu contoh penelitian yaitu varian pada sistem HLA. Individu dengan varian tunggal HLA B*5701 mempunyai risiko tinggi terjadinya reaksi kulit fatal pada saat terapi dengan obat antiretroviral abacavir, sedangkan B*1502 (suatu alel yang terdapat terutama pada orang-orang Asian) berhubungan dengan reaksi kulit berat selama terapi dengan carbamazepine. Berikut ini dibahas mengenai varian V174A pada SLCO1B1, suatu encode molekul transport yang bertanggung jawab pada ambilan simvastatin di liver, yang disertai dengan peningkatan risiko terjadinya myopathy.

Tabel 2.6 Varian Genetik yang Mempengaruhi Obat Kardiovaskuler

<u>Gen dan Obat</u>	<u>Efek Klinis</u>
<u>Metabolisme Obat</u>	
<u>CYP2C9</u>	
Losartan	Menurunkan bioaktivasi dan efek (PMs)
Warfarin	Menurunkan dosis; meningkatkan risiko perdarahan (PMs)
<u>CYP2C19</u>	
Clopidogrel	Menurunkan bioaktivasi dan efek (PMs)
<u>CYP2D6</u>	
Metoprolol, carvedilol, timolol, dan propafenone	Meningkatkan blokade pada PMs
<u>CYP3A5</u>	
Atorvastatin	Meningkatkan efikasi lipid-lowering
Simvastatin	Meningkatkan keparahan myotoxicity
Lovastatin	
NAT2	
Hydralazine and procainamide	Meningkatkan risiko toksisitas pada PMs
<u>Transport obat</u>	
<u>SLCO1B1</u>	
Simvastatin	Variant nonsynonymous SNP mempengaruhi efikasi dan meningkatkan risiko myopathy
<u>ABCG2</u>	
Berbagai statin	Mengubah farmakokinetik
<u>Target obat</u>	
<u>HMG-CoA reductase</u>	
Pravastatin	Haplotype-dependent LDL lowering
VKORC1	
Warfarin	Menurunkan dosis dengan variant promoter haplotype
<u>ADRB1 dan ADRB2</u>	
Berbagai β -bloker	Mengubah efek vaskuler dan denyut jantung
<u>ACE</u>	
ACE inhibitor	Tidak ada efeknya pada respons obat
<u>Gen-gen lain</u>	
<u>ACE</u>	
β -bloker pada payah jantung, antiaritmia pada fibrilasi atrial	Penurunan respons pada subyek dengan genotip DD
<u>G-protein β3 subunit, kininogen, dan lokus lainnya</u>	
Diuretik Thiazide	Penurunan yang besar pada tekanan darah sistolik dan diastolik

2.2.9 Uji Unbiased untuk Identifikasi Gen yang Memodulasi Efek Obat

The Human Genome Project berikutnya meningkatkan peta variasi genetik manusia yang detail yang digunakan sebagai alat untuk mengetahui hubungan variasi genetik antara genom manusia dengan fisiologis manusia yang penting dan dengan penyakit keturunan pada pola unbiased yang relatif. Desain GWAS konvensional membentuk sebuah set SNPs yang disertai dengan sifat yang diteliti dan kemudian mencari replikasi hubungan ini dengan dataset klinis lainnya yang lebih besar. Kontribusi variant yang diidentifikasi oleh GWAS untuk susceptibilitas penyakit biasanya adalah allele risiko tinggi tidak terakumulasi pada populasi akibat evolutioner yang merugikan seperti akumulasi.

Penerapan paradigma GWAS pada farmakogenomik menghadapi hambatan berupa sangat banyak set pasien dengan fenotip respons-obat yang tidak lazim. Di sisi lain, karena tidak adanya perhatian pada gen-gen protein encoding me-mediasi efek obat, secara fungsional variant yang penting dengan efek yang besar dapat terakumulasi pada populasi. Sifat khas lain pada penelitian GWAS mengenai respons obat merupakan sifat alami signal yang sudah diidentifikasi. Pendekatan GWAS pada penyakit sering diidentifikasi sebagai lokus dengan susceptibilitas yang baru. Sebaliknya, banyak penelitian GWAS (tetapi tidak semuanya) pada farmakogenomik menemukan sinyal pada jalur penelitian sebelumnya, yang hal ini mencerminkan efek luas yang sudah didapatkan dari pendekatan gen kandidat.

Satu penelitian dengan pendekatan GWAS pada farmakogenomik kardiovaskuler adalah studi yang meneliti myopathy karena simvastatin. Dari 6033 pasien yang diberi simvastatin 20 mg/sehari, hanya ada 8 kasus miopathy, sedangkan pada 6031 pasien yang diberi simvastatin 80mg/hari, terjadi 98 kasus miopathy. GWAS membandingkan 85 kasus myopathy dengan 90 kontrol dengan single SNP (rs4363657) pada SLCO1B1 di genome-wide significance.

SNP ini terdapat di dekat linkage disequilibrium yang sempurna dengan studi sebelumnya nonsynonymous variant (V174A) pada OATP1B1, uptake transporter obat yang meng-encode SLCO1B1; studi sebelumnya pada GWAS menunjukkan bahwa V174A mengganggu eliminasi simvastatin acid dan menyebabkan modulator efikasi dan toksisitas obat. Pasien dengan homozygous phenotype yang langka (2.1%) akan mengalami insidens myopathy 5-tahun sebesar 18%, sedangkan pada heterozygote sebesar 3% dan 0.6% pada individu yang tidak punya allele risiko. Hasil ini ter-replikasi pada studi lainnya, pada pasien yang diberi dosis yang lebih rendah, yaitu 40 mg/hari, dengan efek yang lebih kecil (risiko relatif 2.6 per C allele). Kini, ada 1 kelompok studi yang melaporkan hasil yang sama dari obat statin multiple pada penelitian yang lebih kecil (Voorra *et al.*, 2009).

Penelitian GWAS terbaru mengenai respons terapeutik terhadap terapi statin pada 3 uji terapi acak menghasilkan bahwa loci kontrol lipid multipel, yang didapatkan di dekat calmin, suatu gen yang tidak diketahui mempengaruhi homeostasis lipid (Barber *et al.*, 2010). Analisis ribuan pasien ini, yang diberi atorvastatin, pravastatin, atau simvastatin menggunakan Bayesian statistical menunjukkan bahwa hubungan antara variabilitas genetik pada calmin locus dan perubahan kadar lipid puasa karena statin, dapat menimbulkan efek tersendiri.

2.2.10. Ras dan Farmakogenetik

Etnis dan ras merupakan dua konsep yang digunakan untuk mengelompokkan manusia berdasarkan keturunan dan fisik (Sankar *et al.*, 2007). Etnis juga berkonotasi kultural, bahasa, perilaku, atau agama. Jadi etnis dan ras terkait dengan genetik dan lingkungan. Kerumitan ini membuat peneliti makin sulit untuk mengidentifikasi hubungan spesifik antara farmakogenetik dengan ras/etnis.

Tang dkk (2005) menganalisis data genetik pada 3.636 orang yang mengidentifikasi dirinya sendiri dengan salah satu dari empat ras mayor dan kelompok etnis di Amerika Serikat (Kaukasian, Afrika Amerika, Asia Timur, dan Hispanik). Analisis data menghasilkan empat klaster genetik utama, yang hubungannya hampir sempurna dengan empat kategori ras/etnis berdasarkan pengakuan sendiri. Tang dkk menyimpulkan bahwa ras berdasarkan pengakuan dapat digunakan untuk menentukan populasi pada studi klinis, karena definisinya mencakup variasi genetik.

Namun, berbeda dari penemuan Tang dkk, dua studi yang dipublikasi di *New England Journal of Medicine* menemukan bahwa ada masalah yang timbul apabila ras digunakan untuk membuat kesimpulan pada studi klinis. Kedua studi ini berfokus pada terapi penyakit kardiovaskuler -penyakit yang terkait dengan jantung atau pembuluh darah; antara lain tekanan darah tinggi, penyakit jantung koroner (serangan jantung dan angina), payah jantung kongestif, stroke, dan kelainan jantung bawaan. CVD (cardiovascular disease) membunuh hampir 2.400 orang Amerika setiap hari, dan mortalitasnya tertinggi pada Afrika Amerika. Pada tahun 2004, 454 dari 100.000 laki-laki Afrika Amerika meninggal akibat CVD, dibandingkan dengan 335 dari 100.000 laki-laki Kaukasian, menurut American Heart Association. Angka kematian akibat CVD, 333,6 per 100.000 perempuan Afrika Amerika, dibandingkan dengan 238 per 100.000 perempuan Kaukasian. Perbedaan yang menyolok pada morbiditas dan mortalitas ini, berkaitan dengan ras, sehingga timbul pertanyaan dari para ilmuwan, kemungkinan untuk membuat standar terapi yang berbeda untuk CVD berbagai ras. Standard terapi yang sudah ada ini apakah lebih baik hasilnya pada Kaukasian daripada Afrika Amerika?

Membuat definisi ras pada disain studi genetic

Tabel 2.7 Proporsi keanggotaan masing-masing populasi sampel pada structure-defined subclusters (Wilson J, 2001)

Population	A	B	C	D
Bantu	0.04	0.02	0.93	0.02
Ashkenazi	0.96	0.01	0.01	0.02
Ethiopia	0.62	0.08	0.24	0.06
Norway	0.96	0.02	0.01	0.01
Armenia	0.90	0.04	0.02	0.05
China	0.09	0.05	0.01	0.84
Papua New Guinea	0.02	0.95	0.01	0.02
Afro-Caribbean	0.21	0.03	0.73	0.03

Hasilnya adalah, harus menggunakan banyak lokus untuk memperoleh konsistensi pada kluster; menggunakan satu marker dari setiap lengan kromosom.

Pada tahun 2001, Wilson dkk mencoba untuk meneliti intersection variasi genetic, repsons obat, dan ras dengan mengelompokkan subjek menjadi kelompok berdasarkan regio genetic, apapun ras dan etnisnya. Pada studi ini, peneliti melihat pada variasi pada microsatellites, atau sekuens dua, tiga, atau empat nukleotida yang berulang 10 sampai 100 kali di sepanjang DNA yang memperlihatkan variasi besar pada panjang pengulangan individu. Secara khusus, peneliti memeriksa 16 mikrosatelit pada kromosom 1 dan 23 pada kromosom X kelompok individu yang heterogen. Subjek penelitian dibagi dalam empat subkluster berdasarkan microsatellite alleles, yang berhubungan dengan empat area geografis: Western Eurasia, Sub-Saharan Africa, China, dan New Guinea (Table 1).

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa 62% orang Ethiopia pada studi ini termasuk dalam kluster yang sama dengan Jews, Norwegian, dan Armenians, hal ini menunjukkan bahwa penempatan individu ini pada kluster African American bertentangan dengan pengelompokan genetic mereka. Selain itu, 21% Afro-Caribbeans yang dikelompokkan sama dengan West Eurasians, dimana

orang dari Cina dan New Guinea hampir seluruhnya berada pada klaster yang terpisah, menunjukkan bahwa label etnis "Asian" juga merupakan deskripsi yang tidak akurat.

Populasi yang berbeda, memiliki frekuensi berbagai alel untuk metabolisme obat yang berbeda juga, Wilson dkk meneliti berbagai gen yang mengkode enzim ini, antara lain CYP2D6, di seluruh klaster yang mereka identifikasi dengan analisis microsatellite. Mereka mendapatkan bahwa pengelompokan genetik (berdasarkan pada analisis microsatellite) lebih informatif pada perbedaan metabolisme obat dibandingkan dengan pengelompokan berdasarkan pada warna kulit atau kelompok etnis atas pengakuan sendiri.

Wilson dkk mendukung premis bahwa pemahaman genetik individu merupakan kunci untuk pemberian obat secara personal dengan efikasi dan keamanan yang lebih baik, dengan tidak melupakan lingkungan, diet, usia, gaya hidup, dan keadaan kesehatan yang semuanya mempengaruhi respons pasien terhadap terapi.

2.3 Myopathy Akibat Simvastatin dan Variant SLCO1B1

Myopathy adalah penyakit pada otot apa pun etiologinya. Pasternak dan kawan-kawan mendefinisikan spektrum myopathy karena statin sebagai berikut: myalgia adalah nyeri atau kelemahan otot tanpa peningkatan creatine kinase (CK), sedangkan myositis adalah gejala otot dengan peningkatan CK.

Rhabdomyolysis adalah gejala otot dengan peningkatan CK lebih dari 10 kali upper limits of normal (Pasternak, 2002). Definisi ini masih bisa berubah karena tidak mengikutkan data histopatologi dari perubahan inflamasinya (Hilton-Jones *et al.*, 2008).

2.3.1 Epidemiologi Myopathy Akibat Statin

Masih belum jelas apakah selalu terjadi gejala myotoksik saat terapi dengan statin. Meta-analisis dari uji klinis memperlihatkan bahwa insidens abnormalitas myopathy per 100.000 kurang dari 0.1% (Silva, 2007; Harper, 2007). Myalgia didapatkan sebanyak 25% efek samping statin, sedangkan gejala otot yang lebih ringan jarang dilaporkan dan insidensnya sekitar 5-7% (Arora, 2006).

2.3.2 Faktor Risiko Myopathy Akibat Statin

Pasien yang sebelumnya telah menderita penyakit diabetes mellitus, disfungsi renal, penyakit liver atau mengonsumsi obat fibrat dan macrolide lebih mudah mengalami myopathy daripada pasien lainnya (Josan *et al.*, 2008). Lihat

Tabel 2.1.

Myopathy akibat statin bersifat *dose dependent* dan lebih banyak diakibatkan statin lipofilik daripada hidrofilik (Bettina *et al.*, 1998). Faktor ini tidak berhubungan dengan efek penurunan kolesterol (Kobayushi *et al.*, 2008). Lihat

Tabel 2.8.

Tabel 2.8 Faktor Risiko Terjadinya Myopathy Akibat Statin

Faktor Risiko
Usia
Jenis Kelamin Perempuan
Body Mass Index yang kecil
Olah raga
Penyakit
Liver
Renal
Diabetes Mellitus
Hipotiroid
Penyakit otot lainnya
Obat
Fibrat (Gemfibrozil), Vitamin K antagonis (Warfarin)
Antibiotik Macrolide (Azithromycin)
Antifungi Azole (Itraconazole)
HIV protease inhibitors
Verapamil
Amiodarone
Alkohol
Operasi

2.3.3 Mekanisme Myopathy Akibat Statin

Walaupun mekanisme myotoksitas statin masih belum jelas benar, diduga ada gangguan sintesa kolesterol dengan fungsi membran abnormal sekunder (De Pinieux, 1996). Mekanisme lainnya adalah adanya defisiensi senyawa mevalonate dan ubiquinone (Co Q10) yang menyebabkan disfungsi mitokondria atau prenylated protein yang menyebabkan perubahan hantaran pesan intraseluler yang menginduksi vacuolasi myofiber, degenerasi dan pembengkakan organella, dan bahkan apoptosis (Sirvent *et al*, 2008).

Tabel 2.9 Daftar Statin untuk Terapi Hiperkolesterolemia*

Jenis Statin	Tahun	Sediaan	Dosis	T1/2(jam)	Solubilitas	Ikatan Protein
<u>Hidrofilik</u>						
Pravastatin (Pravachol)	1991	10/20/40/60 mg per tab	10-80 mg/hari	1-3-2.8	Hidrofilik	40-55
Fluvastatin (Lescol)	1999	80 mg per tab	20-80 mg/hari	0.5-2.3	Hidrofilik	>99
Rosuvastatin (Crestor)	2003	5/10/20/40 mg per tab	5-40 mg/hari	19	Hidrofilik	88
<u>Lipofilik</u>						
Lovastatin (Mevacor, Altoprev)	1987	10/20/40/60 mg per tab	20-80 mg/hari	2.9	Lipofilik	>95
Cerivastatin** (Baycol, Lipobay)	1999	0.3/0.4/0.8 mg per tab	0.3 mg-0.4 mg/hari	2.1-3.1	Lipofilik	>99
Simvastatin (Zocor)	2000	5/10/20/40 mg per tab	10-80 mg/hari	2-3	Lipofilik	>95
<u>Combined</u>						
Atorvastatin (Lipitor)	1999	10/20/40mg per tab	10-80 mg/hari	15-30	Lipofilik / Hidrofilik	80-90

*semua mengalami metabolisme hepatic

**sudah ditarik dari pasaran

2.3.4 Keadaan Klinis Myopathy

Tidak ada tanda klinis yang khas untuk myopathy akibat statin; dari myalgia, lassitude dan fatigue sampai kelemahan otot proksimal, otot bulbar bisa terkena dan pemeriksaan elektromyografi menunjukkan potensial miopatik (Kordas, 2004). Gejalanya timbul dalam waktu 4 minggu tetapi bisa juga setelah beberapa tahun mengonsumsi statin. Peningkatan kadar serum CK dengan atau tanpa myoglobinuria dan kadar yang normal tidak menyingkirkan adanya myopathy (Phillips *et al*, 2002). Indikasi untuk melakukan skrining neurologis pada penyakit myopathy atau myopathy-mimics yang telah terjadi sebelumnya (Antons *et al*, 2006). Tidak ada marker morfologi untuk diagnosis myopathy akibat statin dari biopsi otot tetapi adanya myopathy merupakan indikasi untuk melakukan biopsi otot guna membantu menegakkan diagnosis (Verity *et al*, 2007).

2.3.5 Penentuan Risiko Secara Klinis

Faktor-faktor klinis yang mempengaruhi risiko pasien untuk terjadinya toksisitas otot akibat pemberian statin antara lain adalah: peningkatan dosis, usia lanjut, BMI rendah, perempuan, komorbiditas metabolik (mis, hipotiroid), olahraga, dan orang Asia atau Afrika (Wilke *et al.*, 2007). Pada lanjut usia biasanya terjadi polifarmasi, maka usia merupakan faktor interaksi obat serta peningkatan terjadinya penyakit ginjal dan liver kronis (Thompson *et al.*, 2003).

Schech dan kawan-kawan meneliti dokumen medis lebih dari 250.000 pasien, menemukan bahwa penggunaan statin pada pasien usia 65 tahun atau lebih akan meningkatkan risiko sebanyak 4 kali mengalami toksisitas otot (myositis, myopathy, dan/atau rhabdomyolysis) sehingga perlu opname, dibandingkan dengan penggunaan statin pada pasien usia muda (odds ratio (OR) 4.36; 95% confidence interval (CI) = 1.5–14.1) (Schech *et al.*, 2007).

Walaupun masih kontroversi, jenis kelamin perempuan juga meningkatkan risiko karena volume distribusinya lebih kecil (Graham *et al.*, 2004). Olahraga yang terlalu sering juga menyebabkan peningkatan CK pada pasien pengguna statin (Mareedu, 2009. Meador & Huey, 2010) tetapi pengaruh aktivitas fisik ini sulit diinterpretasikan. Olahraga yang berat dapat meningkatkan kadar serum CK sampai melebihi 10 kali ULN, walaupun pasien tersebut tidak menggunakan obat atau menderita kelainan otot patologis.

Dosis statin yang digunakan merupakan faktor risiko yang paling kuat.

McClure dan kawan-kawan melaporkan angka insidens terjadinya myotoksisitas sekitar 6 kali lebih tinggi pada pasien yang diberi statin dosis tinggi (McClure *et al.*, 2007). Walaupun ada yang menganggap bahwa faktor dosis ini merupakan efek tersendiri, tetapi hasil penelitian-penelitian menunjukkan bahwa dosis adalah faktor terkuat pada penggunaan simvastatin (Link *et al.*, 2008). Pada tahun 2011 FDA mengumumkan dosis simvastatin maksimum adalah 80 mg dan tidak boleh lebih.

2.3.6 Interaksi Obat

Jika statin digunakan sebagai monoterapi, angka timbulnya myopathy rendah (Graham *et al.*, 2004). Frekwensi ADR ini meningkat apabila diberikan obat lain bersama dengan simvastatin yang mempengaruhi farmakokinetik statin.

Antara tahun 1998 dan 2001, lebih dari 40 kasus toksisitas otot yang fatal akibat penggunaan cerivastatin. Penggunaan bersama dengan gemfibrozil, yang

bersifat inhibisi cytochrome P450 (CYP) 2C8-catalyzed biotransformasi cerivastatin dan juga inhibisi transport membran dan konjugasi fase II statin (Backman, 2002. Ronaldson, 2006). Disposisi biologis obat kelompok ini berbeda-beda pada masing-masing obat. Beberapa statin (atorvastatin, fluvastatin, lovastatin, dan simvastatin) mengalami oksidasi fase I; sedangkan

statin lainnya (pitavastatin, pravastatin, dan rosuvastatin) tidak mengalami oksidasi. Inhibitor CYP3A4 (mis, antifungi azole, protease inhibitor, amiodarone, dan berbagai bloker kanal kalsium) meningkatkan risiko terjadinya myopathy karena statin yang dimetabolisme oleh CYP3A4/5 (mis, simvastatin, lovastatin, dan atorvastatin) (Rowan *et al.*, 2009).

Berbagai statin juga mengalami modifikasi lain melalui konjugasi fase II oleh enzim family UDP-glucuronosyltransferase-1 (UGT1). Proses ini dapat dipengaruhi oleh pemberian fibric acid (Schneck *et al.*, 2004). Gemfibrozil merupakan derivat fibric acid, mempengaruhi farmakokinetik berbagai statin.

Dengan menghambat glucuronidasi dan membrane transport simvastatin hydroxy acid, gemfibrozil meningkatkan paparan sistemik terhadap simvastatin acid yang aktif (Backman *et al.*, 2000), sehingga meningkatkan risiko terjadinya myopathy.

Karena terjadinya interaksi obat ini, maka dosis simvastatin harus diturunkan apabila pasien juga diberi obat-obat yang mempengaruhi farmakokinetiknya.

2.4 Variant Genetik SLCO1B1 Pada Myopathy

2.4.1 SCLO1B1

OATP1B1 (yang di-kode oleh SLCO1B1) memfasilitasi ambilan statin hepatic dan beberapa senyawa endogen (mis, bilirubin dan 17-beta-glucuronosyl estradiol) (Ho, 2006. Niemi, 2011). Perubahan aktivitas transporter ini (yang terjadi saat interaksi obat-obat) dapat meningkatkan keparahan kerusakan otot akibat statin. Contohnya, cyclosporine, suatu inhibitor inhibitor CYP3A4 dan OATP1B1, meningkatkan *area under the curve* simvastatin acid 3-5 kali (Niemi *et al.*, 2011). Karena terjadinya inhibisi, variabilitas genetik pada SLCO1B1 juga mempengaruhi kadar plasma statin. Keseluruhan profil farmakokinetik juga mengalami lebih banyak perubahan karena simvastatin dibandingkan dengan obat lain pada kelasnya (Niemi, 2011. Kalliokoski & Niemi, 2009). Transporter

lainnya berpotensi mempengaruhi distribusi dan ambilan jaringan dari statin yaitu OATP1B3 (yang dikode oleh SLCO1B3), OATP2B1 (yang dikode oleh SLCO2B1), OATP1A2 (yang dikode oleh SLCO1A2), dan sodium-dependent taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP (Ho, 2006. Niemi, 2011).

2.4.2 Nomenklatur

Lokus gen SLCO1B1 menempati 109 kb pada kromosom 12 (Chr 12p12.2).

Walaupun berbagai single-nucleotide polymorphisms (SNPs) telah diidentifikasi pada SLCO1B1, tetapi hanya sedikit yang diketahui mempunyai efek fungsional (Niemi, 2011. Ramsey, 2012). c.521T>C variant rs4149056 memproduksi p.V174A substitusi. Alel C minor pada lokus ini berkaitan dengan penurunan fungsi transport in vitro (Tirona, 2001. Kameyama, 2005) dan penurunan klirens sejumlah obat in vivo (Niemi, 2004. Pasanen, 2007). Fenotip OAT1B1 dijabarkan pada Tabel 2.7, berdasarkan pada rs4149056. Secara umum, variant ini terdapat pada alel minor yang frekwensinya antara 5-20% pada populasi .

Alel SLCO1B1 diberi nama menggunakan *nomenklatur, menunjukkan berbagai SNPs, tunggal atau kombinasi. SLCO1B1 haplotypes, termasuk berbagai variant tambahan yang berkaitan dengan rendahnya ekspresi atau fungsi protein OAT1B1. Alel C minor pada rs4149056 mengandung SLCO1B1*5 (rs4149056 saja) serta *15, *16, dan *17 haplotypes. Walaupun rs4149056 jelas-jelas mempengaruhi farmakokinetik simvastatin acid, tetapi kekuatan efek ini sama pada *5, *15,*16, and *17 haplotypes (Pasanen *et al.*, 2006).

2.4.3 rs4149056 dan Kinetik Statin

Simvastatin diberikan dalam bentuk lactone inaktif, dan dihidrolisa secara in vivo, kemudian berikatan dengan hydroxy acid oleh carboxyesterase nonspesifik. Simvastatin acid merupakan inhibitor poten HMG-CoA reductase.

Simvastatin dan lovastatin adalah statin yang memerlukan bioaktivasi. Semua jenis statin lainnya diberikan langsung sebagai garam bioactive acid. Misalnya, atorvastatin diberikan dalam bentuk aktif (atorvastatin acid), dan mengalami metabolisme lintas pertama oleh CYP3A4/5 yields menjadi derivat ortho- dan para-hydroxylated yang aktivitasnya sama dengan senyawa asalnya.

SLCO1B1 polymorphism jelas berpengaruh pada farmakokinetik simvastatin dan, pada derajat yang lebih rendah, mempengaruhi farmakokinetik statin lainnya (Niemi, 2010). Pasanen dkk, menentukan bahwa karier homozigot dari alel C pada rs4149056 (genotip CC) lebih banyak terpapar dengan simvastatin acid aktif (AUC₀₋₁₂) daripada subyek homozigot untuk leluhur alel T (Pasanen *et al.*, 2006). Studi dosis-tunggal yang mengamati plasma *area under the curve* simvastatin acid, pitavastatin, atorvastatin, pravastatin, dan rosuvastatin yang aktif, berturut-turut 221, 162–191, 144, 57–130, dan 62–117% lebih tinggi pada rs4149056 CC homozigot daripada rs4149056 TT homozigot.

2.4.4 rs4149056 dan Risiko Myopathy

Pada tahun 2008, SEARCH Collaborative Group (Study of the Effectiveness of Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteine) melakukan studi case–control untuk myopathy yang disebabkan karena simvastatin, menggunakan DNA dari uji random pada lebih dari 12.000 subyek yang diberi simvastatin dosis rendah (20 mg sehari) atau simvastatin dosis tinggi (80 mg sehari) setelah infark miokard (Link *et al.*, 2008). Selama penelitian, 49 subyek yang diberi dosis tinggi mengalami myopathy (CK > 10-kali ULN dengan nyeri). 49 subyek lainnya dengan terapi yang sama juga mengalami myopathy *incipient* (CK > 3 kali ULN dan 5 kali level baseline pasien). Dari keseluruhan kasus myopathy *incipient* dan myopathy, 85 menjalani pemindaian seluruh genom (dengan platform yang mengandung 317.000 SNPs), dan hasilnya

dibandingkan dengan data genome-wide dari kontrol 90 non-myopathy (frekwensinya sesuai dengan yang diberi terapi yang sama). Varian nukleotida tunggal bertahan koreksi statistik untuk uji multipel: substitusi basa pada gen SLCO1B1. Setelah resequencing genomik, putative causative alel rs4149056 diuji kembali untuk asosiasi subset kasus myopathy definitif dari cohort aslinya, menghasilkan bahwa suatu OR untuk myopathy dari 4,5 per salinan alel C minor (Link *et al.*, 2008). Karena sekitar 25% dari populasi umum merupakan karier alel ini, dan 1/100 pasien yang menggunakan simvastatin dosis tinggi mengalami ADR, jadi pada sekitar 30 subyek perlu dilakukan pemeriksaan genotip untuk menghindari ADR.

Penemuan adanya hubungan antara rs4149056 dengan toksisitas otot karena statin dapat direplikasi pada kedua penelitian: second independent trial dan practice-based longitudinal cohort. Heart Protection Study melakukan penelitian pada lebih dari 20.000 subyek yang menderita penyakit vaskuler, atau faktor risiko vaskuler, dengan memberi secara acak setiap subyek penelitian simvastatin 40 mg atau plasebo (Heart Protection Study Collaborative Group, 2002, 2011). Didapatkan sebanyak 24 kasus myopathy (10 definitif dan 14 incipient) diantara 10.269 subyek yang diberi simvastatin 40 mg, dan 21 kasus diantaranya kemudian menjalani retrospective genotyping untuk rs4149056 (Link *et al.*, 2008). Pada validasi cohort, risiko relatif adalah 2,6 per salinan alel C minor (Link *et al.*, 2008). Walaupun SEARCH trial dan the Heart Protection Study merupakan randomized controlled treatment trials, efek rs4149056 lebih rendah pada pemberian statin dosis 40 mg daripada SEARCH yang memberikan dosis 80 mg, dan hal ini menunjukkan pentingnya dosis.

Data *practice-based* menunjukkan bahwa hubungan antara rs4149056 dengan toksisitas otot lebih kuat pada simvastatin daripada obat lainnya pada kelas yang sama. Alel C pada rs4149056 tampaknya mempengaruhi tingkat

kepatuhan untuk terapi dengan simvastatin (Voorra *et al*, 2009). Pada studi STRENGTH, sebanyak 509 pasien hiperkolesterolemia secara acak diberi simvastatin, atorvastatin, atau pravastatin selama 16 minggu. Tujuan utama studi ini adalah untuk meneliti efek gabungan antara penghentian pemberian obat karena efek samping apa pun, myalgia atau kram otot, dan/ atau peningkatan kadar serum CK lebih dari 3 kali ULN. Hasilnya sangat tinggi untuk simvastatin (OR: 2.8, 95% CI: 1.3–6.0) dan sedang untuk atorvastatin (OR 1.6, 95% CI: 0.7–3.7). Tidak ada hubungan dengan pravastatin (OR 1.0, 95% CI: 0.4–2.6). Seperti pada studi STRENGTH, penelitian lain menunjukkan adanya hubungan antara rs4149056 dengan efek samping otot karena intoleransi atorvastatin (Puccetti, 2010), tetapi ada hubungan antara rs4149056 dengan myopathy dari hasil laboratorium pada pemberian atorvastatin (Brunham *et al*, 2011).

Table 2.10 Fenotip SLCO1B1 Berdasarkan pada Genotip

Definisi Genotip	Diplotype yang Tampak	Genotip pada rs4149056	Fenotype yang Tampak
Individu dengan 2 fungsional alel	*1/*1	TT	Homozygous wild-type atau normal (55–88% pasien) aktivitas tinggi
Individu dengan 1 alel fungsional plus 1 alel fungsional yang menurun	*1/*5 (atau *1/*15, *1/*16, atau *1/*17)	TC	Heterozygous (11–36% pasien) aktivitas sedang
Individu dengan 2 alel fungsional yang menurun	*5/*5 (atau *5/*15, *5/*16, *5/*17, *15/*15, *15/*16, *15/*17, *16/*16, *16/*17, atau *17/*17)	CC	Homozygous variant atau mutant (0–6% pasien) aktivitas rendah

Dari data dokumen medis sekitar 9.000 pasien pada klinik akademi lipid, Brunham dan kawan-kawan mengidentifikasi 25 kasus myopathy dari hasil laboratorium (frekwensi 0.26%) (Brunham *et al*, 2011). 25 kasus itu semua genotip untuk rs4149056, dengan kontrol paparan obat (frekwensi yang sesuai 2:1), menunjukkan OR untuk myopathy adalah 2.3 per salinan alel C minor pada rs4149056. OR tertinggi, 3.2 (95% CI 0.83–11.96), pada subyek dengan genotip CC yang diberi simvastatin. Tidak ada hubungan dengan kasus atorvastatin (OR 1.06, 95% CI 0.22–4.80) (Brunham *et al*, 2011). Hasil ini konsisten dengan perbedaan klirens yang dilaporkan. Kini ada bukti bahwa genotip rs4149056 mempengaruhi intoleransi simtomatis atau myopathy untuk pravastatin (Voora *et al*, 2009) atau rosuvastatin (Puccetti *et al*, 2010). Oleh karena itu, penelitian klinis mengenai hubungan antara rs4149056 dengan myopathy bukan merupakan efek samping obat ini.

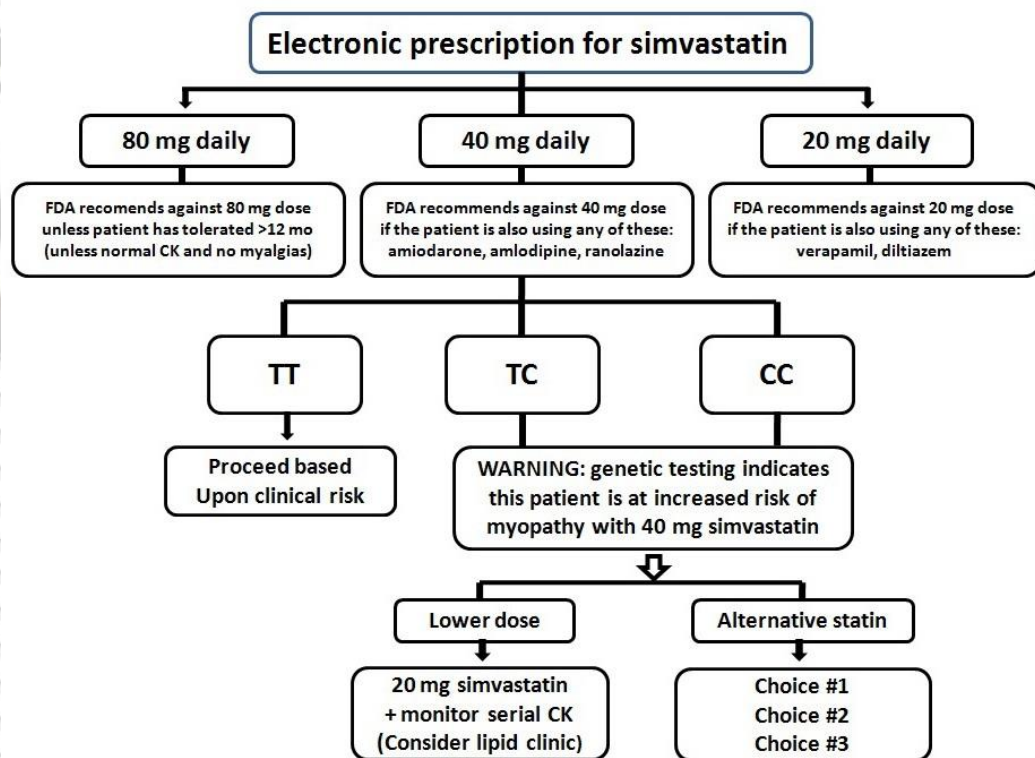
2.4.5 Pilihan Uji Genetik

SNP rs4149056 dapat di-genotip sendiri (mis, dengan PCR-based single SNP assay) atau multipel pada berbagai array-based platform (mis, dengan varian farmakokinetik lainnya). Teknologi Array-based telah dapat dilakukan pada Clinical Laboratory Improvement Amendments– approved environment for the Illumina VeraCode ADME array or the DMET Plus Affymetrix array. Variant ini juga merupakan konten farmakogenetik untuk partisipan yang langsung meminta pemeriksaan genomik.

Variabilitas genetik pada SLCO1B1 mempengaruhi ambilan hepatic obat-obat lainnya (mis, methotrexate) (Ramsey *et al*, 2012) serta senyawa endogen penting (mis, bilirubin) (van de Steeg *et al*, 2012).

2.4.6 Penentuan Dosis Berdasarkan Gen

Untuk simvastatin, bukti yang berkaitan dengan myopathy kepada rs4149056 di SLCO1B1 kualitasnya tinggi, dan hubungan ini direproduksi pada randomized trials dan clinical practice-based cohorts. Sebaliknya, hubungan antara rs4149056 dengan myopathy kurang kuat untuk statin lainnya. Maka pedoman difokuskan untuk simvastatin. Pendekatan rekomendasi (Tabel 2.4 dan Gambar 2.1) dimulai dengan perubahan label produk dari FDA. Genotip SLCO1B1 digunakan untuk menekankan peringatan ini (mis, risiko terjadinya myopathy pada penggunaan simvastatin 80 mg) pada subyek dengan alel C pada rs4149056.



Gambar 2.16 PREDICT (Pharmacogenomics Resource for Enhanced Decisions in Clinical Care and Treatment) algorithm untuk simvastatin. Algorithm diaktivasi oleh pilihan dosis simvastatin saat proses persepan secara elektronik pada Vanderbilt University Medical Center.

Pada pemberian simvastatin dosis rendah (mis, 40 mg sehari), maka informasi ini dapat digunakan untuk mengingatkan adanya peningkatan risiko myopathy pada subyek dengan alel C pada rs4149056 (Gambar 2.6). Pada keadaan ini, ditekankan juga kegunaan pemeriksaan rutin CK (Tabel 2.8). Pada subyek dengan alel C pada rs4149056 yang tidak mencapai efikasi yang optimal untuk menurunkan kadar kolesterol dengan simvastatin dosis kecil, maka disarankan dokter menuliskan resep statin lainnya berdasarkan pada (i) perbedaan potensi, (ii) perbedaan kinetik, (iii) komedikasi, (iv) fungsi liver, (v) fungsi renal, dan (vi) komorbiditas yang relevan.

2.4.7 Keuntungan Potensial dan Risiko Pasien

Statin mempunyai terapeutik indeks yang lebar (Wilke *et al*, 2005) dan efek sampingnya jarang yang berat. Tetapi walaupun angka kejadian myopathy rendah, tingginya prevalensi indikasi klinis (hiperkolesterolemia dan penyakit kardiovaskuler) menyebabkan efek samping ini menjadi penting. Selain itu, apabila tidak terjadi efek samping myopathy berat, pasien juga harus menghentikan penggunaan statin bila timbul toksisitas, dan apabila tidak teratur minum statin menyebabkan peningkatan beban penyakit kardiovaskuler pada infrastruktur perawatan kesehatan.

Simvastatin dosis 40 mg, risiko relatif terjadinya myopathy adalah 2.6 per salinan alel C pada rs4149056. Risiko ini lebih tinggi pada simvastatin dosis 80 mg (myopathy OR 4.5 untuk genotip TC, ~20.0 untuk genotip CC). Namun, toksisitas otot karena simvastatin tetap dapat timbul tanpa adanya rs4149056. Jadi, genotip TT tidak menyiratkan adanya varian lain yang berpotensi merusak dalam SLCO1B1 atau di tempat lain. Lebih jauh lagi, karena rs4149056 dapat juga diturunkan dalam kombinasi dengan varian gen SLCO1B1 yang lain yang mempunyai efek protektif, tidak dianggap bahwa alel C pada rs4149056 menunjukkan risiko 100%.

Pemeriksaan genotip SLCO1B1 diperlukan untuk menyesuaikan pemberian dosis simvastatin berdasarkan gen. Selain itu Pedoman ini dibuat untuk penatalaksanaan risiko terjadinya myopathy. Khusus simvastatin, tidak semua statin karena *evidence* simvastatin paling tinggi. Tujuan lainnya adalah untuk menurunkan toksisitas otot dan optimalisasi kepatuhan pasien minum obat. Studi efikasi masih sedang dilakukan, tetapi belum ada dasar yang kuat untuk menyatakan bahwa genotip SLCO1B1 berperan pada efikasi obat kolesterol.

Fokusnya adalah pada polimorfisme gen SLCO1B1 dan hasil pemberian statin. Penekanannya pada SLCO1B1 variant rs4149056 serta dua kriteria: (1) farmakokinetik statin (meliputi obat induk, lakton, asam, dan derivat hasil oksidasi fase I dan/atau konjugasi fase II) dan (2) studi hasil klinis yang relevan. Karena rs4149056 mempunyai efek merusak fungsi protein OATP1B1, maka diasumsikan bahwa efek merusak varian gen SLCO1B1 efek klinisnya sama.

Yang diteliti hanya rs4149056 karena hasil penelitian farmakokinetik dan data klinisnya lengkap.

Tabel 2.11 Dosis untuk Simvastatin Apabila Terdapat Genotip rs4149056 (atau Fenotipnya)

Genotip pada rs4149056	Antisipasi Fenotip	Implikasi untuk Simvastatin	Rekomendasi Dosis Simvastatin*	Klasifikasi Rekomendasi
TT	Aktivitas normal	Risiko Myopathy Normal	Rekomendasi FDA 80 mg (kecuali apabila telah toleransi selama 12 bulan). Resepkan dosis awal dan sesuaikan dosis simvastatin berdasarkan pada pedoman penyakit dasarnya.	Kuat
TC	Aktivitas sedang	Risiko myopathy sedang	Rekomendasi FDA 80 mg. Pertimbangkan dosis rendah; apabila efikasinya suboptimal maka gantilah dengan statin lainnya.	Kuat
CC	Aktivitas rendah	Risiko myopathy tinggi	Rekomendasi FDA 80 mg. Beri resep dosis rendah atau berilah statin lainnya; lakukan pemeriksaan CK rutin.	Kuat

CK: creatine kinase.

*Pada semua kasus, potensi interaksi obat-obat harus dievaluasi sebelum memberikan resep.

Pendekatan rekomendasi ini tidak meliputi gen farmakokinetik lainnya.

Kualitas hubungan *evidence* kandidat farmakokinetik yang lain terhadap myopathy hasilnya rendah sampai sedang, dan diperlukan penelitian selanjutnya.

Hubungan *evidence* kandidat farmakodinamik dengan myopathy karena statin masih jarang. Mekanisme yang mendasari efek samping obat (adverse drug reaction -ADR) ini masih belum sepenuhnya jelas. Walaupun ada beberapa data

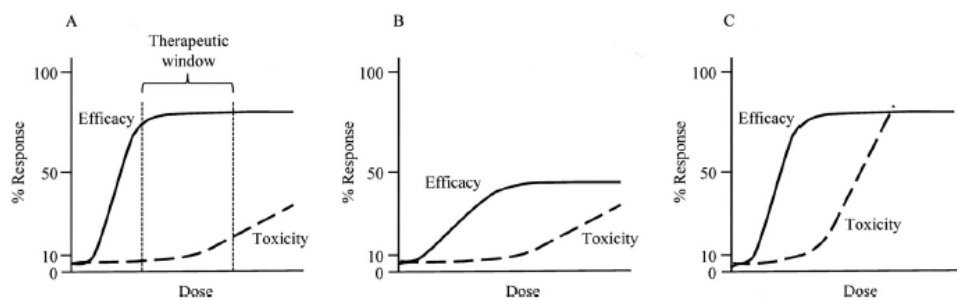
mengenai varian farmakodinamik, penggunaan klinis varian-varian ini masih belum jelas.

2.5 Pengaruh Polimorfisme Genetik pada Farmakokinetik dan Farmakodinamik yang Berkaitan dengan Respons Obat

Respons Obat dan Pewarisan

2.5.1 Variabilitas Individual pada Terapi Obat

Efikasi obat dan efek samping obat *dose-dependently* menentukan hasil klinis suatu terapi (Gambar 2.7). Pemberian obat dosis tinggi dapat meningkatkan efek terapeutik, tetapi di sisi lain juga berpotensi menimbulkan efek samping. *Therapeutic window* adalah dosis obat diantara efek terapeutik dengan timbulnya efek samping. Pada berbagai obat, dosis optimum untuk terapi yang efektif dan aman, bervariasi diantara pasien-pasien. Dosis di antara *therapeutic window* untuk mayoritas pasien dalam suatu populasi dapat terlalu rendah atau terlalu tinggi untuk pasien lainnya. Pada pasien tersebut, kurva dosis-responsnya tidak lazim, sehingga efek terapeutik dan toksisitasnya secara klinis tidak baik. Variabilitas individual secara umum pengaruhnya lebih terasa pada obat dengan *therapeutic window* yang sempit daripada yang lebar. Misalnya antikoagulan warfarin yang diberikan untuk terapi penyakit tromboemboli, mempunyai rentang dosis terapi yang sangat sempit dan berpotensi menimbulkan efek samping yang membahayakan jiwa. Kebutuhan dosis harian warfarin untuk inhibisi trombosis dan emboli pada berbagai penyakit bervariasi sebanyak 20-30 diantara masing-masing pasien. Jadi, agar terapi warfarin sebagai antikoagulan efektif dan aman, perlu sering dilakukan pemeriksaan koagulasi darah (Rettie and Tai, 2006).



Gambar 2.17 Ilustrasi Kurva Dosis Respons Obat

(A) Efek terapeutik dan toksisitas meningkat secara *dose-dependent*. *Therapeutic window* merupakan dosis diantara efek terapeutik dengan timbulnya efek samping. Faktor-faktor yang mengubah kurva dosis efek terapeutik obat (B) atau toksisitas (C) juga mempengaruhi respons obat pada pasien.

Penggunaan klinis simvastatin, HMG-CoA reductase inhibitor golongan statin, adalah untuk menurunkan kadar kolesterol. Statin merupakan contoh untuk variasi individual *dose-dependent* efikasi dan keamanan obat. Penelitian cohort yang dilakukan pada 156 subyek dengan kadar kolesterol *low-density lipoprotein* (LDL) > 160 mg/dl, diberi simvastatin dosis 40, 80, dan 160 mg/hari selama 6 minggu, hasilnya adalah penurunan kolesterol LDL sebesar 41, 47, dan 53%, berturut-turut. Hal ini menunjukkan bahwa simvastatin sangat efektif untuk menurunkan kolesteol LDL pada mayoritas pasien (Tabel 2.9) (Davidson *et al.*, 1997). Tetapi rentang penurunan kolesterol pada semua dosis sangat besar, dan pada sekitar 5% subyek tidak mengalami penurunan kolesterol atau menurun sedikit sekali, walaupun diberi dosis 160 mg/hari. Peningkatan dosis sampai 80 mg/hari atau 160 mg/hari akan meningkatkan aktivitas alanine aminotransferase plasma sebesar 0.7 dan 2.1%, berturut-turut. Peningkatan enzim alanine aminotransferase menunjukkan adanya kerusakan liver. Satu subyek yang diberi dosis 160 mg/hari mengalami myopathy (0.7%). Masih belum jelas mengapa pada sebagian kecil pasien, simvastatin gagal menurunkan kolesterol LDL tetapi menyebabkan toksisitas liver dan otot. Studi terakhir menunjukkan bahwa terjadi

polimorfisme genetik pada HMGCoA reductase dan transporter obat, antara lain organic anion-transporting polypeptide (OATP) 1B1, OATP-C, dan ATP-binding cassette transporter (ABC) G2, yang meregulasi ambilan atau efflux hepatic statin dan metabolit statin. Hal ini menyebabkan variabilitas pada efikasi dan efek samping obat penurun kolesterol (SEARCH Collaborative Group, 2008; Tomlinson *et al.*, 2010).

Tabel 2.12 Efikasi dan Toksisitas Dose-Dependent Pemberian Simvastatin Selama 6 Minggu

Dosis dan jumlah pasien	Perubahan kolesterol LDL		Pasien dengan	
	Median	Rentang	Myopathy	Peningkatan ALT
	%		N (%)	
40 mg/hari (n = 141)	-41 (-48 to -32)	-64-11	0	0
80 mg/hari (n = 144)	-47 (-53 to -37)	-65-30	0	1 (0.7)
160 mg/hari (n = 140)	-53 (-59 to -45)	-71-19	1 (0.7)	3 (2.1)

ALT: alanine aminotransferase.

Data dari Davidson *et al.* (1997). Perhitungan perubahan kadar kolesterol dari baseline kolesterol LDL sebesar ~199 mg/dl (n=147). Nilai dalam tanda kurung S.D. (kolom kedua) dan persentase (kolom keempat dan kelima).

2.5.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Respons Obat Individual

Faktor-faktor genetik dan non-genetik mempengaruhi variabilitas individual respons obat dengan memodulasi kurva dosis-respons efikasi obat dan toksisitas obat seorang pasien. Hasil klinis akan berubah apabila dosis tidak disesuaikan. Faktor genetik secara umum menyebabkan perubahan permanen pada fungsi protein, sedangkan faktor lingkungan dan fisiologis serta dampaknya pada respons obat, bersifat sementara. Variasi individual bersifat menetap sepanjang hidup dan diwariskan melalui transmisi *germline*, tetapi respons obat yang

dipengaruhi oleh faktor non-genetik akan kembali normal setelah faktor tersebut dikoreksi atau dihilangkan.

Polimorfisme genetik pada protein berperan pada tempat kerja obat (yaitu farmakodinamik) dan metabolisme dan transport obat (yaitu farmakokinetik), merupakan hal penting pada variabilitas individual efikasi obat (Tabel). Tempat kerja obat (target obat) berperan pada efek samping obat, yang dapat sama atau berbeda dengan target terapeutik obat, yang mengakibatkan efek samping *on-target* atau *off-target*. Variasi pada farmakokinetik obat mengubah kadar toksik obat atau metabolit pada jaringan target yang menyebabkan toksisitas. Berbagai variasi genetik mempengaruhi efikasi obat dan keamanan obat dengan memodulasi konteks biologis yang menimbulkan reaksi obat.

Pada tingkat molekuler, variasi genetik dapat mengubah struktur protein target via mutasi daerah kode gen atau jumlah protein yang terekspresi oleh modulasi regulasi gen, keduanya mengubah fungsi protein atau kecepatan dan konstanta kinetik suatu enzim. Mutasi juga dapat memodulasi ekspresi gen melalui regulasi epigenetik. Perubahan struktur reseptor atau enzim dapat mempengaruhi interaksi obat-reseptor atau obat-enzim, sehingga menyebabkan perubahan respons obat. Polimorfisme genetik pada enzim dan transporter metabolisme obat dapat mempengaruhi absorpsi, distribusi, metabolisme, dan eliminasi obat, sehingga mengubah kadar plasma dan jaringan target. Enzim *DNA repair* yang cacat dapat menurunkan kemampuan sel untuk memperbaiki mutasi yang disebabkan oleh senyawa kemoterapeutik alkylating. Mutasi yang mengubah struktur atau menurunkan jumlah enzim untuk biosintesis glutathione, menyebabkan turunnya jumlah glutathione intraseluler. Senyawa ini diperlukan untuk proteksi sel terhadap stres oksidatif dan reactive intermediate yang terjadi pada efek samping obat.

Senyawa kimia dari lingkungan, obat lain yang diberikan bersama, makanan, merokok, dan alkohol, juga dapat menginduksi atau menghambat P450s, enzim metabolisme obat, dan transporter obat; faktor-faktor ini mengubah efikasi obat; dan menginduksi interaksi obat-obat dan obat-senyawa kimia serta efek samping obat. Didapatkan variasi individual yang besar pada induksi dan inhibisi enzim P450 (Ma and Lu, 2003). Faktor lingkungan dapat juga berinteraksi dengan target obat yang menyebabkan antagonis atau bersinergi dengan obat untuk mengubah efek terapeutik obat atau efek toksik obat. Faktor fisiologis seperti usia, jenis kelamin, keadaan penyakit, kehamilan, olah raga, kelaparan, dan irama sirkadian juga berkontribusi secara signifikan terhadap variasi individual sifat farmakokinetik dan farmakodinamik obat yang diberikan. Sifat keturunan fisiologis bersifat genetik-poligenik alamiah, seperti jenis kelamin, berat badan, dan kerentanan terhadap penyakit kronis.

2.5.3 Genetik pada Respons Obat

Contoh pengaruh genetik pada respons obat adalah adanya pengaruh variasi pada gen tunggal (pewarisan monogenik) dimana polimorfisme gen tunggal mengkode enzim metabolisme obat yang berperan pada metabolisme dan disposisi substrat sehingga menyebabkan respons obat yang menyimpang. Variasi fenotipik dapat sangat dramatis, terutama bila tidak ada jalur lain untuk fungsi yang sama. Misalnya, atipikal butyrylcholinesterase (pseudocholinesterase) menyebabkan paralisis otot berkepanjangan dan apnea karena pemberian relaksan otot succinylcholine (Kalow and Gunn, 1959); phenotyping thiopurine S-methyltransferase (TPMT) untuk identifikasi pasien kanker dengan aktivitas rendah obat antikanker toksik methylating, yang menginaktifkan jalur obat (Weinshilboum, 2003a); identifikasi "slow acetylators" (variant N-acetyltransferase 2 atau NAT2) untuk asetilasi isoniazid pada terapi

tuberkulosis (Weber, 1987); dan phenotyping "*poor metabolizers*" pada CYP2D6 untuk hidrosilasi debrisoquine (Eichelbaum *et al.*, 2006).

Pada contoh di atas, dilakukan "cara tradisional" untuk menghubungkan gentip-fenotip dengan tiga tahap: sebelum ditemukan mekanisme genetik, dilakukan identifikasi fenotip individual (normal atau *extensive metabolizers* versus *poor* atau *slow metabolizers*) dengan mengukur kadar obat pada urin atau plasma; menetapkan hubungan antara farmakokinetik obat dengan respons obat (efikasi atau toksisitas); dan yang terbaru -setelah beberapa tahun- adalah identifikasi kelainan genetik yang berperan pada rendahnya atau tidak adanya aktivitas enzim. Walaupun proses ini sangat lambat, hasil penelitian polimorfisme genetik mengenai enzim metabolisme obat sangatlah berguna. Banyak variant enzim metabolisme obat yang ditemukan sejak selesainya *human genome project*. Yang masih belum jelas benar adalah hubungan antara variasi genetik pada farmakokinetik dengan hasil klinis terapi obat. Untuk identifikasi variant baru, analisis sequence-based DNA lebih cepat dibandingkan dengan cara biasa.

Pewarisan monogenik dapat menunjukkan gen efek obat yang bermanifestasi pada distribusi fenotipik pada sebuah populasi. Ada tiga tipe distribusi fenotip genetik yang berhubungan dengan respons obat: bimodal, multimodal, atau luas tanpa antimode. Asetilasi isoniazid termasuk monogenik, distribusi bimodal, ada dua macam individu yaitu sub-populasi asetilator cepat atau asetilator lambat yang berhubungan dengan genotip NAT2 (Gambar. 2.8A) (Weber, 1987). 4-hydroxylation debrisoquine oleh CYP2D6 termasuk monogenik, distribusi multimodal dengan *poor metabolizers* (PM) yang mengandung CYP2D6 inaktif, *ultrarapid metabolizers* (UM) dengan salinan multipel CYP2D6 dan aktivitas 2D6 yang sangat tinggi, *intermediate metabolizers* dengan aktivitas CYP2D6 yang menurun, dan *extensive metabolizers* (EM) yang metabolismenya

normal (Gambar 2.8B) (Tabel 2.10) (Eichelbaum *et al.*, 2006). Beberapa respons obat menunjukkan distribusi luas tanpa antimode yang jelas. Walaupun distribusi hampir normal pada variasi, tetapi secara umum menunjukkan pengaruh dari faktor-faktor yang multipel, pola respons ini juga meliputi komponen genetik prominen, sebagaimana hasil studi pada orang kembar (Gambar 2.8C) (Tantisira *et al.*, 2004). Untuk respons obat yang mencerminkan efek kombinasi gen multipel (yaitu, pewarisan poligenik), distribusi fenotipik sifat poligenik dan dampaknya pada terapi obat bisa rumit dan tidak jelas. Misalnya, defisiensi CYP3A5 yang terdapat pada sekitar 75% kulit putih dan 50% kulit hitam karena *single nucleotide polymorphism* (CYP3A5*3, 6986A G). Karena berbagai obat yang dimetabolisme oleh CYP3A5 juga merupakan substrat dari CYP3A4, maka efek klinis polimorfisme CYP3A5*3 menjadi tidak jelas akibat adanya CYP3A4 fungsional, dan sebaliknya.

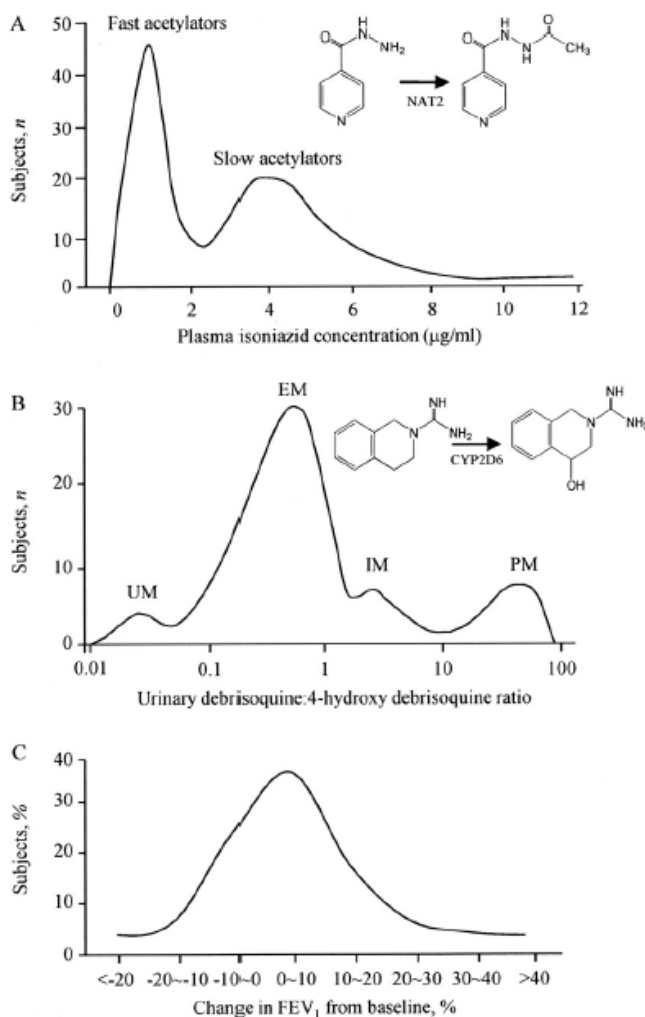
Tabel 2.13 Polimorfisme CYP2D6 dan Sifatnya

Fenotip	Sifat	Klinis
PM	Variant mayor: CYP2D6*3, -*4, -*5, -*6 Enzim inaktif 5-10% Kulit putih; 1-2% Cina dan Jepang	Kadar obat dalam plasma tinggi Risiko efek samping obat Turunkan dosis
IM	Variant mayor: CYP2D6*9, -*10, -*41 Aktivitas residual enzim rendah	Dosis lebih rendah pada beberapa pasien
EM	Bukan grup uniform Kecepatan metabolisme normal	Dosis standard untuk sebagian besar pasien
UM	Salinan CYP2D6 multipel Aktivitas enzim sangat tinggi 1-2% kulit putih; 30% Etiopia	Kadar obat dalam plasma sangat rendah Efikasi obat tidak ada Diperlukan dosis tinggi

IM: intermediate metabolizer.

Variasi genetik dapat dihasilkan dari *single-nucleotide polymorphism* (SNP), insersi, delesi, atau duplikasi rangkaian DNA. Variasi yang paling sering adalah SNP. Lebih dari 90% gen manusia mengandung paling sedikit satu SNP, dan hampir setiap gen manusia ditandai oleh variasi rangkaian. Lebih dari 14 juta

SNP telah dapat diidentifikasi pada genome manusia. Lebih dari 60.000 SNP terletak pada daerah koding gen (Sachidanandam *et al.*, 2001). Sebagian besar SNP tidak mempunyai efek pada fungsi gen. Tetapi ada beberapa SNP yang mempunyai dampak pada fungsi gen, bisa SNP pada daerah koding atau yang cukup jauh dari tempat transkripsi gen. SNP tertentu diketahui berkaitan dengan perubahan efikasi obat dan disposisi obat (Roden *et al.*, 2006). Identifikasi SNP tunggal tidak cukup untuk dapat menghubungkan variasi protein target dengan suatu penyakit atau respons obat. Sebuah haplotip merupakan satu set variant genetik yang diturunkan bersama pada *linkage disequilibrium*, dan hal ini sangat berguna untuk analisis genotip-fenotip. Karenanya, tehnik-tehnik baru dikembangkan untuk integrasi SNPs dengan seluruh genom, guna identifikasi lokus genetik yang terdapat pada linkage disequilibrium. Cara ini meningkatkan keberhasilan dalam identifikasi polimorfisme target obat, enzim metabolisme obat, transporter obat, dan gen lain yang mempengaruhi repons obat, serta penyakit-penyakit baru akibat gen dan jalur yang penting pada etiologi dan patogenesis penyakit kronis.



Gambar 2.18 Simulasi Distribusi Fenotip Respons Obat

(A) Distribusi bimodal kadar isoniazid plasma, hasil dari polimorfisme pada NAT2 pada subyek yang diberi isoniazid. Data didapatkan dari Evans *et al.* (1960).

(B) Distribusi multimodal rasio debrisoquine-to-4-hydroxydebrisoquine urin, menunjukkan adanya polimorfisme CYP2D6 pada subyek yang diberi debrisoquine. Data didapatkan dari Dahl *et al.* (1995).

(C) Distribusi luas perubahan *forced expiratory volume in 1 s* (FEV₁) pada subyek yang diberi steroid untuk terapi asma. Data didapatkan dari Tantisira *et al.* (2004).

2.5.4 Polimorfisme Genetik Target Obat

Polimorfisme pada coding gen target obat secara langsung mempengaruhi fungsi protein target, interaksi obat-target, atau kedua-duanya untuk menghasilkan efek pada respons obat.

Pravastatin dan obat statin lain yang menghambat HMG-CoA reductase, dikode oleh *HMGCR* untuk menurunkan kadar kolesterol. Pada studi cohort sebanyak 1536 subyek yang diberi terapi pravastatin 40 mg/hari, didapatkan dua SNPs (SNP12 dan SNP29) pada gen *HMGCR* yang secara signifikan berkaitan dengan penurunan keberhasilan terapi dengan pravastatin (Chasman *et al.*, 2004). Subyek dengan salinan tunggal alel SNP, penurunan kolesterol total lebih kecil 22%, dan penurunan kolesterol LDL 19% lebih kecil dibandingkan dengan homozigot pada alel mayor SNPs. SNPs tidak berhubungan dengan perubahan kadar kolesterol HDL atau kadar lipid dasar (baseline). Mekanisme bagaimana alel ini mempengaruhi efikasi pravastatin masih belum jelas, tetapi hal ini mencerminkan fungsi alel lain dari *HMGCR* yang berkaitan dengan SNPs ini. Masih ada kemungkinan bahwa SNPs ini juga menurunkan efikasi obat statin lainnya dalam menurunkan kadar kolesterol.

2.5.5 Polimorfisme Genetik Enzim Metabolisme Obat

2.5.5.1 Cytochromes P450

Sebagian besar obat dimetabolisme oleh satu atau lebih enzim microsomal cytochrome P450. P450s mengkatalisis mono-oxygenation obat lipofilik, yang menghasilkan metabolit yang aktivitasnya berubah dan meningkatkan kelarutan air atau menghasilkan metabolit yang dapat mengalami proses metabolisme selanjutnya oleh enzim lainnya (Ma and Lu, 2008). Pada berbagai kasus, polimorfisme P450 adalah variabel utama yang mempengaruhi kadar obat dalam plasma, detoksifikasi obat, dan aktivasi obat pada prodrug.

CYP3A4 adalah enzim P450 yang paling banyak di liver, yang berperan pada lebih dari 50% obat. Telah dapat diidentifikasi lebih dari 20 variant CYP3A4.

Berbagai variant mengubah aktivitas enzim, rentangnya dari sedang sampai hilangnya efisiensi katalitik (Zhou *et al.*, 2008). Terdapat perbedaan besar antara grup etnis pada frekuensi variant CYP3A4. Frekuensi tinggi CYP3A4*2 dan -*7

didapatkan pada orang kulit putih dan frekuensi tinggi CYP3A4*16 dan -*18 pada populasi Asia (Lamba *et al.*, 2002). Signifikansi klinis alel variant CYP3A4 untuk

berbagai metabolisme obat oleh CYP3A4, datanya masih belum jelas atau minimal sampai sedang. Variant daerah koding tidak dapat digunakan untuk

menghitung >10 kali perbedaan aktivitas CYP3A4 yang diamati *in vivo*, karena alel hanya menyebabkan sedikit perubahan pada aktivitas enzim dan banyak alel

yang frekuensinya rendah (Lamba *et al.*, 2002). Faktor yang berkontribusi pada kompleksitas teka-teki CYP3A4 adalah CYP3A5. Sebenarnya semua substrat

CYP3A4, dengan sedikit perkecualian, juga dimetabolisme oleh CYP3A5.

Walaupun CYP3A5 metabolisme obat ini dalam kecepatan rendah di sebagian besar kasus, tetapi beberapa obat dapat dimetabolisme oleh CYP3A5 sama

cepatnya atau bahkan lebih cepat daripada enzim CYP3A4. Jadi, kecepatan metabolik obat CYP3A4 yang diukur secara *in vivo* mencerminkan kombinasi

aktivitas CYP3A4 dan CYP3A5. Karena pada sekitar 25% kulit putih dan 50% kulit hitam terdapat CYP3A5 fungsional (Kuehl *et al.*, 2001), dua jalur ini

berpotensi menyamakan efek klinis variant CYP3A4 pada penelitian. Efek polimorfisme gen CYP3A4 pada aktivitas enzim variant bersifat *substrate-*

dependent. Selain itu, belum tampak adanya manfaat klinis pemeriksaan fenotip CYP3A4 dengan menggunakan substrat obat.

2.5.5.2 Enzim Metabolisme Obat yang Lain

Berbagai enzim metabolisme obat non-P450 juga berperan pada metabolisme berbagai obat. Polimorfisme pada enzim-enzim ini mempengaruhi metabolisme dan efek terapi obat yang signifikan secara klinis.

2.6 Polimorfisme Genetik Transporter Ambilan Obat Hepatik: Organic Anion Transporting Polypeptide 1B1

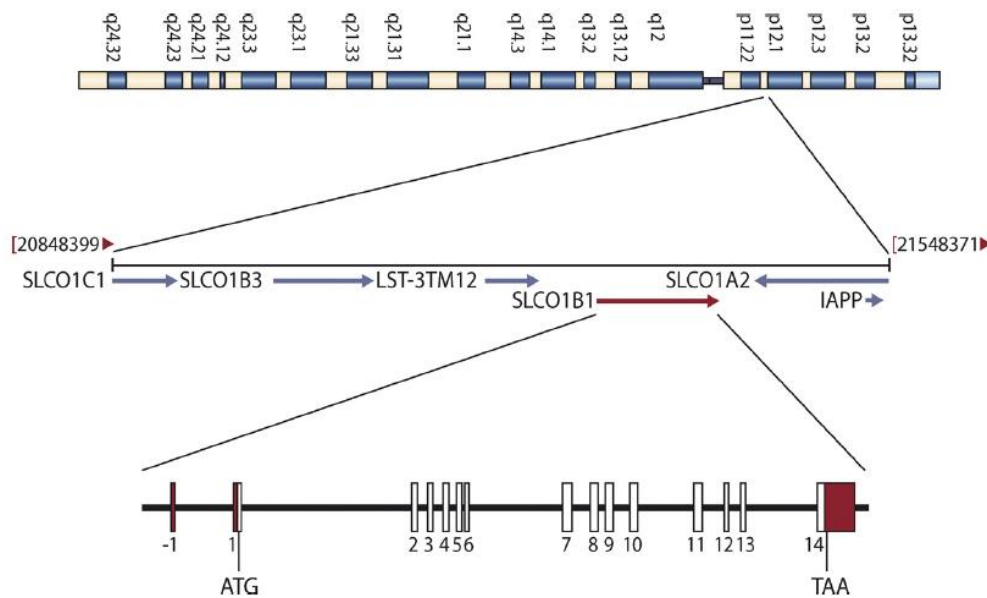
Sifat Dasar Organic Anion-Transporting Polypeptide 1B1

2.6.1 Istilah Genomik

Gen-gen yang mengkode organic anion-transporting polypeptides termasuk dalam family gen solute carrier organic anion transporter (SLCO) dari superfamily solute carrier. Identifikasi berdasarkan hubungan phylogenetic dan kronologis, OATPs digolongkan menjadi family-family yang diberi nomer Arab (mis, OATP1/SLCO1). Nomer Arab pertama, yaitu OATP1/SLCO1, menunjukkan protein individual sekuen asam aminonya yang sama lebih dari 40%, sedangkan apabila sekuen asam amino yang sama lebih dari 60% maka dimasukkan dalam satu subfamily dan ditulis dengan huruf besar (mis, OATP1B/SLCO1B). Selanjutnya, gen individual diberi nomer Arab: OATP1B1/SLCO1B1 (Hagenbuch and Meier, 2004).

Pada genom hewan, terdapat lebih dari 150 SLCO, sedangkan manusia hanya 11 SLCO, yang dimasukkan dalam enam family. Family SLCO1 merupakan family manusia yang paling besar, terdiri dari gen-gen yang dikode pertama kali, yaitu OATP, OATP1A2 (Kullak-Ublick *et al.*, 1995), OATP1B1, OATP1B3, dan OATP1C1. Gen-gen ini terletak di cluster lengan pendek kromosom 12 (Gambar 2.9) (Konig *et al.*, 2000a). Gen SLCO1B1 membentang di daerah 108.59 kb, terdiri dari 14 ekson coding dan satu ekson noncoding, yang disebut dengan ekson 1, lokasinya di 10.277 kb di atas ekson coding pertama.

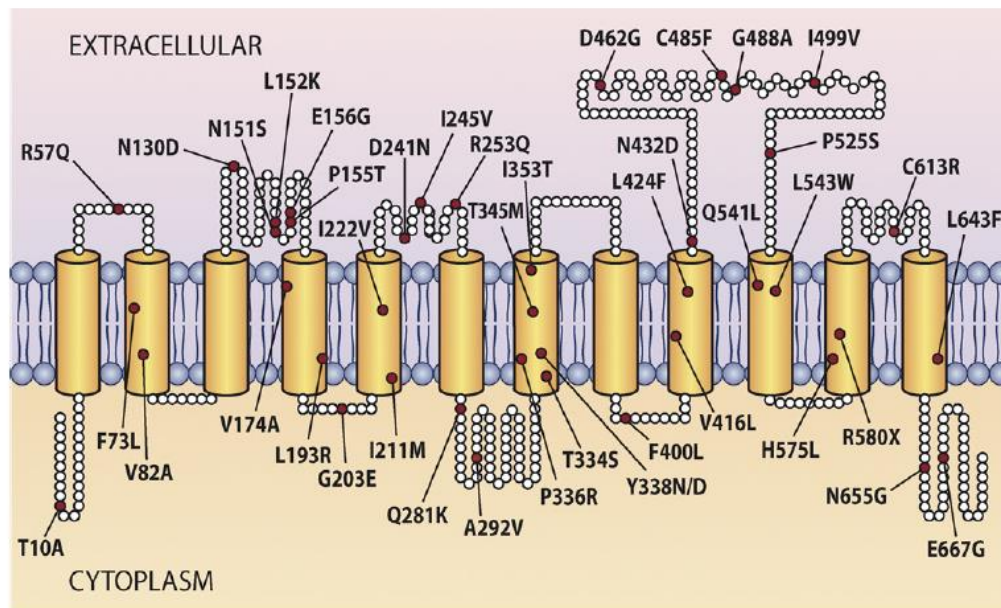
Gen *SLCO1B1* mengkode 2791-bp mRNA (NM_006446) yang mengandung 95-bp 5'-untranslated region dan 621-bp 3'-untranslated region.



Gambar 2.19 Gen *SLCO1B1* Terletak di *Cluster* Lengan Pendek Kromosom 12

2.6.2 Struktur

OATP1B1 merupakan 691-amino acid glycoprotein, dari hasil analisis hydropathy, mengandung 12 putative membrane-spanning domains dan loop ekstraseluler kelima yang besar (Niemi, 2007) (Gambar 2.10). Letak N-glycosylation pada OATP1B1, sama dengan semua OATPs, yaitu di loop 2 dan 5 ekstraseluler dan superfamily OATP signature D-XRW-(I,V)-GAWW-X-G-(F,L)-L di perbatasan antara loop 3 ekstraseluler dan transmembrane domain 6. 80% asam amino OATP1B1 sama dengan OATP1B3 (Konig *et al.*, 2000a). Massa molekuler 84 kDa, dan setelah deglycosylation berkurang menjadi 58 kDa (Konig *et al.*, 2000b).

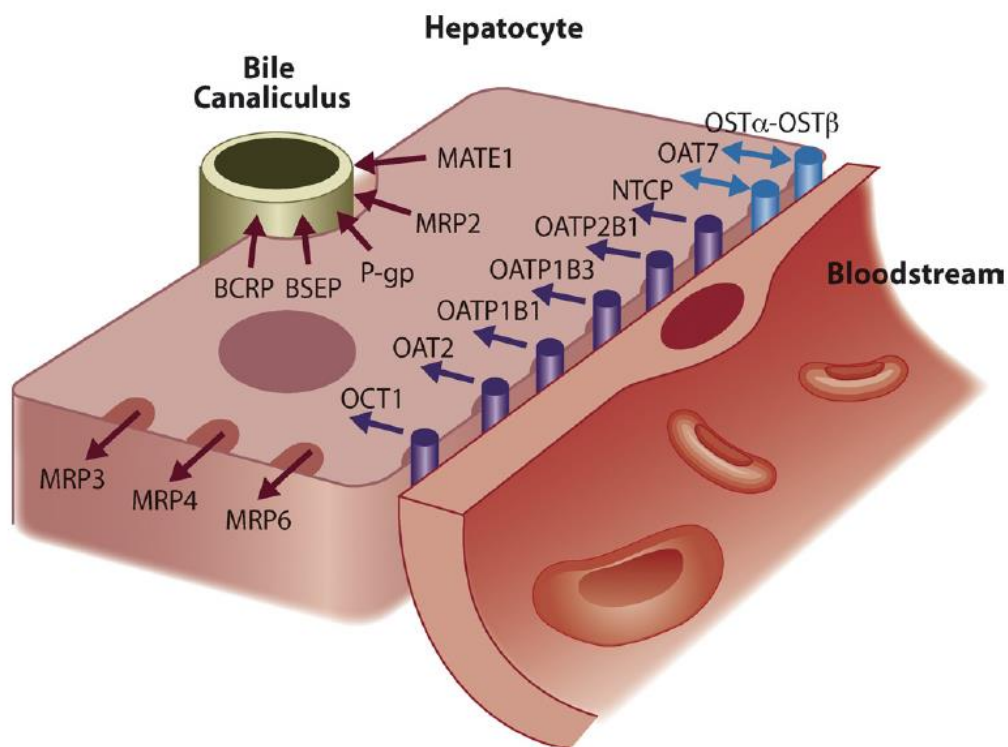


Gambar 2.20 Struktur transmembran OATP1B1, pada Posisi Non synonymous Single Nucleotide Polymorphisms.

2.6.3 Regulasi Ekspresi dan Transkripsional

Pada level mRNA, *SLCO1B1* ekspresinya terutama di liver (Konig *et al.*, 2000a,b), sebagian kecil mRNA *SLCO1B1* terdapat di jaringan lain seperti usus halus (Klaassen dan Aleksunes, 2010). Pada level protein, OATP1B1 hanya didapatkan di liver, lokasinya di membran basolateral hepatosit (Konig *et al.*, 2000b) (Gambar 2.11). Selain OATP1B1, ada OATPs lain, yaitu OATP1B3 dan OATP2B1, yang juga ekspresinya banyak di liver (Kullak-Ublick *et al.*, 2001).

OATP1B1 ekspresinya sama di seluruh bagian liver, sedangkan ekspresi OATP1B3 lebih terbatas, yaitu lebih banyak di daerah perivenous (Ho *et al.*, 2006).



Gambar 2.21 Transporter untuk senyawa endogen dan xenobiotik, ekspresi pada membran sinusoidal dan canalicular hepatosit (Klaassen and Aleksunes, 2010).

BSEP, bile salt export pump; MATE1, multidrug and toxin extrusion protein 1; NTCP, sodium/taurocholate cotransporting peptide; OAT, organic anion transporter; OCT, organic cation transporter; OST α -OST β , heteromeric organic solute transporter.

Promoter region upstream ekson-1 dari gen *SLCO1B1* terdiri dari beberapa *consensus recognition sites* untuk *ubiquitously expressed* dan *liver-enriched transcription factors*, yaitu hepatocyte nuclear factor 1 (HNF1), HNF3, CCAAT-enhancer binding protein, dan activator protein 1 (Jung *et al.*, 2001). Penelitian transfection promoter *SLCO1B1* di cell line hepatik (HepG2, Huh7) dan non-hepatik (HeLa) didapatkan adanya aktivitas promoter basal hanya di hepatocyte-derived cell lines. Penelitian DNase I footprinting, serta tes mobilitas shift dan supershift dapat mengidentifikasi tempat ikatan HNF1 pada daerah proksimal promoter. Koekspresi HNF1A eksogen menstimulasi aktivitas promoter *SLCO1B1*

hingga lebih dari 30-kali lipat pada sel-sel HepG2 dan menyebabkan aktivitas promoter basal bahkan di sel-sel HeLa. Terjadinya mutasi pada HNF1 binding site menyebabkan hilangnya inducibility promoter *SLCO1B1* oleh HNF1A, dan juga fungsi basal promoter pada sel-sel HepG2 (Jung *et al.*, 2001). Hasil penelitian dengan sampel liver orang Jepang, didapatkan hubungan antara ekspresi mRNA *SLCO1B1* dengan ekspresi level HNF1A (Furihata *et al.*, 2007).

Hal ini menunjukkan bahwa HNF1A berperan penting pada ekspresi OATP1B1 hepatocyte-specific.

2.6.4 Fungsi OATP1B1

Ekspresi protein OATP1B1 yang eksklusif pada hepatosit menunjukkan bahwa ia berperan penting pada ambilan hepatic dan klirens senyawa *albumin-bound amphipathic organic*. Mekanisme transport substrat masih belum jelas, diduga bahwa OATPs mentranslokasi substratnya melalui mekanisme pusat (Meier-Abt *et al.*, 2005). Transportnya berupa electroneutral dan tidak tergantung pada gradien sodium, klorida, dan potasium; potensial membran; dan level ATP.

Masih belum ada gambaran struktur OATP1B1 yang jelas, tetapi berdasarkan penelitian menggunakan *three-dimensional quantitative structure-activity relationship models*, substrat OATP1B1 menghasilkan pharmacophore yang terdiri dari dua akseptor ikatan hidrogen, satu donor ikatan hidrogen, dan dua regio hidrofobik (Chang *et al.*, 2005). Pada penelitian lainnya menggunakan meta-pharmacophore yang menggabungkan data dari laboratorium, jenis sel, dan spesies yang berlainan, meta-model, OATP1B1 terdapat pada suasana hidrofobik di pusat dan ikatan hidrogen di ekstremitasnya (Chang *et al.*, 2005).

Studi mutagenesis site-directed untuk residu asam amino bermuatan positif mengidentifikasi arginine pada posisi 57, lysine pada posisi 361, dan arginine pada posisi 580, yang penting untuk ikatan substrat atau translokasi oleh

OATP1B1 (Weaver and Hagenbuch, 2010). Transport beberapa substrat OATP1B1, seperti estrone-3-sulfate dan 17-ethinylestradiol sulfate, memperlihatkan kinetik bifasik yang menunjukkan kemungkinan adanya multiple substrate binding sites pada OATP1B1 (Han *et al.*, 2010).

2.6.5 Substrat Organic Anion Transporting Polypeptide 1B1

Substrat OATP merupakan molekul anionic amphipathic dengan berat molekul yang relatif besar (350) dan ikatan albumin yang tinggi pada keadaan fisiologis (Hagenbuch dan Meier, 2004). Asam amino sama banyaknya pada OATP1B1 dan OATP1B3, sehingga terjadi spesifikasi substrat yang tumpang tindih pada transporter-transporter ini (Fahrmayr *et al.*, 2010). Spesifikasi OATP1B1 jelas berbeda dengan OATP1B3; mis, paclitaxel dan docetaxel hanya merupakan substrat dari OATP1B3 (Smith *et al.*, 2005).

Tabel 2.14 Substrat Endogen OATP1B1

Substrat	Km μM	Sistem Ekspresi
Bile acids		
Cholic acid	11	HEK293
Glycocholic acid	+	XO
Glycoursodeoxycholic acid	+	HEK293
Taurolithocholic acid 3-sulfate	+	MDCKII
Taurocholic acid	34	HEK293c18
	14	XO
	+	HEK293
	10	HEK293
Tauroursodeoxycholic acid	+	HEK293
Thyroid hormones		
Thyroxine	+	HEK293c18
	3,0	XO
Thiiodothyronine	2,7	XO
Iodothyronine sulfates	+	COS1
Eicosanoids		
Leukotriene C ₄	+	XO
Leukotriene E ₄	+	XO
Prostaglandine E ₂	+	XO
	+	HEK293
Tromboxane B ₂	+	XO
Lain-lain		

Bilirubin	0,16	HEK293
	0,0067	XO
Bilirubin monoglucuronide	0,1	HEK293
Bilirubin diglucuronide	0,3	HEK293
CCK-8	+	HEK293
DHEAS	+	XO
	22	HEK293
E ₂ 17Bg	+	XP
	9,7	XO
	28	MDCKII
E1S	+	XO
	0,2	HEK293
	5,3	XO
	+	MDCKII
	+	COS1
	+	Flp-In-293

CCK-8: cholecystokinin octapeptide; CHO: Chinese hamster ovary; DADLE. [D-Ala₂,D-Leu₅]-enkephalin (opioid peptide analog); DHEAS: dehydroepiandrosterone sulfate; E₂17βG: estradiol-17β-D-glucuronide; E1S: estrone-3-sulfate; HEK293: human embryonic kidney 293 cells; HepG2: a human liver carcinoma cell line; MDCKII: Madin-Darby canine kidney cells; XO: *Xenopus laevis* oocyte; +: substrate of OATP1B1, but Km: not available.

Tabel 2.15 Substrat Xenobiotik OATP1B1

Substrat	Km μM	Sistem Ekspresi
Antibacterials		
Benzylpenicillin	+	HEK293
Cefditoren	3,45	XO
Cefoperazone	4,84	XO
Cefazolin	20,8	XO
Nafcillin	11,1	XO
Rifampin	13	XO
	1,5	HeLa
Anticancer drugs		
Gimatecan	+	MDCKII
SN-38	+	XO
Pazopanib	+	
Lipid-lowering drugs		
Atorvastatin	12,4	HEK293
Cerivastatin	+	MDCKII
	+	HEK293
Ezetimibe glucuronide	+	HEK293
Fluvastatin	2,4	MDCKII
	31	XO
	1,4 , 3,5	CHO
Pitavastatin	3,0	HEK293
	6,7	XO
Pravastatin	35	HEK293
	11,5	XO

24	MDCKII
86	HEK293
58	XO
109	HEK293
Rosuvastatin 7,3	XO
+	XO
8,5	XO
4,0	HeLa
0,802	HEK293

ACU154, 0-glucuronide of PK1116 (a tyrosine kinase inhibitor); BQ-123, cyclic-pentapeptide (cyclo[D-Trp-D-Asp-L-Pro-D-Val-L-Leu]); Bamet-R2, bile acid-cisplatin derivative [cis-diammine-chloro-cholylglycinate-platinum(ID]; Bامت-UD2, bile acid-cisplatin derivative [cis-diammine-bisursodeoxycholate-platinum(ID]; BDE47, 2,2',4,4'- tetrabromodiphenyl ether; BDE99, 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether; BDE153. 2,2',4,4',5,5'-hexabromodiphenylether; CDCA-NBD, chenodeoxychilyl-(Nepsilon-NBD)- lysine; CGamF, cholyl-glycylamido-fluorescein; CLF, choly1-1,-lysyl-fluorescein; CHO, Chinese hamster ovary; DADLE, [D-Ala2.0-Leus]-enkephalin (opioid peptide analog); DPDPE, [D-penicillamine]enkephalin (opioid-receptor antagonist); EE2S, 17a-ethinylestradiol sulfate; Gd-EOB-DTPA, gadolinium-ethoxybenzyl-diethylenetriamine pen-taacetic acid; HEK293, human embryonic kidney 293 cells; MDCKII, Madin-Darby canine kidney cells; Ro 48-5033, active metabolite of the endothelin antagonist bosentan; S8921G, active metabolite of the SLC10A2 inhibitor 58921; SN-38, active metabolite of the anticancer drug irinotecan; XO, *Xenopus laevis* oocyte; YM785, an If channel inhibitor; +, substrate of OATP1B1, but Km not available.

Pada pemeriksaan *in vitro*, fungsi OATP1B1 tergantung pada jumlah sistem ekspresi heterologous yang transient dan stabil (Giacomini *et al.*, 2010).

Diantaranya adalah *Xenopus laevis* oocytes dan recombinant virus-infected atau stably transfected cell lines expressing OATP1B1 (Tabel 2.11 dan 2.12). Pada penelitian ini, ambilan seluler dari sel-sel *SLCO1B1*-transfected dibandingkan dengan sel-sel transfected hanya dengan vector. Ekspresi OATP1B1 yang stabil, dikombinasi dengan transporter efflux [mis, multidrug resistance-associated protein (MRP) 2, P-glycoprotein, dan breast cancer resistance protein (BCRP)] pada sel-sel terpolarisasi, digunakan untuk studi peran transporter influx dan efflux pada transport transeluler senyawa kimia (Matsushima *et al.*, 2005). Hepatosit isolated dengan inhibitor OATP juga digunakan untuk penelitian fungsi OATP1B1, dibandingkan dengan OATP1B3 dan OATP2B1 (Noe *et al.*, 2007).

Selain itu, terdapat disposisi *in vivo* senyawa endogen dan obat untuk *SLCO1b2(-/-)*, *SLCO1a/1b(-/-)*, dan transgenic *SLCO1B1* pada tikus (van de Steeg *et al.*, 2009, 2010). Data dari *SLCO1b2(-/-)* mencit menggambarkan aktivitas OATP1B1 dan OATP1B3 manusia, dan data dari *SLCO1a/1b(-/-)* mencit knockout menggambarkan transporter ambilan hepatic OATP, tetapi perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memastikan fungsi OATP1B1 pada manusia.

2.6.6 Senyawa Endogen

Pada penelitian yang menggunakan cell line yang mengekspresikan OATP1B1 yang transient atau yang stabil, asam empedu (yaitu asam empedu asam cholic primer) serta asam empedu sekunder (yaitu glycocholic acid, glyoursodeoxycholic acid, taurocholic acid, dan tauroursodeoxycholic acid), diidentifikasi sebagai substrat OATP1B1 (Maeda *et al.*, 2006b) (Tabel 2.11).

Selain itu, derivat chenodeoxycholic acid yang diberi label fluorescently ditransport oleh OATP1B1, jadi hal ini menunjukkan bahwa asam empedu primer ini juga merupakan substrat OATP1B1 (Yamaguchi *et al.*, 2006). OATP1B1 merepresentasikan mekanisme utama ambilan sodium-independent untuk asam empedu di liver. OATP1B1 dapat mentransport bilirubin yang terkonjugasi dan yang tak terkonjugasi (Cui *et al.*, 2001). Walaupun OATP1B3 dapat juga untuk transport bilirubin, namun OATP1B1 lebih penting untuk bilirubin tak terkonjugasi (Cui *et al.*, 2001).

2.6.7 Obat

Beberapa obat diidentifikasi sebagai substrat OATP1B1 (Tabel 2.12). Obat yang pertama kali diidentifikasi sebagai substrat OATP1B1 adalah HMG-CoA reductase inhibitor pravastatin (Hsiang *et al.*, 1999) yang digunakan untuk terapi

hiperkolesterolemia. Kini diketahui bahwa semua statin merupakan substrat OATP1B1 (Niemi, 2010). Tetapi seperti substrat OATP1B1 lainnya, berbagai statin juga merupakan substrat untuk OATPs hepatic lainnya. Misalnya, fluvastatin dan rosuvastatin juga merupakan substrat untuk OATP1B3 dan OATP2B1 (Kitamura *et al.*, 2008), pravastatin dan atorvastatin merupakan substrat OATP2B1 (Grube *et al.*, 2006), dan pitavastatin merupakan substrat OATP1B3 (Fujino *et al.*, 2005).

2.7 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Organic Anion Transporting

Polypeptide 1B1

2.7.1 Studi Variant *SLCO1B1* dan Fungsinya

Banyak sekuen variants yang didapatkan pada gen *SLCO1B1*. Ada 41 nonsynonymous variants yang dapat dilihat pada Tabel 2.13 dan Gambar 2.12.

Penelitian variants *SLCO1B1* sistematis yang pertama berhasil mengidentifikasi 14 nonsynonymous single-nucleotide polymorphisms (SNPs) pada 15 haplotypes, beberapa diantaranya (coding DNA c.217T>C, c.245T>C, c.467A>G, c.521T>C, c.1058T>C, c.1294A>G, c.1463G>C, c.1964A>G) menurunkan aktivitas transport OATP1B1 (Tirona *et al.*, 2001). Salah satu SNP yang paling sering, c.521T>C pada exon 5, menyebabkan penurunan ekspresi membran OATP1B1 dan menurunkan aktivitas transport estrone-3-sulfate dan estradiol-17-D-glucuronide.

Sesuai dengan penurunan ekspresi membran, SNP c.521T>C mempengaruhi transport maksimum velocity dibandingkan dengan afinitas substrat (Tirona *et al.*, 2001). Penurunan aktivitas transport variant c.521T>C dibuktikan pada studi substrat lainnya, yaitu rifampin, pravastatin, atorvastatin, rosuvastatin, atrasentan, dan ezetimibe glucuronide (Oswald *et al.*, 2008).

Tabel 2.16 Variasi Sekuens Nonsynonymous pada Gen *SLCO1B1*

Location (Exon)	rs Number	Nucleotide Change	Amino Acid Change	Variant Allele Frequency			Function	
				Europeans	Sub-Saharan Africans/African Americans	East Asians	In Vitro	In Vivo
					%			
1	rs11557087	c.28A>G	p.T10A	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
2	rs61760183	c.170G>A	p.R57Q	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
2	rs56101265	c.217T>C	p.F73L	0-2	0	0	↓	N.A.
3	rs56061388	c.245T>C	p.V82A	0-2	0	0	↓	N.A.
4	rs2306283	c.388A>G	p.N130D	30-45	72-83	59-86	↓↔	↔
4	rs2306282	c.452A>G	p.N151S	0-3	0-2	0-4	↓	N.A.
4	N.A.	c.455G>A	p.R152K	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
4	rs11045819	c.463C>A	p.P155T	13-23	2-10	0-3	↔	↔
4	rs72559745	c.467A>G	p.E156G	0-2	0	0	↓	N.A.
5	rs4149056	c.521T>C	p.V174A	8-20	1-8	8-16	↓	↓
5	rs72559746	c.578T>G	p.L193R	<0.3	N.A.	N.A.	↓	N.A.
5	rs4603354	c.608G>A	p.G203E	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
6	N.A.	c.633A>G	p.I211M	N.A.	N.A.	0-0.5	N.A.	N.A.
6	rs79135870	c.664A>G	p.I222V	0	1	0	N.A.	N.A.
6	N.A.	c.721G>A	p.D241N	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
7	rs11045852	c.733A>G	p.I245V	0	0-7	0	N.A.	N.A.
7	rs11045853	c.758G>A	p.R253Q	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
7	rs72559742	c.841C>A	p.Q281K	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
7	N.A.	c.875C>T	p.A292V	N.A.	N.A.	0-0.5	N.A.	N.A.
8	rs77871475	c.1000A>T	p.T334S	1	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
8	rs72559747	c.1007C>G	p.P338R	0	N.A.	1	↔	N.A.
8	rs61760245	c.1012T>G/A	p.Y338D/N	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
8	rs79109623	c.1034C>T	p.T345M	1	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
8	rs56901008	c.1058T>C	p.I353T	0-2	0	0	↓	N.A.
9	rs59113707	c.1200C>G	p.F400L	0	2	0	N.A.	N.A.
9	rs77468276	c.1246G>C	p.V416L	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
9	rs61176925	c.1272A>C	p.L424F	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
9	rs56387224	c.1294A>G	p.N432D	0-1	0	0	↔	N.A.
10	rs72559748	c.1385A>G	p.D462G	0-1	0	0	↔	N.A.
10	N.A.	c.1454G>T	p.C485F	0	N.A.	1	N.A.	N.A.
10	rs59502379	c.1463G>C	p.G488A	0	3-9	0	↓	N.A.
10	rs74064213	c.1495A>G	p.I499V	N.A.	6	N.A.	N.A.	N.A.
11	rs71581987	c.1622A>T	p.Q541L	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
11	rs71581988	c.1628T>G	p.L543W	0	N.A.	0-1	N.A.	N.A.
12	rs74700754	c.1724A>T	p.H575L	1	0	0	N.A.	N.A.
12	rs71581941	c.1738C>T	p.R580Stop	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
13	N.A.	c.1837T>C	p.C613R	N.A.	N.A.	0-1	N.A.	N.A.
14	N.A.	c.1877T>A	p.L626Stop	N.A.	N.A.	0-1	N.A.	N.A.
14	rs34671512	c.1929A>C	p.L643F	3-9	5-13	0-1	↔	↔
14	rs56199088	c.1964A>G	p.D655G	0-2	0	0	↓	N.A.
14	rs55737008	c.2000A>G	p.E667G	0-2	0-34	0	↔	N.A.

↔, unchanged transporter function; ↓, reduced transporter activity; ↑, increased transporter activity; N.A., not available.

Variante lainnya yang berhubungan dengan perubahan aktivitas transport OATP1B1 adalah c.388A>G pada exon 4. c.388A>G dan c.521T>C membentuk empat haplotype yang berbeda, yaitu *1A (c.388A-c.521T), *1B (c.388G-c.521T), *5 (c.388A-c.521C), dan *15 (c.388G-c.521C) (Pasanen *et al.*, 2008b). Studi konsekuensi fungsional haplotype *1B hasilnya masih diperdebatkan, ada studi yang menemukan terjadi penurunan aktivitas (Oswald *et al.*, 2008), sedangkan studi lainnya menemukan adanya peningkatan aktivitas (Kameyama *et al.*, 2005), dan ada pula studi yang tidak mendapatkan perubahan aktivitas transport (Katz *et al.*, 2006). Penemuan yang kontradiksi ini dapat sebagian dijelaskan dengan adanya efek substrat-spesifik dari variant dan/atau penggunaan sistem ekspresi yang berbeda atau kondisi eksperimental. Haplotype *15 berhubungan dengan penurunan aktivitas transport (Deng *et al.*, 2008a). SNP c.578T>G hanya

terdapat pada satu sampel liver orang kulit putih tetapi berhubungan dengan kerusakan ekspresi membran OATP1B1 (Michalski *et al.*, 2002). SNP c.1877T>A, yang menyebabkan kodon stop, didapatkan di dua kromosom hanya pada orang keturunan Cina (Ho *et al.*, 2008), sedangkan SNP c.1738C>T, juga menyebabkan kodon stop prematur, hanya didapatkan pada dbSNP database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>).

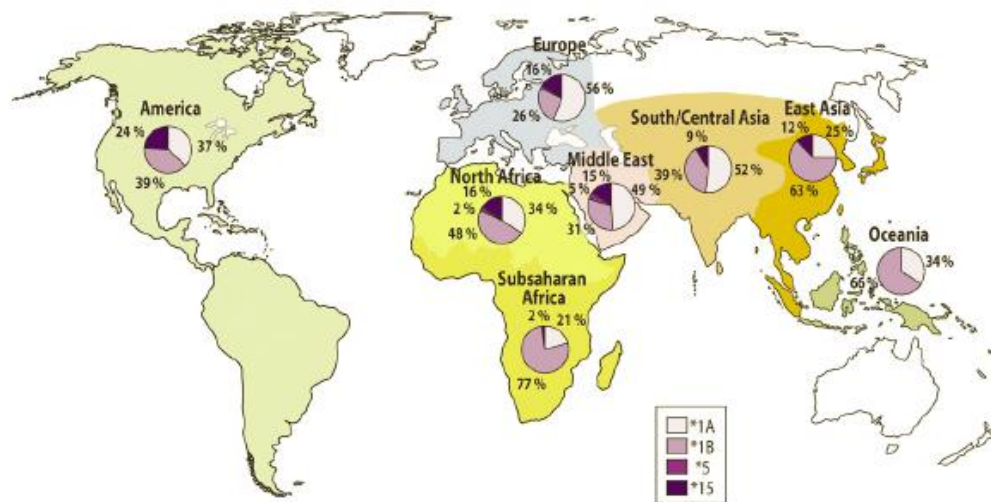
Satu SNP berlokasi di daerah promotor *SLCO1B1*, g.11187G>A, yang merupakan linkage disequilibrium dengan c.521T>C (Niemi *et al.*, 2004), tidak berhubungan dengan ekspresi mRNA *SLCO1B1* pada sampel liver orang keturunan Jepang (Furihata *et al.*, 2007). Studi lainnya meneliti ekspresi mRNA *SLCO1B1* pada 102 sampel liver pasien keturunan Jepang, didapatkan lima SNPs dengan sekuensing 1 kb upstream pada exon 1, tetapi tidak ada SNPs yang berhubungan dengan ekspresi *SLCO1B1* (Aoki *et al.*, 2009).

Selain variants pada gen *SLCO1B1*, variants pada regulatory protein yang mengkode gen-gen juga mempengaruhi ekspresi *SLCO1B1*. Pada satu studi, didapatkan variant SNP pada nucleotide upstream yang pertama dari translasi initiation site NR1H4 yang mengkode FXR (c.-1G>T), berhubungan dengan penurunan ekspresi mRNA *SLCO1B1* (Marzolini *et al.*, 2007).

2.7.2 Genetik Populasi

Variante *SLCO1B1* frekuensinya berbeda menurut daerah geografi (Tabel 2.14, Gambar. 2.12). Frekuensi 12 SNP pada *SLCO1B1*, yaitu variante nonsynonymous 5 dan dua variante promotor, diteliti pada 941 orang dari 52 populasi di Afrika, Timur Tengah, Asia, Eropa, Oceania, dan Amerika (Amerindians) (Pasanen *et al.*, 2008b). Secara umum, perbedaan genetik pada populasi berhubungan dengan geografi rute migrasi manusia keluar dari Afrika. Secara fungsional, haplotype *1B dan *15 terdapat di belahan bumi bagian utara.

Secara khusus, frekuensi tertinggi *1B terdapat pada populasi di dekat equator, sedangkan frekuensi *15 meningkat di utara (Pasanen *et al.*, 2008b). Penyebab perbedaan ini masih belum sepenuhnya dipahami, tetapi data-data tersebut menunjukkan bahwa secara alami terbentuk distribusi global variant *SLCO1B1*. Haplotype *5 dan *15 yang aktivitasnya rendah, frekuensinya berbeda-beda, yaitu sekitar 15-20% di Eropa, 10-15% di Asian, dan 2% di sub-Saharan Africans (Gambar 2.12). Haplotype *1B, yang menunjukkan peningkatan aktivitas OATP1B1 paling besar, frekuensinya sekitar 26% di Eropa, 39% di Asia Selatan/Tengah, 63% di Asia Tengah, dan 77% di Afrika sub-Sahara. Fungsional variant *SLCO1B1* yang jarang, ditemukan pada pada satu populasi (Tabel 2.14). SNP NR1H4 c.-1G>T, berhubungan dengan ekspresi *SLCO1B1*, frekuensi alel 2.5% di Eropa, 3.2% di Afrika, dan 12.1% di Cina (Marzolini *et al.*, 2007).



Gambar 2.22 Distribusi Global *SLCO1B11A (c.388A-c.521T), Haplotype *1B (c.388G-c.521T), *5 (c.388A-c.521C), dan *15 (c.388G-c.521C) (Pasanen *et al.* 2008b)**

2.7.3 Efek pada Disposisi Obat In Vivo

Efek farmakologis variants *SLCO1B1* diteliti pada lebih dari 20 jenis obat (Tabel 2.14). Senyawa yang pertama kali diteliti adalah pravastatin. Pada publikasi studi yang pertama, farmakokinetik pravastatin setelah pemberian per-oral dosis tunggal 10-mg diteliti pada 23 orang Jepang yang sehat dengan genotip *SLCO1B1* yang berbeda-beda (Nishizato *et al.*, 2003). Terdapat penurunan klirens nonrenal pada individu dengan genotip *SLCO1B1**1B/*15 dibandingkan dengan genotip *1B/*1B (Nishizato *et al.*, 2003), hasil ini sesuai dengan penurunan ambilan hepatic yang berhubungan dengan haplotype *15. Pada studi lainnya, daerah coding dan flanking gen *SLCO1B1* di-sequens pada 41 orang kulit putih yang sehat, dengan farmakokinetik pravastatin 40 mg dosis tunggal (Niemi *et al.*, 2004). Pada studi tersebut, individu dengan karier variant c.521T>C (yaitu, haplotype *5 dari *15) terjadi peningkatan *area under the plasma concentration-time curve* (AUC) pravastatin, yang sesuai dengan penurunan ambilan hepatic. Selanjutnya, SNP pada daerah promoter, g.11187G>A, berhubungan dengan peningkatan AUC pravastatin, tetapi hal ini lebih disebabkan karena *linkage disequilibrium* antara variant promoter dan c.521T>C (Niemi *et al.*, 2004). Tidak ada variant lainnya yang mempunyai efek pada farmakokinetik pravastatin. Pada studi yang lain, efek *SLCO1B1* variant c.521T>C diteliti pada farmakokinetik pravastatin pada pemberian dosis multipel (Igel *et al.*, 2006), yang hasilnya adalah efeknya juga terjadi saat steady state.

Pada serangkaian studi genotype-panel, efek SNP *SLCO1B1* c.521T>C diteliti pengaruhnya pada farmakokinetik fluvastatin, pravastatin, simvastatin, atorvastatin, dan rosuvastatin menggunakan 32 subyek dewasa muda yang sehat yang sama, dibandingkan langsung antara statin-statin tersebut (Pasanen *et al.*, 2006b, 2007) (Gambar 2.13). Didapatkan hasil efek terbesar dari simvastatin acid, bentuk aktif simvastatin (peningkatan rata-rata AUC pada

homozigot c.521CC sebesar 3,2 kali lipat). Genotip *SLCO1B1* efeknya juga bermakna pada atorvastatin, dan efeknya kecil pravastatin dan rosuvastatin, serta tidak ada efeknya pada fluvastatin. Perbedaan efek diantara statin-statin ini sebagian dapat dijelaskan dengan berbagai kontribusi transporter influx lainnya terhadap ambilan hepatic, dan juga sifat fisikokimia dan farmakokinetik yang berbeda. Berdasarkan pada penemuan ini dan toksisitas otot *concentration-dependent* statin, dapat diperkirakan bahwa variant *SLCO1B1* yang aktivitasnya rendah (yaitu, haplotype *5 dan *15) menyebabkan peningkatan risiko myopathy akibat statin (Pasanen *et al.*, 2006b). Risiko ini tertinggi pada pemberian simvastatin, diikuti atorvastatin, pravastatin, dan rosuvastatin. Genotip *SLCO1B1* c.521T>C mempunyai efek kuat juga pada farmakokinetik pitavastatin (Deng *et al.*, 2008a).

Tabel 2.17 Efek Variasi Genetik *SLCO1B1* pada Farmakokinetik Obat

Drug	Dose	n	Ethnicity	Effect	Reference
Atorvastatin	20 mg	32	White	c.521CC vs. *1A/*1A: AUC 144% ↑, 2-OH-atorvastatin AUC 100% ↑ c.521CC vs. c.521TC: AUC 61% ↑	Pasanen <i>et al.</i> , 2007
Atorvastatin	20 mg	28	Korean	*15/*15 vs. *1A/*1A, *1A/*1B or *1B/*1B: AUC 124% ↑, 2-OH-atorvastatin AUC ↑ *15/*15 vs. *1A/*15, *1B/*15: AUC 84% ↑	Lee <i>et al.</i> , 2010
Atrasentan	10 mg	44 (single dose) 38 (steady state)	Mixed	Poor vs. extensive activity genotype*: single dose AUC 73% ↑ Intermediate vs. extensive activity genotype: single dose AUC 14% ↑, steady-state AUC 27% ↑ (no poor activity genotypes in steady state)	Katz <i>et al.</i> , 2006
Cyclosporine	3 mg/kg i.v. and 10 mg/kg p.o.	104 renal transplant recipient children	White	c.521T>C: N.S.	Fanta <i>et al.</i> , 2008
Ezetimibe	20 mg	35	White	*1B/*1B vs. *1A/*1A: 51% ↓ *1A/*1B vs. *1A/*1A: 21% ↓	Oswald <i>et al.</i> , 2008
Fexofenadine	180 mg	20	White	c.521CC vs. c.521TT: AUC 127% ↑ c.521CC vs. c.521TC: AUC 76% ↑ c.521T>C: N.S.	Niemi <i>et al.</i> , 2005d
Fluvastatin	40 mg	32	White	*15/*15 or *1B/*15 vs. *1A/*1B or *1B/*1B: CL 52% ↓, SN-38G C _{max} 65% ↓, AUC 45% ↓	Niemi <i>et al.</i> , 2006b
Irinotecan	100 mg/m ² or 375 mg/m ²	71 cancer patients	Asian	*15/*15 or *1B/*15 vs. *1A/*1A: C _{max} 83% ↑, AUC 127% ↑, CL 67% ↓, SN-38 C _{max} 130% ↑, AUC 36% ↑, SN-38G C _{max} 81% ↓, AUC 70% ↓	Xiang <i>et al.</i> , 2006
Irinotecan	80 mg/m ² and cisplatin 60 mg/m ²	81 cancer patients	Korean	g.-11187AA vs. g.-11187GA or g.-11187GG: SN-38 AUC 113% ↑ c.521CC or c.521TC vs. c.521TT: SN-38 AUC 29% ↑	Han <i>et al.</i> , 2008

Irinotecan	80 or 65 mg/m ²	107 cancer patients	Korean	c.521CC or c.521TC vs. c.521TT: SN-38 AUC 26% ↑	Han et al., 2009
Irinotecan	300 or 350 mg/m ²	85 cancer patients		c.521CC or c.521TC vs. c.521TT: irinotecan AUC 19% ↑	Innocenti et al., 2009
Irinotecan	100, 150, or 60 mg/m ² with 60 mg/m ² cisplatin; 70 mg/m ² with 80 mg/m ² cisplatin	117 cancer patients	Japanese	c.521CC or c.521TC vs. c.521TT: SN-38 AUC ↑	Sai et al., 2010
Lopinavir	variable, with 200 mg of ritonavir	148 HIV patients	White	c.521CC vs. c.521TT: CL 21% ↓ c.521TC vs. c.521TT: CL 14% ↓ rs4149032 homozygotes vs. noncarriers: CL 29% ↑ rs4149032 homozygotes vs. heterozygotes: CL 21% ↑ c.463AA vs. c.463CC: CL 116% ↑ c.463AA vs. c.463CA: CL 104% ↑ c.521CC vs. c.521TT: C _{rough} 49% ↑ c.521CC vs. c.521TC: C _{rough} 16% ↑ c.521CC vs. c.521TT: C _{min} and C ₂₋₆ ↑	Lubomirov et al., 2010
Lopinavir	variable, with ritonavir	99 HIV patients	Mixed	c.521CC vs. c.521TC: C _{min} and C ₂₋₆ ↑ c.521TC vs. c.521TT: C _{min} and C ₂₋₆ ↑	Kohlrausch et al., 2010
Lopinavir	400 mg, with 100 mg of ritonavir b.i.d.	349 HIV patients	Unknown	c.521CC vs. c.521TT: C _{min} and C ₂₋₆ ↑	Hartkoorn et al., 2010
Methotrexate	2-5 g/m ²	434 + 206 children with ALL	Mixed	c.521CC vs. c.521TC: C _{min} and C ₂₋₆ ↑ c.521TC vs. c.521TT: C _{min} and C ₂₋₆ ↑ rs4149081/rs11045879: 6-14 ml/min/m ² ↓ CL per variant allele c.521T>C: 4-14 ml/min/m ² ↓ CL per C-allele	Treviño et al., 2009
Mycophenolic acid	0.75-1 g b.i.d. with tacrolimus	87 renal transplant recipients	Japanese	c.388A>G or c.521T>C: N.S.	Miura et al., 2007
Mycophenolic acid	0.5-1 g b.i.d. with tacrolimus	80 renal transplant recipients	Japanese	c.521TC or c.521CC vs. c.521TT: mycophenolic acid glucuronide AUC 27% ↓	Miura et al., 2008
Nateglinide	90 mg	17	Chinese	c.521CC vs. c.521TT: AUC 108% ↑ c.521TC vs. c.521TT: AUC 82% ↑	Zhang et al., 2006

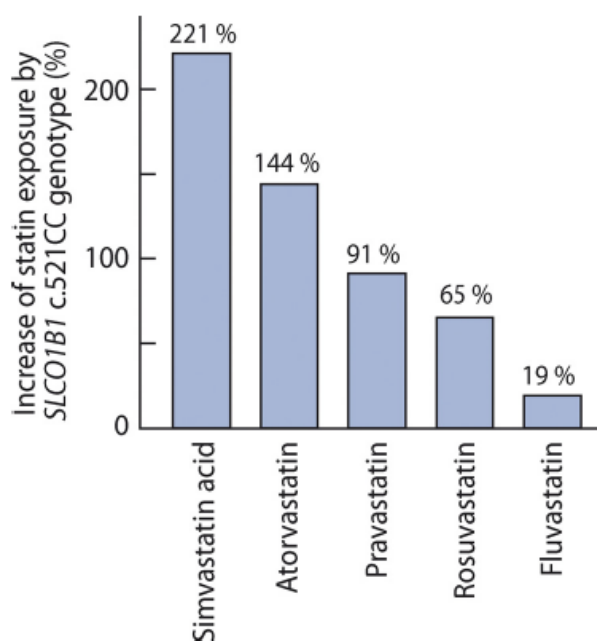
Berlawanan dengan efek SNP *SLCO1B1* c.521T>C, haplotype *1B (c.388G-c.521T) menyebabkan dengan penurunan AUC pravastatin (Maeda et al., 2006a). AUC pravastatin 10 mg adalah 35% lebih rendah pada orang Jepang yang sehat dengan genotip *SLCO1B1**1B/*1B dibandingkan dengan individu genotip *1A/*1A (Maeda et al., 2006a), hal ini sesuai dengan peningkatan ambilan hepatic yang berhubungan dengan haplotype *1B. Farmakokinetik rosuvastatin tidak dipengaruhi oleh haplotype *SLCO1B1**1B (Choi et al., 2008), hal ini menunjukkan bahwa efek variant ini spesifik pada substrat tertentu.

Pada satu studi, genotip *SLCO1B1* c.521CC, dibandingkan dengan genotip c.521TT, didapatkan peningkatan AUC hampir 3 kali lipat pada obat antidiabetik repaglinide, suatu meglitinide yang masa kerjanya singkat. Penelitian ini dilakukan pada 56 orang kulit putih yang sehat (Niemi et al., 2005a). Repaglinide bukan merupakan substrat OATP1B1 in vitro, tetapi kadar plasma repaglinide meningkat bila diberikan bersama dengan inhibitor OATP1B1 cyclosporine (yang juga merupakan inhibitor CYP3A4) dan gemfibrozil (juga inhibitor CYP2C8) (Kajosaari et al., 2005b), dan repaglinide bersifat inhibisi OATP1B1 in vitro (Bachmakov et al., 2008). Efek SNP *SLCO1B1* c.521T>C SNP pada

farmakokinetik repaglinide dikonfirmasi pada studi berikutnya dan didapatkan sesuai dengan semua dosis (Kalliokoski *et al.*, 2008c,d). Selain itu, genotip *SLCO1B1**1B/*1B berhubungan dengan 32% penurunan AUC repaglinide dibandingkan dengan genotip *1A/*1A (Kalliokoski *et al.*, 2008b). Walaupun tidak ada data *in vitro* langsung, data-data yang ada tersebut menunjukkan bahwa OATP1B1 memediasi ambilan hepatic repaglinide.

Pada orang Cina yang sehat, AUC nateglinide, meglitinide analog antidiabetik yang lain, didapatkan meningkat hampir 2 kali lipat pada individu dengan genotip c.521CC (n=2) dan 1.8 kali lipat pada genotip c.521TC (n=4) dibandingkan dengan genotip c.521TT (Zhang *et al.*, 2006). Studi panel genotip yang lebih besar pada orang Kaukasian sehat tidak mengkonfirmasi efek genotip *SLCO1B1* (juga SNP c.521T>C atau haplotype *1B) pada farmakokinetik nateglinide (Kalliokoski *et al.*, 2008b,c). Obat antidiabetik thiazolidinedione rosiglitazone dan pioglitazone menghambat OATP1B1 *in vitro* (Bachmakov *et al.*, 2008), diidentifikasi sebagai substrat OATP1B1 potensial (Chang *et al.*, 2005), dan berinteraksi dengan inhibitor OATP1B1 gemfibrozil *in vivo* (Jaakkola *et al.*, 2005). Gemfibrozil, atau yang lebih spesifik yaitu metabolit glucuronide, juga merupakan inhibitor CYP2C8 *in vivo* yang poten (Ogilvie *et al.*, 2006). SNP *SLCO1B1* c.521T>C tidak berefek pada farmakokinetik rosiglitazone atau pioglitazone, atau metabolitnya (Aquilante *et al.*, 2008); hal ini menunjukkan bahwa ambilan hepatic yang dimediasi oleh OATP1B1 tidak bersifat *rate-determining* untuk farmakokinetik obat-obat ini *in vivo*. Pemberian inhibitor OATP1B rifampin dosis tunggal intravena menurunkan ambilan hepatic glyburide / glibenclamide (Zheng *et al.*, 2009), masih harus diteliti lebih lanjut, apakah obat antidiabetik sulfonilurea lainnya merupakan substrat OATP1B1 dan kemungkinannya mempunyai efek polimorfisme *SLCO1B1* pada sulfonilurea (Kalliokoski *et al.*, 2010).

SNP c.463C>A menyebabkan peningkatan efikasi obat kolesterol fluvastatin (Couvert *et al.*, 2008). SNP c.463C>A tidak mempunyai efek pada aktivitas transport OATP1B1 pada studi in vitro (Tirona *et al.*, 2001), dan hubungan ini disebabkan karena *linkage disequilibrium* yang kuat antara SNP c.463C>A dengan c.388A>G (yaitu haplotype *1B) (Pasanen *et al.*, 2008) dan masih memerlukan penelitian lebih lanjut.



Gambar 2.23 Efek Variant *SLCO1B1* c.521T>C pada Paparan (Area Under the Plasma Statin Concentration-Time Curve) berbagai Statin yang Berbeda (Niemi *et al.* (2006b) dan Pasanen *et al.* (2006b, 2007)).

2.7.4 Efek pada Disposisi Senyawa Endogen

Penelitian berikut mengenai efek SNP *SLCO1B1* c.521T>C pada pemberian fluvastatin, pravastatin, simvastatin, atorvastatin, dan rosuvastatin dosis tunggal pada marker absorpsi dan sintesis kolesterol pada orang Kulit Putih yang sehat (Pasanen *et al.*, 2008a). Walaupun semua statin menurunkan rasio lathosterol-terhadap-cholesterol plasma, marker kecepatan sintesis kolesterol, responsnya tidak berbeda antara genotip *SLCO1B1*. Pada individu

dengan genotip c.521CC rasio desmosterol-terhadap-kolesterol plasma puasa 40% lebih tinggi daripada individu genotip *1A/*1A, yang menunjukkan adanya peningkatan kecepatan sintesis kolesterol baseline yang menyebabkan kerusakan aktivitas OATP1B1 (Pasanen *et al.*, 2008a). Hal ini mengarah ke hipotesis bahwa secara genetik kerusakan aktivitas OATP1B1 akan menurunkan ambilan hepatic asam empedu, yang mengakibatkan peningkatan konversi kolesterol menjadi asam empedu dan kemudian meningkatkan kecepatan sintesis kolesterol. Genotip *SLCO1B1* berhubungan dengan kadar plasma asam empedu dan kecepatan sintesis asam empedu (Xiang *et al.*, 2009). Kadar plasma puasa ursodeoxycholic acid, glyoursodeoxycholic acid, chenodeoxycholic acid, dan glycocheno-deoxycholic acid lebih tinggi 50-240% pada individu dengan *SLCO1B1* c.521CC, c.521TC, atau genotip *1A/*1A daripada individu dengan genotip *1B/*1B. Rasio sistesis asam empedu marker 7-hydroxy-4-holesten-3-one terhadap kadar kolesterol plasma lebih tinggi sekitar 62% pada partisipan *1A/*1A daripada partisipan *1B/*1B, hal ini mengindikasikan adanya penurunan sintesis asam empedu yang berhubungan dengan haplotype *1B (Xiang *et al.*, 2009). Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa OATP1B1 berperan penting pada ambilan hepatic asam empedu, sehingga mempengaruhi homeostasis kolesterol.

Kadar plasma bilirubin dan konjugatnya juga berhubungan dengan genotip *SLCO1B1* (Xiang *et al.*, 2009). Ada tiga publikasi genome-wide association studies yang meneliti faktor-faktor genetik yang berhubungan dengan kadar bilirubin (Kang *et al.*, 2010). Pada salah satu penelitian, yang dilakukan pada 9500 orang kulit putih, variants pada lokus UGT1A1 menunjukkan hubungan yang kuat dengan bilirubin serum total; hubungan signifikan lainnya adalah pada SNP: *SLCO1B1* c.521T>C, jadi pada individu dengan alel C mengalami peningkatan kadar bilirubin (Johnson *et al.*, 2009). Penelitian lain, pada 4300 kulit

putih didapatkan hubungan yang kuat SNP noncoding *SLCO1B3* dengan bilirubin conjugated dan unconjugated, selain dari efek kuat SNP *UGT1A1* dan *G6PD* dan efek sedang SNP *SLCO1B1* c.521T>C dan c.388A>G (Sanna *et al.*, 2009). Pada penelitian 1000 orang Korea, hanya variants lokus *UGT1A1* dan *SLCO1B3* yang berhubungan dengan kadar serum bilirubin total pada level signifikan genome-wide (Kang *et al.*, 2010). SNP *SLCO1B1* c.521T>C didapatkan berhubungan dengan adanya bilirubin pada batu empedu tetapi tidak semua berisiko membentuk batu empedu (Buch *et al.*, 2010).

Senyawa endogen lain yang berhubungan dengan genotip *SLCO1B1* adalah estrone-3-sulfate dan thyroxine. Pada satu penelitian, kadar plasma estrone-3-sulfate dan thyroxine, lebih tinggi 39 dan 23%, pada karier SNP *SLCO1B1* c.521T>C daripada nonkarier, tidak ada hubungan dengan thyroid-stimulating hormone atau triiodothyronine (van der Deure *et al.*, 2008). Ada bukti yang mendukung bahwa *OATP1B1* berpengaruh pada ambilan hepatic in vivo beberapa senyawa endogen, tapi masih diperlukan penelitian lebih lanjut.

2.7.5 Implikasi Klinis

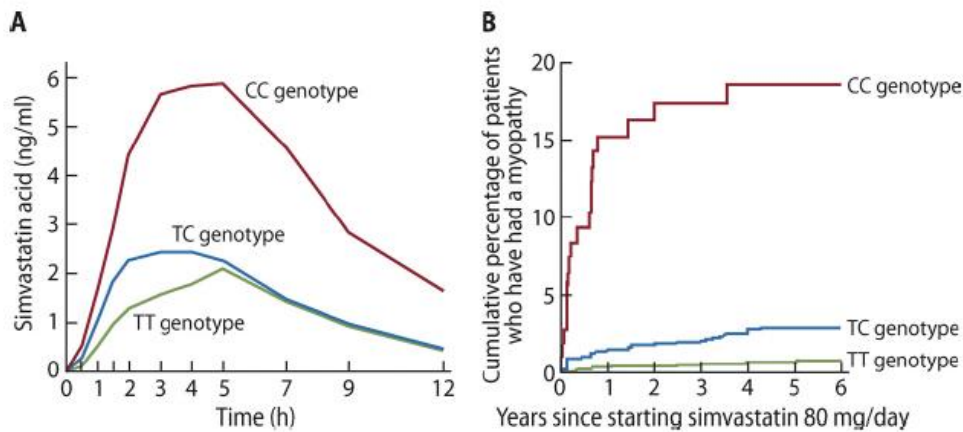
Signifikansi klinis polimorfisme genetik *SLCO1B1* yang paling bagus adalah pada statin. Statin bersifat sangat *well tolerated*, tetapi dapat menyebabkan efek samping myopathy plasma concentration-dependent (Ghatak *et al.*, 2010). Gejala myopathy akibat statin adalah fatigue, nyeri otot, bengkak, lemah dan kram, yang dapat timbul dengan atau tanpa peningkatan kadar kreatinin kinase darah.

Spektrum klinis myopathy akibat statin dari myalgia biasa yang ringan (5–10% pengguna statin /tahun) sampai rhabdomyolysis yang dapat menyebabkan kematian (0.001–0.005% pengguna statin /tahun) (Graham *et al.*, 2004). Faktor risiko timbulnya myopathy dan rhabdomyolysis akibat statin antara lain statin dosis tinggi, interaksi obat (terutama yang meningkatkan kadar plasma statin),

usia lanjut, adanya penyakit lainnya, hipotiroid, dan kelainan otot yang diturunkan (Ghatak *et al.*, 2010).

Myopathy akibat statin merupakan efek samping *concentration-dependent*, maka jelaslah bahwa SNP *SLCO1B1* c.521T>C meningkatkan risiko myopathy pada penggunaan simvastatin, pitavastatin, atorvastatin, pravastatin, dan rosuvastatin (Gambar 2.14), khususnya bila digunakan dalam dosis tinggi.

Genome-wide association simvastatin pada 85 pasien dengan myopathy pada pemberian simvastatin dosis tinggi (80 mg/hari) dan 90 kontrol, sebagai bagian dari 12.000 pasien Study of the Effectiveness of Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteine trial (SEARCH Collaborative Group, 2008). Pada penelitian ini, hanya SNP noncoding pada gen *SLCO1B1*, yang mempunyai *linkage disequilibrium* kuat dengan SNP c.521T>C ($r^2=0.97$), yang menyebabkan terjadinya myopathy akibat simvastatin. Odds ratio untuk myopathy adalah 4.5 per copy alel c.521C dan sama tingginya dengan 16.9 pada homozigot CC dibandingkan dengan homozigot TT. Lebih dari 60% kasus myopathy memiliki alel C. Pada pasien dengan genotip CC, 18.2% mengalami myopathy pada 5 tahun pertama penggunaan simvastatin dosis tinggi, dengan kasus terbanyak timbul pada tahun pertama penggunaan simvastatin, dibandingkan dengan risiko keseluruhan 2.83% pada heterozigot TC dan 0.63% pada homozigot TT (SEARCH Collaborative Group, 2008) (Gambar 2.15). Hasil ini direplikasi pada 10.000 pasien yang menggunakan simvastatin 40 mg/hari pada penelitian Heart Protection Study, dengan risiko relatif 2.6 per copy alel C (SEARCH Collaborative Group, 2008). SNP *SLCO1B1* c.521T>C juga berhubungan dengan timbulnya efek samping simvastatin, atorvastatin, dan pravastatin yang lebih ringan, walaupun dengan statin dosis kecil (Voora *et al.*, 2009).



Gambar 2.24 Efek variant *SLCO1B1* c.521T>C

Efek variant *SLCO1B1* c.521T>C pada Kadar Plasma Simvastatin Acid Aktif pada Pemberian Simvastatin Dosis Tunggal 40 mg pada Orang Sehat (A) dan Kumulatif Insidens Myopathy Saat Diberi Simvastatin Dosis Tunggal 80 mg/hari (B). (Pasanen MK, Neuvonen M, Neuvonen PJ, and Niemi M (2006))

SNP *SLCO1B1* c.521T>C menurunkan ambilan simvastatin acid ke dalam hepatosit (dimana ia menginhibisi sintesis kolesterol) dan meningkatkan kadar plasmanya, sehingga meningkatkan risiko timbulnya myopathy terutama pada pemberian simvastatin dosis tinggi (Gambar 2.15), jadi simvastatin dosis tinggi jangan diberikan pada karier SNP ini. Myopathy yang disebabkan karena simvastatin adalah efek samping yang *concentration-dependent*, maka jangan menggunakan atorvastatin dan pitavastatin dosis tinggi, dan kemungkinan juga rosuvastatin dan pravastatin, pada karier SNP ini, efek ini berbeda pada statin lainnya (Gambar 2.14). Pada pasien individual, efek SNP ini pada kadar plasma statin dapat lebih besar daripada efek rata-rata pada orang sehat. Jadi, misalnya paparan simvastatin acid lebih dari 5 kali lipat daripada biasanya bisa terjadi pada pengguna simvastatin, yang menjelaskan mengapa kadang-kadang dapat juga terjadi myotoksik pada pemberian dosis kecil. Hati-hati pada pasien karier variant *SLCO1B1* dan penggunaan obat yang berinteraksi dengan statin, seperti amiodarone atau gemfibrozil (Becquemont *et al.*, 2007), karena SNP *SLCO1B1*

c.521T>C dan obat yang berinteraksi dapat menimbulkan efek aditif pada farmakokinetik statin. Faktor-faktor genetik lainnya, seperti SNP ABCG2 c.421G>A, yang secara signifikan dapat meningkatkan kadar plasma rosuvastatin, atorvastatin, dan fluvastatin, tetapi tidak meningkatkan simvastatin acid atau pravastatin (Keskitalo *et al.*, 2009a,b), dapat menyebabkan efek aditif dengan SNP *SLCO1B1* c.521T>C atau obat yang berinteraksi. SNP *SLCO1B1* c.521T>C tidak mempunyai efek signifikan pada farmakokinetik fluvastatin, jadi variant ini tidak meningkatkan risiko myopathy akibat fluvastatin (Niemi *et al.*, 2006b).

SNP *SLCO1B1* c.521T>C menurunkan ambilan hepatic sebagian besar, jadi hipotesa bahwa ada kemungkinan dengan peningkatan efek statin berupa penurunan kolesterol (Gerloff *et al.*, 2006). Pada penelitian pertama, efikasi obat kolesterol pravastatin 40 mg/hari selama 3 minggu berbeda pada delapan orang sehat yang karier alel *SLCO1B1* c.521C dengan nonkarier (Igel *et al.*, 2006). Dari hasil Heart Protection Study, efek penurunan kolesterol LDL pada pemberian simvastatin 40 mg/hari lebih kecil 1.3% per copy alel C (SEARCH Collaborative Group, 2008), hal ini sesuai dengan penurunan ambilan hepatic simvastatin acid. Data penelitian lain menunjukkan bahwa polimorfisme *SLCO1B1* secara klinis tidak berpengaruh pada efikasi penurunan kolesterol statin, hal ini kemungkinan karena paparan hepatic total dengan statin tidak menyebabkan penurunan aktivitas OATP1B1 pada statin yang dieliminasi melalui liver. Hal ini juga menunjukkan bahwa secara fisiologis, pada farmakokinetik pravastatin, terdapat variasi pada ambilan hepatic mempunyai efek mayor pada paparan plasma terhadap pravastatin tetapi efeknya pada paparan liver hanya kecil saja (Watanabe *et al.*, 2010). Jadi, alel *SLCO1B1* c.521C menurunkan indeks terapeutik simvastatin dan sebagian besar statin lainnya dengan meningkatkan

kadar plasma statin dan risiko terjadinya myopathy, tanpa peningkatan efikasi penurunan kolesterol.

2.8 SLCO1B1 sebagai Marker Prediksi

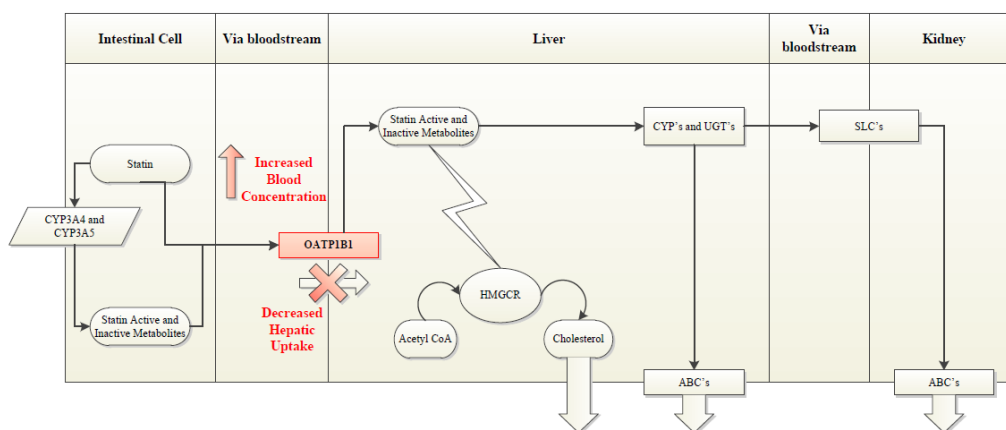
Banyak bukti yang menunjukkan bahwa pasien dengan karier variant tertentu pada SLCO1B1 dua kali lebih banyak mengalami intoleransi terhadap statin, yang mana hal ini dapat menyebabkan persepsian yang tidak perlu dan bersifat trial-and-error (Donnelly, L.A, *et al.*, 2011). Penemuan ini mendukung bahwa identifikasi pasien dengan bentuk variant SLCO1B1 dapat menyebabkan SRM dan kepatuhan terapi yang rendah.

2.8.1 Fisiologi SLCO1B1

Statin baru dapat berfungsi apabila telah masuk ke liver. Ambilan statin dari darah portal ke dalam hepatosit menembus bilayer fosfolipid, melalui transporter influks organic anion-transporting polypeptide 1B1 (OATP1B1) yang terekspresi di membran basolateral hepatosit (Gambar). Transport OATP1B1 bersifat rate limiting untuk ambilan hepatosit serta distribution dan metabolisme berbagai statin. Akibatnya, modifikasi transporter ini menyebabkan terjadinya risiko SRM (Donnelly *et al.*, 2011). OATP1B1 dikode oleh gen SLCO1B1 alel *5 (Val174Ala, 521T>C) yang dipengaruhi oleh lokasi transporter pada membran plasma, yang menyebabkan penurunan ambilan liver dan kadar sistemik statin yang lebih besar dan paparan otot dengan statin (Oshiro *et al.*, 2010).

Frekuensi genotipik dari variants SLCO1B1 berbeda-beda menurut etnik dan beberapa fungsi alelnya menurun, misalnya terdapat *5 pada 8%–20% Kaukasia. Pada Tabel di bawah ini, terdapat haplotipe yang berperan penting pada modulasi risiko SRM. Dengan catatan, haplotip *15, dengan frekuensi alel 10% pada orang Jepang, karier substitusi 521T>C yang sama sebagai *5 dalam

kombinasi dengan SNP 388A>G dan merupakan faktor risiko lainnya dalam timbulnya myopathy pada pasien dengan terapi statin.



Gambar 2.25 Jalur Uptake Statin

(a) SLCO1B1 mengkode transporter influks OATP1B1. (b) transport OATP1B1 sangat penting untuk akses hepatic statin. Transporter berkontribusi pada ambilan liver statin termasuk metabolisme lintas pertama dari sirkulasi portal sehingga menurunkan transport sehingga meningkatkan paparan statin sistemik (termasuk otot). (c) HMGCR = 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase, CYP = cytochrome P450 isoenzymes, UGT = UDP-glucuronyl transferase class of enzymes, SLC = solute carrier group of membrane transporters, ABC = ATP-binding cassette transporters.

Tabel. 2.18 Haplotype SLCO1B1 pada Berbagai Kelompok Etnik (Oshiro et al., 2010)

Nucleotide Change (s)	rsID	Protein Variation (s)	Haplotype	Transporter Effect	OATA1B1 Substrate serum conc.	Allele Frequency (%) ^a			
						AA	J	As	C
None	N/A	N/A	*1A	Normal	Baseline				
388A>G	2306283	Asn130Asp	*1B	Increased	Decreased	74-78	54	58-81	37-46
521T>C	4149056	Val174Ala	*5	Reduced	Increased	1-4	0.7	6-19	12-20
521T>C+388A>G	4149056+2306283	Val174Ala+Asn130Asp	*15	Reduced	Increased		10		

^aAA = African American, J = Japanese, As = Asian, C = Caucasian

2.8.2 Farmakokinetik Efek Samping

Mutasi penurunan fungsi pada SLCO1B1 akan membatasi transport molekul ini oleh OATP1B1 ke dalam sel-sel liver, yang berakibat meningkatkan kadar statin di aliran darah. Peningkatan kadar statin dalam plasma, akan meningkatkan risiko terjadinya efek samping, dan yang paling sering adalah SRM. Efek samping ini paling jelas pada simvastatin, yaitu Area Under the Concentration-response Curve (Neuvonen *et al.*, 2006) tiga kali lebih besar pada pasien homozigot untuk variant *5 daripada wild type setelah pemberian dosis tunggal 40-mg (Pasanen *et al.*, 2006). Sebaliknya, fluvastatin mempunyai sifat farmakokinetik yang tidak tergantung pada variasi genetik pada lokus SLCO1B1, dan angka kejadian SRM nya rendah (Neuvonen *et al.*, 2006). Walaupun sebagian besar statin merupakan substrat dari transporter OATP1B1 (Neuvonen *et al.*, 2006), efek polimorfisme SLCO1B1 masih bervariasi, berdasarkan pada profil farmakologi statin yang spesifik. Masing-masing statin mempunyai proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi yang unik, yang mempengaruhi kinetik dan respons terapi (Tabel 2.16)

Tabel. 2.19 Sifat Farmakologi Statin

	Fluvastatin	Rosuvastatin	Pitavastatin	Pravastatin	Lovastatin	Atorvastatin	Simvastatin
Elimination half life	3 h	19 h	11 h	2 h	4 h	14 h	4 h
LDL Lowering Potency	Low	High	Low-Mod	Low-Mod	Low-Mod	Low-High	Mod
Renal excretion	50%	90%	15%	20%	10%	2%	13%
OATP1B1 dependence	-	-	+/-	+	++	+++	++++
Starting dose ^a	80 mg XL HS	5-10 mg QD	1-2 mg QD	20-40 mg HS	20-40 mg HS	10-20 mg QD	20-40 mg HS

^aQD = Once Daily, HS = Taken at bedtime, LDL = Low Density Lipoprotein.



2.8.3 Bukti Klinis

Apabila toksisitas berhubungan dengan paparan obat pada otot, maka logikanya, peningkatan kadar obat dalam darah mencerminkan perubahan profil efek samping pada pasien dengan transport yang menurun. Beberapa penelitian mengevaluasi timbulnya efek samping, yang paling sering adalah myopathy, bervariasi menurut genotip. Ada lima studi yang meneliti risiko SRM yang berhubungan dengan fungsi variasi genetik pada SLCO1B1 (Tabel 2.17).

Risiko myopathy yang berhubungan dengan SLCO1B1 pertama kali dilaporkan oleh Study of the Effectiveness of Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteine (SEARCH) Collaborative Group (Link *et al.*, 2008). Penelitian dua cohort kasus klinis berat dan kontrol dari penelitian besar pada sekitar 12.000 dan 20.000 partisipan yang diberi terapi simvastatin 80 mg dan 40 mg setiap hari. Hasilnya, ada hubungan signifikan antara SRM dengan marker tunggal gen SLCO1B1 (rs4363657, $p = 3 \times 10^{-28}$). Hubungan ini dikonfirmasi pada cohort kedua yang meneliti pasien yang secara acak diberi simvastatin 40 mg setiap hari (Tabel 2.18).

Tabel 2.20 SLCO1B1 dan Risiko Myopathy

Study	Drug	n	Allele(s)	Clinical Endpoint	Outcome
SEARCH	S 80 mg	175	*5	Definite or incipient myopathy	OR = 4.7 per copy ($p = 3 \times 10^{-28}$)
HPS	S 40 mg	1.664	*5	Definite or incipient myopathy	OR = 2.6 per copy ($p = 0.004$)
	S20→80 mg			Composite adverse event (CAE)	
STRENGTH	P10→40 mg	452	*5	defined as discontinuation for any side effect, myalgia, or CK > 3x ULN	S: OR = 1.7 per copy ($p = 0.03$)
	A10→80 mg				
GO-DARTS	All Statins, all doses	4.141	*1B, *5, *15	Intolerance as defined by an increase in CK (1xULN>CK<3xULN) or ALT and aberrant prescription patterns	OR = 2.05, ($p = 0.043$)
Marciante <i>et al.</i> , 2011	C	917	*5	Rhabdomyolysis	OR = 1.89, ($p = 0.002$)

S = Simvastatin, A = Atorvastatin, R = Rosuvastatin, P = Pravastatin, C = Cerivastatin, RR = relative risk, OR = Odds Ratio, ULN = Upper Limit of Normal.

Tabel 2.21 Risiko Myopathy pada SEARCH yang distratifikasi oleh Genotip SLCO1B1 (Link et al., 2008)

Genotype ^a	Population Frequency	Cumulative Percentage with Myopathy	
		Year 1	Year 5
Wild Type	73%	0.34%	0.63%
Heterozygote	24.9%	1.38%	2.83%
Homozygote	2.1%	15.25%	18.55%

^aWild Type-521TT, Heterozygote-521TC, Homozygote-521CC.

Hasil dari studi retrospective hubungan genetik pada SEARCH dan HPS divalidasi pada studi prospective randomized STRENGTH (Statin Response Examined by Genetic Haplotype Markers) study (Voora et al., 2009). Pada STRENGTH, subyek (n = 509) diacak, diberi atorvastatin dosis 10-80 mg, simvastatin dosis 20-80 mg, atau pravastatin dosis 10-40 mg. Definisi composite adverse event (CAE) adalah penghentian terapi akibat timbulnya efek samping, myalgia, atau CK>3 kali upper limit of normal (ULN) saat follow-up. Ada lima kandidat gen yang dievaluasi, yaitu CYP2D6, CYP2C8, CYP2C9, CYP3A4, dan SLCO1B1, hanya SLCO1B1*5 yang berhubungan dengan CAE (37% pada pasien karier dan 25% pada pasien wild type, p = 0.03) dan lebih signifikan pada pasien dengan CAE saja, terutama peningkatan CK signifikan (p = 0.03). Lebih lanjut, diobservasi efek gen-dosis (persentase CAE pasien dengan 0, 1, atau 2 variant alel (*5): 19%, 27%, dan 50%, p = 0.01 untuk kecenderungannya). Yang penting, hanya karier alel yang menerima dosis simvastatin yang meningkat, menunjukkan tingginya risiko CAE dibandingkan dengan pasien yang tidak mempunyai karier alel (16% vs. 34%, p = 0.01). Hal ini kontras dengan pasien yang diberi atorvastatin dan pravastatin yang menunjukkan tidak ada perubahan signifikan pada risiko CAE, berdasarkan pada pembawaan alel (19% vs. 27%, p = 0.3 dan 22% vs. 22%, p = 0.97 untuk atorvastatin dan pravastatin). Karena karier dari mutasi 521T>C menyebabkan tingginya myalgia, hambatan signifikan

pada kepatuhan optimal, pasien yang sama ini terjadi intoleransi, sehingga obatnya harus diganti dengan statin yang lain dengan dosis yang lebih rendah atau dosis yang sama, menurunkan dosis statin yang sama, atau menghentikan terapi statin. Hipotesis ini merupakan tujuan studi GO-DARTS (Genetics of Diabetes Audit and Research) yang memeriksa variant SLCO1B1 yang berhubungan dengan intoleransi statin secara umum pada populasi besar pasien diabetes tipe 2 yang diberi statin sebagai terapi rutin. Observational incident cohort analysis ini menggunakan informasi dari 4.196 genotip pasien dari database GO-DARTS, yang merupakan bagian dari riset yang sedang dilakukan di komunitas Tayside, Scotland (populasi 400.000) untuk menentukan terapi dan hasil klinis individu dengan diabetes (Donnelly *et al.*, 2011). Informasi yang didapatkan dari database ini adalah informasi klinis terperinci untuk individu dengan diabetes mulai tahun 1990 sampai sekarang, yang meliputi semua data obat, hasil pemeriksaan laboratorium, dan data klinis lainnya yang berhubungan dengan perawatan diabetes. Studi ini khususnya berfokus pada manifestasi myopathy ringan, dan pasien dengan CK > 3xULNiv [Upper limit of normal (ULN) is the upper threshold value of a normal range for a defined laboratory measure. >3xULN would be a value that is greater than threefold higher than the upper limit of a normal range] tidak dianalisis. Definisi intoleransi pada studi ini adalah gabungan dari hasil lab yang abnormal, alanine transaminase (ALT) dan CK, dan penyesuaian relevan resep masing-masing pasien.

Hasil studi ini mengkonfirmasi hubungan antara alel *5 dengan intoleransi statin (OR = 2.05, 95% CI:1.02–4.09, p = 0.04), dan selanjutnya memperlihatkan bahwa karier alel *5 memiliki risiko ganda terjadinya intoleransi terhadap statin.

Hasil ini didapatkan pada populasi dengan kasus myopathy sedang dan berat yang dikeluarkan, sehingga hasil sub-patologi nya lebih baik. spektrum efek samping otot akibat statin lebih signifikan yang dikendalikan oleh kepatuhan

terapi. Studi ini menunjukkan hubungan toksisitas otot dengan SLCO1B1 mencerminkan pola persepan yang menyebabkan intoleransi, dan berguna untuk intervensi prospektif.

Walaupun mayoritas evidens SLCO1B1-related SRM di sekitar simvastatin, tetapi cerivastatin, obat yang ditarik akibat risiko terjadinya rhabdomyolysis (Staffa *et al.*, 2002), juga dipengaruhi oleh lokus ini.

Analisis oleh Marciante *et al.*, studi kandidat gen (pemeriksaan CYP2C8, UGT1A1, UGT1A3, dan SLCO1B1) dan studi GWAS, hasilnya 185 kasus cerivastatin-induced rhabdomyolysis yang sesuai dengan kontrol yang menggunakan statin dari Cardiovascular Health Study (n = 374) dan Vascular Health Study (n = 358) (Marciante *et al.*, 2011). Hasil dari Permutation test menunjukkan bahwa ada hubungan antara cerivastatin-induced rhabdomyolysis dengan alel *5 (OR = 1.89, p = 0.002). Pada studi functional, variant ini menurunkan transport sebesar 40% dibandingkan dengan reference transporter (p < 0.001). Studi ini merupakan kelanjutan hasil dari simvastatin-centered trials menjadi cerivastatin and functional studies, yaitu memperbaiki hubungan penyebab yang potensial.

2.8.4 SLCO1B1 sebagai Intervensi Kepatuhan

Hasil uji klinis menunjukkan adanya hubungan kuat antara karier alel SLCO1B1 dengan myalgia ringan dan myopathy yang berat (Voora *et al.*, 2009).

Lebih lanjut, SLCO1B1 menginduksi toksisitas otot yang juga berhubungan dengan rendahnya toleransi obat (Donnelly *et al.*, 2011). Karena terdapat gradien efek untuk variasi transporter ini diantara kelas statin (Niemi, 2010), memungkinkan untuk melakukan terapi personal statin untuk mencapai tujuan efektifitas, karena adanya predisposisi myopathy berdasarkan genotip SLCO1B1.

Kenyataannya, pada berbagai kelompok, termasuk Clinical Pharmacogenomics

Implementation Consortium, mempunyai rekomendasi terapi spesifik yang dapat digunakan klinisi sebagai titik awal untuk implementasi status pasien 521T>C dengan terapinya (Wilke *et al.*, 2012).

Walaupun evidens dari AKROBATS trial tidak sepenuhnya mendukung kegunaan pemeriksaan genomik untuk memperbaiki kepatuhan pasien (Charland *et al.*, 2012), konsep ini menarik dan penggunaan SLCO1B1 akan dilanjutkan bukan hanya untuk mempengaruhi perasaan efikasi pasien saja (Bloss *et al.*, 2011) tetapi juga menurunkan kemungkinan timbulnya myopathy, suatu barier yang tidak tergantung pada kepatuhan terapi. Hal yang lebih penting adalah pengambilan keputusan berdasarkan penemuan ini dapat menurunkan angka kejadian aterosklerosis dan penyakit kardiovaskuler. Tidak ada bukti klinis langsung mengenai peresepan statin personal pada pasien SLCO1B1*5 bisa memperbaiki kepatuhan terapi; tetapi analisis sebelumnya menyatakan bahwa hal ini merupakan kesimpulan logikal dan bisa menjadi hipotesis penting untuk evaluasi analisis selanjutnya.

2.9 Carotid Intima-Media Thickness

Carotid intima-media thickness (CIMT) merupakan marker untuk aterosklerosis, dan digunakan untuk mendeteksi aterosklerosis subklinis. Aterosklerosis merupakan komponen patologis CVD yang baik, sehingga CIMT dapat digunakan untuk melihat risiko CVD dalam usaha mengoptimalkan pencegahan (Cobble *et al.*, 2010).

CIMT diukur menggunakan *B-mode ultrasound* yang menggambarkan ketebalan lapisan intima dan lapisan media arteri karotis.

Plak aterosklerosis meningkatkan ketebalan dinding arteri. Definisi plak menurut *The Mannheim Intima-media Thickness Consensus Panel* adalah *isolated* CIMT sebesar $\geq 1,5$ mm atau $\geq 50\%$ di sekeliling IMT (Touboul *et al.*, 2004), sedangkan menurut Spence JD (2006), ketebalan 1 mm sudah

merupakan plak. Dengan CIMT, dapat ditentukan apakah ada aterosklerosis non-obstruksi, aterosklerosis dengan atau tanpa stenosis. Hal ini penting, karena sebagian besar serangan jantung (*cardiovascular events*) disebabkan plak arterial *non-stenosis* (Little *et al.*, 1988). Selain itu, CIMT juga dapat mendeteksi progresifitas aterosklerosis dan aterosklerosis subklinis (Sharma *et al.*, 2009).

2.9.1 Hubungan *Carotid Intima-Media Thickness* dengan risiko Penyakit Jantung (*Cardiovascular Disease*)

CIMT berhubungan erat dengan CVD (Li C *et al.* 2008), selain itu CIMT juga berhubungan dengan risiko CVD (Cobble *et al.*, 2010). *Carotid intima-media thickness* mempunyai nilai *positive predictive value* (PPV) yang besar untuk identifikasi individu dengan hasil *angiographically coronary artery disease* (CAD) (Kablak-Ziemicka *et al.*, 2005), dan merupakan marker untuk *intravascular ultrasound-defined CAD* (Amato *et al.*, 2007). Studi *The Atherosclerosis Risk in Communities* (ARIC) memperlihatkan hasil bahwa CIMT berhubungan dengan insidens *myocardial infarction* (MI), setelah memperhitungkan faktor risiko: usia, ras, diabetes, kolesterol, hipertensi, dan kebiasaan merokok (Chambless *et al.*, 1997). *Cardiovascular Health Study*: insidens MI atau stroke pada pasien usia > 65 tahun, dan tanpa riwayat CVD, dapat meningkat apabila CIMT nya meningkat (O'Leary DH, *et al.* 1999). Bukti lain yang mendukung hubungan antara CIMT dengan risiko CVD ditunjukkan oleh Li dkk, (Li C, *et al.* 2008), yang mengobservasi pasien dengan tekanan darah normal (140/90 mm Hg) selama 10,7 tahun, *carotid artery atherosclerosis* (yaitu mean CIMT $\geq 0,81$ mm dan / atau adanya plak [CIMT > 1,2 mm]), mempunyai risiko 3 kali lipat lebih tinggi mengalami stroke iskemik dibandingkan dengan yang tanpa *carotid artery atherosclerosis*, dengan memperhitungkan risiko usia, jenis kelamin, kolesterol, glukosa puasa, dan kebiasaan merokok. Lorenz dkk (Lorenz MW *et al.*, 2007) melakukan *meta-analysis* pada 8 studi klinis dan menemukan hasil bahwa CIMT

merupakan prediktor kuat untuk terjadinya CVD. Perbedaan CIMT sebesar 0,1 mm meningkatkan risiko stroke sebesar 13-18%, dan meningkatkan risiko MI sebesar 10-15%. Resiko relatif MI adalah 1,26 dan stroke adalah 1,32.

2.9.2 Nilai dan Limitasi *Carotid Intima-Media Thickness*

Secara umum, CIMT merupakan marker risiko CVD yang digunakan untuk mengoptimalkan prevensi. Risiko diukur dari dua studi. Studi yang pertama berupa uji klinis kardiovaskuler, meneliti prevalensi 4 faktor risiko CVD konvensional (merokok, diabetes, hipertensi, dan hiperlipidemia) pada 122.458 pasien dengan CVD (Khot UN *et al*, 2003). Secara keseluruhan, 15,4% perempuan, dan 19,4% laki-laki dengan CVD tidak mempunyai faktor risiko konvensional tunggal. Jumlah pasien CVD tanpa 4 faktor risiko meningkat dengan usia dan lebih dari 20% pada perempuan > 75 tahun dan laki-laki > 65 tahun. Studi kedua meneliti CIMT dan plak pada 118 pasien usia muda (36-59 tahun) dengan 1 faktor risiko kardiovaskuler (riwayat keluarga dengan CVD, merokok, hiperlipidemia, atau hipertensi) dan tidak ada CVD. Dari 118 pasien, 89 mempunyai *coronary artery calcium score* 0 (artinya tidak ada CAD). Apabila 89 pasien ini dievaluasi, 97% mempunyai *framingham risk score* < 1% *annualized cardiovascular event rate*; sedangkan, 34% mempunyai *carotid plaque* dan 13% mempunyai CIMT lebih besar daripada 75th *percentile* (merupakan risiko tinggi dari CIMT) (Lester SJ, *et al*. 2009). Kedua studi ini menemukan perbedaan pada penilaian risiko konvensional, dan bahkan pada pasien usia muda yang sebelumnya diduga mempunyai risiko yang rendah, ternyata juga dapat terjadi aterosklerosis. *Carotid intima-media thickness* dapat mendeteksi aterosklerosis subklinis pada dewasa muda.

Kegunaan CIMT yang lain adalah untuk usaha prevensi terjadinya aterosklerosis, yaitu dengan deteksi dini proses progresifitas aterosklerosis pada anak-anak dan dewasa muda. Dengan makin meningkatnya obesitas dan

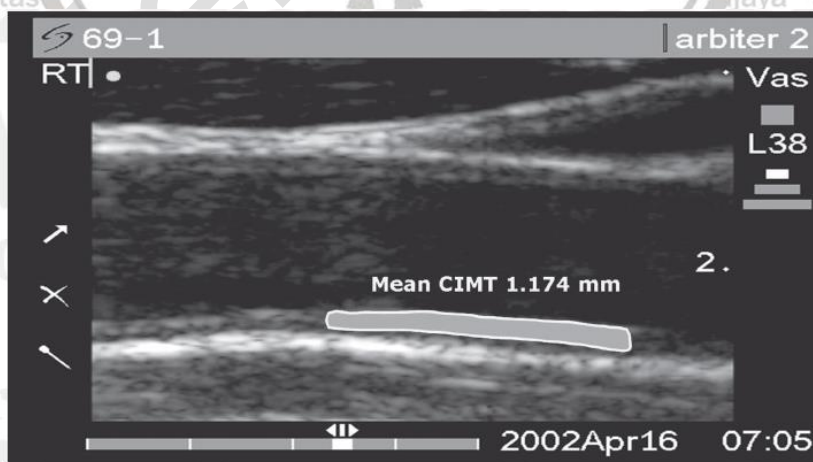
sindroma metabolik pada anak-anak dan dewasa muda karena gaya hidup *sedentary* dan nutrisi yang buruk, maka deteksi dini menjadi makin penting (Steinberger J *et al*, 2009). Pengukuran *Carotid intima-media thickness* dapat digunakan untuk melihat penebalan arteri *premature* atau adanya *atheroma*, pada pasien berisiko tinggi berikut ini: pre-diabetes, diabetes, dislipidemia, gaya hidup tidak sehat termasuk merokok. Selain itu, CIMT dapat untuk identifikasi individu dengan aterosklerosis subklinis, yang berguna dalam usaha pencegahan agresif sebelum terjadi penyakit kardiovaskuler. *Carotid intima-media thickness* juga dapat untuk melacak aterosklerosis sepanjang waktu, pada penderita CVD. Para klinisi yang kini menggunakan CIMT, dapat memonitor *atheroma* dan responsnya terhadap terapi (Cobble *et al.*, 2010).

Dibandingkan dengan metode lain yang digunakan untuk mendeteksi anatomi koroner, CIMT mempunyai beberapa kelebihan. Pertama, CIMT dapat diulang tanpa menimbulkan efek samping pada pasien (Kastelein *et al.*, 2008). Karena non-invasif, maka tidak ada risiko *vessel dissection*, *vessel closure*, atau spasme koroner. Selain itu juga tanpa risiko radiasi seperti metode visualisasi arterial lainnya (Brenner *et al.*, 2007). Kedua, dengan CIMT, dapat dilihat dinding arteri, tempat sesungguhnya aterosklerosis berada, bukan di lumen. Ketiga, peralatannya banyak tersedia, relatif tidak mahal, dan tidak dihalangi oleh anatomi pasien (Sharma *et al.*, 2009). Yang terakhir, CIMT tidak tergantung pada kalsifikasi plak seperti pemeriksaan lainnya (mis, *coronary artery calcification score*).

Kelemahan CIMT adalah masih belum ada protokol standard pada praktek klinis, hal ini dapat menyebabkan estimasi yang tidak akurat mengenai progresifitas atau regresi CIMT pada beberapa pengukuran. Tetapi, implementasi program *software carotid intima border edge detection* dapat menurunkan variasi ini dan memperbaiki *reproducibility*. Gepner dkk (Gepner *et*

al, 2006) menunjukkan bahwa adanya perbedaan pengalaman pada operator yang melakukan echocardiografi, menyebabkan perbedaan CIMT sebesar $0,011 \text{ mm} \pm 0,004$ dan $0,022 \text{ mm} \pm 0,004$, bila dibandingkan dengan pengukuran CIMT dengan gambar yang sama.

Keterbatasan CIMT yang lain adalah bahwa yang dilihat adalah arteri karotis, bukan koroner. Karena kebanyakan kematian karena CVD disebabkan karena CAD, maka deteksi aterosklerosis di karotis dengan CIMT tidak berhubungan dengan aterosklerosis di cabang koroner. Bots dkk (Bots et al, 2007) melakukan review sistematis studi-studi antara tahun 1999 sampai tahun 2005 yang meneliti hubungan antara CAD dengan CIMT. Dari 33 studi yang di-review, 29 studi menunjukkan hubungan yang positif dengan korelasi sebesar 0,12 sampai 0,51. Kesimpulannya adalah bahwa terdapat korelasi karena perbedaan perkembangan aterosklerosis antara pembuluh darah karotis dengan koroner, bukan karena variasi pengukuran CIMT (Bots et al., 2007). Selain itu, mekanisme yang sama antara usia dan *atherosclerosis-related* pada penebalan intima membuatnya sulit untuk membedakan dua patologi ini. Selain itu, walaupun CIMT dapat memprediksi CAD, tetapi nilai prediksinya secara patologi tidak berhubungan langsung dengan aterosklerosis (Finn et al., 2009).



Gambar 2.26 Gambaran Arteri Karotis

2.9.3 Pemeriksa Carotid Intima-Media Thickness

Pemeriksaan *ultrasound* CIMT dilakukan oleh *sonographer* terlatih. Gambaran yang benar berupa “garis ganda” di sisi dekat dinding dan di sisi yang jauh dari dinding arteri karotis; garis-garis ini adalah permukaan lumen-intima dan permukaan *media-adventitia*. Setelah gambar dapat diambil, program yang dapat mendeteksi batas dapat digunakan untuk melacak jarak permukaan dinding di ujung lumen-intima ke ujung *media-adventitia* dan menghitung CIMT (Gambar 2.23). Selain gambaran CIMT, dapat juga dilihat *circumferential scan* dinding arteri karotis yang jauh dan dekat, bifurkasio karotis, dan segmen arteri karotis internal, untuk identifikasi plak (Stein *et al.*, 2008).

Tabel 2.22 Mean CIMT Karotis Dinding Jauh dan 75th persentil

Age (years)	Black Women							Black Man						
	25	30	35	40	45	55	65	25	30	35	40	45	55	65
Mean value, mm	0.67	0.71	0.76	0.81	0.85	0.67	0.75	0.73	0.78	0.83	0.87	0.64	0.73	0.86
75th percentile	0.72	0.78	0.83	0.89	0.67	0.75	0.85	0.71	0.82	0.92	1.02	0.72	0.83	0.99
Age (years)	White Women							White Man						
	25	30	35	40	45	55	65	25	30	35	40	45	55	65
Mean value, mm	0.63	0.67	0.70	0.73	0.55	0.64	0.73	0.69	0.73	0.77	0.81	0.62	0.71	0.80
75th percentile	0.70	0.73	0.76	0.79	0.61	0.71	0.81	0.83	0.85	0.88	0.92	0.70	0.80	0.93

Abbreviation: CIMT, carotid intima-media thickness.

2.9.4 Interpretasi Data Carotid Intima-Media Thickness

Carotid intima-media thickness dinyatakan sebagai *mean-mean* (atau “*common*”) dan/atau *mean-maximum* nilai absolut atau persentil. Tidak ada standard pengukuran khusus yang harus digunakan; tetapi beberapa studi menggunakan pedoman umum. Misalnya, studi pada 558 laki-laki dan perempuan dengan atau tanpa CAD, dilakukan penelitian hubungan antara CAD

dan *mean* CIMT (*mean* dari *maximal common carotid*, *bifurcation*, dan *internal* CIMT (Kablak-Ziembicka A, *et al.* 2005). Pada perempuan, nilai *mean* CIMT 1,069 mm merupakan prediksi kuat terjadinya CAD (PPV = 96%, sensitivitas = 79,1%, spesifisitas = 89,7%), sedangkan nilai prediksi CIMT pada laki-laki adalah 1,153 mm (PPV = 93%, sensitivitas = 66,4%, spesifisitas = 74,2%). Selain itu, Mattace-Raso, dkk (Mattace-Raso F *et al.*, 2002) menunjukkan adanya aterosklerosis pada arteri tunggal seorang pasien berusia 65 tahun yang berhubungan dengan CIMT 0,9 mm, aterosklerosis 2 arteri berhubungan dengan CIMT 1,2 mm, dan aterosklerosis 3 arteri berhubungan dengan CIMT 1,3 mm setelah disesuaikan dengan usia, jenis kelamin, hipertensi, tekanan darah, hiperkolesterolemia, dan merokok. Apabila risiko diukur menggunakan persentil, maka CIMT yang lebih besar dari 75th persentil digolongkan dalam risiko tinggi, sedangkan nilai persentil antara 25th sampai 75th persentil tergolong risiko sedang (Stein *et al.*, 2008). Karena perubahan CIMT dengan usia dan perbedaan antara jenis kelamin dan ras, hasilnya harus dibandingkan dengan nilai referensi berdasarkan usia, jenis kelamin, dan ras/etnis (Stein *et al.*, 2008). Tabel di atas memuat nilai referensi dan persentil di Amerika Utara.

Ada beberapa faktor yang perlu dipertimbangkan saat interpretasi data CIMT. Salah satu faktor adalah yang dapat mempengaruhi hasil adalah usia. *Carotid intima-media thickness* meningkat berdasarkan usia, walaupun tanpa aterosklerosis (Stein *et al.*, 2004). Secara umum, pada individu sehat diestimasi terjadi peningkatan *mean* CIMT sebesar 0,015 mm/tahun atau kurang dan *mean maximum* CIMT sebesar 0,018 mm/tahun, sedangkan individu dengan penyakit jantung koroner, estimasi peningkatan *mean* CIMT sebesar 0,017 mm/tahun, dan *mean maximum* CIMT sebesar 0,026 mm/tahun (Bots *et al.*, 2003). Faktor lain yang dipertimbangkan adalah adanya penyakit yang dapat meningkatkan CIMT.

Carotid intima-media thickness dapat meningkat pada gangguan *inflammatory*

diabetes (Rabago *et al*, 2007) dan *rheumatoid arthritis* (Rincon *et al*, 2007).

Peningkatan CIMT pada penyakit-penyakit ini kemungkinan karena aterosklerosis subklinis dan aterosklerosis *accelerated* yang berhubungan dengan inflamasi kronis (Gasparyan, 2009).

Selain itu, peningkatan CIMT pada pasien penyakit ini mencerminkan inflamasi pada dinding pembuluh darah, tidak menyebabkan kerusakan struktur yang permanen, dan pemberian terapi untuk inflamasi yang berhubungan dengan penyakit ini dapat menyebabkan regresi CIMT (Veldhuijzen van Zanten

JJ, Kitas GD. 2008). Pada pasien pediatri dengan diabetes tipe 1 (Rabago *et al*, 2007) dan familial *hypercholesterolemia* (Jarvisalo *et al*, 2001) terdapat peningkatan CIMT.

Kegunaan hasil CIMT adalah untuk kalkulasi usia vaskuler (Stein *et al.*, 2004). Penentuan usia vaskuler dapat membantu untuk klarifikasi bagaimana cara menangani pasien dengan risiko sedang. Misalnya, pasien usia 45 tahun dengan *Framingham score* 9,5% (risiko sedang), tetapi usia vaskulemnya 62 tahun berdasarkan pada CIMT (usia dimana CIMT dinyatakan normal), dapat diklasifikasikan dalam risiko tinggi dan memerlukan intervensi yang lebih intensif.

Adanya plak karotis saat pemeriksaan juga diukur. Total *plaque burden* dikalkulasi dengan menjumlah semua plak bilateral, dan juga dapat digunakan untuk membantu menentukan faktor risiko (Spence, 2006). Selain itu, tipe plak (lubak, heterogen, campuran, atau kalsifikasi penuh) juga dicatat. Adanya plak karotis juga merupakan faktor risiko independen untuk CVD dan dapat meningkatkan risiko pasien, berbeda dari CIMT (Hunt *et al.*, 2001).

2.9.5 Obat Jantung yang mempengaruhi *Carotid Intima-Media Thickness*

Karena berhubungan dengan CVD, maka CIMT digunakan sebagai *outcome* primer saat menilai efikasi obat untuk aterosklerosis karena

mempengaruhi populasi besar, jangka panjang, dan memerlukan biaya yang besar bila menggunakan mortalitas dan MI sebagai endpoint-nya (Asmar et al., 2009).

2.9.5.1 Obat Antihipertensi

Efek obat antihipertensi (antara lain calcium *channel blocker*, α - dan β -*blocker*, *angiotensin-converting enzyme inhibitor*, *diuretic*, dan *angiotensin-1 receptor blocker*) pada CIMT telah banyak diteliti. Secara umum, berbagai antihipertensi mempunyai efek prevensi progresifitas CIMT, dan beberapa diantaranya dapat menginduksi regresi setelah terapi selama 6 sampai 52 bulan (Riccioni, 2009).

2.9.5.2 Niacin

Efek *niacin* (kombinasi dengan obat CVD lainnya) pada CIMT diteliti pada 2 uji klinis. Pada *Cholesterol-Lowering Atherosclerosis Study* (CLAS), laki-laki usia 40-59 tahun dengan riwayat operasi *bypass* koroner yang diberi terapi *niacin plus colestipol* atau *placebo* selama 4 tahun (Blankenhorn et al., 1993). Terdapat regresi signifikan pada CIMT pada grup terapi *niacin/colestipol* dibandingkan dengan *baseline* pada tahun ke-2 dan ke-4, sedangkan CIMT meningkat pada grup *placebo*. Pada studi *Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol* (ARBITER 2), pasien dengan riwayat CVD dan telah diberi terapi statin ditambah dengan *niacin* atau *placebo* (Taylor et al., 2004). Setelah 1 tahun terapi, pasien yang diberi *niacin*/statin mengalami progresifitas yang tidak signifikan pada CIMT-nya, sedangkan CIMT meningkat signifikan pada *group placebo*/statin. Selain itu, Pada 1-tahun *openlabel extension* studi ini (ARBITER 3), pasien yang dikonversi dari *placebo* kemudian diberi *extended-release niacin* mengalami regresi signifikan CIMT, seperti pada

pasien yang diberi terapi *extended-release niacin* selama 12 bulan, pada studi ARBITER 2 atau 3 dan yang diberi *niacin* selama 24 bulan penuh (Taylor et al., 2006). Pada pasien dengan riwayat CAD dan hiperlipidemia, niacin yang dikombinasi dengan *bile acid binding resin*, dapat menyebabkan melambatnya progresifitas atau merangsang regresi penyakit aterosklerosis.

2.9.5.3 Statin

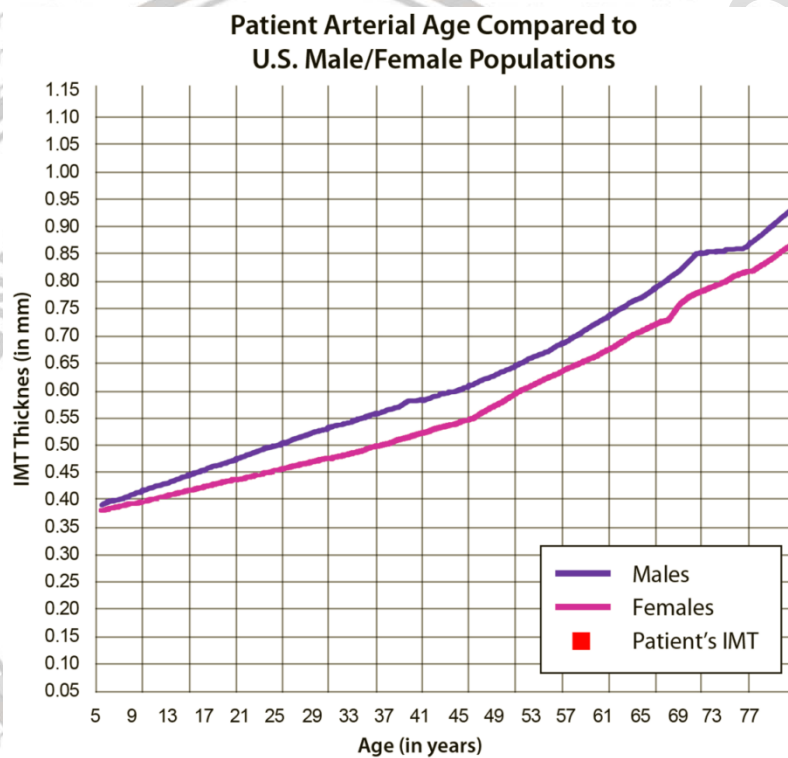
Statin terbukti dapat mencegah progresifitas dan menginduksi regresi CIMT (Ozaki et al., 2006).

Dua penelitian terbaru statin dengan CIMT hasilnya sangat menarik. Pada *Measuring Effects on Intima-Media Thickness: study Evaluation of Rosuvastatin* (METEOR), pasien-pasien dengan risiko rendah (≤ 1 faktor risiko atau ≥ 2 faktor risiko dan *framingham risk score < 10% annualized cardiovascular event rate*), tetapi dengan hiperlipidemia ringan dan aterosklerosis subklinis berdasarkan pada CIMT, diberi rosuvastatin atau plasebo selama 2 tahun (Crouse et al., 2007). Progresifitas CIMT menurun secara signifikan dengan terapi rosuvastatin dibandingkan dengan plasebo ($-0,0014$ mm/tahun dan $0,0131$ mm/tahun, berturut-turut). Hasil trial ini, rosuvastatin merupakan statin pertama yang disetujui oleh US *Food and Drug Administration* untuk digunakan untuk indikasi memperlambat progresifitas aterosklerosis. Sebaliknya, terdapat kontroversi antara Ezetimibe dengan Simvastatin pada *Hypercholesterolemia Enhances Atherosclerosis Regression* (ENHANCE) trial. Trial ini meneliti peran kombinasi simvastatin dan ezetimibe versus simvastatin saja pada lipid dan pengukuran CIMT pada pasien dengan familial hypercholesterolemia (Kastelein et al., 2008).

Walaupun terapi kombinasi dapat menurunkan low-density lipoprotein kolesterol (LDL-C), trigliserida, dan C-reactive protein secara signifikan dibandingkan dengan simvastatin saja, mean CIMT sedikit meningkat pada kedua grup setelah

terapi selama 2 tahun, dengan peningkatan nilai lebih banyak pada grup kombinasi ($0,0111 \pm 0.0038$ mm) dibandingkan dengan grup simvastatin saja ($0,0058 \pm 0.0037$). Yang penting, peningkatan CIMT secara statistik tidak signifikan. Tetapi, hasil yang negatif ini mungkin disebabkan karena disain studi yang kurang baik (mis, nilai *baseline* CIMT rendah), dan hasil ini tidak mencerminkan validitas uji CIMT.

2.9.6 Potensi Nilai Klinis *Carotid Intima-Media Thickness*



Gambar 2.27 Representasi usia vaskuler berdasarkan pada CIMT.

Figure provided courtesy of CardioRisk Laboratories, Salt Lake City, UT.

2.9.7 Indikasi Pemeriksaan *Carotid Intima-Media Thickness*

Pemeriksaan CIMT dilakukan berdasarkan pada *Screening for Heart Attack Prevention and Education (SHAPE) task force* (semua laki-laki usia 45–75 tahun dan semua perempuan usia 55–75 tahun, kecuali pada yang telah mempunyai

riwayat CVD atau dengan faktor risiko sangat rendah) (Naghavi *et al.*, 2006). Pasien dengan risiko CVD intermediat berdasarkan pada *Framingham risk score* model 6%-20% annualized *cardiovascular event rate* tanpa adanya penyakit jantung koroner, pasien dengan riwayat keluarga CVD premature pada orang tuanya atau saudaranya, pasien usia < 60 tahun dengan 1 faktor risiko ekstrim atau serius, dan perempuan usia 60 tahun dengan 2 faktor risiko CVD. Karena CIMT non-invasif, relatif tidak mahal, dan sangat informatif, maka akan sangat baik bila dilakukan pada pasien dengan faktor risiko signifikan seperti pre-diabetes, diabetes, sindroma metabolik, perokok, hiperlipidemia, atau riwayat keluarga dengan penyakit jantung, serta pasien usia 40 tahunan. Apabila hasilnya abnormal, maka sebaiknya CIMT dilakukan setiap tahun, tetapi bila hasilnya normal, maka dilakukan setiap 2-5 tahun.

Tabel 2.23 *Definiton of Risk and General Treatment Strategies After Atherosclerosis Screenig*

	Moderately High Risk	High Risk	Very High Risk
Definition			
CIMT	< 1 mm and 50th-75th percentile	≥ 1 mm or > 75th Percentile	≥ 1 mm or > percentile
Plaque	None	< 50% stenosis ²	≥ 50% stenosis ²
Treatment Strategy	Lifestyle modification	Aggressive lifestyle modification	Aggressive lifestyle modification
	LDL-C < 130 mg/dL	LDL-C<100 mg/dL	LDL-C < 70 mg/dL Myocardial ischemia testing

Independent of CIMT requirements.

Abbreviations: CIMT, carotid intima-media thinkness; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol.

2.10. Flow-Mediated Dilation

2.10.1. Pemeriksaan Flow-Mediated Dilation menggunakan Ultrasound

Pemeriksaan flow-mediated dilation dikembangkan sejak tahun 1992, digunakan untuk pemeriksaan fungsi endotel vaskuler yang non-invasif.

Disfungsi endotel vaskuler merupakan tahapan awal menuju hipertensi dan

penyakit kardiovaskular, jadi sangat penting untuk melakukan pemeriksaan fungsi endotel vaskular yang akurat, yang akan membantu menemukan etiologi penyakit vaskular dan menentukan efikasi terapi yang targetnya vaskuler.

Celermajer dkk (1992) mengembangkan tehnik FMD sebagai metode non-invasif untuk mengukur fungsi endotel vaskuler. Pemeriksaan ultrasonik FMD sebagai respons terhadap oklusi yang diinduksi oleh hiperemia, merupakan pemeriksaan fungsi endotelial yang dapat diandalkan, non-invasif (Uehata *et al.*, 1997) dan berhubungan dengan pemeriksaan invasif fungsi endotel pada arteri koroner (Anderson *et al.*, 1995). Dalam usaha untuk menstandarisasi pengukuran ini pada para peneliti, pada tahun 2002, Corretti dkk (2002) mempublikasi pedoman awal untuk pemeriksaan FMD pada arteri brakialis.

Endotelium mempunyai berbagai peran patologis dan fisiologis, antara lain regulasi tonus otot polos, kontrol trombosis, inhibisi lekosit dan adesi sel platelet, dan promosi permeabilitas intra-arterial (Celermajer, 1997). Berbagai substansi vasoaktif dirilis dari endotelium, antara lain: prostacyclin, endothelin, endothelial cell growth factor, interleukin, plasminogen-inhibitor, dan NO. NO merupakan mediator utama vasodilatasi (Singel dan Stamper, 2005), dan terus menerus diteliti sejak ditemukan tahun 1980 (Furchgott dan Zawadzki, 1980). Setelah 30 tahun riset NO, penurunan bioavailabilitas NO menjadi identik dengan kondisi "disfungsi endotelial" (Green, 2005). Selain dianggap sebagai etiologi utama aterosklerosis (Verma *et al.*, 2003), disfungsi endotelial merupakan kejadian paling awal yang dapat diidentifikasi pada proses penyakit aterosklerosis kardiovaskuler, yang menjadi penyebab morbiditas dan mortalitas di Amerika Serikat (Roos, 1999). Pemeriksaan fungsi endotelial menarik untuk diteliti.

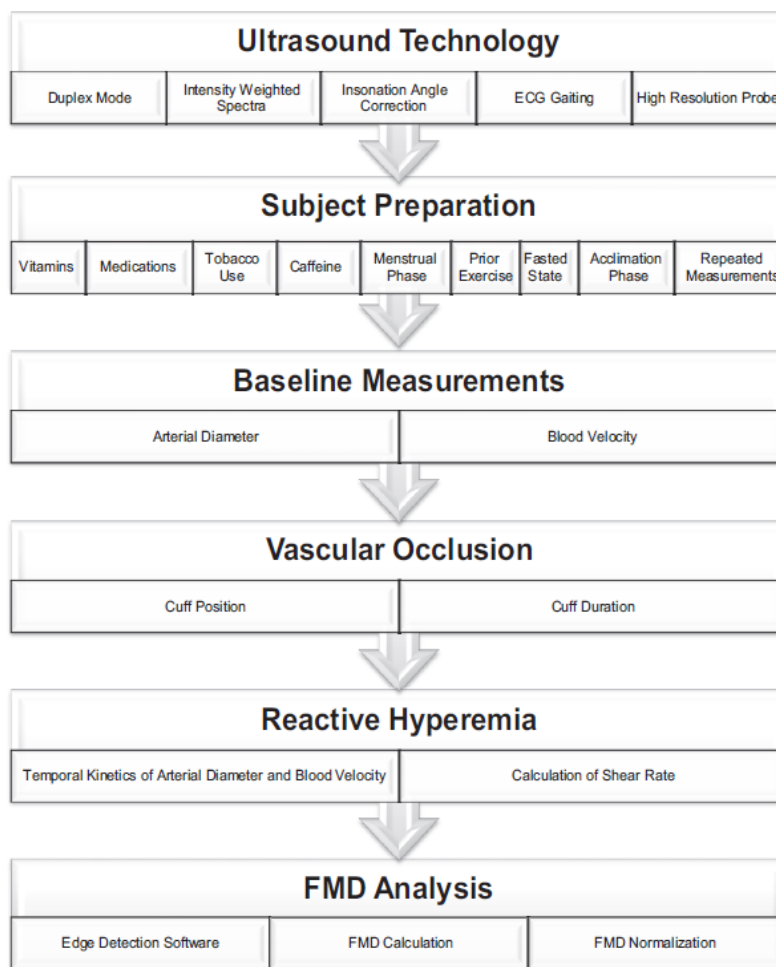
Pemeriksaan fungsi endotel dengan FMD mencerminkan bioassay fungsional untuk bioavailabilitas endothelium-derived NO (Green, 2005). Saat uji

FMD, vasodilatasi terjadi setelah peningkatan akut aliran darah, yang diinduksi via tahanan sirkulasi pada lengan (suprasystolic cuff occlusion) selama jangka waktu tertentu. Secara khusus, hiperemia ini meningkatkan laminar shear-forces paralel dengan aksis panjang pembuluh darah (Niebauer dan Cooke, 1996) yang ditransduksi via luminal mechanoreceptor ke sel endotelial. Kejadian ini meningkatkan ekspresi G-protein phosphokinase A, menandakan peningkatan aktivitas endothelial NO synthase, yang mengkatalisa konversi L-arginine menjadi NO (Sessa, 2004). NO kemudian berdifusi ke dalam tunica media, dimana terjadi aktivasi soluble guanylate cyclase, yang kemudian mengubah GTP menjadi GMP untuk menginduksi relaksasi otot polos dan kemudian terjadi vasodilatasi. Peningkatan diameter arterial, sebagai akibat dari hiperemia reaktif, dibandingkan dengan diameter baseline dan dinyatakan dengan persentase diameter baseline (% FMD). Terlepas dari hubungan intuitif dan atraktif antara uji FMD dengan bioavailabilitas NO, harus diperhatikan bahwa jenis dan ukuran pembuluh darah dapat mempengaruhi kontribusi relatif NO (Shimokawa *et al.*, 1996), dan masih terus diperdebatkan karena bertentangan dengan konsep bahwa vasodilatasi dimediasi oleh endotelium, sebagian besar adalah akibat dari NO (Puke *et al.*, 2010).

2.10.2. Pengukuran FMD

FMD diperiksa menggunakan ultrasound Doppler, untuk melihat fungsi endotel vaskuler. Alat ini relatif sederhana dan non-invasif (Gambar 1).

Diperlukan peralatan ultrasound yang layak, serta ketrampilan yang baik, untuk hasil yang akurat dan terpercaya.



Gambar 2.28. Skema Elemen Esensial untuk pemeriksaan Ultrasound FMD

Ultrasound yang High-Resolution dan Multifrequency Linear. Probe Doppler. Keakuratan pengukuran FMD sangat tergantung pada identifikasi dinding arteri, yang memerlukan gambar ultrasound dengan resolusi tinggi.

Setiap probe ultrasound digolongkan menurut frekuensi dalam megahertz, yang terbalik dengan proporsinya terhadap kedalaman imaging yang optimal. Pada

Gambar 2 diperlihatkan kualitas B-mode images yang menggunakan probe dengan frekuensi yang berbeda pada arteri brachialis pada kedalaman 2 cm.

Untuk pembuluh darah superfisial, probe 10- sampai 14-MHz linear array, termasuk “resolusi tinggi”. Probe dengan frekuensi yang lebih rendah (Corretti *et*

al., 2002) dapat mendeteksi perubahan diameter tetapi pada pembuluh darah yang lebih superfisial.

Mode Duplex. Mode duplex memungkinkan akuisisi simultan B-mode untuk menentukan diameter pembuluh darah dan Doppler untuk menentukan velocity darah. Pengukuran kolektif ini memungkinkan penghitungan shear rate untuk setiap periode waktu, saat integral waktu shear across (yaitu, shear rate area under the curve [AUC]) dihitung. Ini adalah keuntungan utama scanning Duplex, karena hal ini merupakan paparan kumulatif terhadap shear yang terjadi pada arteri yang dilakukan stimulus utama untuk respons FMD (Mitchell *et al.*, 2004).

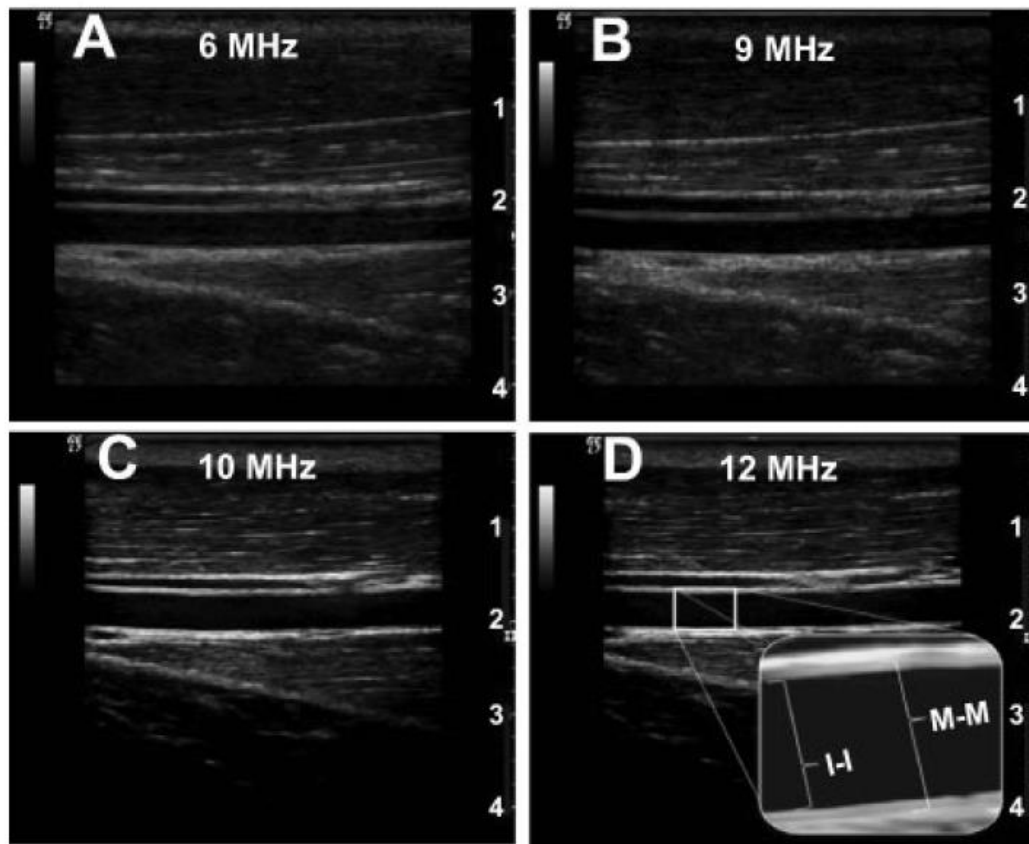
Tabel 2.24 Perubahan Velocity Darah sebagai akibat Insonation Angle

Insonation Angle	Velocity, cm/s	Blood Flow, mL/min	% Δ From 60%	Theoretical		
				FMD, %	Shear, s ⁻¹	FMD/Shear
40°	3.52±0.46	24.8±8.3	-49	7.0	33.52	0.21
50°	4.24±0.57	29.5±9.9	-25	7.0	40.38	0.17
60°	5.27±0.50	36.7±11.1	0	7.0	50.19	0.14
70°	7.97±1.07*	55.5±18.7	51	7.0	75.90	0.09
80°	15.69±2.12*	109.4±36.8*	197	7.0	149.43	0.05

Values are mean ± SD unless otherwise specified. This table documents the actual blood velocity and blood flow as function of different insonation angles and the theoretical degree of potential error associated with different angles of insonation that will occur when normalizing FMD for shear.

*Data are significant (p<0.05) from 60°

ECG Gating. Tergantung pada tekanan nadi dan kekakuan vaskuler, diameter arterial variasinya cukup besar pada satu siklus jantung (Radegran dan Saltin B, 1999). Pada beberapa subyek, perubahan diameter 1 mm, apabila tidak diketahui, dapat mengaburkan penilaian FMD. Kebanyakan sistem ultrasound Doppler mempunyai integrasi EKG yang memfasilitasi penilaian diameter sesuai dengan siklus jantung (mis: end diastole). Namun, jika fitur ini tidak tersedia pada sistem ultrasound ini, maka EKG eksternal dapat digunakan untuk memicu external image capture/ sistem analisis (Harris *et al.*, 2009).



Gambar 2.29 Kualitas gambar B-mode menggunakan probe yang frekuensinya berbeda-beda. A, 6 MHz; B, 9 MHz; C, 10 MHz; and D, 12 MHz. Tampak permukaan intima ke intima (I-I) dan media ke media (M-M). Gunakan probe 10-MHz untuk identifikasi endothelium yang sangat jelas.

2.10.3. Persiapan Subyek

Untuk memastikan keakuratan pengukuran FMD, maka ada beberapa syarat yang harus dipenuhi.

Suplemen Vitamin. Keseimbangan pro-oxidant dan antioxidant *invivo* berperan penting pada fungsi endotelial vaskuler (Wray *et al.*, 2009), dan terbukti ada bukti langsung penurunan radikal bebas sirkulasi setelah minum suplemen antioksidan per oral (vitamin C, vitamin E, dan α -lipoic acid) (Richardson *et al.*, 2007) Pemberian ascorbic acid intra-arterial dapat memperbesar FMD (Eskurza

et al., 2004). Oleh karena itu, subyek tidak boleh minum suplemen vitamin 72 jam sebelum pemeriksaan FMD. Walaupun kontrolnya sulit, tetapi harus diperhatikan bahwa diet tinggi antioksidan alami, juga mempengaruhi hasil studi FMD (Franzoni *et al.*, 2005).

Obat-obatan. Beberapa obat secara langsung dan tidak langsung mempengaruhi vaskuler, jadi disarankan tidak minum semua obat selama ≥ 4 waktu-paruh sebelum dilakukan pengukuran FMD (Corretti *et al.*, 2002).

Terutama obat-obat yang targetnya kardiovaskuler (mis, β -bloker, nitrat, dan calcium channel blocker), dan apabila tidak dapat menghentikan obat-obat ini, maka perlu diperhatikan pengaruhnya saat menghitung hasil pemeriksaan FMD.

Penggunaan nonsteroidal anti-inflammatory dihentikan selama 1 hari, sedangkan aspirin dihentikan selama 3 hari (berdasarkan waktu-paruhnya), sebelum pemeriksaan FMD.

Penggunaan tembakau. Kebiasaan merokok merupakan faktor risiko penyakit kardiovaskuler yang dapat diubah, yang sangat mempengaruhi fungsi endotelial (Celermajer *et al.*, 1993). Bahkan paparan pada perokok pasif terbukti memperlemah FMD (Kato *et al.*, 2006). Jadi disarankan untuk tidak merokok atau tidak terpapar asap rokok selama ≥ 12 jam sebelum pengukuran FMD.

Cafeine. Kopi merupakan sumber utama cafeine. Cafeine tidak hanya menghambat soluble guanylate cyclase, tahapan proses NO-mediated yang menyebabkan vasodilatasi (Strinden dan Stellwagen, 1984), tetapi kopi juga dapat memperlemah FMD (Papamichael *et al.*, 2005). Jadi disarankan tidak minum kopi ≥ 12 jam sebelum pemeriksaan FMD.

Periode menstruasi. Peningkatan produksi estrogen, bersamaan dengan progesteron, pada siklus menstruasi, dapat meningkatkan aktivitas endothelial NO synthase (Hayashi *et al.*, 1995) dan kapasitas antioxidant (Mendelsohn dan Karas, 1999), sehingga akan mempengaruhi respons vasodilatory. Akibatnya,

apabila meneliti perempuan premenopausal, pemeriksaan dilakukan pada siklus menstruasi yang sama. Untuk meminimalisasi pengaruh perubahan hormonal ini atau pada riset yang fokusnya pada perbedaan jenis kelamin, menstruasi (hari ke 1 sampai 7 dari siklus menstruasi) pada level estrogen dan progesterone yang terendah pada perempuan, merupakan waktu yang optimum untuk studi FMD (Hashimoto *et al.*, 1995).

Olahraga / istirahat sebelumnya. Sekali olahraga dapat memperbaiki FMD pada orang dewasa sehat (Clarkson *et al.*, 1999), kelebihan berat badan (Harris *et al.*, 2008), dan perempuan post-menopausal (Harvey *et al.*, 2005). Oleh karena itu penting untuk mengetahui status fisiologis subyek; dan disarankan untuk berhenti olahraga selama ≥ 12 jam sebelum pengukuran FMD.

Puasa. Banyak bukti mengenai pengaruh postprandial pada respons FMD. Konsumsi makanan tinggi lemak dan tinggi karbohidrat dapat melemahkan FMD pada subyek sehat (Padilla *et al.*, 2006) dan pada pasien diabetes melitus tipe 2 (Ceriello *et al.*, 2004) yang mana melibatkan oxidative stress dan hiperglikemia. Sebaliknya, makan makanan rendah lemak (mis, sereal jagung dengan susu skim) tidak mempengaruhi pengukuran FMD (Padilla *et al.*, 2006). Jadi, disarankan pengukuran FMD dilakukan pada saat puasa; namun apabila tidak memungkinkan untuk puasa, maka dianjurkan makan makanan rendah lemak sebelum pemeriksaan FMD.

Adequate Acclimatization. Karena tujuan pengukuran FMD adalah untuk membandingkan puncak respons vasodilatory dengan diameter baseline, maka penting untuk menilai baseline dengan akurat. Jadi, sebelum uji FMD, disarankan subyek tetap dalam posisi penelitian ini dilakukan (mis, supinasi, semi-supinasi, atau duduk) selama ≥ 20 menit, di ruangan yang tenang dan nyaman (22° - 24° C) untuk mengontrol perubahan ortostatik. Selain itu, batasi stres yang diinduksi oleh aktivitas simpatis pada hari pemeriksaan dilakukan.

Pengulangan Pengukuran. Pemeriksaan FMD dapat diulang setelah ≥ 30 menit (Harris *et al.*, 2006). Pengukuran FMD mempunyai variasi diurnal (Jarvisalo *et al.*, 2006), dengan demikian perbandingan antara tiap subyek berkaitan dengan waktu pemeriksaan.

Kesimpulan, persiapan subyek dengan baik, sangat penting untuk bisa mendapatkan hasil ultrasound FMD yang baik. Oleh karena itu, harus dengan tegas membatasi suplemen vitamin, menghentikan pemberian obat (atau mendokumentasikan), menghentikan rokok dan kopi, fase siklus menstruasi, olahraga, dan puasa serta istirahat sebelum pemeriksaan FMD. Jika perlu untuk mengulang pemeriksaan, diperlukan waktu pemulihan pembuluh darah yang cukup adekuat, serta mengetahui adanya variasi diurnal pada respons FMD.

2.10.4. Pengukuran Baseline

Setelah subyek dalam keadaan istirahat (yaitu, beberapa pengukuran tekanan berulang dan konsisten, velocity darah, dan diameter arterial), maka dilakukan pengukuran baseline. Selain itu, velocity darah menentukan indikasi apakah keadaan istirahat benar-benar telah tercapai dan bertindak sebagai titik mulainya penghitungan AUC shear rate. Pengumpulan diameter baseline yang akurat, penting untuk kalkulasi FMD dan shear rate yang valid.

Tabel 2.25 Perbedaan pada FMD dengan menggunakan Data Smoothing Average 3, 5, dan 10 detik

Variable	3 Seconds	5 Seconds	10 Seconds
Baseline diameter	3.25±0.15	3.25±0.15	3.25±0.15
Peak diameter	3.45±0.15	3.43±0.15*	3.42±0.15
FMD, %	6.7±0.9	6.0±0.8	5.6±0.7
Time to peak, seconds	44±6	43±4	44±6
No. of frames	2.4±0.3	4.0±0.04*	7.7±0.7†

Data are presented as mean ±SEM

Data are significant (p<0.05) from 3 seconds

†Data are significant (p<0.05) from 5 seconds

Baseline Arterial Diameter. Penentuan diameter arterial baseline berperan penting pada kalkulasi dan penilaian FMD. Ada bukti bahwa diameter dalam keadaan istirahat dengan oklusi manset, hasilnya sama; namun data terbaru menunjukkan bahwa ada perubahan diameter arterial akibat pengaruh usia (Thijssen *et al.*, 2008) dan durasi manset (Corretti *et al.*, 1995). Selain itu, ada bukti yang menunjukkan bahwa ada perbedaan sistemik pada fungsi endotelial vaskuler yang tergantung pada ukuran arteri pada awalnya (Thijssen *et al.*, 2008). Sebagai usaha untuk standarisasi metodologi FMD, disarankan menggunakan ≥ 10 siklus kardiak pada kalkulasi diameter baseline. Karena FMD berdasarkan pada perubahan diameter, maka batas sebenarnya (mis, intima-media atau media-adventitia; Gambar 2) yang digunakan untuk menentukan diameter baseline dan diameter berikutnya tidak sepenting kebutuhan untuk konsistensi dari baseline sampai dilatasi maksimal. Mengukur dari adventitia ke adventitia bukan dari intima ke intima, nilai diameternya lebih besar (tidak benar-benar mencerminkan lumen pembuluh darah), menurunkan persentase perubahan FMD (karena baselinanya menjadi lebih besar) dan didapatkan shear rate pada pembuluh darah yang diteliti.

Tabel 2.26 Perbedaan absolute dan variabilitas antara manual dan software evaluasi penentuan FMD

Subje ct	Baseline Diameter, cm				Peak Diameter, cm				FMD,%			
	Manu al	Softwa re	Differen ce, cm	CV, %	Manu al	Softwa re	Differen ce, cm	CV, %	Manu al	Softwa re	Differen ce, cm	CV, %
1	0.42	0.4000	0.015	2.6	0.44	0.4200	0.020	3.3	6.02	5.00	1.02	13.1
2	0.43	0.4497	-0.022	3.6	0.45	0.4689	-0.019	2.9	5.26	4.27	0.99	14.7
3	0.40	0.3951	0.002	0.4	0.41	0.4027	0.007	1.3	3.14	1.92	1.22	34.1
4	0.34	0.3475	-0.007	1.5	0.35	0.3595	-0.010	1.9	2.94	3.45	-0.51	11.3
5	0.31	0.3200	-0.010	2.2	0.35	0.3511	-0.001	0.2	12.90	11.42	1.48	8.6
6	0.30	0.3029	-0.003	0.7	0.32	0.3244	-0.004	1.0	6.67	8.13	-1.47	14.0
7	0.33	0.3200	0.010	2.2	0.37	0.3600	0.010	1.9	12.12	12.50	-0.38	2.2
8	0.24	0.2400	0.000	0.0	0.27	0.2900	-0.020	5.1	12.50	20.83	-8.33	35.4
9	0.29	0.2833	0.001	2.3	0.31	0.3100	0.000	0.0	5.98	9.41	-3.43	31.5
10	0.33	0.3204	0.009	1.4	0.36	0.3483	0.012	2.3	10.20	8.71	1.50	11.2
11	0.29	0.2733	0.006	4.2	0.31	0.2900	0.020	4.7	6.90	7.41	-0.51	5.1
12	0.25	0.2500	0.017	0.9	0.27	0.2600	0.010	2.7	6.58	5.41	1.17	13.8
13	0.38	0.3900	0.003	1.8	0.39	0.3974	-0.007	1.3	2.63	2.03	0.60	18.3
14	0.38	0.3800	-0.010	0.0	0.38	0.3807	-0.001	0.1	0.00	0.00	0.00	0.0
15	0.30	0.3000	0.000	0.0	0.31	0.3100	0.000	0.0	3.33	3.33	0.00	0.0
Mean	0.33	0.3315	0.001	1.6	0.35	0.3515	0.001	1.9	6.48	6.92	-0.4	15.2

Perhatian adanya akurasi lebih baik dari pengukuran diameter dan penentuan subsequent FMD menggunakan analisis software

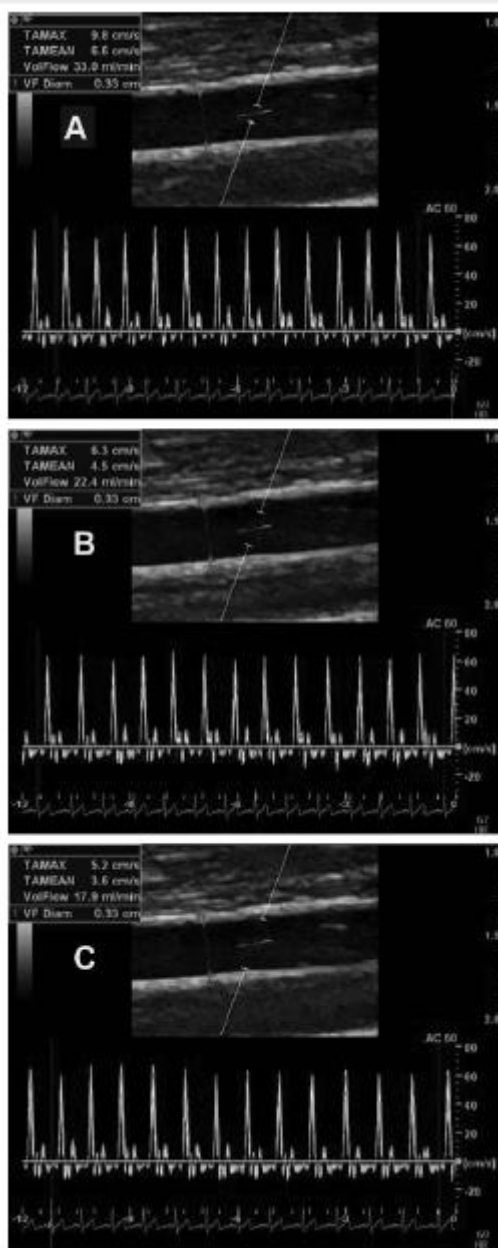
Baseline Velocity Darah. Velocity darah pada saat istirahat berperan penting pada kalkulasi respons shear terhadap rilis manset, terutama jika menggunakan AUC untuk menilai shear rate (Pyke dan Tschakovsky, 2007).

Shear stress merupakan stimulus dominan untuk respons FMD, pengukuran yang akurat untuk velocity darah istirahat sangat perlu. Walaupun dalam keadaan istirahat, velocity darah dari waktu ke waktu dapat sangat bervariasi (seringkali akibat variabilitas denyut jantung); oleh karena itu, disarankan bahwa velocity darah baseline rata-rata sekitar 10-20 detik (Gill, 1985). Pada subyek dengan aritmia respiratory yang jelas, perlu untuk diperpanjang, tergantung pada respiratory rate, untuk mencerminkan rata-rata velocity darah basal.

Selain optimalisasi dengan jelas sudut insonation untuk penilaian akurat velocity darah baseline, penempatan dan ukuran volume sampel (lebar gate) juga sangat penting, terutama pada velocity yang rendah. Gambar 3 menunjukkan pengaruh ukuran gate sampel Doppler pada pengukuran velocity darah dan aliran darah istirahat. Sesuai dengan sifat hydraulic dari cairan Newtonian, Gambar 3 mengidentifikasi 80% over-estimasi aliran volume bila ukuran volume sampel lebih kecil digunakan pada intima-ke-intima (Gambar 3C, di bawah), karena sifat laminar dari aliran darah dan penurunan velocity darah di dekat dinding pembuluh darah. Jadi, disarankan untuk volume sampel selebar mungkin tanpa meliputi dinding pembuluh darah dan sedikit margin untuk kesalahan gerakan (Gambar 3B). Walaupun lebar gate bervariasi antara tiap laboratorium, harus ditekankan pada pertahanan konsistensi paling sedikit antara sebelum dan sesudah manset dilepas pada subyek individu dan pengukuran berulang pada subyek yang sama.

Kesimpulan, pengukuran baseline sangat penting sebagai komponen studi FMD, karena penilaian ini didapatkan setelah cuff dilepas. Oleh karena itu, penilaian yang akurat rata-rata diameter dan velocity darah bersamaan, dengan

volume sampel, untuk ≥ 10 siklus kardiak disarankan dilakukan sebelum oklusi vaskuler (inflasi manset).



Gambar 2.30 Penentuan velocity darah dan aliran darah menggunakan penempatan yang berbeda dari Doppler sample gate. A, terluar; B, pertengahan; C, terdalam. Perhatikan perbedaan velocity dan aliran darah diantara perbedaan penempatan sample gate.

2.10.5. Oklusi Vaskuler

Stimulus awal untuk tes FMD berdasarkan pada oklusi vaskuler temporer, yang menyebabkan iskemi jaringan distal dari titik oklusi (Celermajer *et al.*,

1992). Produk sampingan metabolik dari respirasi seluler, dengan tidak adanya darah sirkulasi, mencetuskan peningkatan konduktans vaskuler yang menyebabkan hiperemia yang kuat pada eradikasi oklusi "upstream". Hiperemia reaktif ini, dan bersamaan dengan shear stress yang dialami oleh pembuluh darah hulu dari daerah oklusi, merupakan stimulus utama untuk FMD. Dengan demikian, kedua posisi manset (manset proksimal = volume jaringan yang iskemia lebih besar = hiperemia lebih besar) dan durasi oklusi (semakin lama oklusi = semakin besar derajat iskemia = hiperemia lebih besar) perannya penting pada vasodilatasi shear-mediated.

Manset. Ukuran manset yang digunakan untuk oklusi vaskuler harus sesuai untuk area yang di-oklusi. Walaupun manset manual konvensional masih cukup baik, nyaman dan secara metodologi langsung bisa mengembang dan mengempiskan manset, dapat juga menggunakan inflator manset yang lebih cepat (0,3-detik).

Posisi manset. Walaupun tidak ada konsensus mengenai penempatan manset oklusi pada saat pemeriksaan, disarankan untuk menempatkan ultrasound probe di distal, untuk mendapatkan vasodilatasi endothelium-dependent yang baik (Betik *et al.*, 2004). Posisi manset proksimal terhadap imaging site menimbulkan respons puncak hiperemi lebih besar dan FMD berikutnya (Berry *et al.*, 2000) kemungkinan dikaitkan dengan hipoksia yang diinduksi oleh iskemia pada area yang diperiksa. Selain itu, penurunan peluruhan hiperemia yang diamati setelah deflasi manset proksimal terhadap tempat pemeriksaan (Doppler probe) menunjukkan bahwa mekanisme selain vasodilatasi NO-mediated berperan pada kondisi ini (Betik *et al.*, 2004).

Durasi Manset. Oklusi manset 10 menit tidak menyebabkan dilatasi arterial lebih besar daripada oklusi selama 5 menit (Corretti *et al.*, 2002), jadi demi konsistensi dan kenyamanan subyek, disarankan untuk melakukannya

selama 5 menit supra-systolic cuffing period (200-250 mmHg) pada tes FMD.

Walaupun hubungan antara fungsi vaskuler pada arteri brakialis, NO, dan durasi

oklusi manset masih diperdebatkan (Tschakovsky dan Pyke, 2005), bukti terbaru

menyarankan melakukan oklusi selama 5 menit bukan 10 menit, karena oklusi

terus menerus (5 menit) menyebabkan vasodilator non-NO, yang diinduksi

iskemia (Kooijman *et al.*, 2008). Vasodilatasi arteri brakialis 50% lebih besar

setelah oklusi 10 versus 5 menit, walaupun setelah normalisasi FMD untuk shear

rate (Harris *et al.*, 2009) menunjukkan bahwa vasodilator non-endothelium-

dependent, NO-mediated berperan penting setelah iskemia yang lebih lama.

Kesimpulan, saat melakukan tes FMD, ukuran mansetnya harus sesuai

dengan lengan yang diteliti, posisi distal terhadap probe ultrasound, dan inflasi \geq

25-50 mmHg di atas tekanan arteri sistolik selama 5 menit untuk memperoleh

stimulus hiperemi reaktif yang dianggap sebagai endotelium yang didominasi

oleh endotelium dan NO dependen.

2.10.6 Pengukuran Reactive Hyperemia (Post-cuff Release)

Pengukuran setelah oklusi vaskuler (yaitu, setelah manset dilepas) sama

pentingnya, atau bahkan lebih penting, daripada pengukuran baseline. Observasi

dan rekomendasi berikut ini berlaku untuk pengukuran selama periode waktu

pelepasan manset.

Kinetik Temporal dari Diameter Arterial dan Velocity Darah. Disarankan

menggunakan mode Duplex pada sistem ultrasound. Untuk memastikan bahwa

tidak ada anomali pada diameter arterial saat oklusi manset dan untuk

menangkap respons hiperemik segera, disarankan pengukuran post-cuff dimulai

\geq 10 detik sebelum manset dilepas. Walaupun puncak velocity timbul pada 15

detik pertama, puncak vasodilatasi dapat timbul dalam waktu 45-80 detik setelah

manset dilepas dan waktu ini bisa berbeda antara populasi satu dengan lainnya

(Black *et al.*, 2008). Jadi, kini juga disarankan bahwa diameter puncak yang sesungguhnya ditentukan secara individual (tidak hanya diameter pada jangka waktu tertentu) dan juga dilaporkan waktu puncak vasodilatasi.

Untuk menangkap kinetik reactive hyperemia-induced shear dan vasodilatasi berikutnya, disarankan bahwa pengukuran velocity darah dan diameter dilakukan selama ≥ 2 menit setelah manset dilepas. Karena profil velocity setelah oklusi ditandai oleh bentukan parabola dengan exponential decay, secara umum disepakati bahwa integral dari over time shear rate (mis, AUC) merupakan metode yang optimal untuk kuantifikasi shear yang terakumulasi yang berkontribusi pada respons FMD (53). AUC merupakan perhitungan konvensional yang menggunakan aturan, menurut persamaan berikut:

dimana x adalah waktu, y adalah shear, x_i adalah titik waktu awal, dan y_i adalah velocity darah awal.

Walaupun mode Duplex diperlukan untuk menghitung total shear rate (AUC), disarankan untuk menangkap puncak velocity hiperemi pada 15 detik pertama (Corretti, 2002) sebelum beralih kembali ke imaging 2D yang masih merupakan metode yang baik.

Kalkulasi Shear Rate. Pada Gambar 3 dijelaskan mengenai bagian velocity baseline dan pengukuran velocity darah dengan doppler dipengaruhi oleh lebar volume sampel dan penempatan gate ini di dalam pembuluh darah.

Hal ini merupakan adalah konsekuensi profil velocity parabolic di dalam bagian pembuluh darah yang tidak bercabang. Konsep ini berdampak pada perhitungan shear rate, yang didapatkan dari hukum Poiseuilles, yang tergantung pada ukuran volume sampel dan penempatan doppler: (1) besar: volume sampel centered: $8 \times \text{mean blood velocity/internal diameter}$; atau (2) kecil, volume sampel centered: $4 \times \text{mean blood velocity/internal diameter}$.

Perbedaan pembilang (8 versus 4) pada perhitungan ini dijelaskan oleh kegagalan untuk menghitung sel darah merah yang bergerak lebih lambat pada ujung pembuluh darah dan oleh karena itu, bias terhadap peningkatan artifisial mean velocity darah sebagai volume sampel menjadi lebih kecil tetapi masih berada di tengah pembuluh darah. Berdasarkan informasi ini, disarankan agar doppler volume sampel tetap lebar dan saat menghitung shear rate, maka faktor 8 digunakan sebagai pembilang persamaan ini.

Maka sebaiknya, data diameter dan velocity dapat diperoleh dalam ≥ 10 detik sebelum manset dilepas dan melanjutkan pengumpulan data dalam ≥ 2 menit setelah dilepas. Metode ini memungkinkan untuk dokumentasi diameter puncak yang sebenarnya dan juga memungkinkan analisis kuantitatif AUC shear, stimulus dianggap menjadi yang paling bertanggung jawab untuk respon FMD. Selain itu, mendokumentasikan waktu untuk mencapai puncak vasodilatasi merupakan penilaian fungsi endotel yang lebih baik ketika membuat perbandingan antara kelompok yang berbeda dan / atau populasi klinis.

2.10.7. Analisis FMD

Pengukuran FMD tidak sesederhana mengukur kedua diameter pembuluh darah, sebelum dan sesudah manset dilepas, dan mencatat persentase peningkatan ukuran pembuluh darah. Selama 2 dekade terakhir ini, metodologi dan analisis FMD mendapat banyak perhatian. Kini diketahui bahwa apabila menggunakan persentase tradisional pada perubahan kalkulasi, diameter baseline awal berpotensi menyebabkan bias matematika pada penilaian FMD, dengan pembuluh darah yang lebih kecil akan lebih reaktif dan sebaliknya (Pyke dan Tschakovsky, 2005). Selain nilai FMD dalam persentase, dicatat juga diameter baseline, perubahan diameter, dan shear rate (AUC).

Tabel 2 memperlihatkan variabilitas dan perbedaan absolut pada diameter baseline, diameter puncak, dan perhitungan FMD diantara manual (calipers pada ultrasound) dengan evaluasi edge detection software pada subyek. Walaupun didapatkan korelasi yang erat dan variabilitas rendah pada diameter baseline (r =0,98; coefficient of variation [CV]: 1,9%), diameter puncak (r=0,98; CV: 1,9%), dan penghitungan FMD (r=0,89; CV: 15,2%), tidak membuktikan bahwa penggunaan edge detection software bukan hanya lebih baik dan lebih sensitif untuk penilaian FMD, tetapi juga menyingkirkan komponen error subyektif dari analisis data.

2.10.8. Kalkulasi FMD

Kalkulasi FMD sebagai persentasi perubahan menggunakan peakdiameter pada respons terhadap hiperemia reaktif yang berhubungan dengan baseline diameter, dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$(3) \text{ FMD}(\%) = \frac{\text{peak diameter} - \text{baseline diameter}}{\text{baseline diameter}}$$

dan bila dikalikan 100, FMD akan berupa persentase perubahan kaliber pembuluh darah.

Disarankan untuk menghitung rata-rata diameter selama end diastole (yang ditandai dengan gelombang R pada EKG) pada ≥ 10 siklus kardiak yang digunakan untuk menyatakan diameter baseline. Dengan dikenalkannya edge detection software, terjadi perdebatan mengenai waktu optimum resolusi yang diperlukan untuk menentukan peak diameter yang akurat (Black *et al.*, 2008).

Perbedaan pada FMD dan penentuan menggunakan 3, 5, dan 10 detik data rata-rata smoothing ditampilkan pada Tabel 3. Bila diameter dirata-rata (data

smoothing) pada beberapa periode waktu (yaitu, 10 detik), maka peak “yang tepat” akan kehilangan resolusi. Walaupun demikian, data smoothing dengan periode waktu yang terlalu singkat (yaitu, 3 detik) dapat meningkatkan gangguan pengukuran dan dapat menyebabkan identifikasi nilai aberrant pada peak diameter. Jadi disarankan bahwa peak diameter ditentukan dalam periode waktu yang sesingkat mungkin (yaitu, 5 detik) tetapi tidak berdasarkan pada data peak diameter yang didapatkan dari rata-rata <3 pengukuran (yaitu, 3 siklus kardiak).

Waktu periode data-smoothing dicatat dan velocity darah dianalisis dalam waktu yang sama dengan diameter (yaitu, mode Duplex).

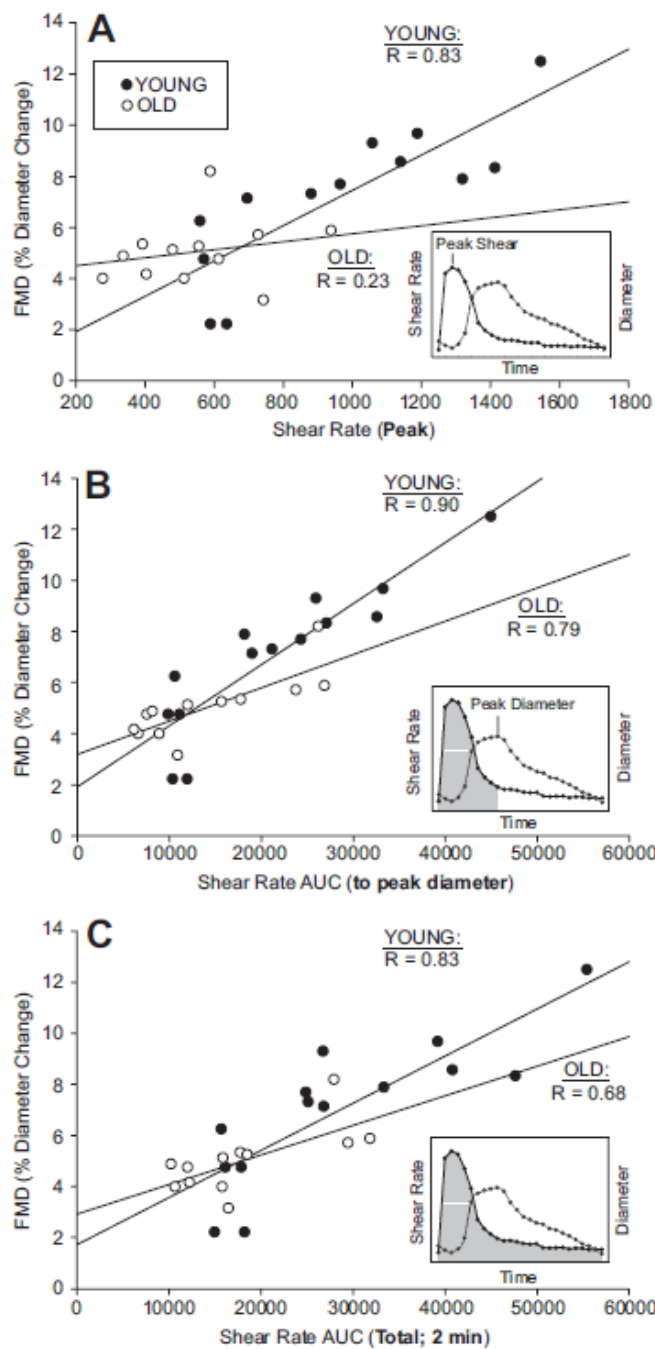
Normalisasi FMD (FMD/Shear). Dalam studi vaskular aging, telah dilaporkan bahwa orang dewasa yang lebih sehat memiliki fungsi endotel yang tetap ketika FMD dinormalisasi untuk mengurangi rilis post-cuff shear rate (Wray *et al.*, 2006). Selain itu, Padilla dkk (Padilla *et al.*, 2008) menunjukkan bahwa normalisasi FMD untuk shear rate (AUC) menghilangkan pengaruh profil shear yang berbeda yang ditimbulkan oleh berbagai periode iskemia manset. Data tambahan untuk mendukung normalisasi telah ditunjukkan oleh penghapusan perbedaan limb-specific pada FMD ketika shear rate digunakan untuk menormalkan respon FMD (Nishiyama *et al.*, 2007). Sebaliknya, sebuah penelitian baru-baru ini menyimpulkan bahwa normalisasi FMD untuk shear tergantung usia dan hanya sesuai pada dewasa muda (Thijssen *et al.*, 2009).

Oleh karena itu, penggunaan USG Duplex dan kemampuan untuk menilai FMD, mengukur hiperemia reaktif, dan menghitung shear AUC, merupakan komponen penting pada pengukuran FMD dengan ultrasound Doppler. Selain itu, hiperemia reaktif memiliki nilai prognostik klinis yang tinggi (Huang *et al.*, 2007).

Dalam istilah statistik, metode yang tepat untuk mengambil shear rate yang berbeda ke dalam perhitungan selama studi FMD bersifat kompleks. Untuk menerapkan faktor koreksi tersebut ke variabel, hubungan antara 2 variabel

harus memenuhi 3 asumsi: (1) korelasi yang signifikan; (2) intersepsi y dari hubungan ini harus 0; dan (3) data harus terdistribusi secara normal. Dari pengalaman beberapa peneliti (Gambar 4) (Thijssen *et al.*, 2009), hubungan antara dilatasi pembuluh darah dengan shear rate sering ≥ 1 , jika tidak semua 3, dari asumsi ini, maka diragukan, apakah normalisasi matematis yang sederhana harus dilakukan secara kategoris. Jika hanya ada korelasi sederhana antara FMD dengan shear dan stimulus shear berbeda antara variabel independen, metode yang tepat dengan mempertimbangkan kovarian shear rate dengan FMD mungkin melalui ANCOVA (Harris dan Padilla, 2007) meskipun metode ini juga tidak sepenuhnya diterima.

Gambar 4 menggambarkan hubungan antara FMD dengan peak shear, shear AUC sampai waktu peak dilation, dan total shear AUC (2 menit) pada subyek usia muda dan tua. Walaupun semua hubungan pada populasi usia muda sangat kuat, penting untuk diperhatikan bahwa hanya shear AUC sampai peak vasodilatasi (Figure 4, plot B) yang hubungannya kuat pada kedua kelompok usia. Data ini sesuai dengan penelitian sebelumnya (Pyke dan Tschakovsky, 2007) dan menyetakan evidence selanjutnya bahwa shear rate (AUC) sampai waktu peak dilatasi merupakan metode yang paling baik untuk kuantifikasi kekuatan shear.



Gambar 2.31 Hubungan antara FMD dengan penilaian shear rate yang berbeda yang dipertimbangkan pada saat normalisasi FMD. A: FMD vs peak shear; B: FMD vs shear AUC sampai diameter puncak; C: FMD vs total shear AUC pada 2 menit. Tatahan untuk masing-masing panel menggambarkan hubungan shear rate (shaded) yang digunakan pada analisis.

Edge detection software telah divalidasi secara independent dan direkomendasikan untuk pengukuran diameter arteri. Untuk menstandarisasi tehnik FMD, prosedur yang disarankan untuk mendapatkan diameter adalah dengan perekaman data digital dan analisis offline menggunakan edge detection software. Untuk identifikasi dan kalkulasi respons FMD, dapatkan peak diameter dan dinyatakan sebagai peningkatan vasodilatasi di atas nilai baseline.

Walaupun normalisasi FMD untuk shear telah dianut oleh banyak peneliti, masih belum didapatkan kepastian bagaimana cara menormalkan FMD. Kini direkomendasikan bahwa FMD dinormalkan untuk shear rate (AUC) yang dikalkulasi dan dilaporkan tetapi raw shear (AUC sampai peak vasodilatasi) dan data FMD juga tersedia untuk dianalisis atau diinterpretasi. Selain itu, waktu yang diperlukan untuk mendapatkan peak vasodilasi mungkin merupakan indikator penting untuk sensitivitas stimulus yang harus dimasukkan ke dalam evaluasi fungsi endotel dengan tes FMD.

Kesimpulan. Pengukuran FMD seringkali dianggap sebagai metode noninvasif yang sederhana untuk menilai fungsi endotel vaskuler, yang dilakukan dengan ultrasound Doppler (Green, 2005).

2.11. Ankle-Brachial Index (ABI)

Ankle-brachial index (ABI) merupakan rasio tekanan darah sistolik pada ankle terhadap tekanan darah sistolik pada arteri brachialis. Istilah ini digunakan pertama kali oleh Winsor pada tahun 1950, yang awalnya bertujuan untuk diagnosis noninvasif peripheral artery disease (PAD) tungkai (Yao, 1969). Kini ABI digunakan sebagai indikator aterosklerosis vaskuler dan sebagai marker prognostik untuk penyakit kardiovaskuler, walaupun belum timbul keluhan PAD (Ankle Brachial Index Collaboration, 2008).

Standarisasi ABI. Masih belum ada standar pengukuran dan penghitungan ABI, sehingga hal ini menyebabkan perbedaan hasil. Berdasarkan kalkulasi ABI, estimasi prevalensi PAD menjadi sangat bervariasi (Allison *et al.*, 2010). Pada sekitar 100 studi ABI, didapatkan berbagai variasi tehnik, antara lain: posisi pasien saat pemeriksaan, ukuran manset lengan dan tungkai, lokasi manset pada ekstremitas, metode deteksi denyut pada arteri brachialis dan ankle, pengukuran tekanan lengan dan ankle bilateral, letak denyut ankle yang digunakan, dan apakah dilakukan pengukuran tunggal, atau berulang (Klein dan Hage, 2006).

Terdapat perbedaan pendapat mengenai nilai ambang ABI yang digunakan untuk diagnosis PAD. Nilai ambang ABI yang sering digunakan adalah 0,90, berdasarkan pada studi dengan sensitifitas dan spesifisitas 90% untuk mendeteksi PAD dibandingkan dengan angiografi (Yao, 1969).

Seperti marker vaskuler yang lain, yaitu carotid intima-media thickness (Stein *et al.*, 2008) atau coronary artery calcium score (Greenland *et al.*, 2007), diperlukan standarisasi tehnik yang digunakan untuk pengukuran ABI, kalkulasi dan interpretasi nilainya.

2.11.1. Terminologi dan Fisiologi ABI

ABI disebut juga dengan ankle-arm index, ankle-brachial blood pressure index, ankle-arm ratio, atau Winsor Index. Istilah ABI direkomendasikan oleh American Heart Association Proceeding on Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease (Hiatt *et al.*, 2008).

Fisiologi ABI. Tekanan darah sistolik di ankle lebih tinggi daripada di lengan. Hal ini disebabkan karena gelombang tekanan darah akan menguat saat berjalan dari jantung, sehingga terjadi peningkatan tekanan darah sistolik dan penurunan tekanan darah diastolik. Di kaki, terjadi remodeling struktur pembuluh

darah, yang disebabkan karena peningkatan tekanan intraluminal, yang ditandai dengan peningkatan tekanan dinding pembuluh darah yang menebal dan radius inner yang tetap tidak berubah (Humphrey, 2008). Perubahan pada ketebalan dinding disebabkan karena peningkatan tekanan hidrostatik pada ekstremitas bawah saat berjalan (posisi vertikal), yang terjadi selama tahun kedua kehidupan dan hal ini menjelaskan mengapa ABI bayi baru lahir $< 1,00$, kemudian pada usia 2-3 tahun meningkat terus sampai dewasa muda (Katz *et al.*, 1997). Oleh karena itu, baik gelombang maupun perubahan ketebalan dinding pembuluh yang menyebabkan kekakuan, semuanya berkontribusi pada peningkatan tekanan darah sistolik.

2.11.2. Kondisi fisiologis yang mempengaruhi ABI saat istirahat

Usia, tinggi badan, etnis, dan urutan pemeriksaan dapat mempengaruhi ABI. ABI pada kaki kanan rata-rata 0,03 lebih tinggi dari pada kaki kiri (Hiatt *et al.*, 1995). Hal ini kemungkinan disebabkan karena urutan pemeriksaan (biasanya kaki kanan dulu) dan menyebabkan penurunan sementara pada tekanan sistemik (efek white coat attenuation). Peningkatan ABI pada usia lanjut disebabkan karena kekakuan arterial. ABI menurun akibat usia, kemungkinan karena peningkatan prevalensi dan progresivitas PAD (Bird, 1999). Makin tinggi seseorang, maka nilai ABI akan lebih tinggi daripada individu yang lebih pendek, hal ini disebabkan karena peningkatan tekanan darah karena jarak dari jantung makin jauh. Pada populasi tanpa cardiovascular disease (CVD), terdapat hubungan langsung antara tinggi badan dengan ABI (London *et al.*, 1995).

Beberapa studi mengenai perbedaan jenis kelamin pada ABI (Zheng *et al.*, 1997). Pada partisipan tanpa faktor risiko CVD pada studi San Luis Valley Diabetes (Hiatt *et al.*, 1995) rata-rata ABI 0,07 lebih kecil pada perempuan dibandingkan dengan laki-laki.

Partisipan kulit hitam yang tidak mengalami PAD pada MESA, nilai ABI 0,02 unit lebih rendah daripada kulit putih non-Hispanic (Aboyans *et al.*, 2007), hasil ini konsisten dengan penemuan Atherosclerosis Risk in Communities Study (ARIC) (Zheng *et al.*, 2005). Perbedaan etnis disebabkan karena pengaruh genetik. Carmelli dkk (Carmelli *et al.*, 2000) mengukur ABI pada pasangan monozigot dan dizigot usia lanjut, kulit putih, kembar laki-laki, hasilnya: variabilitas nilai ABI berkaitan dengan faktor genetik. Pada keturunan Eropa, odd lebih rendah untuk PAD (ABI \leq 0,90) daripada partisipan Hispanic dan kulit hitam (Allison *et al.*, 2010).

Hubungan yang terbalik didapatkan pada ABI dengan denyut jantung (Abraham *et al.*, 1995). Didapatkan peningkatan perbedaan antara tekanan darah sistolik perifer dengan sentral, yang didapatkan saat cardiac pacing denyut jantung meningkat dari 60 menjadi 110 per menit. Dengan peningkatan denyut jantung, rasio tekanan brachial terhadap tekanan sentral meningkat sebanyak 0,012 unit untuk setiap 10 denyut per menit, sedangkan amplification index (perbedaan antara puncak pertama dengan puncak kedua pada gelombang arterial sentral) menurun. Hal ini berkaitan dengan penurunan lama ejection, yang menyebabkan pergeseran gelombang reflected menjadi diastol yang berhubungan dengan peningkatan denyut jantung. Pada studi MESA, denyut jantung tidak berhubungan dengan ABI (Aboyans *et al.*, 2007).

Karena ABI merupakan rasio, secara teori tidak dipengaruhi oleh faktor-faktor yang meningkatkan atau menurunkan tekanan darah. Misalnya, perubahan volume darah setelah hemodialisis tidak mempengaruhi ABI, meskipun terjadi pengeluaran cairan dan penurunan tekanan darah yang signifikan (Su *et al.*, 2007).

Secara keseluruhan, semua faktor-faktor yang mempengaruhi ABI pada level individual kecil, tetapi dapat relevan pada studi populasi besar, terutama pada studi epidemiologi PAD (Aboyans *et al.*, 2017).

2.11.3. ABI pada Praktek Klinis

ABI: Metode Diagnostik untuk PAD Ekstremitas Inferior

ABI Versus Angiografi dan Metode Imaging Lainnya

Dibandingkan dengan berbagai metode imaging untuk menentukan adanya PAD, kinerja diagnostik ABI bervariasi sesuai dengan populasi yang diteliti, nilai ambang cut-off, dan tehnik yang digunakan untuk mendeteksi aliran darah pada arteri ankle. Tabel 1 menunjukkan perbedaan ini (Alnaeb *et al.*, 2007). Sensitivitas ABI dengan tehnik Doppler berkisar antara 0,17 sampai 1,0, sedangkan spesifisitasnya dari 0,80 sampai 1,0. Sensitivitas rendah (0,53-0,70) pada pasien diabetes (Clairotte *et al.*, 2009). Sensitivitas ABI yang diukur dengan metode oscillometric bervariasi dari 0,29 sampai 0,93, dan sensitifitasnya dari 0,96 sampai 0,98. Kemampuan diagnostik keseluruhan digambarkan dengan kurva receiver-operating characteristic (ROC). Areas under the ROC curve lebih tinggi pada ABI yang diukur dengan Doppler (0,87-0,95) daripada yang diukur dengan metode oscillometric (0,80–0,93; Table 1) (Guo *et al.*, 2008). Untuk menghindari bias verifikasi, Lijmer dkk (Lijmer *et al.*, 1996) mengestimasi koreksi area under the curve dari Doppler ABI untuk mendiagnosa 50% angiographic stenosis sangat memuaskan ($0,95 \pm 0,02$). Kinerja diagnostik lebih tinggi untuk mendeteksi lesi bagian proksimal dibandingkan dengan bagian distal. Studi menggunakan metode plethysmographic untuk mendeteksi aliran darah (Feigelson *et al.*, 1994) melaporkan spesifisitas 0,99 dan sensitifitas 0,39, dan hanya sekitar separuh partisipan yang diteliti terdapat isolated occlusive disease pada arteri tibialis posterior.

Tabel 2.27 Hasil diagnostic Ankle-Brachial Index versus metode lainnya: Receiver-Operating Characteristic Curve Analysis

Author, Year	Population Study	Gold Standard	Method for ABI Measurement	Area Under the Curve
Lijmer et al, 1996	441 Patients (PAD suspicion)	Angiography limited to 53 patients Criteria: $\geq 50\%$ or occlusion	Doppler (Higher ankle artery pressure/ Higher brachial pressure)	Entire limb $\geq 50\%$ stenosis 0.95 (0.02) Occlusion: 0.80 (0.05) Aortoiliac $\geq 50\%$ stenosis 0.69 (0.05) Occlusion: 0.83 (0.05) Femoral-popliteal $\geq 50\%$ stenosis and occlusion: 0.77 (0.04) Infrapopliteal $\geq 50\%$ stenosis 0.59 (0.06) Occlusion: 0.57 (0.07) 0.08 (0.80-0.96)
Parameswaran et al, 2005	57 Type 2 diabetics with no clinical evidence of PAD	Doppler waveform analysis	Doppler (PT or DP if PT absent/high)	0.93 (0.87-0.96)
Guo et al, 2008	298 Patients (cardiology), PAD in 7%	Angiography: 50% stenosis	Oscillometry	
Clairotte et al, 2009	146 Patients (296 limbs), vascular laboratory (diabetes group, 83)	Color duplex	Doppler and oscillometry	Dopler: 0.87 Oscillometric: 0.81 ($p=0.006$)

ABI Indicates ankle-brachial index; PAD, peripheral artery disease; PT, posterior tibial; and DP, dorsalis pedis.

Pengukuran ABI serial dapat mempengaruhi nilai ambang optimal untuk deteksi PAD. Pada studi berdasarkan analisis kurva ROC, Stoffers dkk (Stoffers *et al.*, 1996) mengusulkan nilai cut-off 0,97 untuk pengukuran tunggal dan 0,92 untuk 3 kali pengukuran. Alasannya adalah bahwa cut-off optimal mungkin dipengaruhi oleh karakteristik populasi dan prevalensi penyakit (Stoffers *et al.*, 1996). Delapan studi yang dilakukan untuk kinerja diagnosis ABI $\leq 0,90$ (metode Doppler) untuk mendeteksi $> 50\%$ stenosis yang diidentifikasi dengan metode imaging, antara lain color duplex ultrasound (Williams *et al.*, 2005), magnetic resonance angiography (Wilkinson *et al.*, 2000) atau angiography (Tabel 1) (Guo *et al.*, 2008). Pada semua studi ini, spesifisitasnya tinggi (83%-99%) tetapi sensitivitasnya rendah (69%-79%, kecuali 1 outlier sensitivitasnya 20%). Dengan ABI $\leq 1,0$ yang digunakan sebagai nilai ambang untuk deteksi PAD, dilaporkan

sensitivitasnya 100% (Baxter dan Polak, 1993). Namun, ABI seharusnya diinterpretasikan sesuai dengan prioritas probabilitas PAD, dan nilai antara 0,91 sampai 1, dianggap borderline. Misalnya, pada perempuan usia 47 tahun dengan nyeri betis atipikal, tidak ada riwayat CVD atau faktor risiko, dan ABI 0,91, probabilitas PAD-nya rendah; namun, probabilitas PAD tinggi pada laki-laki dengan classic intermittent claudication yang merokok dan ABI-nya 0,96. Jadi, penilaian klinis penting pada kesimpulan interpretasi ABI. Sensitivitas ABI dapat meningkat signifikan apabila pengukurannya dilakukan segera setelah treadmill.

Tabel 2.28 Studi penilaian Ankle-Brachial Index cutoff optimal untuk diagnosis penyakit arteri perifer

Author, Year	Study Population	Method for Determination of Optimal ABI	Optimal ABI Cutoff Proposed
Carter, 1969	Inpatients: 202 diseased limbs, 86 control subjects	95% Confidence limit for limbs Without PAD	0.97
Summer and Strandness, 1979	48 Control subjects	Normal minus 2 SD (1.08±0.08)	0.92
Bemstein et al, 1982	Patients with angiographically significant PAD	95% Confidence limit for limbs Without PAD	0.85
Duriel et al, 1982	218 PAD patients (56 limbs not tested, 247 limbs with claudication, 58 with rest pain, ulcers, or gangrene), 25 control subjects (<30y old, no RF, triphasic Dopler waveforms)	ROC curve analysis	0.97
Stoffers et al, 1966	Community and cascular laboratory	ROC curve analysis	0.97 (if pretest probability 33%) 0.92 (if pretest probability 50%) 0.98 (Corrected)
Ljmer et al, 19	441 Inpatients (PAD suspicion)	ROC curve analysis	
Guo et al, 2008	298 inpatients, cardiology PAD prevalence (angiography): 7%	ROC curve analysis	0.95
Clairotte et al, 2009	146 Patients (296 limbs) undergoing color Duplex (diabetes group, 83), PAD. Prevalence: 33% non-diabetes mellitus, 27% diabetes mellitus	ROC curve analysis	1.00 (1.04 in the absence of Diabetes mellitus)

ABI: ankle-brachial index; PAD: peripheral artery disease, RF: radiofrequency; ROC: receiver-operating characteristic

2.11.4. ABI Post-exercise

Pada tungkai yang sedang olahraga, terjadi peningkatan tekanan sistolik di sirkulasi sentral, yang dapat diukur di lengan, sesuai dengan peningkatan tekanan sistolik ventrikuler kiri. Vasokonstriksi perifer terjadi pada anggota tubuh yang tidak olahraga dan organ lainnya, dimana terjadi penurunan pada ankle yang terjadi vasodilatasi pada otot yang olahraga. Hal ini menyebabkan penurunan ABI ringan pada orang sehat apabila dilakukan pengukuran segera setelah olahraga. Tekanan ankle kemudian meningkat cepat dan mencapai nilai pre-exercise dalam waktu 1 sampai 2 menit (Carter, 1972). Pada kasus moderate occlusive PAD (khas pada pembuluh darah proksimal), tekanan ankle lebih banyak menurun saat treadmill dibandingkan dengan orang sehat, dan waktu pemulihan sampai nilai pre-exercise setelah penghentian olahraga akan memanjang, sesuai dengan keparahan PAD (Laing dan Greenhalgh, 1983). Waktu pemulihan ABI juga dipengaruhi oleh lamanya olahraga (Sakurai *et al.*, 1997). Ouriel dkk (1982) melaporkan rata-rata penurunan ABI 5% dari istirahat ke nilai post-exercise setelah treadmill pada orang sehat dibandingkan dengan 20% pada pasien PAD. Pemulihan paling sedikit 90% dari nilai baseline ABI dalam 3 menit pertama setelah olahraga didapatkan spesivisitas 94% untuk mengeluarkan PAD. Dibandingkan dengan angiography, kurva ROC ABI saat istirahat dan setelah olahraga, lebih dapat digunakan untuk deteksi PAD (Ouriel *et al.*, 1982). Penambahan gradien tekanan ankle-brachial setelah olahraga memperbaiki sensitivitas ABI untuk mendeteksi PAD, terutama untuk nilai ABI yang borderline (0,91-1,00).

2.11.5. ABI tinggi abnormal

Pada beberapa kasus, arteri ankle tidak dapat ditekan dan tekanan sistolik tidak bisa ditentukan walaupun inflasi manset > 250 mmHg. Pada kasus

lain, tekanan sistolik arteri ankle dapat diukur tetapi jauh lebih tinggi daripada tekanan arteri brakialis, hal ini menyebabkan nilai ABI melebihi normal. Kondisi ini disebabkan karena kalsifikasi dinding arteri dan dapat terjadi pada pasien medial calcinosis, diabetes mellitus, atau penyakit ginjal end-stage. Kalsifikasi vaskuler tidak berarti terjadi lesi oklusi saat ini, walaupun kondisi ini sering terjadi bersamaan. Apabila terjadi kalsifikasi vaskuler, namun penyakit stenosis tidak dapat dideteksi dengan ABI (Aboyans *et al.*, 2008). Uji non-invasif lainnya seperti pengukuran toe-brachial index atau analisis Doppler wave-form dapat mendeteksi penyakit oklusi meskipun nilai ABI false tinggi. Pengukuran toe-brachial index berguna karena secara digital, jarang didapatkan kalsifikasi dan dapat membuktikan penentuan akurat penyakit vaskuler pada keadaan ini. Dengan tes alternatif ini, rate coexistent peripheral artery occlusive disease pada pasien dengan ABI tinggi berkisar antara 60% sampai 80% (Aboyans *et al.*, 2008).

2.11.6. ABI dan monitoring pasien dengan PAD

ABI sebagai marker progresifitas PAD. Pada PAD, terjadi penurunan ABI terus menerus. Pada pemeriksaan serial pasien (Aboyans *et al.*, 2006), ABI menurun sebesar mean 0,06 selama 4,6 tahun. Pada populasi umum terjadi perubahan ABI yang lebih kecil (menurun 0,025 selama lebih dari 5 tahun) (Smith *et al.*, 2003). Nicoloff dkk (2002) menemukan penurunan ABI sebesar > 0,15, 19% pada 3 tahun dan 37% pada 5 tahun. Pada pasien dengan intermittent claudication mean periode 2,5 tahun, Cronenwett dkk (Cronenwett *et al.*, 1984) menemukan tidak ada korelasi antara ABI baseline dengan clinical outcome ekstremitas, ABI menurun paling sedikit 0,15 berhubungan dengan peningkatan risiko untuk intervensi bypass (2,5 kali lipat) dan progresifitas keluhan (1,8 kali lipat). Bila tidak ada revaskularisasi, penurunan ABI berhubungan dengan

penurunan kondisi klinis. Perbaikan klinis berupa peningkatan jarak berjalan, tidak berhubungan dengan peningkatan ABI (Amighi *et al.*, 2004).

Level ABI (dan hubungannya dengan tekanan ankle) berguna untuk prediksi kondisi ekstremitas. Tekanan ankle < 50 mmHg berhubungan dengan risiko tinggi amputasi (Norgren *et al.*, 2007). Peningkatan risiko amputasi apabila ABI < 0,50 pada pasien nonrevaskularisasi dengan ulkus tungkai (Marston *et al.*, 2006). ABI \leq 0,90 berhubungan erat (odds ratio: 8,2) dengan 7 tahun risiko amputasi pada pasien diabetes mellitus (Hamalainen *et al.*, 1999). Beberapa studi melaporkan akurasi lebih besar dari tekanan ankle per se, daripada ABI, untuk prediksi prognosis klinis ekstremitas (Fowl *et al.*, 1992).

Dari perspektif klinis, progresifitas PAD pada kedua ekstremitas tidak paralel, jadi perlu untuk memeriksa ABI di kedua sisi saat follow-up.

2.11.7. ABI: Marker untuk risiko dan kejadian CVD

ABI: Marker risiko kardiovaskuler dan aterosklerosis. Hubungan antara ABI yang rendah dengan faktor risiko Kardiovaskuler dan prevalensi penyakit.

ABI adalah pengukuran aterosklerosis sistemik, sehingga berhubungan dengan faktor risiko aterosklerotik dan prevalensi CVD pada vascular bed yang lain. ABI yang rendah berhubungan dengan berbagai faktor risiko kardiovaskuler, antara lain hipertensi, diabetes mellitus, dislipidemia, riwayat merokok, dan beberapa faktor risiko kardiovaskuler yang baru (mis, C-reactive protein, interleukin-6, homocysteine, dan penyakit ginjal kronis) (Allison *et al.*, 2006).

Mayoritas studi menggunakan ABI dengan nilai ambang 0,90 untuk menentukan PAD dan menggunakan Doppler untuk mengukur ABI. Belum diketahui apakah kekuatan hubungan antara ABI yang rendah dengan faktor risiko kardiovaskuler berbeda dengan metode pengukuran alternatif dan nilai ambang ABI. Beberapa

studi menunjukkan hubungan terbalik faktor risiko CVD melawan nilai ambang ABI (Weatherley *et al.*, 201).

Hubungan yang kuat dan konsisten antara ABI yang rendah dengan prevalensi penyakit arteri koroner (coronary artery disease) dan penyakit cerebrovaskuler ditunjukkan oleh studi yang meneliti individu dengan CVD (Hirsch *et al.*, 201). Kekuatan hubungan antara ABI yang rendah dengan berbagai coronary artery disease, tergantung pada risiko yang mendasari studi populasi. Pada sebagian besar studi, odds ratio berkisar antara 1,4 sampai 3,0, dengan 1 studi melaporkan hubungan yang tinggi, yaitu 9,3 pada individu dengan diabetes mellitus tipe 1 (Hayashi *et al.*, 2004). Prevalensi coronary artery disease pada pasien PAD berkisar dari 10,5% sampai 71% dibandingkan dengan 5,3% sampai 45,4% pada subyek tanpa PAD. ABI yang rendah juga berhubungan dengan prevalensi penyakit cerebrovaskuler, dengan odds ratio berkisar antara 1,3 sampai 4,2 pada 9 studi (Ovbiagele *et al.*, 2009). Mayoritas studi ini menggunakan doppler untuk mengukur ABI dan nilai ambang 0,90 untuk menentukan PAD. Masih belum diketahui apakah ada hubungan antara ABI yang rendah dengan prevalensi CVD yang berbeda antara metode pengukuran alternatif atau definisinya.

Masih sedikit informasi yang tersedia untuk menentukan apakah ada hubungan antara ABI yang abnormal dengan CVD, dibedakan oleh jenis kelamin. Pada studi ARIC (Zheng *et al.*, 1997) didapatkan hubungan yang kuat antara ABI yang rendah dengan coronary artery disease pada laki-laki dan perempuan, tetapi tidak ada hubungan antara ABI yang rendah dengan stroke pada perempuan walaupun didapatkan hubungan yang kuat pada laki-laki. Pada studi Spanish, ABI yang rendah berhubungan dengan coronary artery disease pada laki-laki (odds ratio 2,1) dan perempuan (odds ratio 3,3) (Ramos *et al.*, 2009).

2.11.8. Hubungan antara ABI yang tinggi dengan faktor risiko Kardiovaskuler dan Prevalensi Penyakit.

Masih sedikit studi yang mengevaluasi hubungan antara nilai ABI yang tingginya abnormal, yang menunjukkan adanya kalsifikasi vaskuler, dengan faktor risiko kardiovaskuler atau dengan prevalensi CVD. ABI yang tinggi berhubungan langsung dengan jenis kelamin laki-laki, diabetes mellitus, dan hipertensi, tetapi berbanding terbalik dengan kebiasaan merokok dan hiperlipidemia. Allison dkk (2008) menunjukkan bahwa ABI > 1,40 berhubungan dengan stroke dan gagal jantung kongestif tetapi tidak berhubungan dengan infark miokard atau angina. Pada MESA, ABI yang tinggi berhubungan dengan insidens CVD (Criqui *et al.*, 2010). Studi lain, hasilnya berbeda (Resnick *et al.*, 2002).

ABI dan Risiko Penyakit Kardiovaskuler di masa depan. ABI adalah pengukuran keparahan aterosklerosis pada tungkai, tetapi juga merupakan indikator independen risiko terjadinya aterotrombotik pada sistem vaskuler di seluruh tubuh. ABI dapat digunakan sebagai marker risiko pada populasi umum yang tidak mengalami CVD dan pada pasien dengan CVD.

Pada populasi umum, risiko kardiovaskuler berhubungan dengan faktor risiko tradisional, seperti usia, jenis kelamin, kebiasaan merokok, hiperkolesterolemia, hipertensi, dan diabetes mellitus, yang digunakan untuk memprediksi risiko di masa depan. Keakuratan skor prediksi ini masih terbatas (Brindle *et al.*, 2006), hal ini menyebabkan evaluasi prediktor risiko lain, seperti C-reactive protein (Tsimikas *et al.*, 2006) atau pengukuran aterosklerosis subklinis, seperti coronary artery calcium (Greenland *et al.*, 2004) digunakan sendiri atau bersama dengan faktor risiko tradisional.

ABI diteliti sebagai risiko prediktor pada beberapa studi di Eropa (Van der Meer *et al.*, 2004) dan Amerika Utara (Resnick *et al.*, 2004). Studi ini

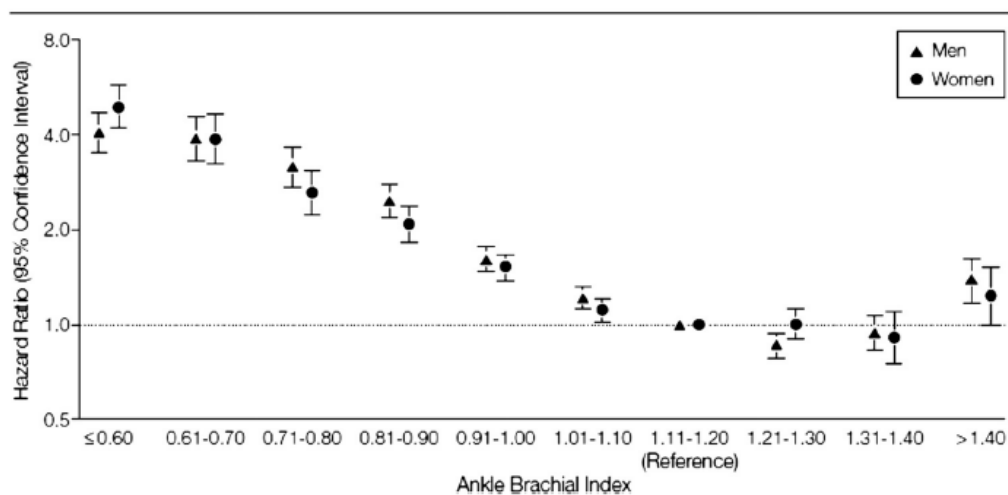
mendapatkan hasil yang sama, yaitu bahwa ABI yang rendah berhubungan dengan peningkatan risiko infark miokard, stroke, dan mortalitas akibat kardiovaskuler. Peningkatan risiko tidak tergantung dari adanya CVD dan faktor risiko baseline, yang menunjukkan bahwa ABI, sebagai indikator aterosklerosis, dapat meningkatkan akurasi risiko prediksi dengan sistem skoring (Allison *et al.*, 2010).

ABI Collaboration melakukan meta-analisis berbasis individu dari 16 kohort populasi untuk meneliti sekumpulan data apakah ABI memberikan informasi tentang risiko kejadian kardiovaskular dan mortalitas independen dari Framingham Risk Score (FRS) dan dapat meningkatkan prediksi risiko ketika dikombinasikan dengan FRS (Allison *et al.*, 2010). ABI $\leq 0,90$ berhubungan dengan sekitar dua kali lipat dari angka kematian total usia 10 tahun-an, mortalitas kardiovaskular, dan angka kejadian koroner utama dibandingkan dengan angka keseluruhan pada setiap kategori FRS. Penggunaan ABI menyebabkan klasifikasi ulang kategori risiko pada laki-laki dan perempuan (Allison *et al.*, 2010). Pada laki-laki, manfaat tambahan ABI terbesar untuk memprediksi risiko adalah pada mereka yang memiliki FRS $> 20\%$; ABI normal, ditemukan pada 43% kasus, direklasifikasi ke kategori risiko sedang. Sebaliknya, 9% perempuan dengan risiko rendah ($< 10\%$) atau sedang (10-19%) yang diperkirakan oleh FRS menunjukkan ABI abnormal ($< 0,90$ atau $> 1,40$) direklasifikasi sebagai risiko tinggi. Laporan terbaru dari MESA menghasilkan data yang konsisten dalam berbagai kelompok etnis di Amerika Serikat (Criqui *et al.*, 2010). Dengan demikian, ABI rendah atau tinggi dikaitkan dengan

peningkatan risiko kardiovaskular, dan prediksi risiko yang lebih tinggi hanya dari FRS saja (Criqui *et al.*, 2010). Perlu diteliti lebih lanjut apakah ABI lebih bermanfaat pada populasi tertentu. Dianjurkan analisis tambahan yang menggunakan tehnik terbaru untuk menilai peningkatan prediksi risiko CVD

dengan ABI. Secara khusus, kriteria seperti diskriminasi, kalibrasi, dan peningkatan net klasifikasi perlu dimasukkan.

Walaupun cut-point ABI 0,90 digunakan pada berbagai studi untuk identifikasi individu berisiko tinggi, ABI Collaboration menegaskan bahwa risiko meningkat ketika ABI menurun di bawah ambang batas 1,10 (Gambar 1) (Allison *et al.*, 2010). Prediksi risiko klinis mendapat manfaat dengan menggunakan kategori ABI daripada 1 cut-point untuk risiko tinggi. Individu dengan ABI tinggi > 1,40 juga berisiko lebih tinggi. Dengan demikian, grafik mortalitas atau outcome kardiovaskular lainnya oleh level ABI adalah kurva berbentuk J terbalik di mana tingkat risiko terendah (normal) adalah dari 1,11 sampai 1,40 (Gambar 1) (Allison *et al.*, 2010). Penjelasan untuk peningkatan risiko terkait dengan ABI tinggi adalah bahwa ABI tinggi yang disebabkan oleh arteri yang terkalsifikasi berhubungan dengan oklusif PAD (Aboyans *et al.*, 2011).



Gambar 2.32 Hazard ratio untuk mortalitas total pada laki-laki dan perempuan berdasarkan ankle-brachial index baseline semua studi gabungan pada ABI Collaboration (Fowkes *et al.*, 2008).

Pasien CVD dengan ABI yang rendah, berisiko lebih tinggi dibandingkan dengan pasien CVD yang memiliki ABI normal (Purroy *et al.*, 2010). Ini konsisten dengan observasi pada pasien dengan penyakit pada 1 vaskular bed, 3 tahun

tingkat kejadian vaskular adalah 60% lebih tinggi daripada mereka yang menderita penyakit hanya dalam 1 vaskular (Alberts *et al.*, 2009). Besarnya peningkatan risiko yang berhubungan dengan ABI rendah akan tampak sedikit lebih rendah untuk mereka yang menderita CVD daripada peningkatan 2 hingga 3 kali lipat relative risk pada individu yang sehat. Studi Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) pada pasien dengan penyakit jantung koroner, stroke, atau diabetes melitus, ABI dalam kisaran 0,60 hingga 0,90 dikaitkan dengan risiko terjadinya infark miokard nonfatal di masa depan sebesar 1,4, stroke non fatal 1,2, dan mortalitas kardiovaskular 1,6 dibandingkan dengan ABI yang lebih tinggi (Alberts *et al.*, 2009). Pada pasien dengan CVD sebelumnya, Cardiovascular Health Study menemukan bahwa mereka dengan ABI rendah \leq 0,90 memiliki peningkatan risiko gagal jantung kongestif (risk rasio, 1,3) dan mortalitas kardiovaskular (risk rasio, 1,5) (Newman *et al.*, 1999). Peningkatan risiko ini tidak tergantung pada faktor risiko kardiovaskular. Selain itu, pada pasien dengan PAD, tidak hanya ABI rendah yang berhubungan secara independen dengan peningkatan risiko morbiditas dan mortalitas kardiovaskular, tetapi penurunan ABI sebesar $> 0,15$ yang terus menerus, berhubungan dengan peningkatan mortalitas 2 kali lipat secara independen dari level ABI absolut (Criqui *et al.*, 2008). Dengan demikian, risiko kejadian vaskular pada pasien kardiovaskular dengan ABI rendah atau menurun, lebih tinggi daripada pada orang dengan ABI normal.

2.11.9 Kondisi untuk Pengukuran ABI

Pasien. Posisi tubuh dan fleksi lutut atau pinggul mempengaruhi ABI (Polla *et al.*, 1976). Gornik dkk (2008) menunjukkan bahwa tekanan lengan tidak berbeda dalam posisi duduk dan telentang ketika lengan diletakkan setinggi jantung. Posisi-posisi ini mempengaruhi tekanan pergelangan kaki karena

pergelangan kaki lebih rendah dari jantung di tempat duduk tetapi tidak dalam posisi terlentang, dan akibatnya, tekanan lebih tinggi. ABI rata-rata 0,35 lebih tinggi posisi duduk daripada posisi terlentang. Oleh karena itu, pasien harus berbaring datar untuk pengukuran ABI yang akurat, dengan kepala dan tumit sepenuhnya di-support, tidak menggantung di ujung bed pemeriksaan. Gornik dkk (2008) menganjurkan untuk memperbaiki ABI posisi duduk (dalam kondisi standar) pada pasien yang tidak bisa berbaring.

Pengaruh durasi periode istirahat pada pengukuran ABI tidak diketahui.

Panjang periode istirahat sebelum melakukan pengukuran ABI, sebagian besar studi menggunakan periode 5-10 menit (Klein *et al.*, 2006). Bahkan setelah periode istirahat, pengukuran ekstremitas pertama cenderung menghasilkan tekanan sistolik yang lebih tinggi selama pengukuran berurutan (ekstremitas ke ekstremitas). Merokok juga dapat mempengaruhi ABI. Merokok 10 menit sebelum pengukuran, secara signifikan menurunkan ABI (-0,09) dibandingkan dengan ABI yang diukur setelah 12 jam pantang merokok (Yataco dan Gardner 1999).

Manset. Studi pengukuran tekanan darah brakialis menyoroti pentingnya ukuran manset yang tepat untuk menghindari pengukuran yang tidak akurat (Pickering *et al.*, 2005). Masih belum ada informasi untuk ukuran manset pergelangan kaki. Jika konsep ukuran manset untuk lengan diterapkan pada pergelangan kaki, lebar manset setidaknya harus 40% dari lingkaran tungkai (Pickering *et al.*, 2005). Manset harus selalu bersih dan kering. Metode pembungkus manset (spiral atau paralel) mempengaruhi tekanan darah pergelangan kaki, dengan nilai yang lebih rendah pada metode pembungkus manset spiral (Mundt *et al.*, 1992).

Meskipun pengukuran ABI oleh tekanan manset bersifat noninvasif, aman, dan dapat ditoleransi dengan baik di sebagian besar kondisi, inflasi

manset harus dihentikan apabila terasa menyakitkan. Ada 2 situasi klinis yang perlu diperhatikan: jangan meletakkan manset secara pada luka terbuka dan ulkus, berilah pembalut yang kedap air. Inflasi manset harus dihindari pada bypass graft yang baru dipasang, karena berpotensi menimbulkan risiko thrombosis graft.

2.11.10. Pengukuran ABI

Metode Pengukuran Tekanan. Beberapa teknik noninvasif digunakan untuk mendeteksi aliran tungkai atau volume denyut untuk mengukur ABI, antara lain metode Doppler Ultrasound dan oscillometric. Yang pertama menggunakan Continuous-wave Doppler untuk mendeteksi aliran arteri (Gambar 2). Tekanan darah sistolik diukur dengan manset pneumatik, mula-mula dipompa hingga aliran berhenti dan kemudian dikempiskan perlahan hingga muncul kembali sinyal aliran. Teknik osilometrik didasarkan pada asumsi bahwa osilasi maksimum yang muncul selama deflasi manset sesuai dengan tekanan mean arteri dan bahwa tekanan darah sistolik dan diastolik dapat dihitung dari tekanan ini dengan algoritma matematika. Algoritma ini, berdasarkan pada data empiris dari subyek sehat, pada awalnya dikembangkan untuk mengukur tekanan darah lengan. Studi validasi untuk metode osilometrik (Whiteley *et al.*, 1998) dirangkum dalam Tabel III. Beberapa penelitian, mempertanyakan validitas metode osilometrik untuk mendeteksi PAD (Kaiser, 1999). Korelasi antara tekanan pergelangan kaki Doppler-derived dengan oscillometry-determined ABI pada subjek sehat atau subjek dengan PAD ringan terbukti pada sebagian besar studi (Aboyans *et al.*, 2003), hanya 1 yang tidak (Ramanathan *et al.*, 2003). Apabila nilai ABI yang ditentukan dengan metode Doppler berada dalam kisaran rendah, maka hasil metode oscillometric diperkirakan terlalu tinggi dari nilai tekanan aktual (Baker *et al.*, 1981) yang dapat dilihat pada Gambar 3 (Korno *et al.*, 2009).

Alat pengukur tekanan darah oscillometric tidak dapat mendeteksi tekanan yang sangat rendah, misalnya, < 50 mmHg atau bahkan 80 mmHg (Aboyans *et al.*, 2003) dan sebagai akibatnya, sering terjadi kegagalan pengukuran (dari 11% (161) sampai 44% (Aboyans *et al.*, 2003) pada pasien dengan PAD lanjut (Baker *et al.*, 1981). Sensitivitas (67%-97%) dan spesifisitas (62%-96%) dari ABI diukur dengan osilometri dibandingkan dengan metode Doppler telah dilaporkan berbagai studi (Tabel III) (Whiteley *et al.*, 1998). Plot Bland-Altman digunakan pada beberapa studi untuk menilai perbedaan antara teknik Doppler dan Oscillometric (Kaiser *et al.*, 1999). Batas perbedaan (± 2 SD) untuk ABI adalah 0,25 (Beckman *et al.*, 2006) dan 0,23 (Macdonald *et al.*, 2008) dari 2 studi. Pada studi ketiga, batas kesepakatan tekanan pergelangan kaki pada subyek non-PAD adalah ± 20 mm Hg, dan lebih dari ± 70 mmHg pada pasien dengan PAD (Jonsson *et al.*, 2001). CI 95% dari perbedaan antara 2 metode pada 2 studi lain, berturut-turut bervariasi dari -0,19 sampai 0,14 (164) dan -0,18 sampai 0,35 (Stoffers *et al.*, 191).



Gambar 2. 33 Pengukuran tekanan ankle menggunakan probe Doppler: arteri posterior tibial (A) dan dorsalis pedis (B).

Protokol Pengukuran Tekanan Ekstremitas untuk menentukan Ankle-Brachial Index dengan Metode Doppler

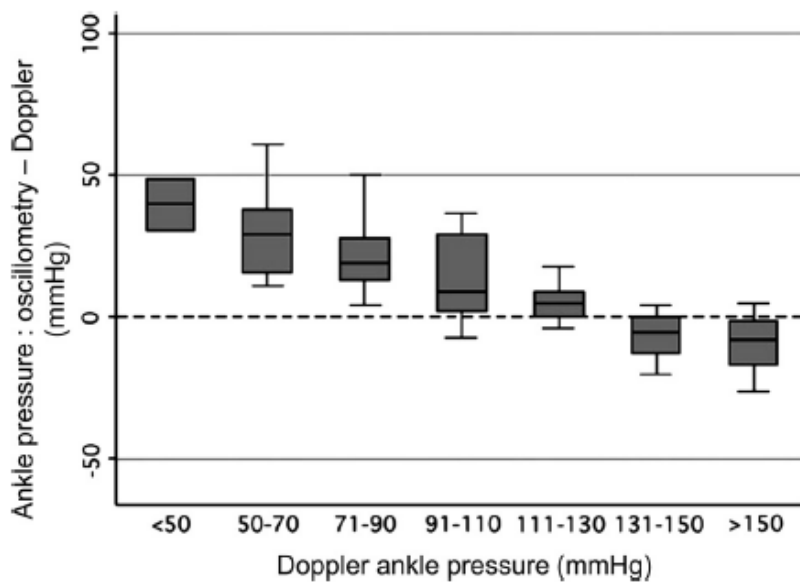


- Pasien beristirahat 5 sampai 10 menit dalam keadaan telentang, rileks, kepala dan tungkai diberi bantal, pada ruangan yang nyaman dengan 171ias171bosis171 (19°C-22°C).
- Pasien berhenti merokok paling sedikit 2 jam sebelum pengukuran ABI.
- Manset harus dipilih yang sesuai dengan ukuran ekstremitas. Lebarnya paling sedikit 40% lingkar ekstremitas.
- Manset tidak boleh ditempatkan di distal bypass (risiko terjadi 171ias171bosis) atau pada ulkus. Lesi terbuka yang berpotensi terkontaminasi harus ditutup.
- Pasien harus diam saat dilakukan pemeriksaan. Bila ekstremitas pasien tidak dapat diam (mis, tremor), maka lakukan dengan metode lain.
- Sama dengan pengukuran tekanan darah brachial, manset harus ditempatkan disekeliling ankle menggunakan metode yang benar. Ujung bawah manset harus 2 cm di atas medial malleolus superior (Gambar 2).
- Gunakan probe Doppler 8-10-MHz. Beri gel Doppler pada sensor.
- Setelah peralatan Doppler dinyalakan, tempatkan probe di area denyut nadi pada sudut 45°-60° terhadap permukaan kulit. Probe digerakkan sekeliling sampai terdengar sinyal yang jelas.
- Manset diinflasi sampai 20 mmHg di atas level hilangnya sinyal aliran darah dan kemudian dilepaskan perlahan-lahan untuk mendeteksi level tekanan timbulnya sinyal aliran darah. Inflasi maksimum adalah 300 mmHg; apabila aliran darah masih 171ias terdeteksi, manset harus segera dilepaskan dengan cepat agar tidak menyebabkan rasa nyeri.
- Deteksi aliran darah brachial selama pengukuran tekanan lengan menggunakan Doppler.
- Urutan pengukuran tekanan ekstremitas harus sama.

Pengukuran pertama harus diulangi pada akhir urutan dan kedua hasil dirata-rata untuk meredam efek white coat pada pengukuran pertama, kecuali jika perbedaan antara 2 pengukuran lengan pertama melebihi 10 mmHg. Dalam hal ini, pengukuran pertama harus diabaikan dan hanya menggunakan pengukuran kedua. Sebagai contoh, ketika menggunakan urutan berlawanan arah jarum jam- lengan kanan, PT kanan, DP kanan, PT kiri, DP kiri – pengukuran lengan kanan harus diulang di akhir urutan dan kedua hasil dari lengan kanan harus dirata-rata kecuali perbedaan antara 2 pengukuran lengan kanan melebihi 10 mmHg. Dalam hal ini, hanya pengukuran kedua tekanan lengan kanan yang digunakan.

Pada kasus pengukuran berulang dari 4 tekanan ekstremitas (lihat penjelasan indikasi), pengukuran harus diulang dalam urutan terbalik dari seri pertama (misalnya, pada kasus urutan awal berlawanan jarum jam – [lengan kanan, PT kanan, DP kanan, PT kiri, DP kiri, lengan kiri, lengan kanan], gunakan urutan searah jarum jam, dimulai dan diakhiri dengan lengan kiri).

ABI: ankle-brachial index; PT: posterior tibial; dan DP: dorsalis pedis.



Gambar 2.34 Perbedaan antara tekanan ankle diukur dengan alat osilometrik (CASMED 740) dengan Doppler (sumbu y) sesuai band tekanan ankle yang diperoleh dari Doppler (sumbu x). Dalam plot kotak, garis menunjukkan persentil median dan marker luar menunjukkan 5% dan 95% persentil (Korno *et al.*, 2009).

Pengukuran ABI menggunakan auskultasi dengan stetoskop, dilakukan pada studi di Jepang (Takahashi *et al.*, 2006). Suara Korotkoff tidak selalu terdengar di pergelangan kaki (tidak terdengar dalam 40% kasus), dan ada perbedaan yang tidak dapat diterima pada tekanan pergelangan kaki yang ditentukan oleh metode ini dibandingkan dengan Doppler (15,2 mmHg).

Dibandingkan dengan Doppler, denyut palpasi untuk mengukur ABI memiliki sensitivitas 88% dan spesifisitas 75% sampai 82% (Migliacci *et al.*, 2008).

Metode palpasi ABI nilainya lebih rendah (-0,14) dibandingkan dengan metode Doppler (Aboyans *et al.*, 2008).

Rekomendasi untuk Pengukuran ABI

1. Metode Doppler digunakan untuk mengukur tekanan darah sistolik pada masing-masing lengan dan tungkai untuk menentukan ABI (Class 1; Level of Evidence A) (Benchimol *et al.*, 2009).

2. Ukuran lebar manset harus sesuai, paling sedikit 40% dari lingkaran ekstremitas (Class I; Level Of Evidence B) (Pickering *et al.*, 2005).
3. Manset ankle diletakkan di atas Malleoli dengan tepat (Class I; Level of Evidence B) (Takahashi *et al.*, 2006).
4. Lesi terbuka berpotensi mengkontaminasi, jadi harus ditutup dengan perban (Class I; Level of Evidence C).
5. Hindari penggunaan manset pada distal bypass (berisiko terjadi trombosis bypass) (Class III harm; Level of Evidence C).

2.11.11. Standar Kalkulasi ABI

Denominator (Lengan). Tekanan darah sistolik tertinggi yang diukur pada masing-masing lengan paling sering digunakan sebagai denominator, beberapa studi melaporkan rata-rata tekanan darah sistolik dari kedua lengan, kecuali dalam kasus perbedaan tekanan darah antar lengan. Perbedaan tekanan darah sistolik antara lengan dapat terjadi pada kasus stenosis arteri subklavia. Osborn dkk (Osborn *et al.*, 2002) melaporkan sensitivitas dan spesifisitas 100% untuk mendeteksi 50% stenosis subklavia saat perbedaan tekanan darah antar lengan melebihi 15 mmHg. Dengan demikian, stenosis arteri subklavia harus dicurigai ketika perbedaan tekanan darah sistolik antara kedua lengan ≥ 15 mmHg. Dari analisis studi, stenosis arteri subklavia berhubungan dengan peningkatan risiko kematian (Aboyans *et al.*, 2007), dan beberapa studi menemukan hubungan yang signifikan antara perbedaan tekanan darah antar lengan tinggi dan penyakit kardiovaskular lainnya, termasuk PAD (Aboyans *et al.*, 2010). Perbedaan yang nyata juga dapat diamati pada pasien yang cemas (efek jas putih), hasil pengukuran pertama (biasanya lengan kanan) lebih tinggi daripada yang terakhir (lengan kiri). Jadi sebaiknya yang dicatat adalah pengukuran tekanan darah sistolik kedua pada lengan pertama. Untuk meminimalkan risiko ABI yang terlalu

tinggi oleh denominator yang lebih rendah, tekanan darah sistolik yang lebih tinggi antara kedua kelompok harus digunakan secara sistematis untuk denominator ABI.

Numerator (Ankle). Numerator untuk kalkulasi ABI menggabungkan tekanan darah sistolik dari PT dan / atau arteri DP secara terpisah atau rata-rata dari keduanya. Variabilitas intraobserver dari ABI adalah yang terendah ketika tekanan rata-rata dari arteri PT dan DP digunakan untuk numerator, meskipun perbedaan dengan metode lain yang mengambil baik tekanan tertinggi atau terendah sangat kecil dalam perbandingan langsung (Espeland *et al.*, 2008).

Tidak ada perbedaan signifikan pada interobserver variabilitas, antara ABI yang diperoleh oleh PT versus arteri DP (Fisher *et al.*, 1996). Reprodusibilitas ABI lebih dipengaruhi oleh teknik yang digunakan untuk mencatat tekanan di pergelangan kaki daripada di mana arteri yang diperiksa (Vierron *et al.*, 2009).

Pengaruh Mode Penentuan Tekanan Pergelangan Kaki pada Asosiasi PAD Dengan Faktor Risiko Kardiovaskular dan Lokalisasi Aterosklerosis. Pada MESA (Allison *et al.*, 2010), hubungan PAD (ABI 0,90) dengan faktor risiko CVD dinilai dengan 3 numerator alternatif: tinggi, rata-rata, dan rendah dari arteri PT dan DP. Penggunaan nilai yang rendah dari arteri PT dan DP untuk kalkulasi, menyebabkan hubungan terlemah antara PAD dengan faktor risiko kardiovaskular dan aterosklerosis subklinis pada arteri koroner atau karotis. Hal ini terkait dengan dimasukkannya partisipan dengan beban penyakit yang lebih sedikit (mungkin mempengaruhi hanya 1 arteri pergelangan kaki) pada kelompok PAD.

Pengaruh Mode Penentuan Tekanan Pergelangan Kaki pada Kemampuan ABI untuk Memprediksi Penyakit Kardiovaskular. Pada The ABI Collaboration, hubungan ABI dengan mortalitas total, mortalitas kardiovaskular, dan kejadian koroner utama, konsisten pada semua studi, meskipun ada

beberapa perbedaan dalam protokol ABI (Ankle Brachial Index Collaboration, 2008). Untuk ABI $\leq 0,90$ dibandingkan dengan referensi ABI kisaran 1,11 sampai 1,40, rasio bahaya untuk mortalitas kardiovaskular pada laki-laki adalah 4,2 (95% CI, 3,3-5,4) dan pada perempuan adalah 3,5 (95% CI, 2,4-5,1). Sekitar setengah dari studi, ABI ditentukan dengan hanya 1 lengan, hanya PT, dan ABI lebih rendah dari 2 kaki.

Perbandingan langsung metode pengukuran ABI untuk prediksi penyakit masih terbatas (O'Hare *et al.*, 2006). Pada satu studi, ABI diukur pada > 800 pasien yang menjalani angiografi koroner yang kemudian diikuti selama 6 tahun untuk mendeteksi infark miokard, stroke, dan kematian akibat CVD (Espinola-Klein *et al.*, 2008). Prevalensi pasien dengan ABI < 0,90 di kedua tungkai adalah 25% dengan menggunakan tekanan PT dan DP yang lebih tinggi, dibandingkan dengan 36% dengan menggunakan tekanan yang lebih rendah. Tingkat kejadian kardiovaskular pada subjek dengan ABI < 0,90 hampir identik pada masing-masing mode kalkulasi ABI (masing-masing 28,1% dan 27,4%). Dengan demikian, semakin rendah PT dan DP mengidentifikasi lebih banyak pasien yang berisiko. Analisis sekunder pada Cardiovascular Health Study mendapatkan nilai prognostik ABI untuk prediksi kejadian kardiovaskular (O'Hare *et al.*, 2006). Menggunakan ABI lebih rendah dari 2 kaki mengidentifikasi lebih banyak individu dengan ABI di bawah cut-point risiko tinggi 0,90. Namun, tidak ada perbedaan yang signifikan dalam risiko relatif kejadian kardiovaskular berdasarkan kalkulasi ABI yang lebih rendah atau lebih tinggi. Dengan demikian, mengambil ABI yang lebih rendah dari kedua kaki akan mengidentifikasi lebih banyak orang yang berisiko mengalami kardiovaskular. Kesimpulan ini tidak mengherankan, mengingat bahwa PAD mungkin unilateral atau lebih parah pada 1 kaki daripada yang lain. Ketika menggunakan ABI yang lebih tinggi dari 2 kaki, individu dengan

penyakit signifikan yang berisiko tinggi terhadap kejadian kardiovaskular mungkin tidak diketahui / terlewatkan.

Rekomendasi untuk Pengukuran Tekanan Sistolik dari 4 Ekstremitas

1. Setiap dokter harus mengikuti urutan pengukuran tekanan tungkai berikut untuk ABI saat istirahat: lengan pertama, arteri PT pertama, arteri DP pertama, arteri PT lainnya, arteri DP lainnya, dan lengan lainnya (Class I; Level of Evidence C).
2. Setelah pengukuran tekanan sistolik dari 4 ekstremitas, jika tekanan darah sistolik lengan pertama melebihi tekanan darah sistolik lengan lain sebesar ≥ 10 mm Hg, tekanan darah lengan pertama harus diulang, dan pengukuran pertama dari lengan pertama harus diabaikan (Class I; Level of Evidence C).

Dalam praktik klinis, reproduktifitas hanya penting ketika ABI diperoleh setelah pengukuran pertama nilainya dekat dengan nilai ambang batas. Nilai ambang ABI 0,90 untuk diagnosis PAD, dengan 95% CI perbedaan antara 2 pengukuran yang dilaporkan sebagai $\pm 0,10$, ABI $< 0,80$ untuk mendeteksi PAD dan ABI $> 1,00$ cukup tinggi untuk mengesampingkannya, sedangkan pengukuran berulang diperlukan dalam interval 0,80 hingga 1,00 untuk diagnosis pasti. Dengan demikian, pengukuran berulang diindikasikan jika ABI awal adalah antara 0,80 sampai 1,00; hasil ABI tunggal $< 0,80$ memiliki nilai prediksi positif 95% untuk diagnosis PAD; dan ABI tunggal $> 1,00$ memiliki nilai prediksi negatif 99% untuk PAD (Stoffers *et al.*, 1996).

Mode Kalkulasi ABI dan Epidemiologi PAD. Beberapa studi menunjukkan bahwa mode kalkulasi ABI memengaruhi estimasi prevalensi PAD dalam suatu populasi (Allison *et al.*, 2010). Pada MESA digunakan tekanan yang lebih rendah pada PT dan DP, bukan menggunakan tekanan yang lebih tinggi untuk numerator ABI, prevalensi PAD 3,95 kali lebih tinggi pada perempuan (14,6%,

bukan 3,7%) dan 2,74 kali lebih tinggi pada laki-laki (9,3%, tidak 3,4%) (Allison *et al.*, 2010).

2.11.12. Mode Kalkulasi ABI dan Prevensi CVD

ABI dapat digunakan untuk stratifikasi risiko individu yang pada awalnya diklasifikasikan sebagai risiko menengah berdasarkan skor risiko kardiovaskular (misalnya, FRS). Subjek dengan $ABI \leq 0,90$ dianggap berisiko tinggi terhadap kejadian CVD, terutama berdasarkan penggunaan tekanan PT dan DP yang lebih tinggi sebagai numerator atau secara eksklusif menggunakan arteri PT (Tabel 4) (Rooke *et al.*, 2011). Masih belum jelas mengenai nilai prognostik ABI pada populasi umum jika dihitung dengan menggunakan tekanan PT dan DP yang lebih rendah. Meskipun penggunaan mode kalkulasi ini mungkin sedikit meningkatkan sensitivitas untuk mengidentifikasi pasien risiko tinggi, tingkat risiko keseluruhan dari mereka dengan $ABI \leq 0,90$ akan lebih rendah karena kurang spesifik dan dimasukkannya berbagai kasus dengan penyakit lainnya. Penggunaan tekanan PT dan DP yang lebih rendah dapat menyebabkan overdiagnosis PAD.

Rekomendasi untuk Kalkulasi ABI

1. ABI dari setiap kaki dihitung dengan membagi tekanan yang tertinggi dari PT atau DP dengan tekanan darah sistolik tertinggi lengan kanan atau kiri (Class I; Level of Evidence A) (Benchimol *et al.*, 2009).
2. Apabila ABI digunakan sebagai alat diagnostik untuk menilai pasien dengan gejala PAD, maka ABI harus dilaporkan secara terpisah untuk setiap kaki (Class I; Level of Evidence C).
3. Apabila ABI digunakan sebagai marker prognostik kejadian kardiovaskular dan mortalitas, maka nilai ABI terendah dari kaki kiri dan kanan digunakan sebagai marker prognostik kejadian kardiovaskular dan

mortalitas. Pengecualian untuk hal ini adalah kasus arteri yang tidak terkompresi (Class I; Level of Evidence C).

4. Pada kasus apa pun, ketika didapatkan ABI awal antara 0,80 dan 1,00, maka dilakukan pengukuran ulang (Class IIa; Level of Evidence B) (Stoffers *et al.*, 1996).

Rekomendasi untuk Interpretasi ABI sebagai Marker CVD Subklinis dan Risiko pada Individu Asimtomatik

1. ABI dapat digunakan untuk memberikan informasi tambahan di luar skor risiko standar dalam memprediksi kejadian kardiovaskular di masa depan (Class IIa; Level of Evidence A) (Ankle Brachial Index Collaboration, 2008).
2. Individu dengan ABI <0,90 atau > 1,40 terjadi peningkatan risiko kejadian kardiovaskular dan mortalitas, terlepas dari adanya gejala PAD dan faktor risiko kardiovaskular lainnya (Class I; Level of Evidence A) (Ankle Brachial Index Collaboration, 2008).
3. Subjek dengan ABI antara 0,91 sampai 1,00 dianggap mempunyai risiko kardiovaskular yang "borderline", dan perlu evaluasi lebih lanjut (Class IIa; Level of Evidence A) (Ankle Brachial Index Collaboration, 2008).

2.11.13. Standar Pelaporan ABI pada Laporan Ilmiah

Salah satu tujuan dari studi ini adalah untuk menetapkan metode pengukuran ABI yang sama dalam penelitian. Hasil yang kontroversial yang dilaporkan dalam literatur, berkaitan dengan perbedaan dalam metode ABI (lihat "Mode Perhitungan ABI Dan Epidemiologi PAD").

Rekomendasi untuk Penggunaan ABI dalam Laporan Ilmiah

1. Variabilitas intraobserver dan interobserver ABI dari tim peneliti harus dilaporkan (Class I; Level of Evidence C).
2. Untuk meningkatkan presisi tes, dilakukan pengukuran tekanan darah setiap ekstremitas dua kali dan diambil nilai rata-rata. Hasil masing-masing arteri untuk kalkulasi ABI (Class IIa; Level of Evidence C).

Peluang Penelitian di Masa Depan untuk Penggunaan dan Interpretasi ABI:

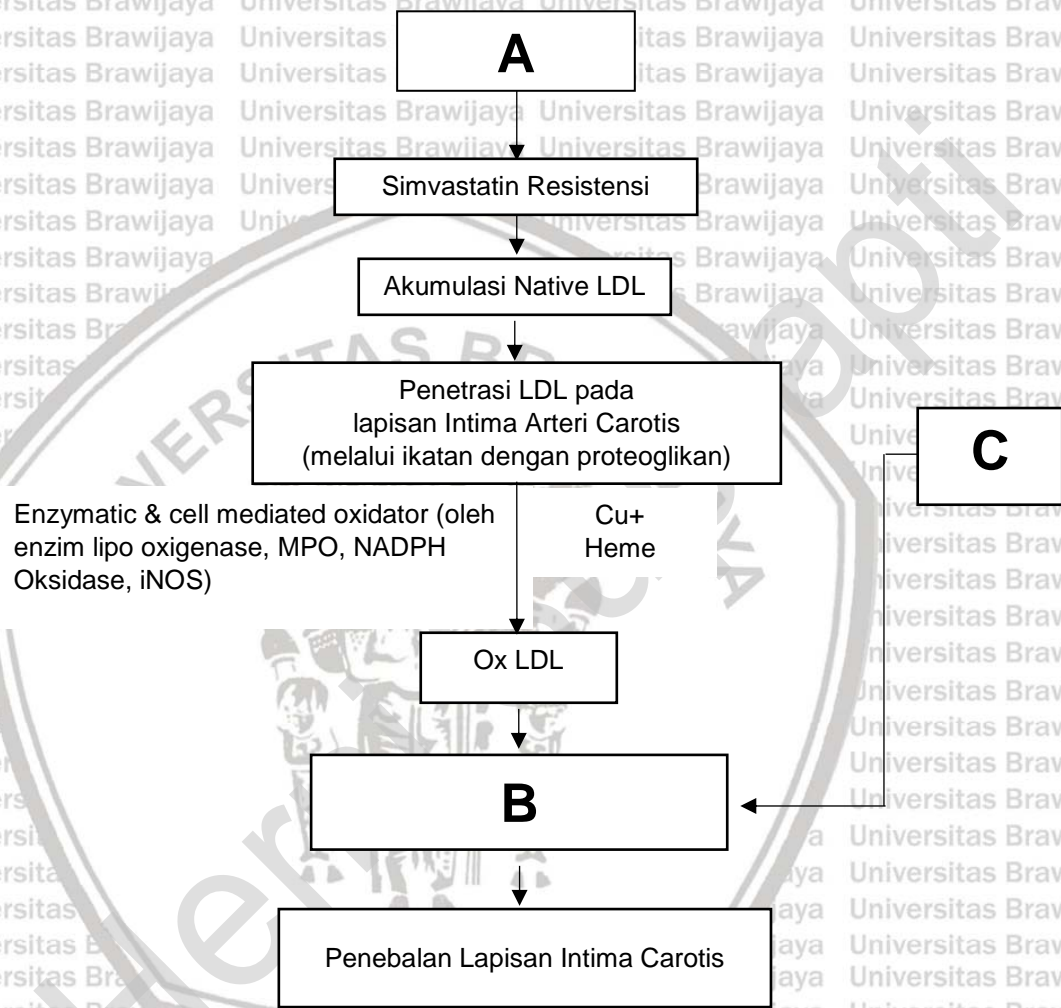
- Beberapa studi melaporkan perbedaan nilai normal ABI menurut jenis kelamin dan etnis, tetapi masih belum jelas apakah ambang batas spesifik harus digunakan pada perbedaan jenis kelamin dan kelompok etnis dalam studi populasi, praktik klinis dan riset.
- Penelitian yang mengeksplorasi metode yang lebih mudah dan lebih cepat untuk pengukuran ABI, sehingga dapat diterapkan secara lebih luas pada perawatan primer.
- Diperlukan standar akreditasi untuk alat pengukuran ABI menggunakan metode selain alat Doppler (misalnya, metode osilometrik).

Penelitian untuk identifikasi metode kalkulasi ABI untuk prediksi kejadian dan kardiovaskular dan kecacatan.

BAB III

KERANGKA KONSEP PENELITIAN

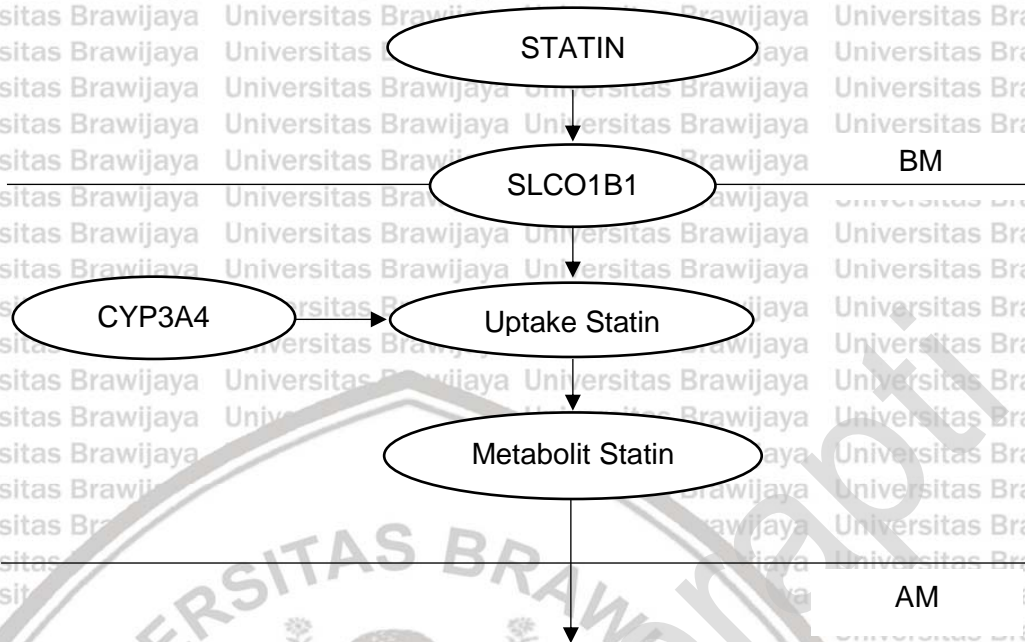
3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Pengaruh Farmakogenetika (SNP SLCO1B1 dan SNP CYP3A4) pada variasi respons terapi Simvastatin

Keterangan:

A:



OATP1B1 (yang di-kode oleh SLCO1B1) memfasilitasi uptake simvastatin hepatic. Variabilitas genetik pada SLCO1B1 juga mempengaruhi kadar plasma statin. Keseluruhan profil farmakokinetik juga mengalami lebih banyak perubahan akibat simvastatin dibandingkan dengan statin jenis lainnya (Niemi, 2011). Pada level mRNA, SLCO1B1 ekspresinya terutama di liver (Konig *et al.*, 2000). Pada level protein, OATP1B1 hanya didapatkan di liver, lokasinya di membran basolateral hepatosit (Konig *et al.*, 2000b) (Gambar 2.11). OATP1B1 ekspresinya sama di seluruh bagian liver (Ho *et al.*, 2006). Beberapa obat bersifat sebagai substrat OATP1B1 (Tabel 2.12), semua statin merupakan substrat OATP1B1 (Niemi, 2010).

Salah satu SNP yang paling sering, c.521T>C pada exon 5, menyebabkan penurunan ekspresi membran OATP1B1 dan menurunkan aktivitas transport estrone-3-sulfate dan estradiol-17-D-glucuronide. Sesuai dengan penurunan

ekspresi membran, SNP c.521T>C mempengaruhi transport maksimum velocity dibandingkan dengan afinitas substrat (Tirona *et al.*, 2001).

SNP c.463C>A menyebabkan peningkatan efikasi obat kolesterol fluvastatin (Couvert *et al.*, 2008). SNP c.463C>A tidak mempunyai efek pada aktivitas transport OATP1B1 pada studi *in vitro* (Tirona *et al.*, 2001), dan hubungan ini disebabkan karena linkage disequilibrium yang kuat antara SNP c.463C>A dengan c.388A>G (yaitu haplotype *1B) (Pasanen *et al.*, 2008) dan masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

Penelitian berikut mengenai efek SNP SLCO1B1 c.521T>C pada pemberian simvastatin. Walaupun semua statin menurunkan rasio lathosterol-terhadap-cholesterol plasma, marker kecepatan sintesis kolesterol, responsnya tidak berbeda antara genotip SLCO1B1. Pada individu dengan genotip c.521CC rasio desmosterol-terhadap-kolesterol plasma puasa 40% lebih tinggi daripada individu genotip *1A/*1A, yang menunjukkan adanya peningkatan kecepatan sintesis kolesterol baseline yang menyebabkan kerusakan aktivitas OATP1B1 (Pasanen *et al.*, 2008a). Hal ini mengarah ke hipotesis bahwa secara genetik kerusakan aktivitas OATP1B1 akan menurunkan ambilan hepatic asam empedu, yang mengakibatkan peningkatan konversi kolesterol menjadi asam empedu dan kemudian meningkatkan kecepatan sintesis kolesterol. Genotip SLCO1B1 berhubungan dengan kadar plasma asam empedu dan kecepatan sintesis asam empedu (Xiang *et al.*, 2009). OATP1B1 berperan penting pada ambilan hepatic asam empedu, sehingga mempengaruhi homeostasis kolesterol.

Signifikansi klinis polimorfisme genetik SLCO1B1 yang paling bagus adalah pada statin. Statin bersifat sangat well tolerated, tetapi dapat menyebabkan efek samping myopathy/plasma concentration-dependent (Ghatak *et al.*, 2010). SNP SLCO1B1 c.521T>C menurunkan ambilan simvastatin acid ke dalam hepatosit (dimana ia menghambat sintesis kolesterol) dan meningkatkan kadar plasmanya,

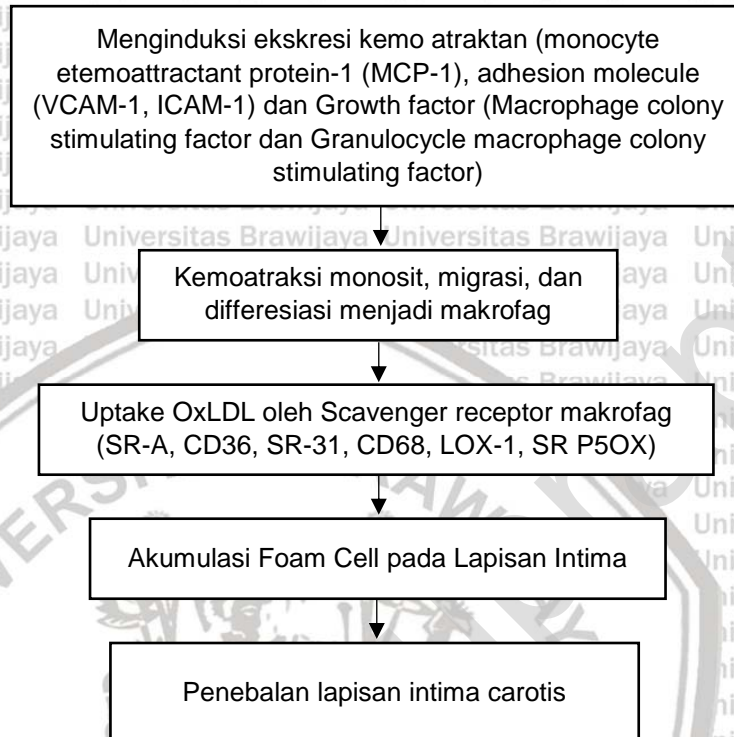
sehingga meningkatkan risiko timbulnya myopathy terutama pada pemberian simvastatin dosis tinggi (Gambar 2.15), jadi simvastatin dosis tinggi jangan diberikan pada karier SNP ini. Pada pasien individual, efek SNP ini pada kadar plasma statin dapat lebih besar daripada efek rata-rata pada orang sehat. Jadi, misalnya paparan simvastatin acid lebih dari 5 kali lipat daripada biasanya bisa terjadi pada pengguna simvastatin. Hati-hati pada pasien karier varian SLCO1B1 dan penggunaan obat yang berinteraksi dengan statin, seperti amiodarone atau gemfibrozil (Becquemont *et al.*, 2007), karena SNP SLCO1B1 c.521T>C dan obat yang berinteraksi dapat menimbulkan efek aditif pada farmakokinetik statin.

SNP SLCO1B1 c.521T>C menurunkan sebagian besar uptake hepatic, jadi hipotesa bahwa ada kemungkinan dengan peningkatan efek statin berupa penurunan kolesterol (Gerloff *et al.*, 2006). Dari hasil Heart Protection Study, efek penurunan kolesterol LDL pada pemberian simvastatin 40 mg/hari lebih kecil 1.3% per copy alel C (SEARCH Collaborative Group, 2008), hal ini sesuai dengan penurunan ambilan hepatic simvastatin acid. Data penelitian lain menunjukkan bahwa polimorfisme SLCO1B1 secara klinis tidak berpengaruh pada efikasi penurunan kolesterol statin, hal ini kemungkinan karena paparan hepatic total dengan statin tidak menyebabkan penurunan aktivitas OATP1B1 pada statin yang dieliminasi melalui liver. Jadi, alel SLCO1B1 c.521C menurunkan indeks terapeutik simvastatin dan sebagian besar statin lainnya dengan meningkatkan kadar plasma statin dan risiko terjadinya myopathy, tanpa peningkatan efikasi penurunan kolesterol.

Polimorfisme SLCO1B1 berpengaruh pada farmakokinetik simvastatin dan juga sedikit mempengaruhi farmakokinetik statin lainnya (Niemi, 2010). Menurut Pasanen dkk, karier homozigot dari alel C pada rs4149056 (genotip CC) lebih banyak terpapar dengan simvastatin acid aktif daripada subjek homozigot untuk leluhur alel T. Kadar plasma simvastatin acid, pitavastatin, atorvastatin,

pravastatin, dan rosuvastatin yang aktif, lebih tinggi pada rs4149056 CC homozigot daripada rs4149056 TT homozigot (Pasanen *et al*, 2006).

B:



Penjelasan mengenai kejadian awal yang menyebabkan lesi aterosklerosis berdasarkan pada studi morfologi pada spesimen otopsi. Berbeda dengan hewan coba laboratorium yang kecil, diffuse intimal thickening (DIT) terjadi pada arteri manusia sebelum timbulnya aterosklerosis, terutama pada atherosclerosis-prone arteries seperti arteri koroner dan aorta abdominalis. Di awal stadium aterosklerosis, lipid terkumpul di lapisan dalam DIT untuk membentuk lesi tipe I. Lapisan ini diperkaya pada extracellular matrix (ECM) proteoglycans seperti biglycan. Setelah deposisi lipid, makrofag timbul di daerah ini dan tampaklah foam cell (lesi tipe II). Hipotesis 'response-to-retention' yang menyatakan bahwa prinsip kejadian awal patogenesis aterosklerosis adalah

perangkap dan retensi lipoprotein oleh ECM proteoglycan yang diikuti oleh infiltrasi dan akumulasi makrofag.

Selama 50 tahun terakhir ini, walaupun banyak penelitian mengenai aterosklerosis, tetapi masih sangat sedikit pengetahuan mengenai aterosklerosis dini. Hal ini disebabkan karena, pertama, aterosklerosis berkembang sangat lambat dan berbeda dari individu ke individu, dan sulit untuk membedakan antara lesi inisiasi dengan lesi progresif. Kedua, penebalan intima pada manusia timbul sebelum berkembangnya aterosklerosis, tetapi apakah intima ini membentuk prekursor untuk lesi lebih lanjut masih belum sepenuhnya dipahami. Ketiga, hubungan antara lipid ekstraseluler dengan makrofag masih belum diklarifikasi. Secara umum diyakini bahwa lipid ekstraseluler terjadi secara terpisah dari kematian sel makrofag. Morfologi aterosklerosis dini manusia berbeda dengan hewan, sehingga dapat terjadi kesalahan dalam mengartikan hasil penelitian dari hewan coba (Nakashima *et al.*, 2008).

Hasil berbagai studi menyatakan pentingnya interaksi lipoprotein dengan proteoglycan pada aterosklerosis dini, hal ini mendukung hipotesis response-to-retention. Namun, masih belum jelas apakah lipid ekstraseluler dan akumulasi proteoglycan mendahului infiltrasi makrofag pada aterosklerosis. Studi terbaru menyatakan bahwa penebalan intima merupakan prekursor lesi aterosklerosis lebih lanjut dan bahwa proteoglycan intima berperan penting pada aterosklerosis (Nakashima *et al.*, 2007).

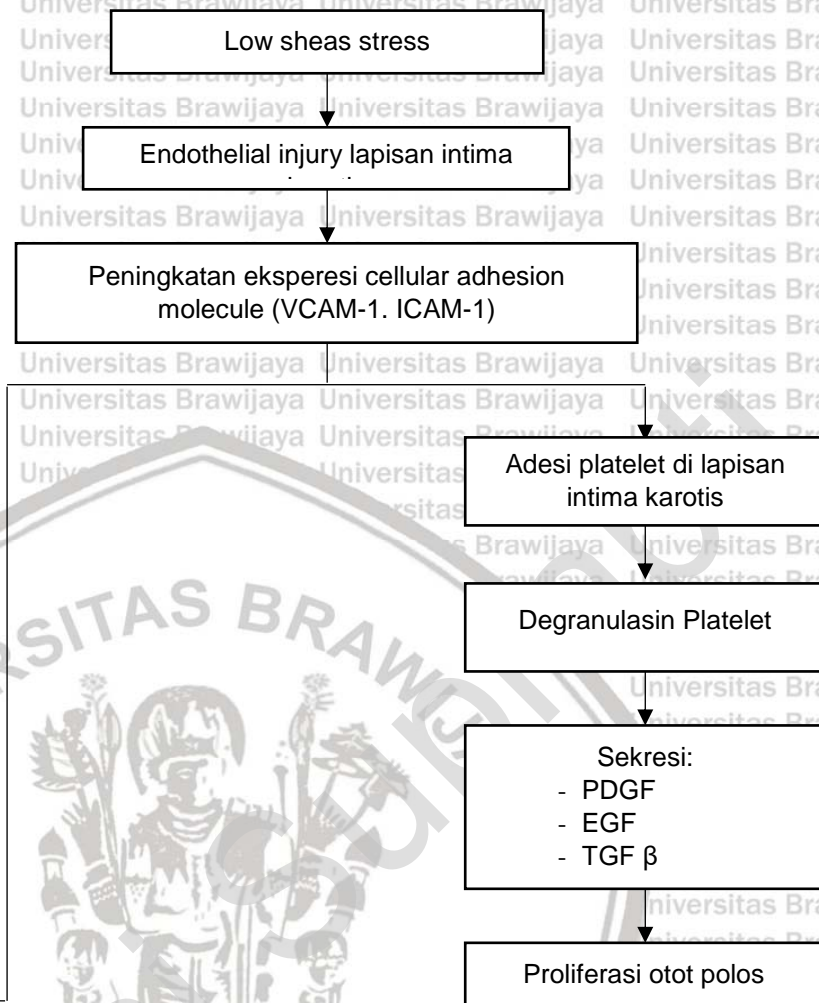
Pada manusia, DIT berkembang di arteri tertentu, seperti arteri koroner dan aorta abdominalis, dan berhubungan erat dengan kecenderungan terjadinya aterosklerosis. DIT, per se, bukan bagian dari aterosklerosis, tetapi dapat berlaku sebagai depot untuk lipid ekstraseluler pada stadium awal aterosklerosis (lesi tipe I). Proteoglycan ekstraseluler yang lokasinya pada DIT, terutama biglycan, berperan penting pada aterosklerosis dini dengan mengikat lipoprotein

aterogenik. Namun masih belum diketahui mengapa deposit lipid secara eksentrik, sementara proteoglycan didistribusinya terpusat di DIT. Modifikasi proteoglycan dapat terjadi tidak merata pada dinding arteri dan menyebabkan perbedaan regional pada deposisi lipid. Setelah deposisi lipid awal, makrofag menginfiltrasi lapisan yang lebih dalam dan merupakan postulat bahwa makrofag mengambil deposited lipid-proteoglycan complexes untuk membentuk foam cell.

Selanjutnya perubahan ini membentuk lesi tipe II, bersama-sama dengan makrofag non-foamy, lipid ekstraseluler, ECM, dan SMC.

Temuan patologis ini penting saat mempertimbangkan terapi untuk aterosklerosis. Pencegahan masuknya dan retensi intimal berikutnya dari apoB-containing lipoprotein, terutama pada usia dini merupakan kunci pencegahan (Tabas *et al.*, 2007). Misalnya, obat yang menurunkan kadar plasma lipoprotein aterogenik, seperti statin, diharapkan dapat menurunkan masuknya lipoprotein aterogenik ke dalam intima. Konsep ini didukung oleh studi intervensi lipid-lowering yang dapat menurunkan insidens penyakit jantung koroner (Nakamura *et al.*, 2006). Dalam hal ini, inisiasi terapi untuk menurunkan LDL pada usia muda dengan faktor risiko multipel diharapkan dapat memperlihatkan keuntungan sepanjang usia (Tabas *et al.*, 2007). Sifat lipoprotein (mis, ukuran, muatan elektrik, dan kolesterol enrichment) dan permeabilitas endotel juga dapat sebagai target untuk pencegahan masuknya lipid ke dalam intima. Inhibisi interaksi apoB dengan proteoglycan intima merupakan pendekatan di masa depan yang potensial, meliputi bloking langsung interaksi antara apoB dengan proteoglycan, dan/atau manipulasi sintesis key retentive proteoglycan atau rantai samping GAG. Contohnya, modifikasi sintesis dan struktur proteoglycan, seperti elongation dan sulfation GAG, dapat mewakili target untuk pencegahan ikatan dan retensi LDL pada intima (Nakamura *et al.*, 2006).

C:



Aterosklerosis merupakan penyebab patologis penting terjadinya penyakit kardiovaskuler (CV) dan serebrovaskuler. Penyakit CV dan serebrovaskuler menyebabkan mortalitas dan pengaruhnya pada morbiditas sangat signifikan.

Untuk itu, pencegahan dini penyakit CV dan serebrovaskuler menjadi fokus penelitian saat ini. Aterosklerosis preklinis berhubungan dengan angka penyakit jantung koroner dan stroke yang tinggi. Hasil studi menunjukkan bahwa ultrasonography karotis (Corrales *et al.*, 2013) lebih sensitif daripada the coronary artery calcification score (CACS) untuk mendeteksi aterosklerosis subklinis. Carotid intima-media thickness (CIMT) ultrasonography merupakan metode yang mudah dikerjakan dan dapat dipercaya untuk mendeteksi

aterosklerosis subklinis (Onut *et al.*, 2012). CIMT meningkat signifikan pada pasien dengan plak (Morris *et al.*, 1999), yang merupakan marker kerusakan organ subklinis dan prediktor independent dari penyakit CV dan serebrovaskuler. Beberapa studi melaporkan hasil ada hubungan antara CIMT dengan faktor risiko. Sejauh ini, konsep terbaru mengenai faktor risiko CIMT pada literatur masih belum ditetapkan. Penelitian dilakukan untuk mengetahui faktor risiko CIMT, antara lain faktor risiko tradisional seperti usia, jenis kelamin, kebiasaan merokok, konsumsi alkohol, tekanan darah, lemak tubuh, kadar gula darah, gaya hidup, dan lain-lain; namun faktor risiko tradisional tidak dapat menjelaskan semua risiko. Hasil studi terbaru menyatakan bahwa > 60% kasus CIMT tidak dapat dijelaskan dengan demografi dan faktor risiko CV tradisional, sehingga diperlukan studi lebih lanjut untuk menemukan faktor risiko yang baru (Santos *et al.*, 2015), yang dapat menemukan faktor risiko lain untuk aterosklerosis karotis. Faktor risiko baru ini mengacu pada faktor risiko yang baru diteliti dan belum diakui secara luas, antara lain gaya hidup, stres pekerjaan, penyakit tertentu, faktor risiko genetik untuk penyakit tertentu, dan paramater lingkungan, fisiologis, dan patologis yang baru. Identifikasi faktor risiko baru yang berhubungan dengan CIMT akan sangat membantu untuk prevensi dan terapi aterosklerosis dini (Baoge Qu and Tao Qu, 2015).

Polimorfisme gen SCLO1B1*5 pada penderita Disiplidemi dengan terapi sv

Polimorfisme gen CYP3A4*22 Kemoatraksi monosit, migrasi, dan differensiasi menjadi makrofag

Kegagalan uptake simvastatin (SV) dan simvastatin acid (SVA) ke dalam hepar

Penurunan metabolisme SV dalam

Peningkatan kadar SV dan SVA darah Akumulasi Native LDL

Penurunan kadar SV dan SVA dalam liver Uptake OxLDL oleh Scavenger

Peningkatan uptake SV dan SVA dalam pembuluh darah tepi C

Penurunan inhibisi HMGR

Peningkatan ekspresi e NOS vaskular Penetrasi LDL pada lapisan intima arteri carotis (melalui ikatan dg proteoglikan)

Penurunan sintesis asam

Kegagalan Penurunan LDL kolesterol Penebalan lapisan intima carotid

Peningkatan kadar NO

Peningkatan LDL teroksidasi

Peningkatan respon dilatasi vaskular Cu+Heme

Peningkatan proses aterosklerosis

Peningkatan FMD dan ABI

Peningkatan CIMT

Keterangan: ————— Diteliti
----- Tidak diteliti

3.2 Hipotesis Penelitian

Tidak ada perbedaan polimorfisme Gen SLC01B1*5 (SNP rs4149056T>C) dan Gen CYP3A4*22 pada Efikasi Simvastatin yang dilihat dari Perubahan CIMT, FMD, dan ABI sebagai marker terjadinya Aterosklerosis Subklinis pada Suku Jawa.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan/Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian studi potong lintang jenis analitik survei observasi.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian di Poliklinik Jantung, RS Anwar Medika Surabaya, RS Dr Soetomo Surabaya, dan Laboratorium Genetika Medik, Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Waktu penelitian yaitu Januari sampai Desember 2017.

4.3 Populasi, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

4.3.1 Populasi Penelitian

Target populasi penelitian ini adalah pasien rawat jalan poliklinik penyakit jantung di RS Anwar Medika Sidoarjo, yang menggunakan Simvastatin 20 mg selama minimal 3 bulan, dan yang memenuhi kriteria inklusi. *Informed consent* dan kuesioner diberikan secara verbal dan tertulis.

4.3.2 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus Lemeshow (1990):

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 p q}{d^2} = 41$$

Z_{α} = 1,64

p = proporsi kejadian CIMT (untuk kasus yang tidak diketahui proporsinya di masyarakat, digunakan proporsi maksimal = 0,5)

q = 1-p

d = deviasi / besarnya simpangan (10%)

4.3.3 Teknik Pengambilan Sampel

Sampel adalah pasien dengan diagnosis penyakit hipertensi yang menjalani perawatan pada poliklinik penyakit jantung yang memenuhi kriteria inklusi dan dimasukkan dalam penelitian selama 1 tahun sehingga jumlah pasien yang diperlukan terpenuhi.

4.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

4.4.1 Kriteria Inklusi

- Semua pasien laki-laki dan perempuan, dengan diagnosa hipertensi
- Pasien yang menyetujui dan menandatangani persetujuan medis/*informed consent*
- Usia 25-75 tahun
- Suku Jawa
- Hipertensi

4.4.2 Kriteria Eksklusi

- Pasien diabetes melitus
- Riwayat PJK berdasarkan anamnesis, EKG, Echo.
- Penyakit Ginjal Kronis
- Infeksi Kronis (TBC, Hepatitis, HIV)
- Amiodaron, Diltiazem, Verapamil
- Kanker

4.4.3 Kriteria Drop Out

- Pasien mengundurkan diri dalam masa pengamatan penelitian
- Pasien yang meninggal dunia selama masa penelitian

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Independen

SNP

4.5.2 Variabel Dependen

a. CIMT

b. FMD

c. ABI

4.6 Definisi Operasional Variabel Penelitian

Tabel 4.1 Definisi Operasional Variabel Penelitian

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1. Polimorfisme gen SLCO1B1	Pemeriksaan <i>single nucleotide polymorphysme</i> .521T>C (p.Val174Ala; rs4149056) di kromosom 12p12.1 berupa substitusi asam amino valine-alanine	Mesin <i>polimerase chain reaction</i>	Genotipe -TT -TC -CC	Ordinal
2. Polimorfisme gen CYP3A4	Pemeriksaan <i>single nucleotide polymorphysme</i> berupa substitusi asam amino valine-alanine	Mesin <i>polimerase chain reaction</i>	Genotipe -TT -TC -CC	Ordinal
3. <i>Carotid Intima-Media Thickness</i>	Pengukuran ketebalan tunika intima - media arteri karotis komunis yang tampak sebagai <i>double line sign</i> pada dinding jauh (<i>far wall</i>) arteri karotis komunis secara longitudinal untuk menilai derajat aterosklerosis	Mesin ekhokardiografi Logiq P7	Tebal lapisan intima (mm)	Ordinal
4. <i>Flow Mediated Dilation</i>	Pemeriksaan fungsi endotel pembuluh darah noninvasif menggunakan ultrasonografi B-mode beresolusi tinggi untuk mengevaluasi atherosklerosis subklinis dengan menilai fungsi dilatasi bergantung endotel akibat peningkatan aliran & shear stress.	Mesin ekhokardiografi Logiq P7	Prosentase Perubahan FMD	Rasio
5. <i>Ankle-Brachial Index</i>	Pengukuran tekanan darah sistolik (TDS) kedua ekstremitas inferior (<i>ankle</i>) dan kedua ekstremitas superior (<i>arteribrakialis</i>)	<i>Sphygmomanimeter</i>	Perbandingan TDS <i>ankle</i> dan arteri brakialis	Rasio

4.7 Instrumen Penelitian

- a. Rekam medik pasien, digunakan untuk mengetahui data demografi pasien, seperti nama, usia, riwayat penyakit, riwayat pengobatan, terapi yang didapatkan saat ini, serta data laboratorium yang menunjang
- b. Lembar pengumpul data, digunakan untuk mencatat data pasien pada penelitian
- c. Lembar *informed consent*, digunakan sebagai lembar persetujuan pasien untuk mengikuti penelitian
- d. Label sampel, digunakan untuk memberikan identitas pada setiap sampel dari masing-masing sampel yang menjadi subyek penelitian ini

4.8 Bahan dan Alat

4.8.1 Bahan

Bahan penelitian ini menggunakan sampel berupa darah perifer dari subjek penelitian. Sampel darah tersebut kemudian dianalisa gen dan diukur CIMT, FMD dan ABI.

4.8.2 Alat

Alat pengukuran penelitian ini menggunakan Echocardiography dan PCR.

4.9 Metode Pemeriksaan

Tahapan-tahapan/alur dalam rancangan penelitian sebagai berikut:

- a. Uji Etik
- b. Pada bulan Agustus 2017 – Oktober 2017
- c. Pemberian Informed Consent pada pasien
- d. Pengambilan data dasar pasien (anamnesis, pemeriksaan fisik, pengambilan data sekunder dari rekam medis, EKG, Ekokardiografi jantung)
- e. Pengambilan darah untuk pemeriksaan genetika (SNP), Kadar kolesterol LDL

- f. Pemeriksaan CIMT, FMD, dan ABI dengan *Echocardiography* dan *spygmanometer*
- g. Isolasi DNA dari darah tepi, desain primer daerah *promoter* gen *SCLO1B1*, gen *CYP3A4*
- h. Pemeriksaan DNA: gel *electrophoresis* dan PCR
- i. *Sequencing* *SLCO1B1*, untuk memeriksa adanya SNP rs4149056
- j. *Sequencing* *CYP3A4*, untuk memeriksa adanya SNP rs2306283
- k. Pengolahan data

4.9.1 Metode PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*)

rs4149056 *SLCO1B1*

Persiapan reagen parameter-specific (96 reaksi):

Satu vial reagen mengandung semua primer dan probe yang dapat digunakan untuk 96 reaksi *LightCycler*.

Vial diputar sebelum dibuka, agar pellet kuning berada di dasar tabung reaksi.

Tambahkan 100 µl air PCR-grade ke masing-masing vial reagent, campurlah larutan (*vortex*) dan putarlah ke bawah.

→ Gunakan 1 µl Campuran Reagen untuk 20 µl reaksi PCR.

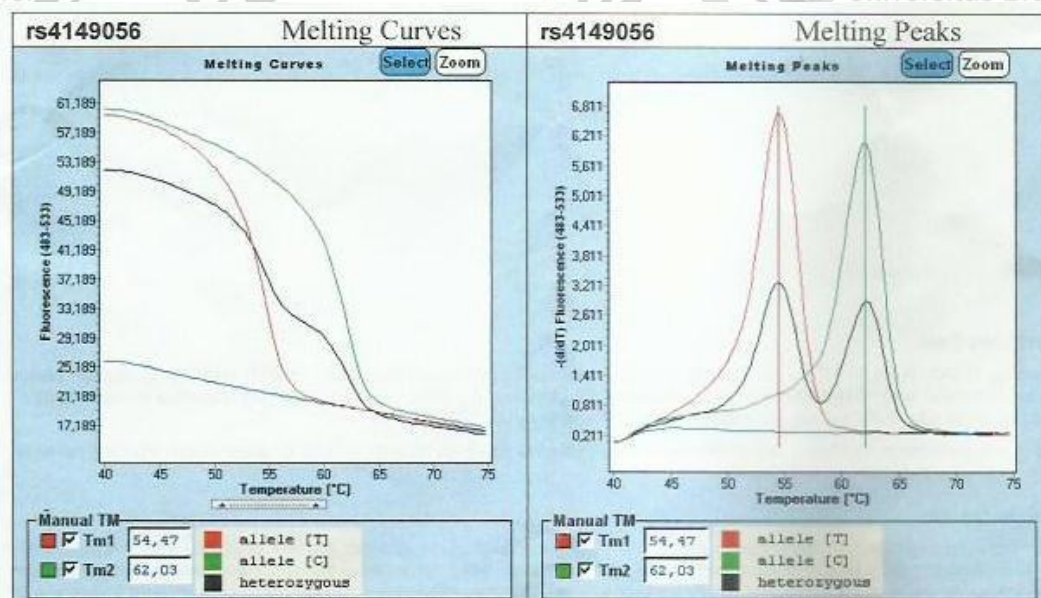
Tabel 4.2 Campuran Seting Reagen

Persiapan campuran reaksi:	Seting:
20 µl reaction mixture	<i>LightCycler</i> 480 Instrument
H ₂ O 14.4 - 10.4 µl	Block Type: 384 or 96
Reagent Mix 1.0 µl	Detection Format: Simple Probe
FastStart DNA Master ⁽¹⁾ 2.0 µl	<i>LightCycler</i> 480 Instrument I: 483-533
MgCl ₂ (25 mM) 1.6 µl	<i>LightCycler</i> 480 Instrument II: 465-510
DNA 1.0 - 5.0 µl (~ 50 ng)	
Final MgCl ₂ conc.: 3.0 mM	

⁽¹⁾ *LightCycler FastStart DNA Master HybProbe (Roche Diagnostics)*

Tabel 4.3 Programming LightCycler 480 Instrument

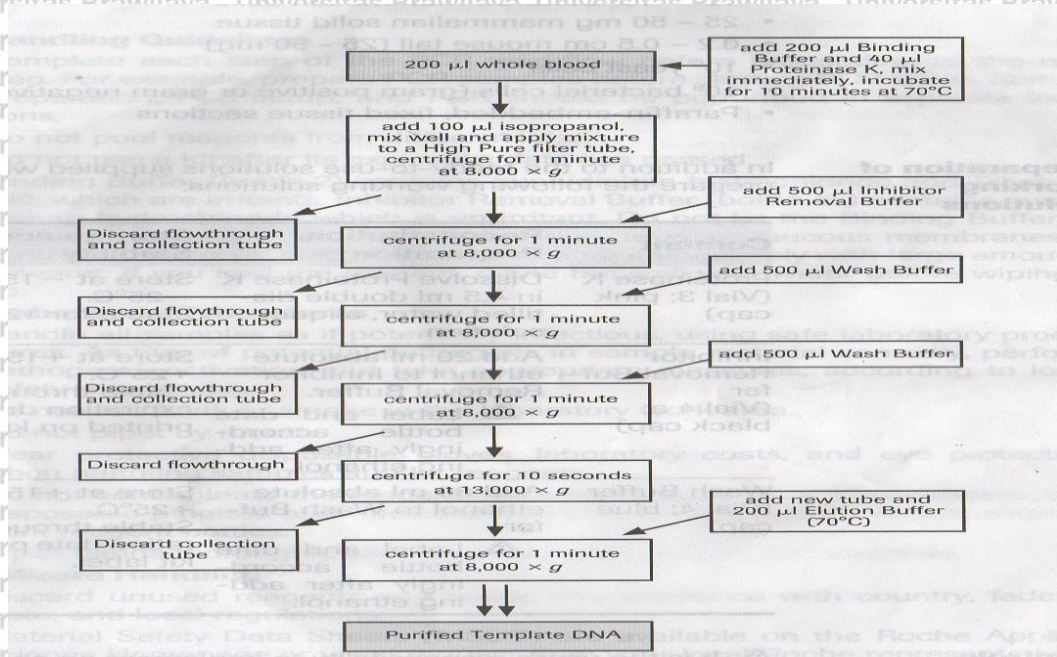
Program:	Denaturation	Cycling				Melting	Cooling	
Parameter								
Analysis Mode	None	Quantification				Melting Curves	None	
Cycles	1	45				1	1	
Segment	1	1	2	3	1	2	3	1
Target [°C]	95	95	60	72	95	40	75	40
Hold [hh:mm:ss]	00:10:00	00:00:10	00:00:10	00:00:15	00:00:30	00:20:00	00:00:00	00:00:30
Ramp Rate (°C/s) 384	4.6	4.6	2.4	4.6	4.6	2.0	-	2.0
Ramp Rate (°C/s) 96	4.4	4.4	2.2	4.4	4.4	1.5	-	1.5
Acquisition Mode	None	None	Single	None	None	None	Continu	None
Acquisitions [per °C]							3	



Reference: ATCTGGGTCATACATGTGGATATATG [C/T] GTTCATGGGTAATATGCTTCGTGGA

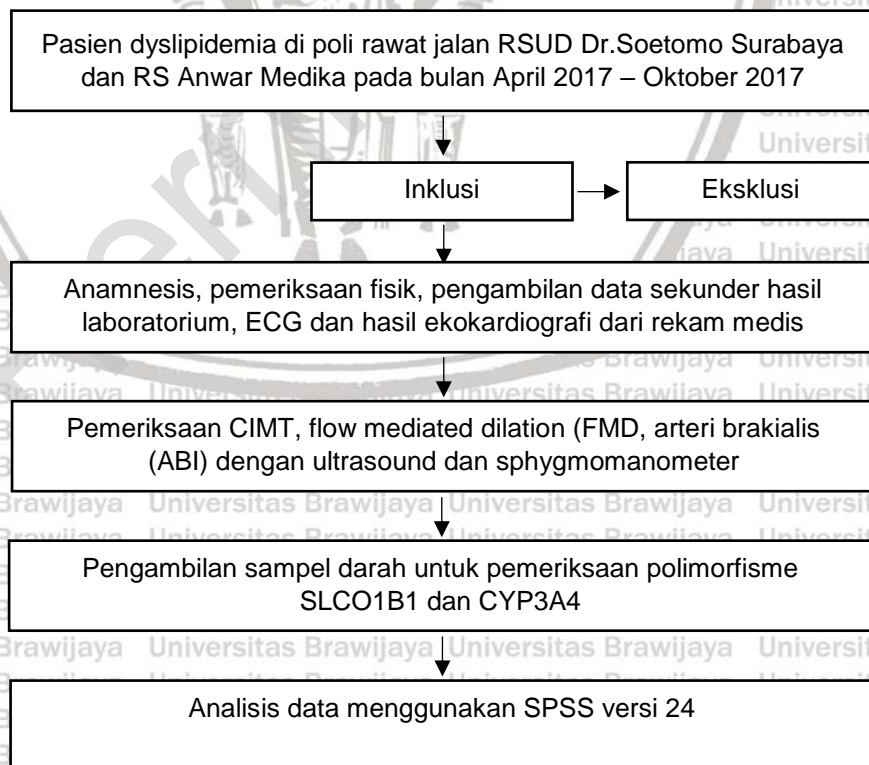
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=4149056

Gambar 4.1 Grafik Melting rs414905



Gambar 4.2

4.10 Alur Penelitian



BAB V
HASIL PENELITIAN

5.1 Karakteristik Subjek Penelitian

Delapan puluh sembilan subjek dengan hipertensi diikutkan dalam penelitian, tetapi enam subjek bukan suku Jawa, sehingga tersisa delapan puluh tiga subjek yang dilakukan pemeriksaan genotip. Sebaran karakteristik subjek penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Karakteristik Subjek Penelitian

No	Karakteristik	Frekuensi, n=83 (persentase, %)	Min-maks	Rerata	Median	SB
1	Jenis Kelamin					
	Laki-laki	22 (27)				
	Perempuan	61 (73)				
2	Usia (tahun)		25-73	55,8	58	10,17
	26-45	12 (15)				
	46-65	55 (66)				
	>65	16 (19)				
3	BMI		19,8-40,8	27,8	26,2	4,47
	<18,5 (Underweight)	0 (0)				
	18,5-24,9 (Normal)	26 (33)				
	25-29,9 (Overweight)	38 (46)				
	30-34,9 (Obesitas tipe 1)	14 (17)				
	35-39,9 (Obesitas tipe 2)	3 (3)				
	≥40 (Obesitas tipe 3)	2 (2)				
4	Durasi Simvastatin		3-120	12,45	37	16,58
	3 bulan-1 tahun	45 (54)				
	1-5 tahun	37 (45)				
	5-10 tahun	1 (1)				
5	Tekanan Darah Sistolik (mmHg)		100-140	124,09	130	13,43
	Normal (<120)	27 (33)				
	Prehipertensi (120-139)	14 (17)				
	Hipertensi stage 1 (140-159)	17 (20)				
	Hipertensi stage 2 (≥160)	25 (30)				
6	Kebiasaan merokok					
	Merokok	11 (13,5)				
	Tidak merokok	72 (86,75)				

Lanjutan Tabel 5.1

No	Karakteristik	Frekuensi, n=83 (persentase, %)	Min-maks	Rerata	Median	SB
7	Kolesterol total (mg/dL)		148-321	218,90	217	36,79
	<200	21 (30)				
	200-239	37 (45)				
	≥240	25 (25)				
8	LDL (mg/dL)		45-200	133,14	133	30,92
	<130	39 (47)				
	130-159	26 (31)				
	≥160	18 (22)				
9	HDL (mg/dL)		30-98	53,77	51	14,23
	≥50	48 (58)				
	40-49	25 (30)				
	<40	10 (12)				
10	Rasio Kolesterol /HDL		2-7,5	4,3	4,3	1,02
	<3	6 (7,2)				
	3-4,4	41 (49,4)				
	>4,4	36 (43,4)				
11	TG (mg/dL)		56-626	166,54	145	89,86
	<200	65 (78)				
	200-399	16 (19)				
	≥400	2 (3)				
12	CIMT (mm)		0,417- 1,27	0,74	0,703	0,19
	<0,6	18 (22)				
	0,6-<1	55 (66)				
	≥1	10 (12)				
13	FMD (%)		0-24,5	5,88	5,3	4,10
	0-6,9	49 (59)				
	7-10	22 (27)				
	10,1-24,3	12 (14)				
14	ABI		0,91-1,14	1,004	1	0,034
	1,10-1,30	9 (11)				
	0,91-1,00	74 (89)				
	≤0,90 atau ≥1,40	0 (0)				

Jenis kelamin perempuan (73%) lebih banyak daripada laki-laki (27%). Usia paling muda 25 tahun, dan paling tua 73 tahun, rata-rata 55,8 tahun, dan paling banyak pada kisaran 46-65 tahun (66%). Body mass index (BMI) paling rendah 19,8 (normal), dan paling tinggi 40,8 (obesitas), dengan rata-rata 27,8 (overweight), dan BMI terbanyak adalah pada kategori overweight (46%). Durasi pemberian Simvastatin, paling sedikit 3 bulan dan paling lama 10 tahun, dengan rata-rata 12,45 bulan atau 1 tahun. Tekanan darah sistolik paling rendah 100 mmHg, paling tinggi 140 mmHg, dan rata-rata 124,09 mmHg, dan terbanyak tekanan darah subjek penelitian pada kategori normal <120 mmHg (33%).

Kebiasaan merokok, yang tidak merokok lebih banyak (86,75%) dibandingkan dengan yang merokok (13,5%). Kadar kolesterol total, paling rendah 148 mg/dL, dan paling tinggi 321 mg/dL, dengan rata-rata 218,90 mg/dL, dan terbanyak pada kategori risiko sedang (45%). Kadar kolesterol LDL, paling rendah 45 mg/dL, dan paling tinggi 200 mg/dL, dengan rata-rata 133,14 mg/dL, dan terbanyak pada kategori risiko rendah (47%). Kadar kolesterol HDL, paling rendah 30 mg/dL, dan paling tinggi 98 mg/dL, dengan rata-rata 53,77 mg/dL, dan terbanyak pada kategori risiko rendah (58%). Rasio kolesterol/HDL, paling rendah 2, dan paling tinggi 7,5, dengan rata-rata 4,3, dan terbanyak pada kategori risiko sedang (49,4%). Kadar TG, paling rendah 56 mg/dL, dan paling tinggi 626 mg/dL, dengan rata-rata 166,54 mg/dL, dan terbanyak pada kategori risiko rendah (78%). Nilai CIMT, paling rendah 0,417 mm, dan paling tinggi 1,27 mm, dengan rata-rata 0,74 mm, dan terbanyak pada kategori risiko sedang (66%). Nilai FMD, paling rendah 0%, dan paling tinggi 24,5%, dengan rata-rata 5,88%, dan terbanyak pada kategori risiko tinggi (59%). Nilai ABI, paling rendah 0,91, dan paling tinggi 1,14, dengan rata-rata 1,004, dan terbanyak pada kategori risiko sedang (89%), dan tidak ada (0%) pada kategori risiko tinggi.

5.2 Frekuensi Gen SLCO1B1 dan Gen CYP3A4 pada Suku Jawa

Tabel 5.2 Frekuensi Gen SLCO1B1 dan Gen CYP3A4 pada Suku Jawa

No	Gen	Frekuensi (n=83)	Persentase (%)
1	SLCO1B1		
	Alel TT	74	89
	Alel TC	9	11
	Alel CC	0	0
	Alel C	4,5	
2	CYP3A4		
	Alel TT	83	100
	Alel TC	0	0
	Alel CC	0	0
	Alel C	0	0

Frekuensi gen SLCO1B1, alel TT homozygot: 89%, alel TC heterozygot: 11%. Frekuensi alel C: 4,5. Tidak didapatkan alel CC homozygot (0%). Frekuensi gen CYP3A4: semua alel TT homozygot (100%). Tidak didapatkan alel heterozygot TC (0%), dan homozygot CC (0%).

5.3 Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Marker Aterosklerosis Dini (CIMT, FMD, ABI)

Tabel 5.3 Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Marker Aterosklerosis Dini (CIMT, FMD, ABI)

No	Marker Aterosklerosis Dini	Gen SLCO1B1				Total		P
		TT		TC		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%	Σ	%	
1	CIMT (mm)							0,00 ^{ab}
	<0,6	15	18,07	3	3,61	18	21,69	0,19 ^c
	0,6-< 1	49	59,04	6	7,23	55	66,27	
	≥1	10	12,05	0	0,00	10	12,05	
2	FMD (%)							0,00 ^{ab}
	0-6,9	43	51,81	6	7,23	49	59,04	0,44 ^c
	7-10	19	22,89	3	3,61	22	26,51	
	10,1-24,3	12	14,46	0	0,00	12	14,46	
3	ABI							0,30 ^a
	1,10-1,30	70	84,34	8	9,64	78	93,98	0,23 ^b
	0,91-1,00	4	4,82	1	1,20	5	6,02	0,50 ^c
	≤0,90 atau ≥1,40	0	0,00	0	0,00	0	0,00	

a = Wilcoxon Signed Ranks
 b = Mann-Whitney (U Test)
 c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan CIMT (p=0,00). Ada perbedaan signifikan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan FMD (p=0,00). Tidak ada perbedaan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan ABI (p=0,23, Mann-Whitney), (p=0,30, Wilcoxon Signed Ranks).

Tidak ada hubungan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan CIMT (p=0,19). Tidak ada hubungan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan FMD

(p=0,44). Tidak ada hubungan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan ABI (p=0,50).

5.4 Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Profil Lipid (Kolesterol total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol/HDL, dan TG)

Tabel 5.4 Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol/HDL, dan TG)

No	Profil Lipid	Gen SLCO1B1				Total		P
		TT		TC		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%			
1	Kolesterol Total (mg/dL)							0,00 ^{ab} 0,745 ^c
	<200	17	20,48	4	4,82	21	25,30	
	200-239	34	40,96	3	3,61	37	44,58	
	≥240	23	27,71	2	2,41	25	30,12	
2	LDL (mg/dL)							0,00 ^{ab} 0,228 ^c
	<130	33	39,76	6	7,23	39	46,99	
	130-159	24	28,92	2	2,41	26	31,33	
	≥160	17	20,48	1	1,20	18	21,69	
3	HDL (mg/dL)							0,00 ^{ab} 0,95 ^c
	≥50	43	51,81	5	6,02	48	57,83	
	40-49	22	26,51	3	3,61	25	30,12	
	<40	9	10,84	1	1,20	10	12,05	
4	Rasio Kolesterol /HDL							0,00 ^{ab}
	<3	6	7,2	0	0	6	7,2	
	3-4,4	34	41	7	8,4	41	49,4	
	>4,4	34	41	2	2,4	36	43,2	
5	TG (mg/dL)							0,00 ^{ab} 0,52 ^c
	<200	57	68,67	8	9,64	65	78,31	
	200-399	16	19,28	0	0,00	16	19,28	
	≥400	1	1,20	1	1,20	2	2,41	

a = Wilcoxon Signed Ranks
b = Mann-Whitney (U Test)
c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan kolesterol total (p=0,00). Ada perbedaan signifikan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan LDL (p=0,00). Ada perbedaan signifikan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan HDL (p=0,00). Ada perbedaan signifikan antara

polimorfisme gen SLCO1B1 dengan rasio kolesterol/HDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan TG ($p=0,00$).

Tidak ada hubungan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan kolesterol total ($p=0,745$). Tidak ada hubungan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan LDL ($p=0,228$). Tidak ada hubungan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan HDL ($p=0,95$). Tidak ada hubungan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan TG ($p=0,52$).

5.5 Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Faktor Risiko Aterosklerosis

Tabel 5.5 Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Faktor Risiko Aterosklerosis

No	Faktor Risiko Aterosklerosis	Genotip				Total		P
		TT		TC		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%			
1	Tekanan Darah Sistolik (mmHg)							0,00 ^{ab} 0,86 ^c
	Normal (<120)	23	27,71	4	4,82	27	32,53	
	Prehipertensi(120-139)	14	16,87	0	0,00	14	16,87	
	Hipertensi stage 1 (140-159)	16	19,28	1	1,20	17	20,48	
	Hipertensi stage 2(≥160)	21	25,30	4	4,82	25	30,12	
2	Kebiasaan Merokok							0,00 ^{ab} 0,22 ^c
	Merokok	11	13,25	0	0,00	11	13,25	
	Tidak Merokok	63	75,90	9	10,84	72	86,75	

a = Wilcoxon Signed Ranks

b = Mann-Whitney (U Test)

c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan tekanan darah sistolik ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan Kebiasaan merokok ($p=0,00$).

Tidak ada hubungan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan tekanan darah sistolik ($p=0,86$). Tidak ada hubungan antara gen SLCO1B1 dengan kebiasaan merokok ($p=0,22$).

5.6 Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Karakteristik Subjek Penelitian

Tabel 5.6 Perbedaan Polimorfisme Gen SLCO1B1 dengan Karakteristik Subjek Penelitian

No	Karakteristik Subjek Penelitian	Gen SLCO1B1				Total		p
		TT		TC		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%			
1	Usia (tahun)							0,00 ^{ab} 0,05 ^c
	25-45	8	9,6	4	4,8	12	14,4	
	46-65	51	61,4	4	4,8	55	66,3	
	>65	15	18,1	1	1,2	16	19,3	
2	Jenis kelamin							0,00 ^{ab} 0,43 ^d
	Laki-laki	21	25,3	1	1,2	22	26,5	
	Perempuan	53	63,9	8	9,6	61	73,5	
3	BMI							0,00 ^{ab} 0,15 ^c
	<18,5 (Underweight)	0	0	0	0	0	0	
	18,5-24,9 (Normal)	25	30,1	1	1,2	26	31,3	
	25-29,9 (Overweight)	33	39,8	5	6,02	38	45,8	
	30-34,9 (Obesitas tipe 1)	12	14,4	2	2,4	14	16,8	
	35-39,9 (Obesitas tipe 2)	3	3,6	0	0	3	3,6	
	≥40 (Obesitas tipe 3)	1	1,2	1	1,2	2	2,4	
4	Durasi terapi Simvastatin							0,00 ^{ab} 0,06 ^c
	3 bulan-1 tahun	38	45,8	7	8,4	45	54,2	
	1-5 tahun	35	42,2	2	2,4	37	44,6	
	5-10 tahun	1	1,2	0	0	1	1,2	

a = Wilcoxon Signed Ranks

b = Mann-Whitney (U Test)

c = Spearman

d = Fisher

Ada perbedaan signifikan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan usia ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan jenis kelamin ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan BMI ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan durasi simvastatin ($p=0,00$).

Karena Chi square tidak memenuhi syarat, maka digunakan Korelasi Spearman. Tidak ada hubungan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan usia ($p=0,05$). Tidak ada hubungan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan jenis kelamin ($p=0,43$, uji Fisher). Tidak ada hubungan antara polimorfisme gen

SLCO1B1 dengan BMI ($p=0,15$). Tidak ada hubungan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan durasi Simvastatin ($p=0,06$).

5.7 Perbedaan antara Marker Aterosklerosis Dini (CIMT, FMD, ABI) dengan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol /HDL, TG)

Tabel 5.7.1 Perbedaan antara CIMT dengan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol /HDL, TG)

No	Profil Lipid	CIMT						Total		P
		<0,6		0,6-<1		≥1		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%	Σ	%			
1	Kolesterol total (mg/dL)									0,00 ^{ab} 0,39 ^c
	<200	7	8,43	12	14,46	2	2,41	21	25,30	
	200-239	6	7,23	26	31,33	5	6,02	37	44,58	
	≥240	5	6,02	17	20,48	3	3,61	25	30,11	
2	LDL (mg/dL)									0,00 ^{ab} 0,14 ^c
	<130	9	10,84	27	32,53	3	3,61	39	46,98	
	130-159	7	8,43	17	20,48	2	2,41	26	31,32	
	≥160	2	2,41	11	13,25	5	6,02	18	21,68	
3	HDL (mg/dL)									0,00 ^{ab} 0,007 ^c
	≥50	7	8,43	33	39,76	8	9,64	48	57,83	
	40-49	5	6,02	18	21,69	2	2,41	25	30,12	
	<40	6	7,23	4	4,82	0	0,00	10	12,05	
4	Rasio kolesterol/HDL									0,00 ^{ab}
	<3	0	0,00	5	6,02	1	1,20	6	7,22	
	3-4,4	8	9,64	27	32,53	6	7,23	41	49,40	
	>4,4	10	12,05	23	27,71	3	3,61	36	43,37	
5	TG (mg/dL)									0,00 ^{ab} 0,35 ^c
	<200	14	16,87	41	49,40	10	12,05	65	78,32	
	200-399	4	4,82	12	14,46	0	0,00	16	19,28	
	≥ 400	0	0,00	2	2,41	0	0,00	2	2,41	

a = Wilcoxon Signed Ranks

b = Mann-Whitney (U Test)

c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara CIMT dengan kolesterol total ($p=0,00$).

Ada perbedaan signifikan antara CIMT dengan LDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara CIMT dengan HDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara CIMT dengan rasio kolesterol/HDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara CIMT dengan TG ($p=0,00$).



Tidak ada hubungan antara kolesterol total dengan CIMT ($p=0,39$). Tidak ada hubungan antara LDL dengan CIMT ($p=0,14$). Ada hubungan antara HDL dengan CIMT (0,007), berhubungan negatif 30%. Tidak ada hubungan antara TG dengan CIMT ($p=0,35$).

Tabel 5.7.2 Perbedaan antara FMD dengan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol /HDL, TG)

No	Profil lipid	FMD (%)				Total		p	
		0-6,9		7-10		10,1-24,3			
		Σ	%	Σ	%	Σ	%		
1	Kolesterol total (mg/dL)							0,00 ^{ab} 0,88 ^c	
	<200	12	14,46	6	7,23	3	3,61	21	25,30
	200-239	23	27,71	9	10,84	5	6,02	37	44,57
	≥240	14	16,87	7	8,43	4	4,82	25	30,12
2	LDL (mg/dL)								0,00 ^{ab} 0,40 ^c
	<130	23	27,71	13	15,66	3	3,61	39	46,98
	130-159	17	20,48	5	6,02	4	4,82	26	31,32
	≥160	9	10,84	4	4,82	5	6,02	18	21,68
3	HDL (mg/dL)								0,00 ^{ab} 0,42 ^c
	≥50	26	31,33	13	15,66	9	10,84	48	57,83
	40-49	18	21,69	7	8,43	0	0,00	25	30,12
	<40	5	6,02	2	2,41	3	3,61	10	12,04
4	Rasio kolesterol/HDL								0,003 ^a 0,02 ^b
	<3	2	2,41	2	2,41	2	2,41	6	7,23
	3-4,4	26	31,33	10	12,05	5	6,02	41	49,40
	>4,4	21	25,30	10	12,05	5	6,02	36	43,37
5	TG (mg/dL)								0,00 ^{ab} 0,42 ^c
	<200	37	44,58	18	21,69	10	12,05	65	78,32
	200-399	10	12,05	4	4,82	2	2,41	16	19,28
	≥400	2	2,41	0	0,00	0	0,00	2	2,41

a = Wilcoxon Signed Ranks
b = Mann-Whitney (U Test)
c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara FMD dengan kolesterol total ($p=0,00$).

Ada perbedaan signifikan antara FMD dengan LDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara FMD dengan HDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara FMD dengan rasio kolesterol/HDL ($p=0,003$, Wilcoxon), ($p=0,02$, Mann-Whitney).

Ada perbedaan signifikan antara FMD dengan TG ($p=0,00$).

Tidak ada hubungan antara FMD dengan kolesterol total ($p=0,88$). Tidak ada hubungan antara FMD dengan LDL ($p=0,40$). Tidak ada hubungan antara FMD dengan HDL ($p=0,42$). Tidak ada hubungan antara FMD dengan TG ($p=0,42$).

Tabel 5.7.3 Perbedaan antara ABI dengan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol /HDL, TG)

No	Profil lipid	ABI				Total		P	
		1,10-1,30		0,91-1,00		Σ	%		
		Σ	%	Σ	%				
1	Kolesterol total (mg/dL)							0,00 ^{ab} 0,87 ^c	
	<200	20	24,10	1	1,20	0	0,00	21	25,3
	200-239	34	40,86	3	3,61	0	0,00	37	44,6
	≥240	24	28,92	1	1,20	0	0,00	25	30,1
2	LDL (mg/dL)								0,00 ^{ab} 0,85 ^c
	<130	37	44,58	2	2,41	0	0,00	39	47
	130-159	24	28,92	2	2,41	0	0,00	26	31,3
	≥160	17	20,48	1	1,20	0	0,00	18	21,7
3	HDL (mg/dL)								0,00 ^{ab} 0,39 ^c
	≥50	46	55,42	2	2,41	0	0,00	48	57,8
	40-49	23	27,71	2	2,41	0	0,00	25	30,1
	<40	9	10,84	1	1,20	0	0,00	10	12,1
4	Rasio kolesterol/HDL								0,00 ^{ab}
	<3	1	1,20	0	0	0	0,00	1	1,20
	3-4,4	11	13,3	0	0	0	0,00	11	13,3
	>4,4	66	79,5	5	6,02	0	0,00	71	85,5
5	TG (mg/dL)								0,00 ^{ab} 0,90 ^c
	<200	61	73,49	4	4,82	0	0,00	65	78,3
	200-399	15	18,07	1	1,20	0	0,00	16	19,3
	≥400	2	2,41	0	0,00	0	0,00	2	2,41

a = Wilcoxon Signed Ranks

b = Mann-Whitney (U Test)

c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara ABI dengan kolesterol total ($p=0,00$).

Ada perbedaan signifikan antara ABI dengan LDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara ABI dengan HDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara ABI dengan rasio kolesterol/HDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara ABI dengan TG ($p=0,00$).



Tidak ada hubungan antara kolesterol total dengan ABI ($p=0,87$). Tidak ada hubungan antara LDL dengan ABI ($p=0,85$). Tidak ada hubungan antara HDL dengan ABI ($p=0,39$). Tidak ada hubungan antara TG dengan ABI ($p=0,90$).

5.8 Perbedaan antara Marker Aterosklerosis Dini (CIMT, FMD, ABI) dengan Faktor Risiko Aterosklerosis Dini (Tekanan Darah Sistolik dan Kebiasaan Merokok)

Tabel 5.8.1 Perbedaan antara CIMT dengan Faktor Risiko Aterosklerosis Dini (Tekanan Darah Sistolik dan Kebiasaan Merokok)

No	Faktor Risiko Aterosklerosis Dini	CIMT (mm)				Total		p	
		<0,6		0,6-<1		Σ	%		
		Σ	%	Σ	%				
1	Tekanan Darah Sistolik (mmHg)							0,00 ^{ab} 0,01 ^c	
	Normal (<120)	9	10,84	18	21,69	0	0,00	27	32,53
	Prehipertensi (120-139)	3	3,61	9	10,84	2	2,41	14	16,87
	Hipertensi stage 1 (140-159)	5	6,02	11	13,25	1	1,20	17	20,48
	Hipertensi stage 2 (≥160)	1	1,20	17	20,48	7	8,43	25	30,12
2	Kebiasaan Merokok								0,00 ^{ab} 0,09 ^c
	Merokok	1	1,20	7	8,43	3	3,61	11	13,25
	Tidak Merokok	7	8,43	48	57,83	7	8,43	71	74,70

a = Wilcoxon Signed Ranks

b = Mann-Whitney (U Test)

c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara CIMT dengan tekanan darah sistolik ($p = 0,00$). Ada perbedaan signifikan antara CIMT dengan kebiasaan merokok ($p = 0,00$).

Ada hubungan antara CIMT dengan tekanan darah ($p=0,01$), berhubungan 27%. Tidak ada hubungan antara CIMT dengan kebiasaan merokok ($p=0,09$).

Tabel 5.8.2 Perbedaan antara FMD dengan Faktor Risiko Aterosklerosis Dini

Faktor Risiko Aterosklerosis Dini	FMD (%)						Total Σ	p
	0- 6,9		7-10		10,1 – 24,3			
	Σ	%	Σ	%	Σ	%		
1 Tekanan Darah Sistolik (mmHg)								0,00 ^{ab} 0,0001 ^c
Normal (<120)	8	9,64	10	12,05	9	10,84	27	32,53
Prehipertensi (120-139)	6	7,23	7	8,43	1	1,20	14	16,87
Hipertensi stage 1 (140-159)	12	14,46	3	3,61	2	2,41	17	20,48
Hipertensi stage 2 (≥160)	23	27,71	2	2,41	0	0,00	25	30,12
2 Kebiasaan Merokok								0,00 ^{ab} 0,71 ^c
Merokok	6	7,23	3	3,61	2	2,41	11	13,25
Tidak Merokok	43	51,81	19	22,89	10	12,05	72	86,75

a = Wilcoxon Signed Ranks
 b = Mann-Whitney (U Test)
 c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara FMD dengan tekanan darah sistolik (p = 0,00). Ada perbedaan signifikan antara FMD dengan kebiasaan merokok (p = 0,00).

Ada hubungan antara FMD dengan tekanan darah (p=0,0001), berhubungan negatif 54%. Tidak ada hubungan antara FMD dengan kebiasaan merokok (p=0,71).

Tabel 5.8.3 Perbedaan antara ABI dengan Faktor Risiko Aterosklerosis Dini

No	Faktor Risiko Aterosklerosis Dini	ABI				Total		p	
		1,10-1,30		0,91-1,00		Σ	%		
		Σ	%	Σ	%				
1	Tekanan Darah Sistolik (mmHg)							0,00 ^{ab} 0,03 ^c	
	Normal (<120)	27	32,53	0	0,00	0	0,00	27	32,53
	Prehipertensi (120-139)	13	15,66	1	1,20	0	0,00	14	16,87
	Hipertensi stage 1 (140-159)	17	20,48	0	0,00	0	0,00	17	20,48
	Hipertensi stage 2 (≥160)	21	25,30	4	4,82	0	0,00	25	30,12
2	Kebiasaan Merokok								0,00 ^{ab} 0,37 ^c
	Merokok	11	13,25	0	0,00	0	0,00	11	13,25
	Tidak Merokok	67	80,72	5	6,02	0	0,00	71	86,75

a = Wilcoxon Signed Ranks

b = Mann-Whitney (U Test)

c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara ABI dengan tekanan darah sistolik (p=0,00). Ada perbedaan signifikan antara ABI dengan kebiasaan merokok (p=0,00).

Ada hubungan antara ABI dengan tekanan darah (p=0,03), berhubungan 24%. Tidak ada hubungan antara ABI dengan kebiasaan merokok (p=0,37).

5.9 Perbedaan antara Marker Aterosklerosis Dini (CIMT, FMD, ABI) dengan Karakteristik Pasien (Usia, Jenis kelamin, BMI, Durasi Simvastatin)

Tabel 5.9.1 Perbedaan antara CIMT dengan Karakteristik Subjek Penelitian

No	Karakteristik Subjek Penelitian	CIMT (mm)						Total		P
		<0,6		0,6-<1		≥1		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%	Σ	%			
1	Usia (tahun)								0,00 ^{ab} 0,01 ^c	
	26-45	6	7,23	6	7,23	0	0,00	12	14,46	
	46-65	8	9,64	41	49,4	6	7,23	55	66,27	
	>65	4	4,82	8	9,64	4	4,82	16	19,28	
2	Jenis Kelamin								0,00 ^{ab} 0,99 ^c	
	Laki-laki	6	7,23	12	14,46	4	4,28	22	25,97	
	Perempuan	12	14,46	43	51,81	6	7,23	61	73,50	
3	BMI								0,00 ^{ab} 0,52 ^c	
	<18,5 (Underweight)	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	
	18,5-24,9 (Normal)	7	8,43	15	18,07	4	4,82	26	31,32	
	25-29,9 (Overweight)	10	12,05	24	28,92	4	4,82	38	45,79	
	30-34,9 (Obesitas tipe 1)	1	1,20	12	14,46	1	1,20	14	16,86	
	35-39,9 (Obesitas tipe 2)	0	0,00	2	2,41	1	1,20	3	3,61	
	≥40 (Obesitas tipe 3)	0	0,00	2	2,41	0	0,00	2	2,41	
4	Durasi Simvastatin								0,00 ^{ab} 0,93 ^c	
	3 bulan-1 tahun	10	12,50	29	34,94	6	7,23	45	54,67	
	1-5 tahun	8	9,64	25	30,12	4	4,28	37	44,04	
	5-10 tahun	0	0,00	1	1,20	0	0,00	1	1,20	

a = Wilcoxon Signed Ranks

b = Mann-Whitney (U Test)

c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara CIMT dengan usia (p=0,00). Ada perbedaan signifikan antara CIMT dengan jenis kelamin (p=0,00). Ada perbedaan signifikan antara CIMT dengan BMI (p=0,00). Ada perbedaan signifikan antara CIMT dengan durasi simvastatin (p=0,00).

Ada hubungan antara usia dengan CIMT (p=0,01). Tidak ada hubungan antara jenis kelamin dengan CIMT (p=0,99). Tidak ada hubungan antara BMI dengan CIMT (p=0,52). Tidak ada hubungan antara durasi simvastatin dengan CIMT.



Tabel 5.9.2 Perbedaan antara FMD dengan Karakteristik Subjek Penelitian

No	Karakteristik Subjek Penelitian	FMD (%)						Total		P
		0-6,9		7-10		10,1-24,3		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%	Σ	%			
1	Usia (tahun)								0,00 ^{ab} 0,02 ^c	
	26-45	7	8,43	5	6,02	0	0,00	12	14,45	
	46-65	28	33,73	16	19,28	11	13,25	55	66,26	
	>65	14	16,87	1	1,2	1	1,20	16	19,27	
2	Jenis Kelamin								0,00 ^{ab} 0,71 ^c	
	Laki-laki	12	14,46	7	8,43	3	3,61	22	26,50	
	Perempuan	37	44,58	15	18,07	9	10,84	61	73,49	
3	BMI								0,00 ^{ab} 0,37 ^c	
	<18,5 (Underweight)	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	
	18,5-24,9 (Normal)	16	19,28	8	9,64	2	2,41	26	31,33	
	25-29,9 (Overweight)	23	27,71	8	9,64	7	8,43	38	45,78	
	30-34,9 (Obesitas tipe 1)	8	9,64	4	4,28	2	2,41	14	16,33	
	35-39,9 (Obesitas tipe 2)	2	2,41	1	1,20	0	0,00	3	3,61	
	≥40 (Obesitas tipe 3)	0	0,00	1	1,20	1	1,20	2	2,40	
4	Durasi Simvastatin								0,00 ^{ab} 0,006 ^c	
	3 bulan-1 tahun	33	39,76	8	9,64	4	4,82	45	54,22	
	1-5 tahun	15	18,70	14	16,87	8	9,64	37	45,21	
	5-10 tahun	1	1,20	0	0,00	0	0,00	1	1,20	

a = Wilcoxon Signed Ranks

b = Mann-Whitney (U Test)

c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara FMD dengan usia ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara FMD dengan jenis kelamin ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara FMD dengan BMI ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara FMD dengan durasi simvastatin ($p=0,00$).

Ada hubungan negatif antara usia dengan FMD ($p=0,02$). Tidak ada hubungan antara jenis kelamin dengan FMD ($p=0,71$). Tidak ada hubungan antara BMI dengan FMD ($p=0,37$). Ada hubungan sangat signifikan antara durasi simvastatin dengan FMD ($p=0,006$).



Tabel 5.9.3 Perbedaan antara ABI dengan Karakteristik Subjek Penelitian

No	Karakteristik Subjek Penelitian	ABI						Total		p
		1,00-1,30		0,91-1,00		<=0,91 atau >=1,40		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%	Σ	%			
1	Usia (tahun)									0,00 ^{ab} 0,04 ^c
	26-45	12	14,46	0	0,00	0	0,00	12	14,46	
	46-65	52	62,65	3	3,61	0	0,00	55	66,26	
	>65	14	16,87	2	2,41	0	0,00	16	19,28	
2	Jenis Kelamin									0,00 ^{ab} 0,17 ^c
	Laki-laki	22	26,51	0	0,00	0	0,00	22	26,51	
	Perempuan	56	67,47	5	6,02	0	0,00	61	73,49	
3	BMI									0,00 ^{ab} 0,03 ^c
	18,5-24,9 (Normal)	26	31,33	0	0,00	0	0,00	26	31,33	
	25-29,9 (Overweight)	36	43,37	2	2,41	0	0,00	38	45,78	
	30-34,9 (Obesitas tipe 1)	12	14,46	2	2,41	0	0,00	14	16,87	
	35-39,9 (Obesitas tipe 2)	2	2,41	1	1,20	0	0,00	3	3,61	
	≥40 (Obesitas tipe 3)	2	2,41	0	0,00	0	0,00	2	2,41	
4	Durasi Simvastatin									0,00 ^{ab} 0,77 ^c
	3 bulan-1 tahun	42	50,60	3	3,61	0	0,00	45	54,21	
	1-5 tahun	35	42,17	2	2,41	0	0,00	37	44,58	
	5-10 tahun	1	1,20	0	0,00	0	0,00	1	1,20	

a = Wilcoxon Signed Ranks
b = Mann-Whitney (U Test)
c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara ABI dengan usia ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara ABI dengan jenis kelamin ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara ABI dengan BMI ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara ABI dengan durasi simvastatin ($p=0,00$).

Ada hubungan antara usia dengan ABI ($p=0,04$). Tidak ada hubungan antara jenis kelamin dengan ABI ($p=0,17$). Ada hubungan antara BMI dengan ABI ($p=0,03$). Tidak ada hubungan antara durasi simvastatin dengan ABI ($p=0,77$).

5.10 Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol/HDL, TG) dengan Risiko Aterosklerosis Dini (Tekanan Darah Sistolik dan Kebiasaan Merokok)

Tabel 5.10.1 Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol, TG) dengan Tekanan Darah Sistolik

No	Profil Lipid	Tekanan Darah Sistolik (mmHg)								Total		p
		Normal (<120)		Pre-hipertensi (120-139)		Hipertensi stage 1 (140-159)		Hipertensi stage 2 (≥160)		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%	Σ	%	Σ	%			
1	Kolesterol total (mg/dL)											0,00 ^{ab}
	<200	8	9,60	2	2,40	6	7,20	5	6,02	21	25,22	
	200-239	9	10,80	10	12,00	4	4,80	14	16,87	37	44,47	
	≥240	10	12,00	2	2,40	7	8,40	6	7,23	25	30,03	
2	LDL (mg/dL)											0,004 ^a 0,005 ^b 0,92 ^c
	<130	13	15,66	5	6,02	8	9,64	13	15,66	39	46,98	
	130-159	9	10,84	7	8,43	5	6,02	5	6,02	26	31,31	
	≥160	5	6,02	2	2,41	4	4,82	7	8,43	18	21,68	
3	HDL (mg/dL)											0,00 ^{ab} 0,456 ^c
	≥50	16	19,28	7	8,43	8	9,64	17	20,48	48	57,83	
	40-49	6	7,23	6	7,23	7	8,43	6	7,23	25	30,12	
	<40	5	6,02	1	1,20	2	2,41	2	2,41	10	12,04	
4	Rasio kolesterol/HDL											0,00 ^{ab}
	<3	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	1,20	1	1,20	
	3-4,4	8	9,64	5	6,02	1	1,20	7	8,43	21	25,30	
	>4,4	19	22,89	9	10,84	16	19,28	17	20,48	61	73,49	
5	TG (mg/dL)											0,00 ^a 0,0005 ^b 0,49 ^c
	<200	23	27,71	12	14,46	9	10,84	21	25,30	65	78,31	
	200-399	4	4,82	2	2,41	7	8,43	3	3,61	16	19,27	
	≥400	0	0,00	0	0,00	1	1,20	1	1,20	2	2,40	

a = Wilcoxon Signed Ranks

b = Mann-Whitney (U Test)

c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara Kolesterol total dengan tekanan darah sistolik (p=0,00). Ada perbedaan signifikan antara LDL dengan tekanan darah sistolik (p=0,004, Wilcoxon, p=0,005, Mann-Whitney). Ada perbedaan signifikan antara HDL dengan tekanan darah sistolik (p=0,00). Ada perbedaan signifikan antara rasio kolesterol/HDL dengan tekanan darah sistolik (p=0,00). Ada perbedaan signifikan antara TG dengan tekanan darah sistolik (p=0,00, Wilcoxon, p = 0,0005, Mann-Whitney).

Tidak ada hubungan antara tekanan darah dengan LDL ($p=0,92$). Tidak ada hubungan antara tekanan darah dengan HDL ($p=0,456$). Tidak ada hubungan antara tekanan darah dengan TG ($p=0,49$).

Tabel 5.10.2 Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol total, LDL, HDL, Rasio Kolesterol, TG) dengan Kebiasaan Merokok

No	Profil Lipid	Kebiasaan Merokok				Total		p
		Merokok		Tidak merokok		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%			
1	Kolesterol total (mg/dL)							0,00 ^{ab}
	<200	2	2,41	19	22,89	21	25,30	
	200-239	5	6,02	32	38,55	37	44,58	
	≥240	4	4,82	21	25,30	25	30,12	
2	LDL (mg/dL)							0,00 ^{ab} 0,41 ^c
	<130	6	7,23	33	39,76	39	46,99	
	130-159	4	4,82	22	26,51	26	31,33	
	≥160	1	1,20	17	20,48	18	21,69	
3	HDL (mg/dL)							0,00 ^{ab} 0,32 ^c
	≥50	8	9,64	40	48,19	48	57,83	
	40-49	2	2,41	23	27,71	25	30,12	
	<40	1	1,20	9	10,84	10	12,05	
4	Rasio kolesterol/HDL							0,00 ^{ab}
	<3	0	0,00	1	1,20	1	1,20	
	3-4,4	5	6,02	16	19,28	21	25,30	
	>4,4	6	7,23	55	66,27	61	73,49	
5	TG (mg/dL)							0,00 ^{ab} 0,56 ^c
	<200	8	9,64	57	68,67	65	78,31	
	200-399	2	2,41	14	16,87	16	19,28	
	≥400	1	1,20	1	1,20	2	2,41	

a = Wilcoxon Signed Ranks
 b = Mann-Whitney (U Test)
 c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara Kolesterol total dengan kebiasaan merokok ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara LDL dengan kebiasaan merokok ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara HDL dengan kebiasaan merokok ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara rasio kolesterol/HDL dengan

kebiasaan merokok ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara TG dengan kebiasaan merokok ($p=0,00$).

Tidak ada hubungan antara kebiasaan merokok dengan LDL ($p=0,41$).

Tidak ada hubungan antara kebiasaan merokok dengan HDL ($p=0,32$). Tidak ada hubungan antara kebiasaan merokok dengan TG ($p=0,56$).

5.11 Perbedaan Karakteristik Subjek Penelitian (Usia, Jenis kelamin, BMI, Durasi Simvastatin) dengan Risiko Aterosklerosis Dini (Tekanan Darah Sistolik dan Kebiasaan Merokok)

Tabel 5.11.1 Perbedaan Karakter Subjek Penelitian (Usia, Jenis Kelamin, BMI, Durasi Simvastatin) dengan Tekanan Darah Sistolik

No	Karakter Subjek Penelitian	Tekanan Darah Sistolik (mmHg)								Total		p
		Normal (<120)		Pre-hipertensi (120-139)		Hipertensi stage 1 (140-159)		Hipertensi stage 2 (≥ 160)		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%	Σ	%	Σ	%			
1	Jenis Kelamin											0,00 ^{ab} 0,07 ^c
	Laki-laki	10	12,05	3	3,61	6	7,23	3	3,61	22	26,51	
	Perempuan	17	20,48	11	13,25	11	13,25	22	26,51	61	73,49	
2	Usia (tahun)											0,00 ^{ab} 0,01 ^c
	26-45	5	6,02	1	1,20	3	3,61	3	3,61	12	14,46	
	46-65	21	25,30	10	12,05	11	13,25	13	15,66	55	66,27	
	>65	1	1,20	3	3,61	3	3,61	9	10,84	16	19,28	
3	BMI											0,00 ^{ab} 0,66 ^c
	18,5-24,9 (Normal)	6	7,23	8	9,64	6	7,23	6	7,23	26	31,33	
	25-29,9 (Overweight)	15	18,07	5	6,02	7	8,43	11	13,25	38	45,78	
	30-34,9 (Obesitas tipe 1)	5	6,02	1	1,20	3	3,61	5	6,02	14	16,87	
	35-39,9 (Obesitas tipe 2)	0	0,00	0	0,00	1	1,20	2	2,41	3	3,61	
	≥ 40 (Obesitas tipe 3)	1	1,20	0	0,00	0	0,00	1	1,20	2	2,41	
4	Durasi Simvastatin											0,00 ^{ab} 0,05 ^c
	3 bulan-1 tahun	11	13,25	7	8,43	10	12,05	17	20,48	45	54,22	
	1-5 tahun	16	19,28	7	8,43	7	8,43	8	9,64	38	45,78	
	5-10 tahun	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	

a = Wilcoxon Signed Ranks

b = Mann-Whitney (U Test)

c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara tekanan darah sistolik dengan jenis kelamin ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara tekanan darah sistolik dengan usia ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara tekanan darah sistolik dengan BMI ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara tekanan darah sistolik dengan durasi Simvastatin ($p=0,00$).

Tidak ada hubungan antara tekanan darah dengan jenis kelamin ($p=0,07$). Ada hubungan antara tekanan darah dengan usia ($p=0,01$). Tidak ada hubungan antara tekanan darah dengan BMI (0,66). Ada hubungan antara tekanan darah dengan BMI (0,05), hubungan negatif.

Tabel 5.11.2 Perbedaan Karakteristik Subjek Penelitian (Usia, Jenis kelamin, BMI, Durasi Simvastatin) dengan Kebiasaan Merokok

No	Karakter Subjek Penelitian	Kebiasaan merokok				Total		p
		Merokok		Tidak merokok		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%			
1	Jenis Kelamin							0,07 ^b 0,002 ^a 0,001 ^c
	Laki-laki	10	12,05	0	0,00	10	12,05	
	Perempuan	1	1,20	72	86,75	73	87,95	
2	Usia (tahun)							0,00 ^{ab} 0,17 ^c
	26-45	1	1,20	11	13,25	12	14,46	
	46-65	8	9,64	47	56,63	55	66,27	
	>65	2	2,41	14	16,87	16	19,28	
3	BMI							0,00 ^{ab} 0,12 ^c
	18,5-24,9 (Normal)	7	8,43	19	22,89	26	31,33	
	25-29,9 (Overweight)	3	3,61	35	42,17	38	45,78	
	30-34,9 (Obesitas tipe 1)	1	1,20	13	15,66	14	16,87	
	35-39,9 (Obesitas tipe 2)	0	0,00	3	3,61	3	3,61	
	≥40 (Obesitas tipe 3)	0	0,00	2	2,41	2	2,41	
4	Durasi Simvastatin							0,00 ^{ab} 0,95 ^c
	3 bulan-1 tahun	6	7,23	5	6,02	11	13,25	
	1-5 tahun	39	46,99	32	38,55	71	85,54	
	5-10 tahun	0	0,00	1	1,20	1	1,20	

a = Wilcoxon Signed Ranks

b = Mann-Whitney (U Test)

c = Spearman

Tidak ada perbedaan signifikan antara kebiasaan merokok dengan jenis kelamin ($p=0,07$, Mann-Whitney, $p=0,002$, Wilcoxon). Ada perbedaan signifikan antara kebiasaan merokok dengan usia ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara kebiasaan merokok dengan BMI ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara kebiasaan merokok dengan durasi Simvastatin ($p=0,00$).

Ada hubungan antara kebiasaan merokok dengan jenis kelamin ($p=0,001$), berhubungan 57%. Tidak ada hubungan antara kebiasaan merokok dengan usia ($p=0,17$). Ada hubungan antara kebiasaan merokok dengan BMI ($p=0,12$), berhubungan signifikan 25%. Tidak ada hubungan antara kebiasaan merokok dengan durasi simvastatin ($p=0,95$).

5.12 Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, TG) dengan Karakteristik Pasien (Usia, Jenis kelamin, BMI, Durasi Simvastatin)

Tabel 5.12.1 Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, TG) dengan Usia

No	Profil Lipid	Usia (Tahun)						Total		p
		25-45		46-65		>65		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%	Σ	%	Σ	%	
1	Kolesterol Total (mg/dL)									0,00 ^{ab} 0,04 ^c
	<200	2	2,41	15	18,07	4	4,82	21	25,30	
	200-239	5	6,02	24	28,92	10	12,05	39	46,99	
	≥240	5	6,02	16	19,28	2	2,41	13	27,71	
2	LDL (mg/dL)									0,00 ^{ab} 0,58 ^c
	<130	7	8,43	27	32,53	5	6,02	39	46,99	
	130-159	5	6,02	13	15,66	8	9,64	26	31,33	
	≥160	0	0,00	15	18,07	3	3,61	18	21,69	
3	HDL (mg/dL)									0,161 ^a 0,17 ^b 0,31 ^c
	≥50	8	9,64	33	39,76	7	8,43	48	57,83	
	40-49	3	3,61	16	19,28	6	7,23	25	30,12	
	<40	1	1,20	6	7,23	3	3,61	10	12,05	
4	Rasio kolesterol/HDL									0,00 ^{ab}
	<3	2	2,41	3	3,61	1	1,20	6	7,23	
	3-4,4	5	6,02	26	31,33	10	12,05	41	49,40	
	>4,4	5	6,02	25	30,12	6	7,23	36	43,37	
5	TG (mg/dL)									0,00 ^{ab} 0,55 ^c
	<200	9	10,84	44	53,01	13	15,66	66	79,52	
	200-399	2	2,41	11	13,25	2	2,41	15	18,07	
	≥400	2	2,41	0	18,07	0	0,00	2	20,48	

a = Wilcoxon Signed Ranks, b = Mann-Whitney (U Test), c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara usia dengan kolesterol total ($p=0,00$).

Ada perbedaan signifikan antara usia dengan LDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara usia dengan HDL ($p=0,161$, Wilcoxon, $p=0,17$, Mann-Whitney).

Ada perbedaan signifikan antara usia dengan rasio kolesterol/HDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara usia dengan TG ($p=0,00$).

Ada hubungan antara usia dengan kolesterol total ($p=0,04$). Tidak ada hubungan antara usia dengan LDL (0,58). Tidak ada hubungan antara usia dengan HDL (0,31). Tidak ada hubungan antara usia dengan TG (0,55).

Tabel 5.12.2 Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, TG) dengan Jenis Kelamin

No	Profil Lipid	Jenis kelamin				Total		p
		Laki-laki		Perempuan		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%			
1	Kolesterol Total (mg/dL)							0,00 ^{ab} 0,74 ^c
	<200	7	8,43	14	16,87	21	25,30	
	200-239	8	9,64	28	33,73	37	43,37	
	≥240	7	8,43	18	21,69	25	30,12	
2	LDL (mg/dL)							0,00 ^{ab} 0,30 ^c
	<130	12	14,46	27	32,53	39	46,99	
	130-159	7	8,43	19	22,89	26	31,33	
	≥160	3	3,61	15	18,07	18	21,69	
3	HDL (mg/dL)							0,00 ^{ab} 0,96 ^c
	≥50	13	15,66	35	42,17	48	57,83	
	40-49	6	7,23	19	22,89	25	30,12	
	<40	3	3,61	7	8,43	10	12,05	
4	Rasio kolesterol/HDL							0,00 ^{ab}
	<3	1	1,20	5	6,02	6	7,23	
	3-4,4	14	16,87	27	32,53	41	49,40	
	>4,4	7	8,43	29	34,94	36	43,37	
5	TG (mg/dL)							0,00 ^{ab} 0,85 ^c
	<200	17	20,48	48	57,83	65	78,31	
	200-399	4	4,82	12	14,46	16	19,28	
	≥400	1	1,20	1	1,20	2	2,41	

a = Wilcoxon Signed Ranks,
b = Mann-Whitney (U Test)
c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara jenis kelamin dengan kolesterol total (p=0,00). Ada perbedaan signifikan antara jenis kelamin dengan LDL (p=0,00).

Ada perbedaan signifikan antara jenis kelamin dengan HDL (p=0,00). Ada perbedaan signifikan antara jenis kelamin dengan rasio kolesterol/HDL (p=0,00).

Ada perbedaan signifikan antara jenis kelamin dengan TG (p=0,00).

Tidak ada hubungan antara jenis kelamin dengan kolesterol total (p=0,74). Tidak ada hubungan antara jenis kelamin dengan LDL (p=0,30). Tidak ada hubungan antara jenis kelamin dengan HDL (p=0,96). Tidak ada hubungan antara jenis kelamin dengan TG (p=0,85).

Tabel 5.12.3 Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, TG) dengan BMI

No	Profil Lipid	BMI										Total		P
		Normal		Over-weight		Obesitas tipe 1		Obesitas tipe 2		Obesitas tipe 3		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%	Σ	%	Σ	%	Σ	%			
1	Kolesterol Total (mg/dL)													0,00 ^{ab} 0,79 ^c
	<200	7	8,43	8	9,64	4	4,82	1	1,20	1	1,20	21	25,30	
	200-239	10	12,05	21	25,30	3	3,61	2	2,41	1	1,20	37	44,58	
	≥240	9	10,84	9	10,84	7	8,43	0	0,00	0	0,00	25	30,12	
2	LDL (mg/dL)													0,00 ^{ab} 0,40 ^c
	<130	11	13,25	18	21,69	7	8,43	1	1,20	2	2,41	39	46,99	
	130-159	9	10,84	12	14,46	4	4,82	1	1,20	0	0,00	26	31,33	
	≥160	6	7,23	8	9,64	3	3,61	1	1,20	0	0,00	18	21,69	
3	HDL (mg/dL)													0,00 ^{ab} 0,81 ^c
	≥50	16	19,28	21	25,30	7	8,43	2	2,41	2	2,41	48	57,83	
	40-49	4	4,82	14	16,87	6	7,23	1	1,20	0	0,00	25	30,12	
	<40	6	7,23	3	3,61	1	1,20	0	0,00	0	0,00	10	12,05	
4	Rasio kolesterol/HDL													0,00 ^{ab}
	<3	0	0,00	1	1,20	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	1,20	
	3-4,4	14	16,87	21	25,30	7	8,43	2	2,41	2	2,41	46	55,42	
	>4,4	12	14,46	16	19,28	7	8,43	1	1,20	0	0,00	36	43,37	
5	TG (mg/dL)													0,00 ^{ab} 0,53 ^c
	<200	21	25,30	30	36,14	10	12,05	2	2,41	2	2,41	65	78,31	
	200-399	5	6,02	8	9,64	3	3,61	1	1,20	0	0,00	17	20,48	
	≥400	0	0,00	0	0,00	1	1,20	0	0,00	0	0,00	1	1,20	

a = Wilcoxon Signed Ranks
 b = Mann-Whitney (U Test)
 c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara BMI dengan kolesterol total ($p=0,00$).

Ada perbedaan signifikan antara BMI dengan LDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara BMI dengan HDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara BMI dengan rasio kolesterol/HDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara BMI dengan TG ($p=0,00$).

Tidak ada hubungan antara BMI dengan kolesterol total ($p=0,79$). Tidak ada hubungan antara BMI dengan LDL ($p=0,40$). Tidak ada hubungan antara BMI dengan HDL ($p=0,81$). Tidak ada hubungan antara BMI dengan TG ($p=0,53$).

Tabel 5.12.4 Perbedaan Profil Lipid (Kolesterol Total, LDL, HDL, TG) dengan Durasi Simvastatin

No	Profil Lipid	Durasi Simvastatin						Total		P
		3 bl-1 th		1 th-5 th		5-10 th		Σ	%	
		Σ	%	Σ	%	Σ	%			
1	Kolesterol Total (mg/dL)									0,00 ^{ab}
	<200	11	13,25	10	12,05	0	0,00	21	25,30	
	200-239	20	24,10	16	19,28	1	1,20	37	44,58	
	≥240	14	16,87	11	13,25	0	0,00	25	30,12	
2	LDL (mg/dL)									0,00 ^{ab}
	<130	23	27,71	15	18,07	1	1,20	39	46,99	
	130-159	13	15,66	13	15,66	0	0,00	26	31,33	
	≥160	9	10,84	9	10,84	0	0,00	18	21,69	
3	HDL (mg/dL)									0,00 ^{ab}
	≥50	26	31,33	22	26,51	0	0,00	48	57,83	
	40-49	13	15,66	11	13,25	1	1,20	25	30,12	
	<40	6	7,23	4	4,82	0	0,00	10	12,05	
4	Rasio kolesterol/HDL									0,00 ^{ab}
	<3	2	2,41	4	4,82	0	0,00	6	7,23	
	3-4,4	24	28,92	17	20,48	0	0,00	41	49,40	
	>4,4	19	22,89	16	19,28	1	1,20	36	43,37	
5	TG (mg/dL)									0,00 ^{ab}
	<200	33	39,76	32	38,55	0	0,00	65	78,31	
	200-399	10	12,05	5	6,02	1	1,20	16	19,28	
	≥400	2	2,41	0	0,00	0	0,00	2	2,41	

a = Wilcoxon Signed Ranks
 b = Mann-Whitney (U Test)
 c = Spearman

Ada perbedaan signifikan antara durasi simvastatin dengan kolesterol total ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara durasi simvastatin dengan LDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara durasi simvastatin dengan HDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara durasi simvastatin dengan rasio kolesterol/HDL ($p=0,00$). Ada perbedaan signifikan antara durasi simvastatin dengan TG ($p=0,00$).



BAB VI PEMBAHASAN

Karakteristik Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah pasien poliklinik Penyakit Jantung di Rumah Sakit Anwar Medika, Sidoarjo. Pasien dengan diagnosis hipertensi yang mendapatkan terapi obat hipertensi dan simvastatin untuk kolesterol. Didapatkan 89 pasien, tetapi hanya diambil pasien suku Jawa saja. Jadi yang dimasukkan dalam penelitian hanya 83 pasien.

Data karakteristik Responden dalam penelitian ini berdasarkan pada: usia, jenis kelamin, dan durasi pemberian simvastatin.

Jenis kelamin perempuan (73%) lebih banyak tiga kali lipat daripada laki-laki (27%). Dari data penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pasien hipertensi lebih banyak perempuan daripada laki-laki. Tetapi memerlukan data pembandingan lain untuk memastikan. Berdasarkan survei penduduk antar sensus (Supas) 2015 jumlah penduduk Indonesia pada 2019 diproyeksikan mencapai 266,91 juta jiwa. Menurut jenis kelamin, jumlah tersebut terdiri atas 134 juta jiwa laki-laki dan 132,89 juta jiwa perempuan.

Usia paling muda 25 tahun, dan paling tua 73 tahun, rata-rata 55,8 tahun, dan paling banyak pada kisaran 46-65 tahun (66%). Dari data ini didapatkan bahwa pasien penyakit jantung khususnya hipertensi tidak hanya pada lanjut usia saja, tetapi bisa juga usia muda. Berdasarkan Supas, penduduk dengan kelompok umur 0-14 tahun (usia anak-anak) mencapai 66,17 juta jiwa atau sekitar 24,8% dari total populasi. Kemudian penduduk kelompok umur 15-64 tahun (usia produktif) sebanyak 183,36 juta jiwa atau sebesar 68,7% dan kelompok umur lebih dari 65 tahun (usia sudah tidak produktif) berjumlah 17,37 juta jiwa atau sebesar 6,51% dari total populasi.

Hipertensi adalah suatu keadaan ketika tekanan darah di pembuluh darah meningkat secara kronis. Hal tersebut dapat terjadi karena jantung bekerja lebih keras memompa darah untuk memenuhi kebutuhan oksigen dan nutrisi tubuh.

Jika dibiarkan, penyakit ini dapat mengganggu fungsi organ-organ lain, terutama organ-organ vital seperti jantung dan ginjal. Didefinisikan sebagai hipertensi jika

pernah didiagnosis menderita hipertensi/penyakit tekanan darah tinggi oleh tenaga kesehatan (dokter/perawat/bidan) atau belum pernah didiagnosis

menderita hipertensi tetapi saat diwawancara sedang minum obat medis untuk tekanan darah tinggi (minum obat sendiri). Kriteria hipertensi yang digunakan

pada penetapan kasus merujuk pada kriteria diagnosis JNC VII 2003, yaitu hasil pengukuran tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg atau tekanan darah diastolik ≥ 90

mmHg. Kriteria JNC VII 2003 hanya berlaku untuk umur ≥ 18 tahun, maka prevalensi hipertensi berdasarkan pengukuran tekanan darah dihitung hanya

pada penduduk umur ≥ 18 tahun. Mengingat pengukuran tekanan darah dilakukan pada penduduk umur ≥ 15 tahun maka temuan kasus hipertensi pada

umur 15-17 tahun sesuai kriteria JNC VII 2003 akan dilaporkan secara garis besar sebagai tambahan informasi. Prevalensi hipertensi di Indonesia yang

didapat melalui pengukuran pada umur ≥ 18 tahun sebesar 25,8 persen. Prevalensi hipertensi di Indonesia yang didapat melalui kuesioner terdiagnosis

tenaga kesehatan sebesar 9,4 persen, yang didiagnosis tenaga kesehatan atau sedang minum obat sebesar 9,5 persen. Jadi, ada 0,1 persen yang minum obat

sendiri. Responden yang mempunyai tekanan darah normal tetapi sedang minum obat hipertensi sebesar 0,7 persen. Jadi prevalensi hipertensi di

Indonesia sebesar 26,5 persen (25,8% + 0,7 %). Pada analisis hipertensi terbatas pada usia 15-17 tahun menurut JNC VII 2003 didapatkan prevalensi

nasional sebesar 5,3 persen (laki-laki 6,0% dan perempuan 4,7%), perdesaan (5,6%) lebih tinggi dari perkotaan (5,1%).

Durasi pemberian simvastatin, paling sedikit 3 bulan dan paling lama 10 tahun, dengan rata-rata 12,45 bulan atau 1 tahun. Dari data ini dapat disimpulkan bahwa kepatuhan pasien untuk kontrol dan berobat sudah baik. Tapi perlu data pasien yang tidak patuh untuk kontrol sebagai perbandingan.

Kadar kolesterol LDL, paling rendah 45 mg/dL, dan paling tinggi 200 mg/dL, dengan rata-rata 133,14 mg/dL, dan terbanyak pada kategori risiko rendah (47%). Dari data ini dapat disimpulkan bahwa terapi Simvastatin berhasil menekan faktor risiko ke level kategori risiko rendah. Sedangkan kategori risiko sedang dan tinggi sebanyak 53% masih harus diberi terapi secara agresif, menggunakan obat kolesterol selain golongan statin.

Marker Aterosklerosis Dini

Nilai CIMT, paling rendah 0,417 mm, dan paling tinggi 1,27 mm, dengan rata-rata 0,74 mm, dan terbanyak pada kategori risiko sedang (66%). Dari data ini didapatkan bahwa keadaan carotis intima subjek penelitian terbanyak pada risiko sedang, dengan rata-rata 0,74 mm (normal menurut kriteria Eropa < 0,60 mm). Jadi walaupun didapatkan keberhasilan terapi simvastatin pada kadar kolesterol LDL, tetapi hal ini tidak menyebabkan keadaan pembuluh darah menjadi normal juga.

Variasi (polimorfisme) pada gen SLCO1B1 menyebabkan penurunan kemampuan proses metabolisme obat, antara lain simvastatin. Hasil studi polimorfisme, didapatkan hasil abnormal pada 9 persen populasi, perubahan protein building blockin tunggal pada protein OATP1B1: asam amino valine pada posisi 174 digantikan oleh asam amino alanine (V174A atau SLCO1B1*5).

Protein yang dihasilkan dari senyawa versi ini dari gen SLCO1B1, tidak dapat men-transport senyawa ke liver, yang menyebabkan peningkatan kadar senyawa dalam tubuh. Apabila statin tidak dapat masuk ke dalam liver, maka akan

terkumpul dalam tubuh, menyebabkan miopati yang gejalanya adalah fatigue, nyeri, bengkak, lemah, spasme otot. Pasien dengan polimorfisme V174A yang diberi statin, meningkatkan risiko terjadinya miopati.

Polimorfisme SLCO1B1 frekuensinya berbeda-beda diantara populasi ras dan etnis. Frekuensi SLCO1B1 alel c388G (*1b) pada Kaukasian, Asian dan African-American berturut-turut sekitar 40%, 60% dan 75% dan 521T>C pada kodon 174 berturut-turut sekitar 15%, 15% dan 2% (Giacomini *et al.*, 2010).

Sedangkan dari penelitian ini didapatkan frekuensi gen SLCO1B1, alel TT homozygot: 89%, alel TC heterozygot: 11%. Tidak didapatkan alel CC homozygot (0%). Frekuensi gen CYP3A4: semua alel TT homozygot (100%). Tidak didapatkan alel heterozygot TC (0%), dan homozygot CC (0%).

Statin (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor) digunakan untuk terapi hiperkolesterolemia dan prevensi penyakit jantung koroner. Terdapat variabilitas interindividual yang lebar pada respons terhadap terapi statin, yaitu pada efek penurunan kolesterol dan timbulnya efek samping.

Tempat kerja statin yang utama adalah di hepatosit. Variasi genetik transporter hepatic influks dan efluks menyebabkan perbedaan potensi statin. Single-nucleotide polymorphism (SNP) c.521T>C pada gen solute carrier organic anion transporter 1B1 (SLCO1B1), mengkode transporter influks organic anion transporter polypeptide 1B1 (OATP1B1). Hal ini dapat memprediksi efikasi terapi statin dan timbulnya efek samping pada pasien.

Transporter influks yang telah terbukti adalah OATP1B1 (SLCO1B1).

Sedangkan studi tentang OATP1B3 (SLCO1B3; yang diekskresikan secara eksklusif di liver) dan transporter OATP2B1 (SLCO2B1) masih jarang dilakukan.

Meskipun atorvastatin, fluvastatin, pravastatin dan rosuvastatin dapat dijumpai pada substrat in-vitro, tidak ada penelitian yang berhasil menunjukkan hubungan

antara SNP pada transporter ini dengan respons in vivo terhadap statin (Niemi, 2007).

Dari 14 SNP yang dapat diidentifikasi, hanya tiga yang timbul pada frekuensi $>0,02$ pada individu Kaukasian: c.388A>G, c.463C>A dan c.521T>C. Hanya c.388A>G (rs2306283) dan c.521T>C (rs4149056) yang berhubungan dengan perubahan fungsi transport. Dua SNP ini telah banyak dianalisa. Tabel 1 menunjukkan frekuensi polimorfisme alel c.388A>G dan c.521T>C pada populasi Kaukasian, Afrika-Amerika dan Jepang. Terdapat juga distribusi global, serta SNP SLCO1B1 lainnya (Pasanen *et al.*, 2008). SNP, c.388A>G dan c.521T>C, timbul sendiri atau dalam kombinasi dengan masing-masing pada tiga haplotype: SLCO1B1*1b, *5 dan *15. Efek SNP dan haplotype ini pada fungsi transport statin telah dianalisa dan menggunakan berbagai pendekatan, yaitu farmakokinetik dan farmakodinamik.

Frekuensi alel dari solute carrier organic anion transporter 1B1 (SLCO1B1) c.521T>C yang sudah diteliti pada populasi Kaukasian, Afrika-Amerika, dan Jepang. Frekuensi alel pada Caucasian: 0,15, African-American: 0,01 (Ho *et al.*, 2007), Caucasian: 0,22 (Lee *et al.*, 2005), Japanese: 0,16 (Nishizato *et al.*, 2003), Caucasian: 0,20 (Pasanen *et al.*, 2006), Japanese: 0,19 (Pasanen *et al.*, 2008), Japanese: 0,15 (Tachibana-limori *et al.*, 2004), Caucasian: 0,16, African-American: 0,04 (Thompson *et al.*, 2005), Caucasian: 0,14, African-American: 0,02 (Tirona *et al.*, 2001). Frekuensi alel pada suku Jawa adalah 0,04, sama dengan African-American.

Efek variant alel (CC atau TC) dan variant haplotype (*15/*15 atau *1a/*15) dari organic anion transporter polypeptide 1B1 pada area under the statin plasma concentration curve. Pasanen dkk (Pasanen *et al.*, 2006) meneliti Kaukasian, n=32, TT=16, (8M,8F); TC=12(7M, 5F); CC=4 (3M, 1F).AUC: 0-∞.

Simvastatin acid (simvastatin 40 mg): CC vs TT: $\uparrow 221,3\%$ $P < 0,001$, TC vs TT: $\uparrow 22,6\%$ NS. Simvastatin lactone (simvastatin 40 mg): CC vs TT: $\uparrow 43,6\%$ NS. TC vs TT: $\uparrow 20,0\%$ NS. Dari penelitian ini, didapatkan: N=83, TT: 74 (laki-laki: 21, perempuan: 53), TC: 9 (laki-laki: 1, perempuan: 8), CC: 0.

Dari studi farmakokinetik in vivo, tampaknya ada satu salinan tunggal alel *15 yang meningkatkan AUC plasma. Efek ini lebih kuat dan mantap apabila terdapat dua salinan alel *15, tetapi seperti penemuan in vitro, kemungkinan bersifat spesifik substrat. Walaupun hasil positif didapatkan dari bukti efek alel *15 tunggal pada atorvastatin, pitavastatin, pravastatin dan simvastatin acid, diperlukan dua salinan alel *15 untuk mengamati efek rosuvastatin. Tidak didapatkan efek pada fluvastatin atau simvastatin lactone. Oleh sebab itu, para peneliti mendukung bahwa adanya satu atau dua alel variant (haplotype haplotypes *5 atau *15) akan menyebabkan penurunan respons penurunan kolesterol dari statin, karena statin tidak dapat mencapai tempat kerjanya di liver. Peningkatan kadar plasma statin dapat menyebabkan peningkatan efek samping (Pasanen *et al.*, 2006) hal ini ditemukan dalam studi farmakodinamik (Tabel 5).

Studi Farmakodinamik

Tachibana-limori dkk (Tachibana-limori *et al.*, 2004) melakukan penelitian retrospektif pada 66 pasien Jepang, mengenai responsnya terhadap atorvastatin (n=11), pravastatin (n=22) dan simvastatin (n=33). Setelah dilakukan genotyping SLCO1B1 c.521T>C, ditemukan bahwa pasien heterozigot (TC) menunjukkan respons terhadap statin yang lebih lemah dibandingkan dengan pasien homozigot TT pada penurunan kolesterol total (-16,5 vs -22,3%; $P < 0,05$). Didapatkan juga hasil yang tidak signifikan pada respons penurunan kolesterol LDL pada pasien TC dibandingkan dengan pasien TT (-12,4 vs -29,0%;

P=0,094). Tidak ada perbedaan yang signifikan pada kadar kolesterol high-density lipoprotein kolesterol (HDL-C) atau trigliserida. Tachibana-limori dkk (Tachibana-limori *et al.*, 2004) tidak dapat memasukkan pasien homozigot CC tetapi menyarankan agar salinan tunggal substitusi c.521T>C merupakan prediksi penurunan respons kolesterol total. Namun, masih tidak jelas berapa lama masing-masing pasien diberi resep statin dan kapan kadar kolesterol diperiksa. Selain itu, semua pasien dikelompokkan bersama untuk dianalisis, jadi tidak memungkinkan untuk membuat pernyataan mengenai efek polimorfisme pada respons statin tunggal. Kelemahan penelitian ini adalah jumlah pasien yang sedikit (Romaine *et al.*, 2010).

Efek variant alel (CC atau TC) dan haplotip (*15/*15 atau *1a/*15) dari organic anion transporter polypeptide 1B1 pada respons penurunan lipid oleh statin. SEARCH collaborative group (HPS replication cohort) (Tachibana-limori *et al.*, 2004). Caucasian, n=16.660; TT=12.072; TC=4228; CC=360; simvastatin 40 mg; lama pemberian: 28-42 hari, LDL-C: respons melemah berhubungan dengan alel C (-1,28% per alel; P<0,001) (Tachibana-limori *et al.*, 2004). Japanese, n=66; 17M, 49F, TT= 44; TC= 20, Atorvastatin (n=11), Pravastatin (n=22), Simvastatin (n=33). TChol: respons melemah pada genotip TC (-16,5%) vs TT (-22,3%; P<0,05). LDL-C: kecenderungan nonsignifikan pelemahan pada genotip TC (-12,4% vs TT (-29,0%; P=0,094). HDL-C dan TG: tidak ada perbedaan.

Catatan: semua statin dianalisis bersamaan dan tidak ada hasil masing-masing statin. Dosis statin tidak dilaporkan (Tachibana-limori *et al.*, 2004). Suku Jawa, n=83; 22M, 61F, TT= 74; TC= 9, Simvastatin 20 mg, lama pemberian 3 bulan sampai 10 tahun. Didapatkan perbedaan pada marker aterosklerosis dini: CIMT.

Didapatkan perbedaan pada kadar kolesterol, LDL-C: kecenderungan nonsignifikan pelemahan pada genotip TC (-12,4% vs TT (-29,0%; P=0,094).

Penelitian Thompson dkk (Thompson *et al.*, 2005): Caucasian, n=2454; African-

American, n=160; Asian, n=36; Hispanic, n=85; Atorvastatin (10 mg), Fluvastatin (20 mg), Lovastatin (20 mg), Pravastatin (20 mg), Simvastatin (10 mg). Lama pemberian: evaluasi respons pada 6, 12, 18, dan 24 minggu dan dosis terapi dinaikkan bila tidak ada respons. HDL-C: meningkat signifikan pada variant alel homozigot pada terapi atorvastatin (P=0,037) dan fluvastatin (P=0,0061). Pada statin lainnya tidak ada perbedaan. TChol, LDL-C dan TG: tidak ada perbedaan.

Studi yang lebih besar oleh Thompson dkk menemukan efek 43 SNP pada 16 gen yang berperan pada penyakit jantung koroner. Partisipan (n=2735) diambil dari the Atorvastatin Comparative Cholesterol Efficacy and Safety Study dan diberi atorvastatin, fluvastatin, lovastatin, pravastatin atau simvastatin. Thompson dkk (Thompson *et al.*, 2005) melakukan analisis, tetapi berkaitan dengan genotip SLCO1B1 hanya didapatkan signifikan pada efek atorvastatin (P=0.037) dan fluvastatin (P=0.0061) pada peningkatan kadar kolesterol high-density lipoprotein kolesterol. Peningkatan yang signifikan ini hanya terjadi pada homozigot (TT vs CC). Walaupun reliabilitas hasil ini disebabkan karena jumlah partisipan yang besar, namun hasilnya bisa tidak signifikan setelah koreksi beberapa analisis. Oleh karena itu, setelah analisis efek berbagai statin dan genotip SLCO1B1 pada kolesterol total, LDL-C, high-density lipoprotein kolesterol dan trigliserida, hanya dua hasil yang signifikan. Hasil penelitian Tachibana-limori dkk (Tachibana-limori *et al.*, 2004) masih belum jelas data kolesterol yang didapatkan. Pasien diberi dosis awal yang tinggi, kemudian dievaluasi pada minggu ke 6, 12, 18 dan 24. Pasien yang tidak mencapai target kadar kolesterol, maka dosisnya ditingkatkan. Jika data didapatkan pada minggu ke 24, maka peningkatan dosis dapat mengeliminasi efek genotip SLCO1B1, mengurangi relevansi klinis.

Bukti yang lebih kuat untuk peran SNP SLCO1B1 c.521T>C pada prediksi pelemahan respons terhadap statin dibuktikan oleh Study of the Effectiveness of

Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteine collaborative group, yang mempublikasi analisis data dari the Heart Protection Study (Heart Protection Study Collaborative Group, 2002). Data ini didapatkan dari 16.660 pasien yang menggunakan simvastatin 40 mg selama 4-6 minggu, penurunan kolesterol LDL 1,28% lebih kecil per salinan alel c.521C ($P < 0,001$) (Link *et al.*, 2008). Awalnya hasil ini mendukung studi terdahulu yang menyatakan bahwa kerusakan fungsi transport OATP1B1 menyebabkan pelemahan respons penurunan kolesterol LDL. Namun, perbedaan penurunan lebih kecil (1,28% per variant alel) daripada studi terdahulu dan pada study-wide mean penurunan kolesterol LDL adalah 40,57%, signifikansi klinis perbedaan ini masih diperdebatkan. Namun, semua peserta mendapatkan simvastatin. Oleh karena itu, perbandingannya terbatas dan kemungkinan hasil klinis yang lebih signifikan bisa didapatkan dari studi statin jenis lain (Romaine *et al.*, 2010).

Bukti farmakokinetik yang kuat bahwa genotip SLCO1B1 mempengaruhi fungsi transport OATP1B1 mendukung bahwa genotip SLCO1B1 dapat digunakan untuk prediksi pelemahan respons penurunan lipid terhadap terapi statin. Namun, efek ini tergantung pada substrat dan bukti farmakodinamiknya masih tercampur. Studi kecil memperlihatkan bahwa karier variant alel SLCO1B1 memperlihatkan pelemahan respons kolesterol total atau LDL, tetapi studi yang lebih besar hasilnya kontradiksi. Bukti yang lebih kuat dari penelitian peran genotip SLCO1B1 pada prediksi myopathy diantara pasien yang diterapi dengan statin, tetapi hanya diberi statin tunggal. Oleh karena itu, terlepas dari hasil yang dipublikasi dari beberapa studi besar, yang tidak signifikan, tidak dapat ditarik konklusi mengenai peran genotip SLCO1B1 pada prediksi pelemahan penurunan kolesterol atau terjadinya myopathy akibat statin (Romaine *et al.*, 2010).

Carotid-Intima Media Thickness

Faktor risiko kardiovaskular berguna untuk prediksi risiko tetapi memiliki keterbatasan dalam memprediksi risiko individu. Tantangan saat ini adalah identifikasi risiko seseorang. Teknologi pemeriksaan, seperti ultrasonografi arteri karotis dan pengukuran carotid intima-media thickness (CIMT) dapat digunakan untuk identifikasi pasien yang memerlukan terapi prevensi lebih agresif. Pemeriksaan skrining ini non-invasif, dapat diulangi, tidak mahal, dan bebas radiasi. CIMT merupakan alat skrining untuk penyakit kardiovaskuler. Hasil pengukuran CIMT berupa penggolongan pasien pada kategori risiko tinggi atau risiko rendah, sehingga dapat diberikan terapi pencegahan.

CIMT merupakan prediktor risiko CV yang independen (Lorenz *et al.*, 2007) dan adanya plak karotis merupakan prediktor kuat terjadinya CV dan mortalitas (van der Meer *et al.*, 2004). Nilai CIMT normal berdasarkan database populasi umum yang didapatkan dari studi populasi besar (Cao *et al.*, 2007).

CIMT berhubungan dengan risiko CV pada populasi. Pada orang sehat (18-99 tahun) diikuti selama 12 tahun, penambahan CIMT >1 mm akan menambah nilai prediksi FRS tinggi pada prediksi stroke (Li *et al.*, 2003). Pada orang sehat (19-90 tahun) yang diikuti selama lebih dari 4,2 tahun, CIMT merupakan prediktor independen terjadinya stroke, MI, dan kematian (Salonen *et al.*, 1993). Pada 1289 orang Jepang laki-laki usia 60-74 tahun, yang diikuti selama 4,5 tahun, CIMT $>1,07$ mm mempunyai relative risk untuk stroke sebesar 3,0 (1,1-8,3) vs CIMT $<0,77$ mm (Rosvall *et al.*, 2005). Pada studi 5163 laki-laki dan perempuan Swedia yang tidak mempunyai penyakit CV, diobservasi selama lebih dari 7 tahun untuk MI fatal dan non-fatal MI atau kematian akibat CAD, CIMT berhubungan dengan kejadian koroner tetapi tidak berhubungan dengan mortalitas jangka pendek atau jangka panjang setelah serangan jantung (van der Meer *et al.*, 2004). CIMT common dan internal berhubungan secara independen

dengan penurunan fungsi ginjal (common CIMT $\geq 1,14$ mm dan internal CIMT $> 1,82$ mm berhubungan secara independen dengan penurunan cepat fungsi renal (Tzou *et al.*, 2005). Pada penelitian ini didapatkan perbedaan signifikan antara polimorfisme gen SLCO1B1 dengan CIMT ($p = 0,00$).

Kebutuhan untuk prediksi risiko individual sangatlah besar mengingat banyaknya penyakit CV. CIMT sangat berguna untuk memprediksi terjadinya CV, terutama pada populasi usia muda. Perhatian lebih banyak pada identifikasi aterosklerotik, daripada klinis penyakit. Selain itu juga pergeseran "risiko individu" untuk prediksi menggunakan peralatan sederhana dan tidak mahal seperti CIMT.

Statin mempunyai efek menguntungkan pada perkembangan aterosklerosis. Penurunan LDL-C yang agresif dapat menyebabkan regresi penyakit aterosklerosis karotis, sedangkan pemberian dosis rendah hanya mencegah progresifitas penyakit.

Walaupun studi-studi di atas hasilnya baik, tetapi masih diperlukan studi lebih lanjut untuk menentukan terapi yang tepat untuk menghentikan progresifitas aterosklerosis dan metode yang optimal untuk skrining. CIMT sebagai alat klinis, berdasarkan data dan pedoman terbaru, sangat baik untuk membantu stratifikasi risiko individual dan untuk menentukan keputusan klinis apabila dijumpai keraguan pada penetapan terapi preventif.

Uptake transporter OATP1B1 penting pada farmakokinetik beberapa obat, antara lain statin. Data terbaru menunjukkan bahwa polimorfisme pada gen terkait, mempengaruhi aktivitas OATP1B1, sehingga mempengaruhi keamanan dan efikasi obat (Joy *et al.*, 2009), dengan SNP yang penting secara klinis adalah polimorfisme 521T>C (Fahrmayr *et al.*, 2010). Untuk mengevaluasi pengaruh polimorfisme pada populasi etnis yang berbeda, perlu untuk memahami frekuensinya dan perkembangan metode genotyping yang cepat dan tepat. Metode yang peneliti lakukan ini untuk menentukan genotip dan frekuensi alel

521T>C pada suku Jawa, sedangkan frekuensi population masih belum diketahui.

Untuk genotyping, peneliti menggunakan hybridization probe yang diformat menggunakan analisis melting-curve, karena kebalikan dengan simple probes (TaqMan® assays), metode ini tidak tergantung pada efisiensi proses amplifikasi, atau pada cleavage substrat, jadi lebih kuat. Penggunaan LightCycler® 480 Software 1.5, analisisnya otomatis, dan format microtiter memungkinkan hasil yang baik. Hasilnya menunjukkan bahwa genotip dapat didapatkan sekitar 600 sampel dan reproducibility-nya tinggi, dapat diulang, dan ketahanannya tinggi untuk pengembangan pengujian. Metode ini lebih unggul daripada metode real-time PCR yang sebelumnya (Op den Buijsch *et al.*, 2005).

Metode genotyping polimorfisme 521T>C ini tidak memerlukan locked nucleic acid (LNA) untuk membedakan alel yang sesuai. Titik melting genotyping 388A>G dengan metode ini lebih baik pemisahannya daripada metode sebelumnya, di mana titik melting hanya berbeda 2,2°C. Selain itu, kami melakukan pengujian dengan format microtiter plate pada LightCycler® 480, yang memungkinkan pemeriksaan otomatis pada genotip dengan software yang sesuai dan analisis >600 sampel per hari dengan format 96-well atau >2,000 sampel per hari dengan format 384-well.

Satu-satunya keterbatasan pemeriksaan LightCycler®- atau TaqMan®-based adalah ketidakmampuannya untuk membedakan genotip *1b/*5 dengan *1/*15, karena metode ini tidak dapat menempatkan SNP ke kromosom tertentu atau pasangannya. Perbedaan ini hanya bisa dilakukan dengan direct sequencing atau duplex pyrosequencing (Kim *et al.*, 2008). Pada dekade terakhir, beberapa studi mempublikasikan data pada frekuensi alel polimorfisme 521T>C pada populasi orang Eropa dan Asia. Alel *1b sering pada orang Eropa, dengan frekuensi 30-47% (Pasanen *et al.*, 2006), tetapi lebih banyak pada

populasi Asia, dimana frekuensinya antara 57% sampai 80% (Xiang *et al.*, 2006).

Sebaliknya, alel *5 frekuensinya rendah 15-30% pada orang Eropa (Pasanen *et al.*, 2006) dan 0-13% pada orang Asia (Xiang *et al.*, 2006). Pada orang Afrika Amerika, frekuensi polimorfisme 521T>C adalah 2%. Frekuensi alel pada orang Uganda hampir sama, yaitu 3,9% untuk 521T>C (Mwinyi *et al.*, 2008). Sedangkan pada orang Jawa sebesar 4,5%.

Polimorfisme genetik SLCO1B1 merupakan penentu utama variabilitas interindividual pada level bilirubin serum (Pasanen *et al.*, 2006) dan uptake hepatic berbagai obat, termasuk statin. Efek pada aktivitas transporter tergantung pada kombinasi individual dari haplotip dan substrat yang digunakan. combination of haplotypes and substrate used. Sedangkan polimorfisme rs2306283 (388A>G; *1b) berhubungan dengan peningkatan aktivitas transporter dan kadar statin dalam plasma yang lebih rendah (Mwinyi *et al.*, 2003), polimorfisme 521T>C (*5) saja atau kombinasi dengan 388A>G (*15) berhubungan dengan penurunan aktivitas transporter dan peningkatan kadar plasma beberapa substrat OATP1B1 (Maeda and Sugiyama, 2008). Walaupun efek *1b pada aktivitas transport masih terdapat perbedaan pendapat, hal ini dapat dijelaskan dengan spesifisitas substrat, efek *5 dan *15 konsisten (Niemi *et al.*, 2011). Kepentingan klinis SLCO1B1, terutama *5 atau *15, untuk myopathy akibat statin sudah terbukti (Vladutiu *et al.*, 2009).

Penyakit jantung koroner merupakan penyebab kematian paling banyak di Amerika Serikat, yaitu 1 di antara 5 kematian (Rosamondet *et al.*, 2007). 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors (statin) digunakan secara luas untuk terapi hiperkolesterolemia dan prevensi penyakit jantung koroner. Namun, terdapat variabilitas inter-individual yang tinggi pada efek penurunan kolesterol. Meskipun hal ini sebagian disebabkan karena faktor lingkungan dan diet, tetapi single-nucleotide polymorphism (SNP), atau variasi

sekuens DNA, pada koding gen enzim metabolisme atau transporter obat juga mempunyai kontribusi (Zineh, 2005). SNP berpengaruh pada gen solute carrier organic anion transporter 1B1 (SLCO1B1). Gen untuk transporter influks hepatic, organic anion transporter polypeptide 1B1 (OATP1B1), diperkirakan berperan penting pada transport statin ke dalam hepatosit (Romaine *et al.*, 2010).

Statin (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor) digunakan untuk terapi hiperkolesterolemia dan prevensi penyakit jantung koroner. Terdapat variabilitas interindividual yang lebar pada respons terhadap terapi statin, yaitu pada efek penurunan kolesterol dan timbulnya efek samping. Tempat kerja statin yang utama adalah di hepatosit.

Peningkatan kadar low-density lipoprotein kolesterol (LDL-C) di serum, merupakan faktor risiko utama pada terjadinya penyakit jantung koroner.

Walaupun asupan lemak sangat berpengaruh pada kadar kolesterol individual, kontribusi lain dari sintesis de novo. Prevensi dan terapi penyakit jantung koroner ditekankan pada perubahan gaya hidup, diet dan berhenti merokok. Statin merupakan obat pilihan pertama untuk terapi hiperlipidemia (Tachibana-limori *et al.*, 2004). Statin terbukti aman dan efektif berdasarkan hasil berbagai penelitian prevensi primer dan sekunder skala besar (Baigent *et al.*, 2005). Namun demikian, terdapat respons inter-individual yang cukup tinggi terhadap efek statin, dari hasil penelitian hanya sekitar sepertiga pasien dapat mencapai target kadar LDL-C, dan hanya 18% dari pasien penyakit jantung koroner (Pearson *et al.*, 2000). Efikasi klinis dan efek samping berhubungan dengan kadar statin di

hepar dan di plasma (Mangravite *et al.*, 2007). Sayangnya, tidak ada metode yang dapat memprediksi pasien mana yang berisiko akan terjadi kegagalan terapi dan timbul efek samping obat. Oleh karena itu, sangat diperlukan marker genetik sebagai prediktor keberhasilan terapi statin atau timbulnya efek samping

(Mangravite *et al.*, 2007). Diharapkan dapat terus dilakukan penelitian di bidang farmakogenetik.

Farmakogenetik dan respons statin

Farmakogenetika meneliti peran genetika dalam menentukan respons individu terhadap obat. Hal ini merupakan awal pemikiran bahwa metabolisme adalah penentu utama disposisi obat (Kim, 2004). Kini sedang diteliti peran SNP pada transporter obat (Maeda and Sugiyama, 2008).

Organic anion transporter polypeptide 1B1 (OATP1B1)

Secara nomenklatur, gen ini disebut dengan SLCO1B1 dan proteinnya adalah OATP1B1. Beberapa studi menunjukkan bahwa OATP1B1 diekspresi eksklusif hanya di membran basolateral (sinusoidal) hepatosit. OATP1B1 mentransport sejumlah senyawa endogen dan eksogen, antara lain bile acid, hormon thyroid, dan methotrexate (Kim, 2004) dan juga mentransport berbagai statin, antara lain atorvastatin (Kameyama *et al.*, 2005), cerivastatin (Shitara *et al.*, 2004), pravastatin (Hsiang *et al.*, 1999), dan rosuvastatin (Brown *et al.*, 2001). Masih belum jelas apakah simvastatin ditransport oleh OATP1B1. Tampaknya obat asal yang inaktif (simvastatin lactone) tidak, tetapi bentuk aktif acid (yang dibentuk melalui konversi non-enzymatic dan carboxylesterase-mediated di dalam plasma, liver dan mukosa intestinal) merupakan substrat OATP1B1 (Pasanen *et al.*, 2006). Sejumlah SNP didapatkan pada gen SLCO1B1, yang terletak di kromosom 12. SNP yang menyebabkan perubahan asam amino, mempunyai efek dan disebut dengan non-synonymous (Tirona *et al.*, 2001) berhasil mengidentifikasi 14 non-synonymous SNP, dinyatakan oleh 16 haplotype yang berbeda, disebut dengan SLCO1B1*b sampai SLCO1B1*14

(reference haplotype = SLCO1B1*1a). Selanjutnya dapat diidentifikasi haplotype *15.

Dari 14 SNP yang dapat diidentifikasi, hanya tiga yang timbul pada frekuensi $>0,02$ pada individu Kaukasian: c.388A>G, c.463C>A dan c.521T>C. Hanya c.388A>G (rs2306283) dan c.521T>C (rs4149056) yang berhubungan dengan perubahan fungsi transport. Dua SNP ini telah banyak dianalisa. Tabel 1 menunjukkan frekuensi polimorfisme alel c.388A>G dan c.521T>C pada populasi Kaukasian, Afrika-Amerika dan Jepang. Terdapat juga distribusi global, serta SNP SLCO1B1 lainnya (Pasanen *et al.*, 2008). SNP, c.388A>G dan c.521T>C, timbul sendiri atau dalam kombinasi dengan masing-masing pada tiga haplotype: SLCO1B1*1b, *5 dan *15. Pada Tabel 2 dituliskan perubahan nukleotida dan asam amino yang timbul pada tiap haplotype. Efek SNP dan haplotype ini pada fungsi transport statin telah dianalisa dan menggunakan berbagai pendekatan, yaitu farmakokinetik dan farmakodinamik.

Studi Farmakodinamik

Tachibana-limori dkk (Tachibana-limori *et al.*, 2004) melakukan penelitian retrospektif pada 66 pasien Jepang, mengenai responsnya terhadap atorvastatin (n=11), pravastatin (n=22) dan simvastatin (n=33). Setelah dilakukan genotyping SLCO1B1 c.521T>C, ditemukan bahwa pasien heterozigot (TC) menunjukkan respons terhadap statin yang lebih lemah dibandingkan dengan pasien homozigot TT pada penurunan kolesterol total (-16,5 vs -22,3%; $P<0,05$).

Didapatkan juga hasil yang tidak signifikan pada respons penurunan kolesterol LDL pada pasien TC dibandingkan dengan pasien TT (-12,4 vs -29,0%; $P=0,094$). Tidak ada perbedaan yang signifikan pada kadar kolesterol high-density lipoprotein kolesterol (HDL-C) atau trigliserida. Tachibana-limori dkk (Tachibana-limori *et al.*, 2004) tidak dapat memasukkan pasien homozigot CC

tetapi menyarankan agar salinan tunggal substitusi c.521T>C merupakan prediksi penurunan respons kolesterol total. Namun, masih tidak jelas berapa lama masing-masing pasien diberi resep statin dan kapan kadar kolesterol diperiksa. Selain itu, semua pasien dikelompokkan bersama untuk dianalisis, jadi tidak memungkinkan untuk membuat pernyataan mengenai efek polimorfisme pada respons statin tunggal. Kelemahan penelitian ini adalah jumlah pasien yang sedikit (Romaine *et al.*, 2009).

Bukti yang lebih kuat untuk peran SNP SLCO1B1 c.521T>C pada prediksi pelemahan respons terhadap statin dibuktikan oleh Study of the Effectiveness of Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteine collaborative group, yang mempublikasi analisis data dari the Heart Protection Study (Heart Protection Study Collaborative Group, 2002). Data ini didapatkan dari 16.660 pasien yang menggunakan simvastatin 40 mg selama 4-6 minggu, penurunan kolesterol LDL 1,28% lebih kecil per salinan alel c.521C ($P < 0,001$) (Link *et al.*, 2008). Awalnya hasil ini mendukung studi terdahulu yang menyatakan bahwa kerusakan fungsi transport OATP1B1 menyebabkan pelemahan respons penurunan kolesterol LDL. Namun, perbedaan penurunan lebih kecil (1,28% per variant alel) daripada studi terdahulu dan pada study-wide mean penurunan kolesterol LDL adalah 40,57%, signifikansi klinis perbedaan ini masih diperdebatkan. Namun, semua peserta mendapatkan simvastatin. Oleh karena itu, perbandingannya terbatas dan kemungkinan hasil klinis yang lebih signifikan bisa didapatkan dari studi statin jenis lain (Romaine *et al.*, 2009).

Studi kecil memperlihatkan bahwa karier variant alel SLCO1B1 memperlihatkan pelemahan respons kolesterol total atau LDL, tetapi studi yang lebih besar hasilnya kontradiksi. Bukti yang lebih kuat dari penelitian peran genotip SLCO1B1 pada prediksi myopathy diantara pasien yang diterapi dengan statin, tetapi hanya diberi statin tunggal. Oleh karena itu, terlepas dari hasil yang

dipublikasi dari beberapa studi besar, yang tidak signifikan, tidak dapat ditarik konklusi mengenai peran genotip SLCO1B1 pada prediksi pelemahan penurunan kolesterol atau terjadinya myopathy akibat statin (Romaine *et al.*, 2009).

Untuk menemukan hubungan antara LDL dengan ASCVD, dilakukan evaluasi total evidence dari studi genetik, studi kohort epidemiologi prospektif, studi Mendelian randomization studies, dan uji terapi obat kolesterol random.

Pada studi klinis, beban LDL diperkirakan dari penentuan kadar kolesterol LDL plasma (LDL-C). Mutasi genetik yang menyebabkan penurunan fungsi reseptor

LDL menyebabkan kadar LDL-C lebih tinggi dan peningkatan risiko ASCVD yang dose-dependent, sedangkan adanya variant yang jarang, menyebabkan LDL-C lebih rendah, yang berhubungan dengan risiko ASCVD yang lebih rendah. Meta-analisis lebih dari 200 studi kohort prospektif, studi Mendelian randomization, dan uji random yang melibatkan lebih dari 2 juta partisipan dengan lebih dari 20 juta orang setiap tahun di-follow-up dan lebih dari 150.000 kejadian kardiovaskuler menunjukkan bahwa terdapat hubungan dose-dependent log-linear antara paparan besar vasculature dengan LDL-C dengan risiko ASCVD; dan hal ini akan meningkat dengan meningkatnya durasi paparan terhadap LDL-C. Studi naturally randomized genetic dan randomized intervention trials menunjukkan hasil bahwa mekanisme yang menurunkan kadar partikel LDL plasma akan menurunkan risiko ASCVD sebanding dengan penurunan absolut LDL-C dan kumulatif durasi paparan terhadap kadar LDL-C yang rendah, asalkan penurunan LDL-C sesuai dengan penurunan jumlah partikel LDL dan tidak ada efek off-target yang merugikan (Ference *et al.*, 2017).

Patofisiologi aterosklerosis

Awal mula terjadinya ASCVD adalah retensi dan akumulasi kolesterol-rich apoB-containing lipoproteins pada intima arterial di tempat predileksi

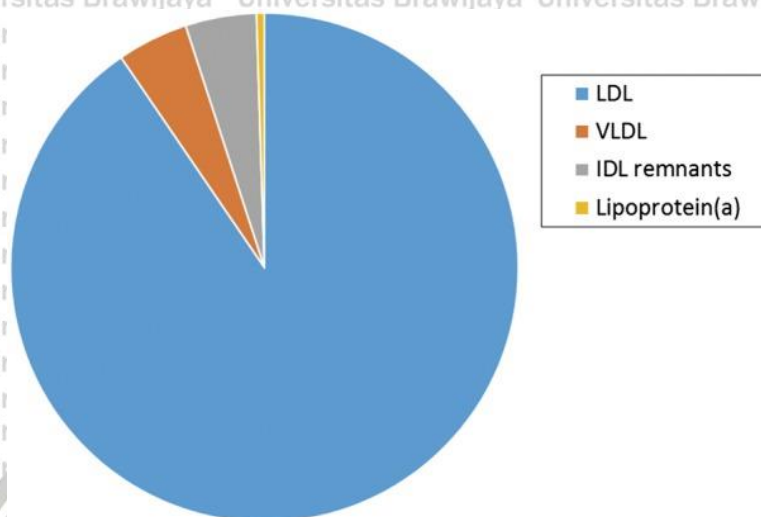
pembentukan plak (Tabas et al., 2007). LDL dan apoB-containing lipoproteins yang diameternya <70 nm (terdiri dari VLDL, remnants, IDL, dan Lp(a)) masuk dan keluar dari intima arterial (Nordestgaard dan Zilversmit, 1988). Kadar fisiologis kolesterol LDL [LDL-C; ~0.5-1.0 mmol/L (20–40 mg/dL), pada bayi baru lahir (Descamps et al., 2004), kemungkinan retensi partikel LDL dan risiko perkembangan aterosklerosis masih rendah (Skálén et al., 2002). Namun kadar LDL akan meningkat, sehingga kemungkinan retensi LDL pada intima menyebabkan inisiasi dan perkembangan progresif plak aterosklerosis yang meningkat secara dose-dependent (Goldstein dan Brown, 2015).

Kolesterol, LDL, dan kolesterol LDL (LDL-C)

Istilah 'kolesterol', 'LDL', dan 'kolesterol LDL (LDL-C)' seringkali digunakan secara tumpang tindih dan membingungkan. Kolesterol adalah komponen esensial membrane sel dan precursor asam empedu dan hormone steroid. Kolesterol eksogen dan endogen ditransport ke sel perifer oleh apoB-containing lipoproteins di plasma. Partikel LDL mengandung ~90% apoB-containing lipoproteins sirkulasi dalam darah puasa (Gambar 1). Namun di praktek klinis, kadar LDL plasma tidak diukur secara langsung tetapi diestimasi dari kadar kolesterol -LDL-C- ukuran total jumlah kolesterol pada partikel LDL. Jadi, perhitungan LDL-C plasma menjadi focus untuk menilai risiko kardiovaskuler dan untuk evaluasi manfaat terapi pada uji klinis.

Pada umumnya, kadar LDL-C dan jumlah partikel LDL sangat berhubungan, sehingga LDL-C plasma dapat digunakan sebagai pengganti untuk kadar partikel LDL. Namun, pada penyakit tertentu (mis, sindroma metabolic, diabetes, dan hipertrigliseridemia), LDL-C plasma dan kadar partikel LDL dapat berkurang akibat banyaknya small, dense cholesterol-poor LDL, sehingga LDL-C plasma tidak akurat lagi dalam mencerminkan kadar partikel LDL atau efeknya

pada risiko kardiovaskuler. Pada kondisi ini, maka dilakukan pengukuran jumlah partikel LDL atau kadar apoB (setiap partikel LDL mengandung molekul tunggal apoB) yang lebih akurat mencerminkan efek kausa LDL pada ASCVD.



Gambar 6.1. Kadar relative apolipoprotein B (ApoB) pada lipoprotein sirkulasi pada individu normolipidemic. Isi ApoB dihitung dalam nanomole per liter menggunakan 500.000 sebagai massa molekul (yaitu, low-density lipoprotein (LDL) 100 mg/dL atau 2000 nmol/L, very low-density lipoprotein (VLDL) 5 mg/dL atau 100 nmol/L, intermediate density lipoprotein (IDL) remnants 5 mg/dL atau 100 nmol/L dan lipoprotein(a) 10 nmol/l*]. *Berdasarkan median populasi.

Evidence dari studi epidemiologis perspektif

Dari hasil meta-analisis didapatkan adanya hubungan continuous log-linear antara magnitude absolut paparan kadar LDL-C plasma dengan risiko ASCVD. Emerging Risk Factors Collaboration (ERFC) melaporkan hasil meta-analisis dari 302.430 pasien tanpa penyakit vaskuler bersamaan dengan 68 studi prospektif pada 8857 MI non-fatal dan 928 kematian akibat coronary heart disease (CHD) dari sekitar 2,79 juta pasien yang di-follow-up setiap tahun (Emerging Risk Factors C, Di Angelantonio et al., 2012). Pada studi ini, kadar LDL-C plasma berhubungan secara log-linearly dengan peningkatan risiko MI non-fatal atau kematian akibat CHD. Ada hubungan antara kadar non-HDL-C

dengan risiko CHD pada analisis primer, semua studi pada meta-analisis memasukkan pengukuran kolesterol total, high-density lipoprotein kolesterol (HDL-C), dan trigliserida, dan melaporkan penghitungan kadar LDL-C yang diestimasi dengan persamaan Friedewald. Peneliti ERFC menyatakan bahwa model regresi yang meliputi istilah untuk non-HDL-C, HDL-C, dan trigliserida merupakan perhitungan matematika sederhana dari model yang meliputi istilah untuk perhitungan LDL-C, HDL-C, dan trigliserida. Oleh karena itu, pada analisis ERFC, efek LDL-C sama persis dengan efek non-HDL-C pada risiko CHD menurut definisi pada analisis. Bukti-bukti menyatakan bahwa dari 8 studi pada 44.234 individu, efek langsung pengukuran LDL-C pada risiko CHD hampir identic dengan efek non-HDL-C (dan perhitungan LDL-C) per milimol per liter.

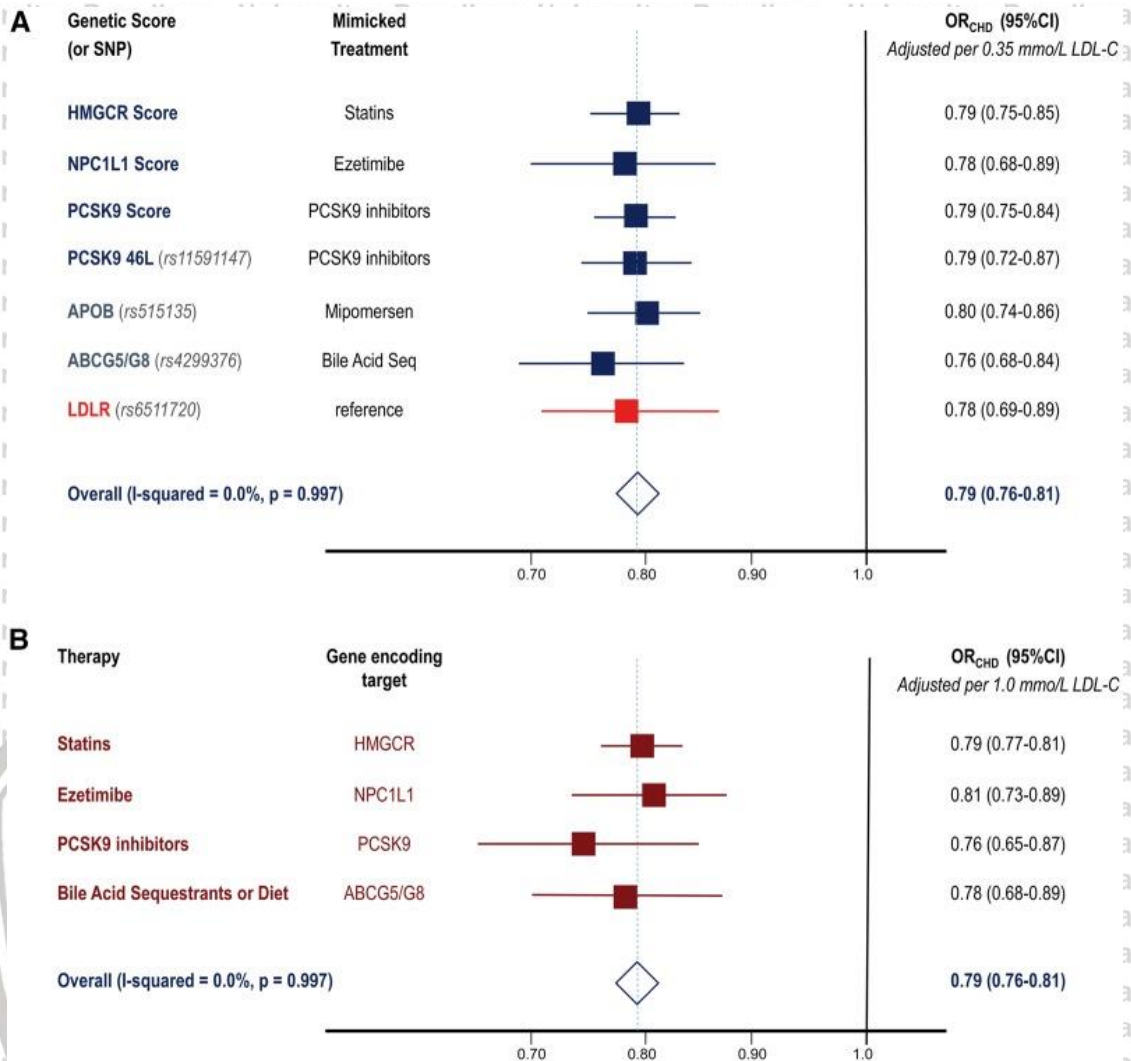
Hasil yang mirip didapatkan dari Prospective Studies Collaboration, meta-analisis data individual partisipan pada 892.337 orang tanpa penyakit kardiovaskuler, yaitu adanya hubungan kuat, graded log-linear antara total kolesterol plasma dengan risiko mortalitas oenyakit jantung iskemik (Prospective Studies Collaboration, Lewington et al., 2007). Efek non-HDL-C pada risiko mortalitas penyakit jantung iskemik hampir identic dengan efek kolesterol total per milimol per liter.

Evidence dari studi Mendelian randomization

Walaupun hubungan antara LDL-C dengan risiko ASCVD bersifat kuat, berjenjang, dan reproducible pada hasil meta-analisis studi kohort prospektif, studi ini tidak random sehingga rancu, reverse causation, dan bentuk bias lainnya. Studi Mendelian randomization mempunyai skema random berupa studi observasional khusus untuk menilai apakah ada hubungan antara paparan dengan hasil penyebabnya (Lawlor et al., 2008).

Sejumlah varian pada gen multiple dilaporkan berhubungan dengan kadar LDL-C yang rendah (Global Lipids Genetics Consortium, 2013). Masing-masing variant ini diwariskan secara random saat konsepsi pada proses yang disebut Mendelian randomization. Jadi, pewarisan alel LDL-C lowering dari salah satu gen ini analog dengan penempatan lokasi random terapi dengan obat kolesterol, sedangkan pewarisan alel yang lain analog dengan penempatan lokasi random 'perawatan-biasa'. Apabila varian yang diteliti hanya berkaitan dengan LDL-C, tidak dengan lipid lainnya atau efek non-lipid pleiotropic, dan jika alokasi memang random, maka perbandingan risiko ASCVD diantara pasien dengan dan tanpa variant harus dengan estimasi unconfounded dari efek kausal kadar LDL-C rendah pada risiko ASCVD dengan cara analog pada uji random jangka Panjang (Ference, 2015).

Studi Mendelian randomization memperlihatkan adanya variants pada lebih dari 50 gen yang berhubungan dengan kadar LDL-C yang rendah (tetapi tidak dengan predictor potensial atau intermediates lain untuk ASCVD) yang juga berhubungan dengan risiko rendah CHD (Holmes et al., 2015), yang memberikan bukti kuat bahwa LDL merupakan kausa yang berhubungan dengan risiko CHD. Memang, apabila efek setiap varian LDL-C diplotkan terhadap efeknya pada CHD, terdapat hubungan kausan yang kontinyu, dose-dependent, dan log-linear antara kekuatan perubahan absolut pada kadar LDL-C dengan risiko seumur hidup terjadinya CHD (Holmes et al., 2015).



Gambar 6.2. Efek paparan low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) yang rendah oleh mekanisme penurunan LDL-C. Panel A menunjukkan efek varian genetic atau skor genetic yang menggabungkan berbagai variants pada gen yang mengkode target terapi penurunan LDL-C, disesuaikan dengan penurunan standard LDL-C sebesar 0,35 mmol/L, dibandingkan dengan efek penurunan LDL-C yang dimediasi oleh variant pada gen reseptor LDL. Panel B menunjukkan efek terapi yang kerjanya promoter menurunkan LDL-C melalui jalur reseptor LDL, disesuaikan per milimol per liter penurunan LDL-C. data genetic random pada Panel A dan data uji random pada Panel B keduanya menunjukkan bahwa efek LDL-C pada risiko kejadian kardiovaskuler kira-kira hampir sama dengan perubahan per unit LDL-C untuk setiap mekanisme penurunan LDL-C via up-regulation reseptor LDL dimana perubahan LDL-C (yang digunakan pada obat klinis untuk memperkirakan perubahan kadar partikel LDL) sesuai dengan perubahan kadar partikel LDL.

Selanjutnya, bila disesuaikan dengan penurunan standard pada LDL-C, setiap varian genetic berhubungan dengan LDL-C yang mempunyai efek yang mirip pada risiko CHD per unit LDL-C yang rendah, meliputi variants pada gen yang mengkode target senyawa farmakologis yang sering digunakan untuk menurunkan LDL-C [yaitu, 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase (HMGCR), target statin; Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1), target ezetimibe; dan proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9), target monoclonal antibodies alirocumab dan evolocumab; (gambar 3)], dengan tidak ada evidence dari heterogeneity efek ($P = 0\%$) (Ferreira et al., 2015). Pengamatan ini membuktikan bahwa efek kausal dari varian ini pada risiko CHD dimediasi secara esensial melalui LDL, karena tidak mungkin bahwa variants pada berbagai gen yang berbeda yang melibatkan beberapa jalur biologis yang berbeda yang mana LDL diturunkan masing-masing mempunyai arah yang sesuai dan secara kuantitatif efek pleiotropic pada risiko ASCVD.

Secara keseluruhan, meta-analisis studi Mendelian randomization melibatkan lebih dari 300.000 partisipan dan 80.000 kasus CHD yang memberikan bukti bahwa LDL berhubungan kausa dengan risiko ASCVD dan efek kausa LDL pada ASCVD tidak tergantung pada mekanisme penurunan LDL.

Evidence dari randomized controlled trials

Pada studi statin, pengamatan pada setiap kelompok terapi randomized didapatkan hubungan yang kuat dan linier dengan pencapaian kadar LDL-C absolut (Boekholdt et al., 2012). Pada studi ini, kadar LDL-C dan apoB efeknya mirip pada risiko kejadian kardiovaskuler per milimol per liter, jadi hal ini membuktikan bahwa LDL-C merupakan pengganti yang sesuai untuk jumlah partikel LDL. Studi intravascular ultrasound aterosklerosis coroner pada pasien yang diberi statin, hasilnya menunjukkan bahwa progresifitas volume plak

aterosklerosis secara substansial dapat ditahan pada kadar LDL-C sekitar ~1,8 mmol/L (70 mg/dL) (Nicholls et al., 2011).



BAB VII**KESIMPULAN DAN SARAN****7.1. Kesimpulan**

1. Dengan menggunakan metode ini, peneliti mendapatkan hasil genotip variant alel SLCO1B1 pada suku Jawa di Indonesia, yaitu 89% wild-type TT dan 11% mutant-type TC. Dari hasil perhitungan statistik, didapatkan perbedaan signifikan ($p=0,000$) antara genotip dengan kadar LDL.
2. Frekuensi gen CYP3A4: semua alel TT homozygot (100%). Tidak didapatkan alel heterozygot TC (0%), dan homozygot CC (0%).
3. Telah terbukti bahwa respons terhadap statin bersifat individual. Perbedaan genetik pada transporter hepatic mempengaruhi kadar simvastatin di tempat kerjanya, sehingga mempengaruhi kemampuannya untuk menurunkan kolesterol. Hubungan antara genotip SLCO1B1 dengan respons terhadap simvastatin, walaupun sudah banyak diteliti, masih belum dapat dipahami mekanismenya yang pasti.
4. Hasil studi farmakokinetik in-vitro menunjukkan bahwa hanya ada dua polimorfisme yang dapat dideteksi, yaitu SNP non-synonymous (c.388A>G dan c.521T>C) yang mempengaruhi fungsi transport. c.521T>C terjadi pada haplotip SLCO1B1*5 dan SLCO1B1*15, yang keduanya menurunkan fungsi transport akibat kesalahan trafficking in-vivo.
5. Analisa perbedaan gen SLCO1B1 pada marker aterosklerosis dini (CIMT, FMD, ABI). Hasil studi genetik, epidemiologis, dan intervensi klinis meliputi kasualitas LDL berdasarkan pada pemahaman terkini mengenai patofisiologi ASCVD. Walaupun fokusnya pada LDL, tetap tidak mengabaikan peran apoB yang mengandung lipoprotein pada perkembangan ASCVD serta efek

aterogenik potensial komponen individual lipidome dan proteome dari LDL selain kolesterol dan apoB.

6. Analisa perbedaan polimorfisme gen SLCO1B1 pada profil lipid (Kolesterol total, LDL, HDL, Rasio kolesterol, TG). Bukti klinis untuk kausalitas yang paling meyakinkan adalah uji klinis random yang mengevaluasi efek terapi yang menurunkan LDL-C pada risiko kejadian kardiovaskuler. Perlu diperhatikan bahwa interpretasi dari setiap penelitian dapat dipengaruhi desainnya. Secara umum, studi dengan jumlah sampel yang sedikit sehingga kurang kuat, tidak menghasilkan perbedaan bermakna pada kadar LDL-C antar kelompok terapi, dan follow-up jangka pendek (2 tahun atau kurang) tidak memperlihatkan hasil perbedaan yang signifikan secara statistik. Oleh karena itu, beberapa terapi untuk menurunkan LDL-C (mis, oestrogen) juga mempunyai efek samping yang meningkatkan risiko ASCVD yang dapat memperkuat atau menghilangkan manfaat klinis dari obat penurun LDL-C. Over-interpretasi dari uji individual ini dapat menyebabkan kesimpulan yang bias.

Penemuan studi farmakokinetik ini menyatakan bahwa salinan tunggal dari variant haplotype dapat meningkatkan kadar simvastatin plasma. Hasil dari beberapa studi farmakodinamik in-vivo menyatakan bahwa hal ini mempengaruhi kemampuan penurunan kolesterol, tetapi hasil studi lain yang lebih besar hasilnya kurang meyakinkan, yaitu tidak ada hubungan signifikan antara genotip SLCO1B1 dengan penurunan kolesterol (Thompson *et al.*, 2005) dan ada studi lain yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan kuat secara statistik, tetapi tidak secara klinis (Link *et al.*, 2008). Kelemahan penelitian pertama adalah pada metodologi, penyesuaian dosis pada partisipan yang tidak memberi respons, yang menutupi efek genotip SLCO1B1 dan pada penelitian yang kedua, pasien hanya diberi simvastatin 40 mg, yang membatasi perbandingannya dengan studi

lainnya. Namun, hubungan yang jauh lebih kuat didapatkan antara genotip SLCO1B1 dengan terjadinya myopathy, yang terjadi pada pasien yang diberi simvastatin (Link *et al.*, 2008).

Walaupun banyak transporter yang berperan pada transport statin, hanya sedikit yang sudah dianalisis, antara lain: transporter OATP1B1, yaitu transporter influks yang terletak di membran basolateral hepatosit.

Oleh karena itu, disarankan untuk melakukan penelitian yang langsung menganalisis efek SNP SLCO1B1 pada kemampuan penurunan kolesterol, dan induksi efek samping obat, pada simvastatin. Diperlukan studi yang lebih besar karena polimorfisme terjadi pada frekuensi rendah pada berbagai kelompok etnis dan tidak dapat menjelaskan variasi respons. Penelitian pada subjek untuk polimorfisme gen lainnya yang dicocokkan dengan polimorfisme gen yang diperkirakan berperan pada disposisi statin. Dengan metodologi yang sesuai dan signifikan dapat menurunkan jumlah faktor confounding sehingga efek polimorfisme tunggal dapat dianalisis. Metodologi ini hendaknya digunakan pada studi selanjutnya untuk mengeliminasi efek SNP pada enzim cytochrome P450 dan transporter hepatic lainnya yang dapat mempengaruhi respons terhadap statin. Studi semacam ini dapat menggabungkan informasi ini dengan model prediktif. Walaupun ada kemungkinan beberapa faktor yang mempengaruhi, seperti diet, hal ini menunjukkan bahwa disain model farmakogenetik yang prediksinya tinggi pada respons terhadap terapi statin, dapat dilakukan dan manfaatnya banyak untuk memperbaiki efektivitas terapi dan menurunkan efek samping pada terapi berdasarkan individual pasien.

Low-density lipoproteins (LDLs) menyebabkan penyakit jantung atherosklerosis (atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD)) (Ference *et al.*, 2017). Manifestasi klinis penyakit aterosklerotik kardiovaskuler, antara lain myocardial infarction (MI) dan stroke iskemik, merupakan penyebab terbanyak

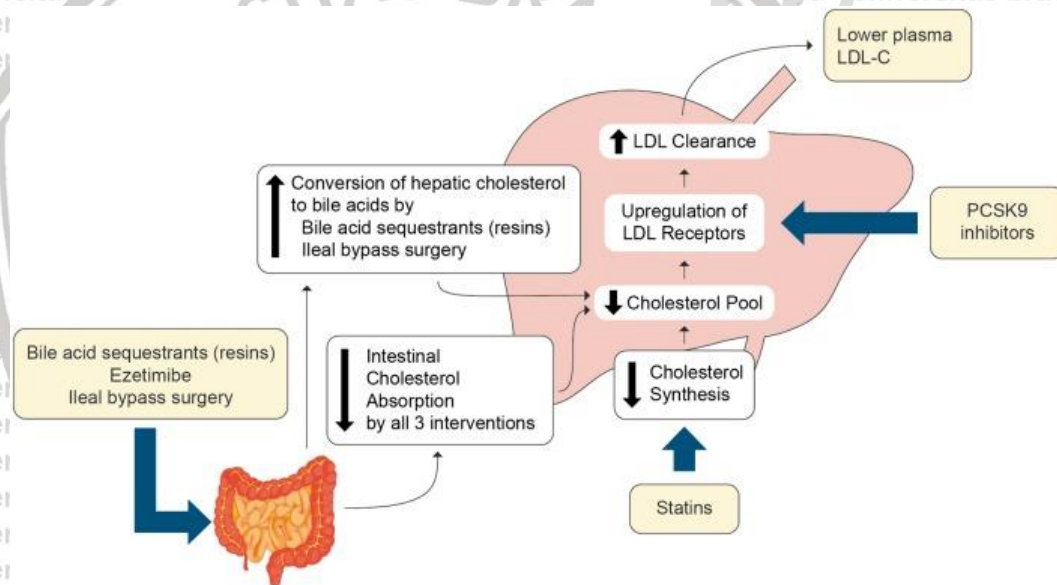
morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia. Berbagai penelitian menunjukkan hasil bahwa hal ini berhubungan dengan peningkatan risiko kejadian kardiovaskuler (Yusuf *et al.*, 2004) akibat low-density lipoprotein (LDL). LDL yang mengandung banyak kolesterol dan apolipoprotein B (apoB) yang mengandung lipoprotein, antara lain very low-density lipoproteins (VLDL) dan remnant, intermediate density lipoproteins (IDL), dan lipoprotein(a) [Lp(a)], secara langsung menyebabkan perkembangan ASCVD (Goldstein dan Brown, 2015). Namun demikian, masih ada peneliti yang meragukan hubungan antara LDL dengan perkembangan ASCVD (DuBroff, 2017).

Hasil studi genetik, epidemiologis, dan intervensi klinis meliputi kasualitas LDL berdasarkan pada pemahaman terkini mengenai patofisiologi ASCVD. Walaupun fokusnya pada LDL, tetap tidak mengabaikan peran apoB yang mengandung lipoprotein pada perkembangan ASCVD serta efek aterogenik potensial komponen individual lipidome dan proteome dari LDL selain kolesterol dan apoB.

Sebagian besar publikasi yang mempertanyakan efek kausal LDL pada perkembangan ASCVD dari studi individual atau kelompok studi yang sangat selektif, seringkali tanpa sintesis kuantitatif evidence yang ada (Ravnskov *et al.*, 2016). Jadi untuk menghindari bias jenis seleksi, dilakukan studi dengan total evidence dari meta-analisis studi genetik, studi epidemiologik prospektif, studi Mendelian randomization, dan randomized clinical trials yang terpisah (lebih dari 200 studi dengan lebih dari 2 juta partisipan per tahun yang di-follow-up dan lebih dari 150.000 kejadian kardiovaskuler. Hasilnya adalah pembuktian yang kuat bahwa LDL menyebabkan ASCVD (Ference *et al.*, 2017).

Bukti klinis untuk kasualitas yang paling meyakinkan adalah uji klinis random yang mengevaluasi efek terapi yang menurunkan LDL-C pada risiko kejadian kardiovaskuler. Gambar 7.1 menunjukkan tempat kerja utama terapi

penurunan LDL. Perlu diperhatikan bahwa interpretasi dari setiap penelitian dapat dipengaruhi disainnya. Secara umum, studi dengan jumlah sampel yang sedikit sehingga kurang kuat, tidak menghasilkan perbedaan bermakna pada kadar LDL-C antar kelompok terapi, dan follow-up jangka pendek (2 tahun atau kurang) tidak memperlihatkan hasil perbedaan yang signifikan secara statistik. Oleh karena itu, beberapa terapi untuk menurunkan LDL-C (mis, oestrogen) juga mempunyai efek samping yang meningkatkan risiko ASCVD yang dapat memperkuat atau menghilangkan manfaat klinis dari obat penurun LDL-C. Over-interpretasi dari uji individual ini dapat menyebabkan kesimpulan yang bias.



Gambar 7.1. Skema yang memperlihatkan terapi untuk menurunkan low-density lipoprotein (LDL) via jalur reseptor LDL, up-regulate reseptor LDL sehingga meningkatkan klirens LDL.

Dari meta-analisis data partisipan individual dari 26 uji statin pada hampir 170.000 individu, terapi dengan statin berhubungan dengan penurunan log-linear sebesar 22% pada risiko kejadian kardiovaskuler mayor per milimol per liter penurunan LDL-C pada median 5 tahun terapi (Cholesterol Treatment Trialists'

(CTT) Collaboration, Baigent C *et al.*, 2010). Efeknya kecil pada tahun pertama terapi, kemudian penurunan konsisten sebesar 22-24% pada kejadian kardiovaskuler per milimol per liter penurunan LDL-C selama setiap tahun terapi (Collins *et al.*, 2016). Kekuatan efek ini tidak tergantung dari kadar LDL-C baseline, sama pada orang dengan atau tanpa penyakit kardiovaskuler sebelumnya pada baseline, dan sangat konsisten pada semua kelompok yang diteliti (Collins *et al.*, 2016). Meta-analisis ini memberikan bukti kuat bahwa penurunan kadar LDL-C dengan inhibisi HMG-CoA reductase dengan statin menyebabkan penurunan dose-dependent pada risiko kejadian kardiovaskuler yang sebanding dengan penurunan LDL-C.

7.2. Saran

- Melakukan penelitian dengan pasien suku lain, misalnya Madura, Cina, Arab dan lain-lain.
- Melakukan genotyping pre dan post terapi Simvastatin, untuk mengetahui apakah terjadi mutasi gen.
- Melakukan pemeriksaan lebih lanjut pada keluarga pasien dengan mutan alel.
- Melakukan penelitian yang langsung menganalisis efek SNP SLCO1B1 pada kemampuan penurunan kolesterol, dan induksi efek samping obat, pada simvastatin.
- Diperlukan studi yang lebih besar karena polimorfisme terjadi pada frekuensi rendah pada berbagai kelompok etnis dan tidak dapat menjelaskan variasi respons. Penelitian pada subjek untuk polimorfisme gen lainnya yang dicocokkan dengan polimorfisme gen yang diperkirakan berperan pada disposisi statin.

DAFTAR PUSTAKA

Aboyans V, Criqui MH, Denenberg JO, Knoke JD, Ridker PM, Fronckowiak EA. Risk factors for progression of peripheral arterial disease in large and small vessels. *Circulation*. 2006;113:2623–2629.

Aboyans V, Criqui MH, McClelland RL, Allison MA, McDermott MM, Goff DC Jr, Manolio TA. Intrinsic contribution of gender and ethnicity to normal ankle-brachial index values: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *J Vasc Surg*. 2007;45:319–327.

Aboyans V, Kamineni A, Allison MA, McDermott MM, Crouse JR, NiH, Szklo M, Criqui MH. The epidemiology of subclavian stenosis and its association with markers of subclinical atherosclerosis: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis*. 2010;211:266–270.

Aboyans V, Lacroix P, Doucet S, Preux PM, Criqui MH, Laskar M. Diagnosis of peripheral arterial disease in general practice: can the ankle-brachial index be measured either by denut palpation or an automatic blood pressure device? *Int J Clin Pract*. 2008;62:1001–1007.

Aboyans V, Lacroix P, Lebourdon A, Preux PM, Ferrieres J, Laskar M. The intra- and interobserver variability of ankle-arm blood pressure index according to its mode of calculation. *J Clin Epidemiol*. 2003;56:215–220.

Abraham P, Desvaux B, Colin D, Leftheriotis G, Saumet JL. Heart rate-corrected ankle-to-arm index in the diagnosis of moderate lower extremity arterial disease. *Angiology*. 1995;46:673–677.

ACCF/AHA Task Force on Practice Guidelines. Methodologies and Policies from the ACCF/AHA Task Force on Practice Guidelines. Available at: http://assets.cardiosource.com/Methodology_Manual_for_ACC_AHA_Writing_Committees.pdf and <http://circ.ahajournals.org/manual/>. Accessed August 27, 2010.

Akllilu E, Mugusi S, Ngaimisi E et al., 2011. Frequency of the SLCO1B1 388A>G and the 521T>C polymorphism in Tanzania genotyped by a new LightCycler®-based method. *Eur J Clin Pharmacol* 67:1139–1145

Albert, J.A. Lovastatin and beyond: the history of the HMG-CoA reductase inhibitors. *Nat. Rev. Drug Discov*. 2, 517–526 (2003).

Alberts MJ, Bhatt DL, Mas JL, Ohman EM, Hirsch AT, Rother J, SaletteG, Goto S, Smith SC Jr, Liao CS, Wilson PW, Steg PG; Reduction of Atherothrombosis for Continued Health Registry Investigators. Three-year follow-up and event rates in the international Reduction of Atherothrombosis for Continued Health Registry. *Eur Heart J*. 2009;30:2318–2326.

Allison MA, Aboyans V, Granston T, McDermott MM, Kamineni A, NiH, Criqui MH. The relevance of different methods of calculating the ankle-brachial index: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Epidemiol*. 2010;171:368–376.

Allison MA, Criqui MH, McClelland RL, Scott JM, McDermott MM, Liu K, Folsom AR, Bertoni AG, Sharrett AR, Homma S, Kori S. The effect of novel

cardiovascular risk factors on the ethnic-specific odds for Peripheral arterial disease in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *J Am Coll Cardiol.* 2006;48:1190–1197.

Allison MA, Peralta CA, Wassel CL, ET AL. Genetic ancestry and lower Extremity peripheral artery disease in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Vasc Med.* 2010;15:351–359.

Alnaeb ME, Boutin A, Crabtree VP, Mikhailidis DP, Seifalian AM, Hamilton G. Assessment of lower extremity peripheral arterial disease Using a novel automated optical device. *Vasc Endovascular Surg.* 2007;41:522–527.

Amato M, Montorsi P, Ravani A, et al. Carotid intima-media thickness by B-mode ultrasound as surrogate of coronary atherosclerosis: correlation with quantitative coronary angiography and coronary intravascular ultrasound findings. *Eur Heart J.* 2007;28(17):2094–2101.

Amighi J, Sabeti S, Schlager O, Francesconi M, Ahmadi R, Minar E, Schillinger M. Outcome of conservative therapy of patients with severe Intermittent claudication. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2004;27:254–258.

Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD. Close relationship of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol.* 1995;26:1235–1241.

Ankle Brachial Index Collaboration, Fowkes FG, Murray GD, Butcher I, Heald CL, et al. Ankle brachial index combined with Framingham risk score To predict cardiovascular events and mortality: a meta-analysis. *JAMA.* 2008;300:197–208.

Aoki M, Terada T, Ogasawara K, Katsura T, Hatano E, Ikai I, and Inui K, 2009. Impact of regulatory polymorphisms in organic anion transporter genes in the human liver. *Pharmacogenet Genomics* 19:647–656.

Aquilante CL, Bushman LR, Knutsen SD, Burt LE, Rome LC, and Kosmiski LA, 2008. Influence of SLCO1B1 and CYP2C8 gene polymorphisms on rosiglitazone pharmacokinetics in healthy volunteers. *Hum Genomics* 3:7–16.

Asmar R, Hosseini H. Endpoints in clinical trials: does evidence only originate from 'hard' or mortality endpoints? *J Hypertens.* 2009;27(suppl 2):S45–S50.

Bachmakov I, Glaeser H, Fromm MF, König J, 2008. Interaction of oral antidiabetic drugs with hepatic uptake transporters: focus on organic anion transporting polypeptides and organic cation transporter 1. *Diabetes* 57: 1463–1469.

Backman, J.T., Kyrklund, C., Kivistö, K.T., Wang, J.S. & Neuvonen, P.J. Plasma concentrations of active simvastatin acid are increased by gemfibrozil. *Clin. Pharmacol. Ther.* **68**, 122–129 (2000).

Backman, J.T., Kyrklund, C., Neuvonen, M. & Neuvonen, P.J. Gemfibrozil greatly increases plasma concentrations of cerivastatin. *Clin. Pharmacol. Ther.* **72**, 685–691 (2002).

Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C *et al*. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective metaanalysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet* 2005; 366: 1267–1278.

Baker JD, Dix DE. Variability of Doppler ankle pressures with arterialOcclusive disease: an evaluation of ankle index and brachial-anklePressure gradient. *Surgery*. 1981;89:134 –137.

Barber MJ, Mangravite LM, Hyde CL, Chasman DI, Smith JD, McCarty CA, Li X, Wilke RA, Rieder MJ, Williams PT, Ridker PM, Chatterjee A, Rotter JI, Nickerson DA, Stephens M, Krauss RM. Genome-wide association of lipid-lowering response to statins in combined study populations. *PLoS One* 2010;5:e9763. doi:10.1371/journal.pone.0009763.

Baxter GM, Polak JF. Lower limb colour flow imaging: a comparisonWith ankle:brachial measurements and angiography. *Clin Radiol*. 1993;47:91–95.

Beckman JA, Higgins CO, Gerhard-Herman M. Automated oscillometricDetermination of the ankle-brachial index provides accuracyNecessary for office practice. *Hypertension*. 2006;47:35–38.

Becquemont L, Neuvonen M, Verstuyft C, Jaillon P, Letierce A, Neuvonen PJ, and Funck-Brentano C, 2007. Amiodarone interacts with simvastatin but not with pravastatin disposition kinetics. *Clin Pharmacol Ther* 81:679 –684.

Benchimol D, Pillois X, Benchimol A, Houitte A, Sagardiluz P, TortelierL, Bonnet J. Accuracy of ankle-brachial index using an automaticBlood pressure device to detect peripheral artery disease in preventiveMedicine. *Arch Cardiovasc Dis*. 2009;102:519 –524.

Berg, J.S.; Dischler, J.; Wagner, D.J.; Raia, J.J.; Palmer-Shevlin, N. Medication compliance: A healthcare problem. *Ann. Pharmacother*. 1993, 27, S1–S24.

Berry KL, Skyrme-Jones RA, Meredith IT. Occlusion cuff position is an important determinant of the time course and magnitude of human brachial artery flow-mediated dilation. *Clin Sci (Lond)*. 2000;99: 261–267.

Bird CE, Criqui MH, Fronck A, Denenberg JO, Klauber MR, LangerRD. Quantitative and qualitative progression of peripheral arterialDisease by non-invasive testing. *Vasc Med*. 1999;4:15–21.

Boekholdt SM, Arsenault BJ, Mora S, *et al*. Association of LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, and apolipoprotein B levels with risk of cardiovascular events among patients treated with statins: a meta-analysis. *JAMA* 2012;307:1302–1309. [PubMed] [Google Scholar]

Bots ML, Baldassarre D, Simon A, *et al*. Carotid intima-media thickness and coronary atherosclerosis: weak or strong relations? *Eur Heart J*. 2007;28(4):398–406.

Bots ML, Evans GW, Riley WA, Grobbee DE. Carotid intima-media thickness measurements in intervention studies: design options, progression rates, and sample size considerations: a point of view. *Stroke*. 2003;34(12):2985–2994.

Brenner DJ, Hall EJ. Computed tomography—an increasing source of radiation exposure. *N Engl J Med*. 2007;357(22):2277–2284.

Brindle P, Beswick A, Fahey T, Ebrahim S. Accuracy and impact of risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Heart*. 2006;92:1752–1759.

Brown CDA, Windass A, Bleasby K, Lauffart B. Rosuvastatin is a high affinity substrate of hepatic organic anion transporter OATP-C (abstract). *Atherosclerosis*. 2001; 2: 90.

Brunham, L.R. *et al.* Differential effect of the rs4149056 variant in SLCO1B1 on myopathy associated with simvastatin and atorvastatin. *Pharmacogenomics J*. (2011), e-pub ahead of print 18 January 2011.

Buch S, Schafmayer C, Vo"lzke H, Seeger M, Miquel JF, Sookoian SC, Egberts JH, Arlt A, Pirola CJ, Lerch MM, *et al.* (2010) Loci from a genome-wide analysis of bilirubin levels are associated with gallstone risk and composition. *Gastroenterology* 139:1942–1951.e2.

Cai WM, J. Xu, B. Chen, F.M. Zhang, Y.Z. Huang, Y.D. Zhang. Effect of CYP2D6*10 genotype on propafenone pharmacodynamics in Chinese patients with ventricular arrhythmia. *Acta Pharmacol Sin*, 23 (2002), pp. 1040–1044

Carmelli D, Fabsitz RR, Swan GE, Reed T, Miller B, Wolf PA. Contribution of genetic and environmental influences to ankle-brachial blood pressure index in the NHLBI Twin Study: National Heart, Lung, and Blood Institute. *Am J Epidemiol*. 2000;151:452–458.

Carter SA. Response of ankle systolic pressure to leg exercise in mild or questionable arterial disease. *N Engl J Med*. 1972;287:578–582.

Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, Deanfield JE. Cigarette smoking is associated with dose-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation*. 1993;88:2149–2155.

Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992;340:1111–1115.

Ceriello A, Cavarape A, Martinelli L, Da Ros R, Marra G, Quagliari L, Piconi L, Assaloni R, Motz E. The post-prandial state in type 2 diabetes and endothelial dysfunction: effects of insulin aspart. *Diabet Med*. 2004; 21:171–175.

Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, *et al.* Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987–1993. *Am J Epidemiol*. 1997;146(6):483–494.



Chang C, Pang KS, Swaan PW, and Ekins S, 2005. Comparative pharmacophore modeling of organic anion transporting polypeptides: a meta-analysis of rat Oatp1a1 and human OATP1B1. *J Pharmacol Exp Ther* 314:533–541.

Charland, S.L.; Agatep, B.C.; Epstein, R.S.; Frueh, F.W.; Herrera, V.; Devlin, J.; Superko, H.; Stanek, E.J. Patient knowledge of pharmacogenetic information improves adherence to statin therapy: Results of the additional kif6 risk offers better adherence to statins (akrobats) trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2012, 59, doi:10.1016/S0735-1097(12)61849-X

Chasman DI, Posada D, Subrahmanyam L, Cook NR, Stanton VP Jr., Ridker PM. Pharmacogenetic study of statin therapy and cholesterol reduction. *JAMA* 2004;291:2821-2827. doi:10.1001/jama.291.23.2821.

Choi EK, Choi SI, Rivera JJ, et al. Coronary computed tomography angiography as a screening tool for the detection of occult coronary artery disease in asymptomatic individuals. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52:357–65.

Choi MK, Song IS (2008) Organic cation transporters and their pharmacokinetic and pharmacodynamic consequences *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 23: 243 – 253

Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration, Baigent C, Blackwell L, Emberson J, Holland LE, Reith C, Bhalra N, Peto R, Barnes EH, Keech A, Simes J, Collins R. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170 000 participants in 26 randomised trials. *Lancet* 2010;376:1670–1681. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Clairotte C, Retout S, Potier L, Roussel R, Escoubet B. Automated Ankle-brachial pressure index measurement by clinical staff for peripheral Arterial disease diagnosis in nondiabetic and diabetic patients. *Diabetes Care.* 2009;32:1231–1236.

Clarkson P, Montgomery HE, Mullen MJ, Donald AE, Powe AJ, Bull T, Jubb M, World M, Deanfield JE. Exercise training enhances endothelial function in young men. *J Am Coll Cardiol.* 1999;33:1379 –1385.

Cobble M & Bale B. *Carotid Intima-Media Thickness: Knowledge and Application to Everyday Practice, Postgraduate Medicine*, 122:1, 10-18, 2010. DOI: 10.3810/pgm.2010.01.2091.

Collins R, Reith C, Emberson J, et al. Interpretation of the evidence for the efficacy and safety of statin therapy. *Lancet* 2016;388:2532–2561. [PubMed] [Google Scholar]

Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:257–265.

Corretti MC, Plotnick GD, Vogel RA. Technical aspects of evaluating brachial artery vasodilatation using high-frequency ultrasound. *Am J Physiol.* 1995;268:H1397–H1404.

Couvert P, Giral P, Dejager S, Gu J, Huby T, Chapman MJ, Bruckert E, and Carrie A (2008) Association between a frequent allele of the gene encoding OATP1B1 and enhanced LDL-lowering response to fluvastatin therapy. *Pharmacogenomics* 9:1217–1227.

Criqui MH, mccllelland RL, mcdermott MM, et al. The ankle-brachial Index and incident cardiovascular events in the MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *J Am Coll Cardiol*. 2010;56:1506–1512.

Criqui MH, Ninomiya JK, Wingard DL, Ji M, Fronck A. Progression of Peripheral arterial disease predicts cardiovascular disease morbidity and Mortality. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:1736–1742.

Cronenwett JL, Warner KG, Zelenock GB, Whitehouse WM Jr, Graham LM, Lindenauer M, Stanley JC. Intermittent claudication: current results of nonoperative management. *Arch Surg*. 1984;119:430–436.

Crouse JR 3rd, Raichlen JS, Riley WA, et al. Effect of rosuvastatin on progression of carotid intima-media thickness in low-risk individuals with subclinical atherosclerosis: the METEOR trial. *JAMA*. 2007;297(12):1344–1353.

Cui Y, König J, Leier I, Buchholz U, Keppler D (2001). Hepatic uptake of bilirubin and its conjugates by the human organic anion transporter SLC21A6. *J Biol Chem* 276: 9626–9630.

Dahl ML, Johansson I, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M, and Sjöqvist F (1995) Ultrarapid hydroxylation of debrisoquine in a Swedish population. Analysis of the molecular genetic basis. *J Pharmacol Exp Ther* 274:516–520.

Davidson MH, Stein EA, Dujovne CA, Hunninghake DB, Weiss SR, Knopp RH, Illingworth DR, Mitchel YB, Melino MR, Zupkis RV, et al. (1997) The efficacy and six-week tolerability of simvastatin 80 and 160 mg/day. *Am J Cardiol* 79:38–42.

Deng JW, Song IS, Shin HJ, Yeo CW, Cho DY, Shon JH et al. The effect of SLCO1B1*15 on the disposition of pravastatin and pitavastatin is substrate dependent: the contribution of transporting activity changes by SLCO1B1*15. *Pharmacogenet Genomics* 2008; 18: 424–433.

Descamps OS, Bruniaux M, Guilmot PF, Tonglet R, Heller FR. Lipoprotein concentrations in newborns are associated with allelic variations in their mothers. *Atherosclerosis* 2004;172:287–298. [PubMed] [Google Scholar]

Dolan M.E., Newbold K.G., Nagasubramanian R., et al, 2004. Heritability and linkage analysis of sensitivity to cisplatin-induced cytotoxicity. *Cancer Res*. 64:4353–4356.

Donnelly, L.A.; Doney, A.S.; Tavendale, R.; Lang, C.C.; Pearson, E.R.; Colhoun, H.M.; McCarthy, M.I.; Hattersley, A.T.; Morris, A.D.; Palmer, C.N. Common nonsynonymous substitutions in *slco1b1* predispose to statin intolerance in routinely treated individuals with type 2 diabetes: A go-darts study. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2011, 89, 210–216.



DuBroff R. Cholesterol paradox: a correlate does not a surrogate make. *Evid Based Med* 2017;22:15–19. [PubMed] [Google Scholar]

Egan, A.; Colman, E. Weighing the benefits of high-dose simvastatin against the risk of myopathy. *N. Engl. J. Med.* 2011, 365, 285–287.

Eichelbaum M., Ingelman-Sundberg M., and Evans W.E., 2006. Pharmacogenomics and individualized drug therapy. *Annu Rev Med* 57:119-137.

Emerging Risk Factors C, Di Angelantonio E, et al. Lipid-related markers and cardiovascular disease prediction. *JAMA* 2012;307:2499–2506. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Eskurza I, Monahan KD, Robinson JA, Seals DR. Ascorbic acid does not affect large elastic artery compliance or central blood pressure in young and older men. *Am J Physiol.* 2004;286:H1528–H1534.

Espeland MA, Regensteiner JG, Jaramillo SA, Gregg E, Knowler WC, Wagenknecht LE, Bahnson J, Haffner S, Hill J, Hiatt WR; LookAHEAD Study Group. Measurement characteristics of the ankle-brachial index: results from the Action for Health in Diabetes study. *Vasc Med.* 2008;13:225–233.

Espinola-Klein C, Rupprecht HJ, Bickel C, Lackner K, Savvidis S, Messow CM, Munzel T, Blankenberg S; atherogene Investigators. Different calculations of ankle-brachial index and their impact on cardiovascular risk prediction. *Circulation.* 2008;118:961–967.

Evans WE and Relling MV (2004) Moving towards individualized medicine with pharmacogenomics. *Nature* 429:464–468.

Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001;285(19):2486–2497

Ference BA, Majeed F, Penumetcha R, Flack JM, Brook RD. Effect of naturally random allocation to lower low-density lipoprotein cholesterol on the risk of coronary heart disease mediated by polymorphisms in NPC1L1, HMGCR, or both: a 2 x 2 factorial Mendelian randomization study. *J Am Coll Cardiol* 2015;65:1552–1261. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Ference BA, Robinson JG, Brook RD, Catapano AL, Chapman MJ, Neff DR, Voros S, Giugliano RP, Davey Smith G, Fazio S, Sabatine MS. Variation in PCSK9 and HMGCR and risk of cardiovascular disease and diabetes. *N Engl J Med* 2016; 375:2144–2153. [PubMed] [Google Scholar]

Finn AV, Kolodgie FD, Virmani R. Correlation between Carotid Intimal/Medial Thickness and Atherosclerosis. A Point of View from Pathology [published online ahead of print August 13, 2009]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*

Fisher CM, Burnett A, Makeham V, Kidd J, Glasson M, Harris JP. Variation in measurement of ankle-brachial pressure index in routine clinical practice. *J Vasc Surg*. 1996;24:871–875.

Fowkes FG, Murray GD, Butcher I, et al. Ankle brachial index combined with Framingham Risk Score to predict cardiovascular events and mortality: a meta-analysis. *JAMA*. 2008;300:197–208.

Fowl RJ, Gewirtz RJ, Love MC, Kempczinski RF. Natural history of Claudicants with critical hemodynamic indices. *Ann Vasc Surg*. 1992;6:31–33.

Franzoni F, Ghiadoni L, Galetta F, et al. Physical activity, plasma antioxidant capacity, and endothelium-dependent vasodilation in young and older men. *Am J Hypertens*. 2005;18:510–516.

Fujino H, Saito T, Ogawa S, and Kojima J (2005) Transporter-mediated influx and efflux mechanisms of pitavastatin, a new inhibitor of HMG-CoA reductase. *J Pharm Pharmacol* 57:1305–1311.

Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288: 373–376.

Furihata T, Satoh T, Yamamoto N, Kobayashi K, and Chiba K (2007) Hepatocyte nuclear factor 1 alpha is a factor responsible for the interindividual variation of OATP1B1 mRNA levels in adult Japanese livers. *Pharm Res* 24:2327–2332.

Gasparyan AY. The use of carotid artery ultrasonography in different clinical conditions. *Open Cardiovasc Med J*. 2009;3:78–80

Gepner AD, Korcarz CE, Aeschlimann SE, et al. Validation of a carotid intima-media thickness border detection program for use in an office setting. *J Am Soc Echocardiogr*. 2006;19(2):223–228.

Gerloff T, Schaefer M, Mwinyi J, Johne A, Sudhop T, Lu" tjohnann D, Roots I, and von Bergmann K (2006) Influence of the SLCO1B1*1b and *5 haplotypes on pravastatin's cholesterol lowering capabilities and basal sterol serum levels. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 373:45–50.

Ghatak A, Faheem O, and Thompson PD (2010) The genetics of statin-induced myopathy. *Atherosclerosis* 210:337–343.

Giacomini KM, Huang SM, Tweedie DJ, Benet LZ, Brouwer KL, Chu X, Dahlin A, Evers R, Fischer V, Hillgren KM, et al. (2010) Membrane transporters in drug development. *Nat Rev Drug Discov* 9:215–236.

Gill RW. Measurement of blood flow by ultrasound: accuracy and sources of error. *Ultrasound Med Biol*. 1985;11:625–641.

Global Lipids Genetics Consortium. Discovery and refinement of loci associated with lipid levels. *Nat Genet* 2013;45:1274–1283. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

GO-DARTS (Genetics of Diabetes Audit and Research)

Goldstein JL, Brown MS. A century of cholesterol and coronaries: from plaques to genes to statins. *Cell* 2015;161:161–172. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Gornik HL, Garcia B, Wolski K, Jones DC, Macdonald KA, Fronck A. Validation of a method for determination of the ankle-brachial index in the seated position. *J Vasc Surg*. 2008;48:1204–1210.

Graham, D.J. *et al.* Incidence of hospitalized rhabdomyolysis in patients treated with lipid-lowering drugs. *JAMA* **292**, 2585–2590 (2004).

Green D. Point: flow-mediated dilation does reflect nitric oxide-mediated endothelial function. *J Appl Physiol*. 2005;99:1233–1234; discussion 1237–1238.

Greenland P, Bonow RO, Brundage BH, *et al.* ACCF/AHA 2007 clinical expert consensus document on coronary artery calcium scoring by computed tomography in global cardiovascular risk assessment and in evaluation of patients with chest pain: a report of the American College of Cardiology Foundation Clinical Expert Consensus Task Force (ACCF/AHA Writing Committee to Update the 2000 Expert Consensus Document on Electron Beam Computed Tomography) developed in collaboration with The Society of Atherosclerosis Imaging and Prevention and the Society of Cardiovascular Computed Tomography. *Circulation*. 2007;115:402–426.

Greenland P, Labree L, Azen SP, Doherty TM, Detrano RC. Coronary artery calcium score combined with Framingham score for risk prediction in asymptomatic individuals. *JAMA*. 2004;291:210–215.

Growth and Development Study (HGDS), Multicenter AIDS Cohort Study (MACS), Multicenter Hemophilia Cohort Study (MHCS), San Francisco City Cohort (SFCC), ALIVE Study. *Science* 277:959–965.

Grube M, Köck K, Oswald S, Draber K, Meissner K, Eckel L *et al.* (2006). Organic anion transporting polypeptide 2B1 is a high-affinity transporter for atorvastatin and is expressed in the human heart. *Clin Pharmacol Ther* 80: 607–620.

Guo X, Li J, Pang W, Zhao M, Luo Y, Sun Y, Hu D. Sensitivity and specificity of ankle-brachial index for detecting angiographic stenosis of peripheral arteries. *Circ J*. 2008;72:605–610.

Hagenbuch B and Meier PJ (2004) Organic anion transporting polypeptides of the OATP/SLC21 family: phylogenetic classification as OATP/SLCO superfamily, new nomenclature and molecular/functional properties. *Pflugers Arch* 447:653–665.

Hamalainen H, Ronnema T, Halonen JP, Toikka T. Factors predicting lower extremity amputations in patients with type 1 or type 2 diabetes mellitus: a population-based 7-year follow-up study. *J Intern Med*. 1999;246:97–103.

Han YH, Busler D, Hong Y, Tian Y, Chen C, and Rodrigues AD (2010) Transporter studies with the 3-O-sulfate conjugate of 17alpha-ethinylestradiol: assessment of human liver drug transporters. *Drug Metab Dispos* 38:1072–1082.

Hanukoglu I., 1992. "Steroidogenic enzymes: structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 43 (8): 779–804.

Harper CR, Jacobson TA. The broad spectrum of statin myopathy: from myalgia to rhabdomyolysis. *Curr Opin Lipidol* 2007; 18: 401–408.

Harris RA, Padilla J, Hanlon KP, Rink LD, Wallace JP. The flow-mediated dilation response to acute exercise in overweight active and inactive men. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16:578 –584.

Harris RA, Padilla J, Rink LD, Wallace JP. Variability of flow-mediated dilation measurements with repetitive reactive hyperemia. *Vasc Med*. 2006;11:1– 6.

Harris RA, Padilla J. Proper "normalization" of flow-mediated dilation for shear. *J Appl Physiol*. 2007;103:1108; author reply 1109.

Harvey PJ, Morris BL, Kubo T, Picton PE, Su WS, Notarius CF, Floras JS. Hemodynamic after-effects of acute dynamic exercise in sedentary normotensive postmenopausal women. *Hypertension*. 2005;23:285–292.

Hashimoto M, Akishita M, Eto M, Ishikawa M, Kozaki K, Toba K, Sagara Y, Taketani Y, Orimo H, Ouchi Y. Modulation of endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery by sex and menstrual cycle. *Circulation*. 1995;92:3431–3435.

Hayashi C, Ogawa O, Kubo S, Mitsuhashi N, Onuma T, Kawamori R. Ankle brachial pressure index and carotid intima-media thickness as Atherosclerosis markers in Japanese diabetics. *Diabetes Res Clin Pract*. 2004;66:269 –275.

Heart Protection Study Collaborative Group. Effects on 11-year mortality and morbidity of lowering LDL cholesterol with simvastatin for about 5 years in 20 536 high-risk individuals: a randomised controlled trial. *Lancet* **378**, 2013–2020 (2011).

Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF heart protection study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 7–22.

Herman G.E., 2003. Disorders of cholesterol biosynthesis: prototypic metabolic malformation syndromes. *Human Molecular Genetics*. 12 Spec No 1:R75-88.

Hiatt WR, Goldstone J, Smith SC Jr, mcdermott M, Moneta G, Oka R, Newman AB, Pearce WH; American Heart Association Writing Group1. Atherosclerotic peripheral vascular disease symposium II: nomenclature For vascular diseases. *Circulation*. 2008;118:2826 –2829.

Hiatt WR, Hoag S, Hamman RF. Effect of diagnostic criteria on the prevalence of peripheral arterial disease: the San Luis Valley Diabetes Study. *Circulation*. 1995;91:1472–1479.

Hirsch AT, Criqui MH, Treat-Jacobson D, et al. Peripheral arterial disease detection, awareness, and treatment in primary care. *JAMA*. 2001;286:1317–1324.

Ho R.H., et al, 2006. Drug and bile acid transporters in rosuvastatin hepatic uptake: function, expression, and pharmacogenetics. *Gastroenterology*. 130, 1793–1806.

Ho RH, Choi L, Lee W, Mayo G, Schwarz UI, Tirona RG *et al*. Effect of drug transporter genotypes on pravastatin disposition in European- and African-American participants. *Pharmacogenet Genomics* 2007; 17: 647–656.

Ho RH, Tirona RG, Leake BF, Glaeser H, Lee W, Lemke CJ *et al*. Drug and bile acid transporters in rosuvastatin hepatic uptake: function, expression, and pharmacogenetics. *Gastroenterology* 2006; 130: 1793–1806.

Holmes MV, Asselbergs FW, Palmer TM, et al. Mendelian randomization of blood lipids for coronary heart disease. *Eur Heart J* 2015;36:539–550. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Hsiang B, Zhu Y, Wang Z, Wu Y, Sasseville V, Yang WP *et al*. A novel human hepatic organic anion transporting polypeptide (OATP2). Identification of a liver-specific human organic anion transporting polypeptide and identification of rat and human hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitor transporters. *J Biol Chem* 1999; 274: 37161–37168.

Huang AL, Silver AE, Shvenke E, et al. Predictive value of reactive hyperemia for cardiovascular events in patients with peripheral arterial disease undergoing vascular surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:2113–2119.

Humphrey JD. Mechanisms of arterial remodeling in hypertension: Coupled roles of wall shear and intramural stress. *Hypertension*. 2008;52:195–200.

Hunt KJ, Sharrett AR, Chambless LE, Folsom AR, Evans GW, Heiss G. Acoustic shadowing on B-mode ultrasound of the carotid artery predicts CHD. *Ultrasound Med Biol*. 2001;27(3):357–365

Igel M, Arnold KA, Niemi M, Hofmann U, Schwab M, Lutjohann D *et al*. Impact of the SLCO1B1 polymorphism on the pharmacokinetics and lipid-lowering efficacy of multiple-dose pravastatin. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 79: 419–426.

Ingelman-Sundberg M, S.C. Sim, A. Gomez, C. Rodriguez-Antona. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoepigenetic and clinical aspects. *Pharmacol Ther*, 116 (2007), pp. 496–526

Jaakkola T, Backman JT, Neuvonen M, and Neuvonen PJ (2005) Effects of gemfibrozil, itraconazole, and their combination on the pharmacokinetics of pioglitazone. *Clin Pharmacol Ther* 77:404–414.

Jarvisalo MJ, Jartti L, Marniemi J, Ronnema T, Viikari JS, Lehtimäki T, Raitakari OT. Determinants of short-term variation in arterial flow-mediated dilatation in healthy young men. *Clin Sci (Lond)*. 2006;110: 475–482.

Jarvisalo MJ, Jartti L, Nanto-Salonen K, et al. Increased aortic intima-media thickness: a marker of preclinical atherosclerosis in high-risk children. *Circulation*. 2001;104(24):2943–2947.

Johnson AD, Kavousi M, Smith AV, Chen MH, Dehghan A, Aspelund T, Lin JP, van Duijn CM, Harris TB, Cupples LA, et al. (2009) Genome-wide association meta-analysis for total serum bilirubin levels. *Hum Mol Genet* 18:2700–2710.

Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES study). *Am J Cardiol* 1998;81:582-587. doi:10.1016/S0002-9149(97)00965-X.

Jonsson B, Lindberg LG, Skau T, Thulesius O. Is oscillometric ankle pressure reliable in leg vascular disease? *Clin Physiol*. 2001;21:155–163.

Joy TR, Hegele RA. Narrative review: statin-related myopathy. *Ann Intern Med* 2009; 150: 858–868.

Jung D, Hagenbuch B, Gresh L, Pontoglio M, Meier PJ, and Kullak-Ublick GA (2001) Characterization of the human OATP-C (SLC21A6) gene promoter and regulation of liver-specific OATP genes by hepatocyte nuclear factor 1 alpha. *J Biol Chem* 276:37206–37214.

Kablak-Ziembicka A, Przewlocki T, Tracz W, Pieniazek P, Musialek P, Sokolowski A. Gender differences in carotid intima-media thickness in patients with suspected coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2005;96(9):1217–1222.

Kaiser V, Kester AD, Stoffers HE, Kitslaar PJ, Knottnerus JA. The influence of experience on the reproducibility of the ankle-brachial systolic pressure ratio in peripheral arterial occlusive disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 1999;18:25–29.

Kalliokoski A, Backman JT, Neuvonen PJ, Niemi M. Effects of the SLCO1B1*1B haplotype on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of repaglinide and nateglinide. *Pharmacogenet Genomics* 2008; 18: 937–942.

Kalliokoski A, Neuvonen M, Neuvonen PJ, and Niemi M (2008c) Different effects of SLCO1B1 polymorphism on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of repaglinide and nateglinide. *J Clin Pharmacol* 48:311–321.

Kalliokoski A, Neuvonen M, Neuvonen PJ, and Niemi M (2008d) The effect of SLCO1B1 polymorphism on repaglinide pharmacokinetics persists over a wide dose range. *Br J Clin Pharmacol* 66:818–825.

Kalliokoski A, Neuvonen PJ, and Niemi M (2010) SLCO1B1 Polymorphism and Oral Antidiabetic Drugs. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. Kalliokoski A and Niemi M (2009) Impact of OATP transporters on pharmacokinetics. *Br J Pharmacol* 158:693–705.

Kalliokoski, A. & Niemi, M. Impact of OATP transporters on pharmacokinetics. *Br. J. Pharmacol.* **158**, 693–705 (2009).

Kalow W and Gunn DR (1959) Some statistical data on atypical cholinesterase of human serum. *Ann Hum Genet* 23:239–250.

Kalow W., Tang B.K., and Endrenyi L., 1998. Hypothesis: comparisons of inter- and intra-individual variations can substitute for twin studies in drug research. *Pharmacogenetics* 8:283–289.

Kalow W, Tang BK, and Endrenyi L (1998) Hypothesis: comparisons of inter- and intra-individual variations can substitute for twin studies in drug research. *Pharmacogenetics* 8:283–289.

Kameyama Y, Yamashita K, Kobayashi K, Hosokawa M, Chiba K. Functional characterization of SLCO1B1 (OATP-C) variants, SLCO1B1*5, SLCO1B1*15 and SLCO1B1*15+C1007G, by using transient expression systems of HeLa and HEK293 cells. *Pharmacogenet Genomics* 2005; 15: 513–522.

Kang TW, Kim HJ, Ju H, Kim JH, Jeon YJ, Lee HC, Kim KK, Kim JW, Lee S, Kim JY, et al. (2010) Genome-wide association of serum bilirubin levels in Korean population. *Hum Mol Genet* 19:3672–3678.

Kastelein JJ, Akdim F, Stroes ES, et al; ENHANCE Investigators. Simvastatin with or without ezetimibe in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med.* 2008;358:1431–1443.

Kastelein JJ, de Groot E. Ultrasound imaging techniques for the evaluation of cardiovascular therapies. *Eur Heart J.* 2008;29(7):849–858.

Kato T, Inoue T, Morooka T, Yoshimoto N, Node K. Short-term passive smoking causes endothelial dysfunction via oxidative stress in nonsmokers. *Can J Physiol Pharmacol.* 2006;84:523–529.

Katz DA, Carr R, Grimm DR, Xiong H, Holley-Shanks R, Mueller T, Leake B, Wang Q, Han L, Wang PG, et al. (2006) Organic anion transporting polypeptide 1B1 activity classified by SLCO1B1 genotype influences atorvastatin pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 79:186–196.

Katz S, Globerman A, Avitzour M, Dolfin T. The ankle-brachial index in normal neonates and infants is significantly lower than in older children and adults. *J Pediatr Surg.* 1997;32:269–271.

Keskitalo JE, Kurkinen KJ, Neuvonen M, Backman JT, Neuvonen PJ, Niemi M. No significant effect of ABCB1 haplotypes on the pharmacokinetics of fluvastatin, pravastatin, lovastatin, and rosuvastatin. *Br J Clin Pharmacol* 2009; 68: 207–213.

Keskitalo JE, Pasanen MK, Neuvonen PJ, and Niemi M (2009a) Different effects of the ABCG2 c.421C>A SNP on the pharmacokinetics of fluvastatin, pravastatin and simvastatin. *Pharmacogenomics* 10:1617–1624.

Keskitalo JE, Zolk O, Fromm MF, Kurkinen KJ, Neuvonen PJ, Niemi M. ABCG2 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 2009; 86: 197–203.

Khot UN, Khot MB, Bajzer CT, et al. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA*. 2003;290(7):898–904.

Kim RB. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors (statins) and genetic variability (single nucleotide polymorphisms) in a hepatic drug uptake transporter: what's it all about? *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75: 381–385.

Kimura Y., Tanaka K., 2010. Regulatory mechanisms involved in the control of ubiquitin homeostasis. *The Journal of Biochemistry*. 147:793-798

Kitamura S, Maeda K, Wang Y, and Sugiyama Y (2008) Involvement of multiple transporters in the hepatobiliary transport of rosuvastatin. *Drug Metab Dispos* 36:2014–2023.

Klaassen CD and Aleksunes LM (2010) Xenobiotic, bile acid, and cholesterol transporters: function and regulation. *Pharmacol Rev* 62:1–96.

Klein S, Hage JJ. Measurement, calculation, and normal range of the Ankle-arm index: a bibliometric analysis and recommendation for standardization. *Ann Vasc Surg*. 2006;20:282–292.

Konig J, Nies AT, Cui Y, Leier I, Keppler D (1999) conjugate export pump of the multidrug resistance protein (MRP) family: localization substrate specificity and MRP 2 – mediated drug resistance. *Biochemica and Biophysica Acta* 1461 (2) 377

Kooijman M, Thijssen DHJ, de Groot PCE, Bleeker MWP, van Kuppevelt HJM, Green DJ, Rongen GA, Smits P, Hopman MTE. Flow-mediated dilatation in the superficial femoral artery is nitric oxide mediated in humans. *J Physiol*. 2008;586:1137–1145.

Korno M, Eldrup N, Sillesen H. Comparison of ankle-brachial index Measured by an automated oscillometric apparatus with that by standard Doppler technique in vascular patients. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2009;38:610–615.

Kovacs W.J., Olivier L.M., Krisans S.K., 2002. Central role of peroxisomes in isoprenoid biosynthesis. *Progress in Lipid Research*. 41:369-391.

Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, Watkins PB, Daly A, Wrighton SA, Hall SD, et al. (2001) Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet* 27:383–391.

Kuehl P., Zhang J., Lin Y., et al, 2001. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genetics*. 27:383–391.

Kullak-Ublick GA, Hagenbuch B, Stieger B, Scheingart CD, Hofmann AF, Wolkoff AW, and Meier PJ (1995) Molecular and functional characterization of an

organic anion transporting polypeptide cloned from human liver. *Gastroenterology* 109:1274–1282.

Kullak-Ublick, G., et al., Organic anion-transporting polypeptide B (OATP-B) and its functional comparison with three other OATPs of human liver. *Gastroenterology* 2001. 120(2): p. 525-33.

Laing S, Greenhalgh RM. The detection and progression of asymptomatic Peripheral arterial disease. *Br J Surg*. 1983;70:628–630.

Lamba JK, Lin YS, Thummel K, Daly A, Watkins PB, Strom S, Zhang J, and Schuetz EG (2002) Common allelic variants of cytochrome P4503A4 and their prevalence in different populations. *Pharmacogenetics* 12:121–132.

Lamba V., Panetta J.C., Strom S., Schuetz E.G., 2010. Genetic predictors of inter-individual variability in hepatic CYP3A4 expression. *J Pharmacol Exp Ther*. 332:1088–1099.

Lawlor DA, Harbord RM, Sterne JA, Timpson N, Davey Smith G. Mendelian randomization: using genes as instruments for making causal inferences in epidemiology. *Stat Med* 2008;27:1133–1163. [PubMed] [Google Scholar]

Lecerf J.M., de Lorgeril M., 2011. Dietary cholesterol: from physiology to cardiovascular risk. *Br J Nutr* 106 (1): 6–14.

Lee E, Ryan S, Birmingham B, Zalikowski J, March R, Ambrose H *et al*. Rosuvastatin pharmacokinetics and pharmacogenetics in white and Asian subjects residing in the same environment. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 78: 330–341.

Lester SJ, Eleid MF, Khandheria BK, Hurst RT. Carotid intima-media thickness and coronary artery calcium score as indications of subclinical atherosclerosis. *Mayo Clin Proc*. 2009;84(3):229–233

Li C, Engstrom G, Berglund G, Janzon L, Hedblad B. Incidence of ischemic stroke in relation to asymptomatic carotid artery atherosclerosis in subjects with normal blood pressure. A prospective cohort study. *Cerebrovasc Dis*. 2008;26(3):297–303

Li T, C.Y. Chang, D.Y. Jin, P.J. Lin, A. Khvorova, D.W. Stafford. Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase. *Nature*, 427 (2004), pp. 541–544

Lijmer JG, Hunink MG, van den Dungen JJ, Loonstra J, Smit AJ. ROC Analysis of noninvasive tests for peripheral arterial disease. *Ultrasound Med Biol*. 1996;22:391–398.

Link E, Parish S, Armitage J, Bowman L, Heath S, Matsuda F *et al*. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy—a genomewide study. *N Engl J Med* 2008; 359: 789–799.

Link E. Oxford: University of Oxford; 2009. Genome-wide association of statin-induced myopathy (PhD thesis).

Little WC, Constantinescu M, Applegate RJ, et al. Can coronary angiography predict the site of a subsequent myocardial infarction in patients with mild-to-moderate coronary artery disease? *Circulation*. 1988;78(5 pt 1):1157–1166.

London GM, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Stimpel M. Influence of sex on arterial hemodynamics and blood pressure: role of body height. *Hypertension*. 1995;26:514–519.

Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation*. 2007;115(4):459–467.

Lu AY (1998) Drug-metabolism research challenges in the new millennium: individual variability in drug therapy and drug safety. *Drug Metab Dispos* 26:1217–1222.

Lu AYH and Ma Q (2010) Pharmacogenetics and individualized medicine, in *ADME Enabling Technologies in Drug Design and Development* (Zhang D and Surapaneni S eds), in press. Wiley & Sons, New York.

Ma Q and Lu AY (2008) The challenges of dealing with promiscuous drug metabolizing enzymes, receptors and transporters. *Curr Drug Metab* 9:374–383.

Ma Q and Lu AY. Pharmacogenetics, Pharmacogenomics, and Individualized Medicine. *Pharmacol Rev*. 2011 Jun;63(2):437-59. doi: 10.1124/pr.110.003533.

Macdonald E, Froggatt P, Lawrence G, Blair S. Are automated blood Pressure monitors accurate enough to calculate the ankle brachial Pressure index? *J Clin Monit Comput*. 2008;22:381–384.

Maeda K, Ieiri I, Yasuda K, Fujino A, Fujiwara H, Otsubo K *et al*. Effects of organic anion transporting polypeptide 1B1 haplotype on pharmacokinetics of pravastatin, valsartan, and temocapril. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 79: 427–439.

Maeda K, Sugiyama Y. Impact of genetic polymorphisms of transporters on the pharmacokinetic, pharmacodynamic and toxicological properties of anionic drugs. *Drug Metab Pharmacokinet* 2008; 23: 223–235.

Mahgoub A., Idle R.J., Dring L.G., et al, 1977. Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man. *Lancet*. 2:584–586.

Mangravite LM, Thorn CF, Krauss RM. Clinical implications of pharmacogenomics of statin treatment. *Pharmacogenomics J* 2006;6:360-374. doi:10.1038/sj.tpj.6500384.

Marcianti, K.D.; Durda, J.P.; Heckbert, S.R.; Lumley, T.; Rice, K.; McKnight, B.; Totah, R.A.; Tamraz, B.; Kroetz, D.L.; Fukushima, H.; et al. Cerivastatin, genetic variants, and the risk of rhabdomyolysis. *Pharmacogenet. Genomics* 2011, 21, 280–288.

Mareedu, R.K. *et al*. Use of an electronic medical record to characterize cases of intermediate statin-induced muscle toxicity. *Prev. Cardiol*. 12, 88–94 (2009).

Marston WA, Davies SW, Armstrong B, Farber MA, Mendes RC, Fulton JJ, Keagy BA. Natural history of limbs with arterial insufficiency and chronic ulceration treated without revascularization. *J Vasc Surg.* 2006;44:108–114.

Marzolini C, Tirona RG, Gervasini G, Poonkuzhali B, Assem M, Lee W, Leake BF, Schuetz JD, Schuetz EG, and Kim RB (2007) A common polymorphism in the bile acid receptor farnesoid X receptor is associated with decreased hepatic target gene expression. *Mol Endocrinol* 21:1769–1780.

Matsushima S, Maeda K, Kondo C, Hirano M, Sasaki M, Suzuki H, and Sugiyama Y (2005) Identification of the hepatic efflux transporters of organic anions using double-transfected Madin-Darby canine kidney II cells expressing human organic anion-transporting polypeptide 1B1 (OATP1B1)/multidrug resistance-associated protein 2, OATP1B1/multidrug resistance 1, and OATP1B1/breast cancer resistance protein. *J Pharmacol Exp Ther* 314:1059–1067.

Mattace-Raso F, van Popele NM, Schalekamp MA, van der Cammen TJ. Intima-media thickness of the common carotid arteries is related to coronary atherosclerosis and left ventricular hypertrophy in older adults. *Angiology.* 2002;53(5):569–574

McClure, D.L., Valuck, R.J., Glanz, M., Murphy, J.R. & Hokanson, J.E. Statin and statin-fibrate use was significantly associated with increased myositis risk in a managed care population. *J. Clin. Epidemiol.* **60**, 812–818 (2007).

Meador, B.M. & Huey, K.A. Statin-associated myopathy and its exacerbation with exercise. *Muscle Nerve* **42**, 469–479 (2010).

Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, Walker JR, Antman EM, Macias WL, Braunwald E, et al. (2009) Cytochrome P450 genetic polymorphisms and the response to prasugrel: relationship to pharmacokinetic, pharmacodynamic, and clinical outcomes. *Circulation* 119:2553–2560.

Mega JL, Morrow DA, Brown A, Cannon CP, Sabatine MS. Identification of genetic variants associated with response to statin therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:1310-1315.

Meier-Abt F, Mokrab Y, and Mizuguchi K (2005) Organic anion transporting polypeptides of the OATP/SLCO superfamily: identification of new members in non-mammalian species, comparative modeling and a potential transport mode. *J Membr Biol* 208:213–227.

Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med.* 1999;340:1801–1811.

Michalski C, Cui Y, Nies AT, Nuessler AK, Neuhaus P, Zanger UM *et al.* A naturally occurring mutation in the SLC21A6 gene causing impaired membrane localization of the hepatocyte uptake transporter. *J Biol Chem* 2002; **277**: 43058–43063.

Mitchell GF, Parise H, Vita JA, et al. Local shear stress and brachial artery flow-mediated dilation: the Framingham Heart Study. *Hypertension*. 2004;44:134 – 139.

Mundt KA, Chambless LE, Burnham CB, Heiss G. Measuring ankle Systolic blood pressure: validation of the Dinamap 1846 SX. *Angiology*. 1992;43:555–566.

Mwinyi J, John A, Bauer S, Roots I, Gerloff T. Evidence for inverse effects of OATP-C (SLC21A6) 5 and 1b haplotypes on pravastatin kinetics. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75: 415–421.

Naghavi M, Falk E, Hecht HS, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient—Part III: Executive summary of the Screening for Heart Attack Prevention and Education (SHAPE) Task Force report. *Am J Cardiol*. 2006;98(2A):2H–15H.

National Heart, Lung, and Blood Institute. Chartbook on Cardiovascular, Lung, and Blood Diseases. <http://www.nhlbi.nih.gov/resources/docs/cht-book.htm>. Accessed November 5, 2009

Neuvonen PJ, Niemi M, Backman JT. Drug interactions with lipidlowering drugs: mechanisms and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 80: 565–581.

Neuvonen, P.J., T. Kantola, and K.T. Kivisto, Simvastatin but not pravastatin is very susceptible to interaction with the CYP3A4 inhibitor itraconazole. *Clin Pharmacol Ther*, 1998. 63(3): p. 332-41.

Newman AB, Shemanski L, Manolio TA, et al. Ankle-arm index as a predictor of Cardiovascular disease and mortality in the Cardiovascular Health Study: The Cardiovascular Health Study Group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:538–545.

NHLBI Fact Book. Available online: <http://www.nhlbi.nih.gov/about/factpdf.htm> (accessed on 1 June 2012)].

Nicholls SJ, Ballantyne CM, Barter PJ, et al. Effect of two intensive statin regimens on progression of coronary disease. *N Engl J Med* 2011;365:2078–2087. [PubMed] [Google Scholar]

Nicoloff AD, Taylor LM Jr, Sexton GJ, et al. Homocysteine and Progression of Atherosclerosis Study Investigators. Relationship Between site of initial symptoms and subsequent progression of disease In a prospective study of atherosclerosis progression in patients Receiving long-term treatment for symptomatic peripheral arterial Disease. *J Vasc Surg*. 2002;35:38–46.

Niebauer J, Cooke JP. Cardiovascular effects of exercise: role of endothelial shear stress. *J Am Coll Cardiol*. 1996;28:1652–1660.

Niemi M (2007) Role of OATP transporters in the disposition of drugs. *Pharmacogenomics* 8:787–02.

Niemi M (2010) Transporter pharmacogenetics and statin toxicity. *Clin Pharmacol Ther* 87:130–133.

Niemi M, Backman JT, Kajosaari LI, Leathart JB, Neuvonen M, Daly AK, Eichelbaum M, Kivisto KT, and Neuvonen PJ (2005) Polymorphic organic anion transporting polypeptide 1B1 is a major determinant of repaglinide pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 77:468–478.

Niemi M, *Clin Pharmacol Ther*. 2010. Jan; 87 (1): 130-3

Niemi M, Pasanen MK, Neuvonen PJ (2006a). SLCO1B1 polymorphism and sex affect the pharmacokinetics of pravastatin but not fluvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 80: 356–366.

Niemi M, Schaeffeler E, Lang T, Fromm MF, Neuvonen M, Kyrklund C, Backman JT, Kerb R, Schwab M, Neuvonen PJ. High plasma pravastatin concentrations are associated with single nucleotide polymorphisms and haplotypes of organic anion transporting polypeptide-C (OATP-C, SLCO1B1). *Pharmacogenetics*. 2004; 14(7):429–440. [PubMed: 15226675]

Niemi M. Role of OATP transporters in the disposition of drugs. *Pharmacogenomics* 2007; 8: 787–802.

Niemi M., Pasanen M.K., Neuvonen P.J., 2011. Organic anion transporting polypeptide 1B1: a genetically polymorphic transporter of major importance for hepatic drug uptake. *Pharmacol Rev*. 63:157–181.

Niemi, M. *et al*. High plasma pravastatin concentrations are associated with single nucleotide polymorphisms and haplotypes of organic anion transporting polypeptide-C (OATP-C, SLCO1B1). *Pharmacogenetics* 14, 429–440 (2004).

Niemi, M. Transporter pharmacogenetics and statin toxicity. *Clin Pharmacol Ther*. 2010, 87, 130–133.

Niemi, M., Pasanen, M.K. & Neuvonen, P.J. Organic anion transporting polypeptide 1B1: a genetically polymorphic transporter of major importance for hepatic drug uptake. *Pharmacol. Rev*. 63, 157–181 (2011).

Nishiyama SK, Wray DW, Berkstresser K, Ramaswamy M, Richardson RS. Limb-specific differences in flow-mediated dilation: the role of shear rate. *J Appl Physiol*. 2007;103:843–851.

Nishizato Y, Ieiri I, Suzuki H, Kimura M, Kawabata K, Hirota T *et al*. Polymorphisms of OATP-C (SLC21A6) and OAT3 (SLC22A8) genes: consequences for pravastatin pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 73: 554–565.

Noe J, Portmann R, Brun ME, and Funk C (2007) Substrate-dependent drug-drug interactions between gemfibrozil, fluvastatin and other organic anion-transporting peptide (OATP) substrates on OATP1B1, OATP2B1, and OATP1B3. *Drug Metab Dispos* 35:1308–1314.

Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, *et al*. European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed

and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease. Consensus Statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J* 2013;34:3478–3490. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Nordestgaard BG, Zilversmit DB. Large lipoproteins are excluded from the arterial wall in diabetic cholesterol-fed rabbits. *J Lipid Res* 1988;29:1491–1500. [PubMed] [Google Scholar]

Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG; TASC II Working Group. Inter-society consensus for the management of peripheral arterial disease (TASC II). *J Vasc Surg*. 2007;45(suppl S):S5–S67.

O'Hare AM, Katz R, Shlipak MG, Cushman M, Newman AB. Mortality and cardiovascular risk across the ankle-arm index spectrum: results from the Cardiovascular Health Study. *Circulation*. 2006;113:388–393.

O'leary DH, Polak JF, Kronmal RA, et al. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999;340(1):14–22.

Ogilvie BW, Zhang D, Li W, Rodrigues AD, Gipson AE, Holsapple J, Toren P, and Parkinson A (2006) Glucuronidation converts gemfibrozil to a potent, metabolism-dependent inhibitor of CYP2C8: implications for drug-drug interactions. *Drug Metab Dispos* 34:191–197.

Olin B.R., 1998. Facts and comparisons. Philadelphia: JB Lippincott.

Osborn LA, Vernon SM, Reynolds B, Timm TC, Allen K. Screening for subclavian artery stenosis in patients who are candidates for coronary bypass surgery. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2002;56:162–165.

Oshiro, C.; Mangravite, L.; Klein, T.; Altman, R. Pharmacogenetics very important pharmacogene: SLC11B1. *Pharmacogenet. Genomics* 2010, 20, 211–216.

Oswald S, König J, Lutjohann D, Giessmann T, Kroemer HK, Rimbach C et al. (2008). Disposition of ezetimibe is influenced by polymorphisms of the hepatic uptake carrier OATP1B1. *Pharmacogenet Genomics* 18: 559–568.

Ouriel K, McDonnell AE, Metz CE, Zarins CK. Critical evaluation of stress testing in the diagnosis of peripheral vascular disease. *Surgery*. 1982;91:686–693.

Ovbiagele B. Association of ankle-brachial index level with stroke. *J Neurol Sci*. 2009;276:14–17.

Ozaki K, Kubo T, Imaki R, et al. The anti-atherosclerotic effects of lipid lowering with atorvastatin in patients with hypercholesterolemia. *J Atheroscler Thromb*. 2006;13(4):216–219.

Padilla J, Harris RA, Fly AD, Rink LD, Wallace JP. The effect of acute exercise on endothelial function following a high-fat meal. *Eur J Appl Physiol*. 2006;98:256–262.

Padilla J, Johnson BD, Newcomer SC, Wilhite DP, Mickleborough TD, Fly AD, Mather KJ, Wallace JP. Normalization of flow-mediated dilation to shear stress area under the curve eliminates the impact of variable hyperemic stimulus. *Cardiovasc Ultrasound*. 2008;6:44.

Papamichael CM, Aznaouridis KA, Karatzis EN, Karatzi KN, Stamatelopoulos KS, Vamvakou G, Lekakis JP, Mavrikakis ME. Effect of coffee on endothelial function in healthy subjects: the role of caffeine. *Clin Sci (Lond)*. 2005;109:55–60.

Pasanen MK, Backman JT, Neuvonen PJ, Niemi M. Frequencies of single nucleotide polymorphisms and haplotypes of organic anion transporting polypeptide 1B1 SLCO1B1 gene in a Finnish population. *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62: 409–415.

Pasanen MK, Fredrikson H, Neuvonen PJ, Niemi M. Different effects of SLCO1B1 polymorphism on the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 82: 726–733.

Pasanen MK, Neuvonen M, Neuvonen PJ, Niemi M. SLCO1B1 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of simvastatin acid. *Pharmacogenet Genomics* 2006; 16: 873–879.

Pasanen MK, Neuvonen PJ, Niemi M. Global analysis of genetic variation in SLCO1B1. *Pharmacogenomics* 2008; 9: 19–33.

Pasternak RC, Abrams J, Greenland P, et al. 34th Bethesda Conference: task force #1—identification of coronary heart disease risk: is there a detection gap? *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:1863–74.

Pearson TA, Laurora I, Chu H, Kafonek S. The lipid treatment assessment project (L-TAP): a multicenter survey to evaluate the percentages of dyslipidemic patients receiving lipid-lowering therapy and achieving low-density lipoprotein cholesterol goals. *Arch Intern Med* 2000; 160: 459–467.

Phillips KA, Veenstra DI, Oren E, Lee JK, Sadee W (2001) Potential role of Pharmacogenetics in reducing adverse drug reactions: a systemic review. *Journal of American Medical Association* 286 (18) 2270 – 9.

Phipps Green A, Hollis Moffa HJE, Dalbeth N, et al. (2010) A strong role for the ABCG2 gene in susceptibility to gout in New Zealand, Pacific island and Caucasian, but not Maori, case and control sample sets. *Human Molecular Genetics* 19 (24): 4813 – 4819

Pickering TG, Hall JE, Appel LJ, et al. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals, part 1: Blood pressure measurement in humans: a statement for professionals From the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. *Circulation*. 2005;111:697–716.

Pollak EW, Chavis P, Wolfman EF. The effect of postural changes upon the ankle arterial perfusion pressure. *Vasc Surg*. 1976;10:219 –222.

Prospective Studies Collaboration, Lewington S, Whitlock G, Clarke R, Sherliker P, Emberson J, Halsey J, Qizilbash N, Peto R, Collins R. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55,000 vascular deaths. *Lancet* 2007;370:1829–1839. [PubMed] [Google Scholar]

Puccetti, L., Ciani, F. & Auteri, A. Genetic involvement in statins induced myopathy. Preliminary data from an observational case-control study. *Atherosclerosis* 211, 28–29 (2010).

Purroy F, Coll B, Oro M, et al. Predictive value of ankle-brachial index in patients with acute ischaemic stroke. *Eur J Neurol*.2010;17:602– 606.

Pyke K, Green DJ, Weisbrod C, et al. Nitric oxide is not obligatory for radial artery flow mediated dilation following release of 5 or 10 min distal occlusion. *Am J Physiol*. 2010;298:H119–H126.

Pyke KE, Tschakovsky ME. Peak vs. total reactive hyperemia: which determines the magnitude of flow-mediated dilation? *J Appl Physiol*. 2007;102:1510–1519.

Pyke KE, Tschakovsky ME. The relationship between shear stress and flow-mediated dilatation: implications for the assessment of endothelial function. *J Physiol*. 2005;568:357–369.

Rabago Rodriguez R, Gomez-Diaz RA, Tanus Haj J. Carotid intima-media thickness in pediatric type 1 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2007;30(10):2599–2602

Radegran G, Saltin B. Nitric oxide in the regulation of vasomotor tone in human skeletal muscle. *Am J Physiol*. 1999;276:H1951–H1960.

Ramanathan A, Conaghan PJ, Jenkinson AD, Bishop CR. Comparison of ankle-brachial pressure index measurements using an automated oscillometric device with the standard Doppler ultrasound technique. *ANZ J Surg*. 2003;73:105–108.

Ramos R, Quesada M, Solanas P, et al. REGICOR Investigators. Prevalence of symptomatic and asymptomatic peripheral arterial disease and the value of the ankle-brachial index to stratify cardiovascular risk. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2009;38:305–311.

Ramsey, L.B. et al. Rare versus common variants in pharmacogenetics: SLCO1B1 variation and methotrexate disposition. *Genome Res*. 22, 1–8 (2012).

Rathz DA, K.M. Brown, L.A. Kramer, S.B. Liggett. Amino acid 49 polymorphisms of the human beta1-adrenergic receptor affect agonist-promoted trafficking. *J Cardiovasc Pharmacol*, 39 (2002), pp. 155–160

Ravnskov U, Diamond DM, Hama R, et al. Lack of an association or an inverse association between low-density-lipoprotein cholesterol and mortality in the elderly: a systematic review. *BMJ Open* 2016;6:e010401. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Resnick HE, Foster GL. Prevalence of elevated ankle-brachial index in The United States 1999 to 2002. *Am J Med*. 2005;118:676–679.

Resnick HE, Lindsay RS, mcdermott MM, Devereux RB, Jones KL, Fabsitz RR, Howard BV. Relationship of high and low ankle brachial index to all-cause and cardiovascular disease mortality: the Strong Heart Study. *Circulation*. 2004;109:733–739.

Rettie AE and Tai G (2006) The pharmacogenomics of warfarin: closing in on personalized medicine. *Mol Interv* 6:223–227.

Riccioni G. Statins and carotid intima-media thickness reduction: an up-to-date review. *Curr Med Chem*. 2009;16(14):1799–1805.

Riccioni G. The effect of antihypertensive drugs on carotid intima media thickness: an up-to-date review. *Curr Med Chem*. 2009;16(8): 988–996.

Richardson RS, Donato AJ, Uberoi A, Wray DW, Lawrenson L, Nishiyama S, Bailey DM. Exercise-induced brachial artery vasodilation: role of free radicals. *Am J Physiol*. 2007;292:H1516–H1522.

Rifqi, Sodikur. Lipid dan Penyakit Jantung Koroner, Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia, 2009

Riset Kesehatan Dasar, Departemen Kesehatan RI, 2013.

Riset Kesehatan Dasar, Departemen Kesehatan RI, 2018.

Roden D.M., Stein C.M., 2009. Clopidogrel and the concept of high-risk pharmacokinetics. *Circulation*. 119:2127–2130.

Roden DM, Altman RB, Benowitz NL, Flockhart DA, Giacomini KM, Johnson JA, Krauss RM, McLeod HL, Ratain MJ, Relling MV, et al. (2006) Pharmacogenomics: challenges and opportunities. *Ann Intern Med* 145:749–757.

Romaine SPR, Bailey KM, Hall AS and Balmforth AJ. The Influence of SLCO1B1 (OATP1B1) gene polymorphisms on response to statin therapy. *The Pharmacogenomics Journal* (2010) 10, 1–11; doi:10.1038/tpj.2009.54; published online 3 November 2009

Ronaldson, K.J., O'Shea, J.M. & Boyd, I.W. Risk factors for rhabdomyolysis with simvastatin and atorvastatin. *Drug Saf*. 29, 1061–1067 (2006).

Rooke TW, Hirsch AT, Misra S, et al. ACCF/AHA focused Update of the guideline for the management of patients with peripheral Artery disease (updating the 2005 guideline): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2011;124:2020–2045.

Rosamond W, Flegal K, Friday G, Furie K, Go A, Greenlund K et al. Heart disease and stroke statistics—2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2007; 115: e69–e171.

Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340:115–126.

Rosvall M, Janzon L, Berglund G, et al. Incident coronary events and case fatality in relation to common carotid intima-media thickness. *J Intern Med.* 2005;257(5):430–437.

Rowan, C. *et al.* Rhabdomyolysis reports show interaction between simvastatin and CYP3A4 inhibitors. *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.* **18**, 301–309 (2009).

Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, et al. (2001) A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 409:928–933.

Sakurai T, Matsushita M, Nishikimi N, Nimura Y. Effect of walking distance on the change in ankle-brachial pressure index in patients with intermittent claudication. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1997;13:486–490.

Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation.* 1993;87(3 suppl):II56–II65.

Sankar P, Cho MK, Mountain J. 2007. Race and ethnicity in genetic research. *Am J Med Genet Part A* 143A:961–970.

Sanna S, Busonero F, Maschio A, McArdle PF, Usala G, Dei M, Lai S, Mulas A, Piras MG, Perseu L, et al. (2009) Common variants in the SLCO1B3 locus are associated with bilirubin levels and unconjugated hyperbilirubinemia. *Hum Mol Genet* 18:2711–2718.

Santoso, Anwar. *Lipid dan Penyakit Jantung Koroner*, Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia, 2009

Schmidt HH, Hill S, Makariou EV, Feuerstein IM, Dugi KA, Hoeg JM. Relationship of cholesterol-year score to severity of calcific atherosclerosis and tissue deposition in homozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 1996;77:575–580. [PubMed] [Google Scholar]

Schmitz G, Langmann T. Pharmacogenomics of cholesterol-lowering therapy. *Vascul.Pharmacol.*44(2),75–89 (2006).

Schneck, D.W. *et al.* The effect of gemfibrozil on the pharmacokinetics of rosuvastatin. *Clin. Pharmacol. Ther.* **75**, 455–463 (2004).

Schunkert H, König IR, Kathiresan S, et al., Large-scale association analysis identifies 13 new susceptibility loci for coronary artery disease. *Nat Genet* 2011;43:333-338. doi:10.1038/ng.784.

SEARCH Collaborative Group, Link E, Parish S, Armitage J, Bowman L, Heath S, Matsuda F, Gut I, Lathrop M, and Collins R (2008) SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy—a genomewide study. *N Engl J Med* 359:789–799.

Sessa WC. eNOS at a glance. *J Cell Sci.* 2004;117:2427–2429.

Sharma K, Blaha MJ, Blumenthal RS, Musunuru K. Clinical and research applications of carotid intima-media thickness. *Am J Cardiol.* 2009;103(9):1316–1320

Shimokawa H, Yasutake H, Fujii K, et al. The importance of the hyperpolarizing mechanism increases as the vessel size decreases in endothelium-dependent relaxations in rat mesenteric circulation. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1996;28:703–711.

Shitara Y, Hirano M, Sato H, Sugiyama Y. Gemfibrozil and its glucuronide inhibit the organic anion transporting polypeptide 2 (OATP2/OATP1B1:SLC21A6)-mediated hepatic uptake and CYP2C8-mediated metabolism of cerivastatin: analysis of the mechanism of the clinically relevant drug-drug interaction between cerivastatin and gemfibrozil. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 311: 228–236.

Shitara Y, Sugiyama Y. Pharmacokinetic and pharmacodynamic alterations of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors: drug-drug interactions and interindividual differences in transporter and metabolic enzyme functions. *Pharmacol Ther* 2006; 112: 71–105.

Shuldiner AR, J.R. O'Connell, K.P. Bliden, et al. Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy. *JAMA*, 302 (2009), pp. 849–857

Singel DJ, Stamler JS. Chemical physiology of blood flow regulation by red blood cells: the role of nitric oxide and S-nitrosohemoglobin. *Annu Rev Physiol.* 2005;67:99–145.

Skálén K, Gustafsson M, Rydberg EK, Hultén LM, Wiklund O, Innerarity TL, Borén J. Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. *Nature* 2002;417:750–754. [PubMed] [Google Scholar]

Smith FB, Lee AJ, Price JF, van Wijk MC, Fowkes FG. Changes in Ankle brachial index in symptomatic and asymptomatic subjects in the General population. *J Vasc Surg.* 2003;38:1323–1330.

Smith NF, Acharya MR, Desai N, Figg WD, and Sparreboom A (2005) Identification of OATP1B3 as a high-affinity hepatocellular transporter of paclitaxel. *Cancer Biol Ther* 4:815–818.

Smith SM, H.M. Judge, G. Peters, et al. PAR-1 genotype influences platelet aggregation and procoagulant responses in patients with coronary artery disease prior to and during clopidogrel therapy. *Platelets*, 16 (2005), pp. 340–345

Spence JD. Technology Insight: ultrasound measurement of carotid plaque—patient management, genetic research, and therapy evaluation. *Nat Clin Pract Neurol.* 2006;2(11):611–619

Staffa, J.A.; Chang, J.; Green, L. Cerivastatin and reports of fatal rhabdomyolysis. *N. Engl. J. Med.* 2002, 346, 539–540.

Stein JH, Douglas PS, Srinivasan SR, et al. Distribution and cross-sectional age-related increases of carotid artery intima-media thickness in young adults: the Bogalusa Heart Study. *Stroke*. 2004;35(12): 2782–2787.

Stein JH, Fraizer MC, Aeschlimann SE, Nelson-Worel J, McBride PE, Douglas PS. Vascular age: integrating carotid intima-media thickness measurements with global coronary risk assessment. *Clin Cardiol*. 2004;27(7):388–392.

Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, et al. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr*. 2008; 21(2), 93–111.

Steinberger J, Daniels SR, Eckel RH, et al. Progress and challenges in metabolic syndrome in children and adolescents: a scientific statement from the American Heart Association Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in the Young Committee of the Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular Nursing; and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. 2009;119(4):628–647.

Stoffers HE, Kester AD, Kaiser V, Rinkens PE, Kitslaar PJ, Knottnerus JA. The diagnostic value of the measurement of the ankle-brachial Systolic pressure index in primary health care. *J Clin Epidemiol*. 1996; 49:1401–1405.

Strinden ST, Stellwagen RH. Inhibition of guanylate cyclases by methylxanthines and papaverine. *Biochem Biophys Res Commun*. 1984;123: 1194–1200.

Study of the Effectiveness of Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteine (SEARCH) Collaborative Group

Su HM, Chang JM, Lin FH, Chen SC, Voon WC, Cheng KH, Wang CS, Lin TH, Lai WT, Sheu SH. Influence of different measurement timePoints on brachial-ankle denyut wave velocity and ankle-brachial index in Hemodialysis patients. *Hypertens Res*. 2007;30:965–970.

SEARCH Collaborative Group. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy—a genomewide study. *N Engl J Med* 2008;359:789-799

Soerianata, Sunarya. Lipid dan Penyakit Jantung Koroner, Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia, 2009

Tabas I, Williams KJ, Borén J. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications. *Circulation* 2007;116:1832–1844. [PubMed] [Google Scholar]

Tachibana-Iimori R, Tabara Y, Kusuvara H, Kohara K, Kawamoto R, Nakura J et al. Effect of genetic polymorphism of OATP-C (SLCO1B1) on lipid-lowering response to HMG-CoA reductase inhibitors. *Drug Metab Pharmacokinet* 2004; 19: 375–380.



Takahashi O, Shimbo T, Rahman M, Musa R, Kurokawa W, Yoshinaka T, Fukui T. Validation of the auscultatory method for diagnosing peripheral Arterial disease. *Fam Pract.* 2006;23:10–14.

Tang, H., et al. Genetic structure, self-identified race/ethnicity, and confounding in case-control association studies. *American Journal of Human Genetics* 76, 268–275 (2005)

Tantisira KG, Lake S, Silverman ES, et al. Corticosteroid pharmacogenetics: association of sequence variants in CRHR1 with improved lung function in asthmatics treated with inhaled corticosteroids. *Hum Mol Genet.* 2004 Jul 1;13(13):1353-9.

Taylor AJ, Bindeman J, Feuerstein I, et al. Coronary calcium independently predicts incident premature coronary heart disease over measured cardiovascular risk factors: mean three-year outcomes in the Prospective Army Coronary Calcium (PACC) project. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46:807–14.

Taylor AJ, Lee HJ, Sullenberger LE. The effect of 24 months of combination statin and extended-release niacin on carotid intima-media thickness: ARBITER 3. *Curr Med Res Opin.* 2006;22(11):2243–2250.

Taylor AJ, Sullenberger LE, Lee HJ, Lee JK, Grace KA. Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol (ARBITER) 2: a double-blind, placebo-controlled study of extended-release niacin on atherosclerosis progression in secondary prevention patients treated with statins. *Circulation.* 2004;110(23):3512–3517

Taylor AJ, Villines TC, Stanek EJ. Extended-release niacin or ezetimibe and carotid intima-media thickness. *N Engl J Med.* 2009;361(22):2113–2122.

Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature* 2010;466:707–713. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, et al., *Nature* 2010;466:707-713. doi:10.1038/nature09270.

The CURRENT-OASIS 7 Investigators. Dose comparisons of clopidogrel and aspirin in acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 363 (2010), pp. 930–942

The SEARCH Collaborative Group, 2008. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy – a genome-wide study. *N Engl J Med.* 359:789–799.

The Society of Atherosclerosis Imaging and Prevention. Advocacy update. <http://www.sai.org/advocacy.cfm>. Accessed November 5, 2009

Thijssen DH, Bullens LM, van Bommel MM, et al. Does arterial shear explain the magnitude of flow-mediated dilation?: a comparison between young and older humans. *Am J Physiol.* 2009;296:H57–H64.

Thijssen DH, Dawson EA, Black MA, Hopman MT, Cable NT, Green DJ. Heterogeneity in conduit artery function in humans: impact of arterial size. *Am J Physiol.* 2008;295:H1927–H1934.

Thijssen DH, van Bemmel MM, Bullens LM, et al. The impact of baseline diameter on flow-mediated dilation differs in young and older humans. *Am J Physiol*. 2008;295:H1594–H1598.

Thompson J, Man M, Johnson K, Wood L, Lira M, Lloyd D, Banerjee P, Milos P, Myrand S, Paulauskis J. An association study of 43 SNPs in 16 candidate genes with atorvastatin response. *Pharmacogenomics J*. 2005; 5(6):352–358. [PubMed: 16103896]

Thompson JF, Hyde CL, Wood LS, Paciga SA, Hinds DA, Cox DR, Hovingh GK, Kastelein JJ. Comprehensive whole-genome and candidate gene analysis for response to statin therapy in the Treating to New Targets (TNT) cohort. *Circ Cardiovasc Genet* 2009;2:173-181. doi:10.1161/CIRCGENETICS.108.818062.

Thompson JF, Man M, Johnson KJ, Wood LS, Lira ME, Lloyd DB *et al*. An association study of 43 SNPs in 16 candidate genes with atorvastatin response. *Pharmacogenomics J* 2005; 5: 352–358.

Thompson, P.D., Clarkson, P. & Karas, R.H. Statin-associated myopathy. *JAMA* **289**, 1681–1690 (2003).

Tirona R.G., Leake B.F., Merino G. & Kim R.B., 2001. Polymorphisms in OATP-C: identification of multiple allelic variants associated with altered transport activity among European- and African-Americans. *J. Biol. Chem.* 276, 35669–35675.

Tirona RG, Leake BF, Merino G, and Kim RB (2001) Polymorphisms in OATP-C: identification of multiple allelic variants associated with altered transport activity among European- and African-Americans. *J Biol Chem* 276:35669–35675.

Tomlinson B, Hu M, Lee VW, Lui SS, Chu TT, Poon EW, Ko GT, Baum L, Tam LS, and Li EK (2010) ABCG2 polymorphism is associated with the low-density lipoprotein cholesterol response to rosuvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 87:558–562.

Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S. Mannheim intima-media thickness consensus. *Cerebrovasc Dis*. 2004;18(4):346–349

Tschakovsky ME, Pyke KE. Counterpoint: flow-mediated dilation does not reflect nitric oxide-mediated endothelial function. *J Appl Physiol*. 2005;99:1235–1237.

Tsimikas S, Willerson JT, Ridker PM. C-reactive protein and other Emerging blood biomarkers to optimize risk stratification of vulnerable Patients. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47(suppl):C19–C31.

Tzou WS, Douglas PS, Srinivasan SR, et al. Distribution and predictors of carotid intima-media thickness in young adults. *Prev Cardiol*. 2007;10(4):181–189.

Uehata A, Lieberman EH, Gerhard MD, Anderson TJ, Ganz P, Polak JF, Creager MA, Yeung AC. Noninvasive assessment of endothelium-dependent flow-mediated dilation of the brachial artery. *Vasc Med*. 1997; 2:87–92.

van de Steeg E. *et al.* Complete OATP1B1 and OATP1B3 deficiency causes human Rotor syndrome by interrupting conjugated bilirubin reuptake into the liver. *J Clin Invest.* (2012), *e-pub ahead of print* 9 January 2012.

van der Deure WM, Friesema EC, de Jong FJ, de Rijke YB, de Jong FH, Uitterlinden AG, Breteler MM, Peeters RP, and Visser TJ (2008) Organic anion transporter 1B1: an important factor in hepatic thyroid hormone and estrogen transport and metabolism. *Endocrinology* 149:4695–4701.

Van der Meer IM, Bots ML, Hofman A, del Sol AI, van der Kuip DA, Witteman JC. Predictive value of noninvasive measures of atherosclerosis for incident myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation.* 2004;109:1089–1094.

Veldhuijzen van Zanten JJ, Kitas GD. Inflammation, carotid intima-media thickness and atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(1):102

Verma S, Buchanan MR, Anderson TJ. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease. *Circulation.* 2003;108:2054–2059.

Vierron E, Halimi JM, Tichet J, Balkau B, Cogneau J, Giraudeau B; DESIR Study Group. Center effect on ankle-brachial index measurement when using the reference method (Doppler and manometer): Results from a large cohort study. *Am J Hypertens.* 2009;22:718–722.

Voora D, C. Eby, M.W. Linder, *et al.* Prospective dosing of warfarin based on cytochrome P-450 2C9 genotype. *Thromb Haemost*, 93 (2005), pp. 700–705

Voora D, J. Horton, S.H. Shah, L.K. Shaw, L.K. Newby. Polymorphisms associated with in vitro aspirin resistance are not associated with clinical outcomes in patients with coronary artery disease who report regular aspirin use. *Am Heart J*, 162 (2011), pp. 166–172.e1

Voora D, Koboldt DC, King CR, *et al.* (2010) A polymorphism in the VKORC1 regulator calumenin predicts higher warfarin dose requirements in African Americans. *Clin Pharmacol Ther* 87:445–451.

Voora D, S.H. Shah, C.R. Reed, *et al.* Pharmacogenetic predictors of statin-mediated low-density lipoprotein cholesterol reduction and dose response. *Circ Cardiovasc Genet*, 1 (2008), pp. 100–106.

Voora D., Shah S.H., Spasojevic I., Ali S., Reed C.R., Salisbury B.A., Ginsburg G.S., 2009. The SLCO1B1*5 genetic variant is associated with statin-induced side effects. *J Am Coll Cardiol.* 54:1609–1616.

Wang D, Guo Y, Wrighton S, Cooke G, Sadee W. Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs. *Pharmacogenomics J.* 2011; 11(4):274–286. [PubMed: 20386561]

Wang L, Zhang D, Raghavan N, Yao M, Ma L, Frost CE, Frost CA, Maxwell BD, Chen SY, He K, *et al.* (2010) In vitro assessment of metabolic drug-drug interaction potential of apixaban through cytochrome P450 phenotyping, inhibition, and induction studies. *Drug Metab Dispos* 38:448–458.

Watanabe T, Kusuvara H, and Sugiyama Y (2010) Application of physiologically based pharmacokinetic modeling and clearance concept to drugs showing transporter-mediated distribution and clearance in humans. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 37:575–590.

Watters J.W., Kraja A., Meucci M.A., et al, 2004. Genome-wide discovery of loci influencing chemotherapy cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 101:11809 – 11814.)

Weatherley BD, Nelson JJ, Heiss G, Chambless LE, Sharrett AR, Nieto FJ, Folsom AR, Rosamond WD. The association of the ankle-brachial index with incident coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study, 1987–2001. *BMC Cardiovasc Disord*. 2007;3.

Weaver YM and Hagenbuch B (2010) Several conserved positively charged amino acids in OATP1B1 are involved in binding or translocation of different substrates. *J Membr Biol* 236:279 –290.

Weber WW (1987) *The Acetylator Genes and Drug Response*, Oxford University

Wechsler M E and Israel E. (2005) How pharmacogenomics will play a role in the management of asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Medicine* 172(1): 12-18.

Weinshilboum R (2003a) Inheritance and drug response. *N Engl J Med* 348:529–37.

Weinshilboum RC, Francis S, Weinshilboum (2003) Inheritance in drug response. *New England Journal of medicine* 348 (6): 529 – 37

Whiteley MS, Fox AD, Horrocks M. Photoplethysmography can replace Hand-held Doppler in the measurement of ankle/brachial indices. *Ann R Coll Surg Engl*. 1998;80:96 –98.

Wilke R.A., Reif D.M., Moore J.H., 2005. Combinatorial pharmacogenetics. *Nat Rev Drug Discov*. 4:911–18.

Wilke, R.A. & Dolan, M.E. Genetics and variable drug response. *JAMA* 306, 306–307 (2011).

Wilke, R.A. *et al*. Identifying genetic risk factors for serious adverse drug reactions: current progress and challenges. *Nat. Rev. Drug Discov*. 6, 904–916 (2007).

Wilke, R.A., Reif, D.M. & Moore, J.H. Combinatorial pharmacogenetics. *Nat. Rev. Drug Discov*. 4, 911–918 (2005).

Wilke, R.A.; Ramsey, L.B.; Johnson, S.G.; Maxwell, W.D.; McLeod, H.L.; Voora, D.; Krauss, R.M.; Roden, D.M.; Feng, Q.; Cooper-DeHoff, R.M.; et al. The clinical pharmacogenomics implementation consortium: Cpic guideline for slco1b1 and simvastatin-induced myopathy. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2012, 92, 112–117

Wilkinson IB, maccallum H, Flint L, Cockcroft JR, Newby DE, WebbDJ. The influence of heart rate on augmentation index and centralArterial pressure in humans. *J Physiol*. 2000;525(pt 1):263–270.

William J. Canestaro, David G. Brooks, Donald Chaplin, Niteesh K. Choudhry, Elizabeth Lawler, Lori Martell, Troyen Brennan and E. Robert Wassman. Statin Pharmacogenomics: Opportunities to Improve Patient Outcomes and Healthcare Costs with Genetic Testing. *J. Pers. Med.* 2012, 2, 158-174; doi:10.3390/jpm2040158]

Williams DT, Harding KG, Price P. An evaluation of the efficacy of Methods used in screening for lower-limb arterial disease in diabetes. *Diabetes Care*. 2005;28:2206 –2210.

Winsor T. Influence of arterial disease on the systolic blood pressureGradients of the extremity. *Am J Med Sci*. 1950;220:117–126.

World Health Organization. World Health Report 2004: Changing History. Statistical annex Table 2: Deaths by cause, sex, and mortality stratum in WHO regions, estimates for 2002. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2004.

Wray DW, Uberoi A, Lawrenson L, Bailey DM, Richardson RS. Oral antioxidants and cardiovascular health in the exercise-trained and untrained elderly: a radically different outcome. *Clin Sci (Lond)*. 2009; 116:433– 441.

Wray DW, Uberoi A, Lawrenson L, Richardson RS. Evidence of preserved endothelial function and vascular plasticity with age. *Am J Physiol*. 2006;290:H1271–H1277.

Xiang X, Han Y, Neuvonen M, Pasanen MK, Kalliokoski A, Backman JT, Laitila J, Neuvonen PJ, and Niemi M (2009) Effect of SLCO1B1 polymorphism on the plasma concentrations of bile acids and bile acid synthesis marker in humans. *Pharmacogenet Genomics* 19:447– 457.

Yamaguchi H, Okada M, Akitaya S, Ohara H, Mikkaichi T, Ishikawa H, Sato M, Matsuura M, Saga T, Unno M, et al. (2006) Transport of fluorescent chenodeoxycholic acid via the human organic anion transporters OATP1B1 and OATP1B3. *J Lipid Res* 47:1196 –1202.

Yao ST, Hobbs JT, Irvine WT. Ankle systolic pressure measurements inArterial disease affecting the lower extremities. *Br J Surg*. 1969;56:676–679.

Yataco AR, Gardner AW. Acute reduction in ankle/brachial index followingSmoking in chronic smokers with peripheral arterial occlusiveDisease. *Angiology*. 1999;50:355–360.

Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanan F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L.; INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004;364:937–952. [PubMed] [Google Scholar]

Zhang W, He YJ, Han CT, Liu ZQ, Li Q, Fan L, Tan ZR, Zhang WX, Yu BN, Wang D, et al. (2006) Effect of SLCO1B1 genetic polymorphism on the pharmacokinetics of nateglinide. *Br J Clin Pharmacol* 62:567–572.

Zhang W, Yu BN, He YJ, Fan L, Li Q, Liu ZQ et al. Role of BCRP 421C4A polymorphism on rosuvastatin pharmacokinetics in healthy Chinese males. *Clin Chim Acta* 2006; 373: 99–103.

Zheng HX, Huang Y, Frassetto LA, and Benet LZ (2009) Elucidating rifampin's inducing and inhibiting effects on glyburide pharmacokinetics and blood glucose in healthy volunteers: unmasking the differential effects of enzyme induction and transporter inhibition for a drug and its primary metabolite. *Clin Pharmacol Ther* 85:78–85.

Zheng ZJ, Rosamond WD, Chambless LE, et al. LowerExtremity arterial disease assessed by ankle-brachial index in aMiddle-aged population of African Americans and whites: the AtherosclerosisRisk in Communities (ARIC) Study. *Am J Prev Med.* 2005;29(suppl 1):42– 49.

Zheng ZJ, Sharrett AR, Chambless LE, Rosamond WD, Nieto FJ, ShepsDS, Dobs A, Evans GW, Heiss G. Associations of ankle-brachial indexWith clinical coronary heart disease, stroke and preclinical carotid andPopliteal atherosclerosis: the Atherosclerosis Risk in Communities(ARIC) Study. *Atherosclerosis.* 1997;131:115–125.

Zhou SF, Di YM, Chan E, Du YM, Chow VD, Xue CC, Lai X, Wang JC, Li CG, Tian M, Duan W. Clinical pharmacogenetics and potential application in personalized medicine. *Curr Drug Metab.* 2008 Oct;9(8):738-84.

Zineh I. HMG-CoA reductase inhibitor pharmacogenomics: overview and implications for practice. *Future Cardiol* 2005; 1: 191–206.

DAFTAR PUSTAKA

Aboyans V, Criqui MH, Denenberg JO, Knoke JD, Ridker PM, Fronckowiak EA. Risk factors for progression of peripheral arterial disease in large and small vessels. *Circulation*. 2006;113:2623–2629.

Aboyans V, Criqui MH, McClelland RL, Allison MA, McDermott MM, Goff DC Jr, Manolio TA. Intrinsic contribution of gender and ethnicity to normal ankle-brachial index values: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *J Vasc Surg*. 2007;45:319–327.

Aboyans V, Kamineni A, Allison MA, McDermott MM, Crouse JR, NiH, Szklo M, Criqui MH. The epidemiology of subclavian stenosis and its association with markers of subclinical atherosclerosis: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis*. 2010;211:266–270.

Aboyans V, Lacroix P, Doucet S, Preux PM, Criqui MH, Laskar M. Diagnosis of peripheral arterial disease in general practice: can the ankle-brachial index be measured either by denut palpation or an automatic blood pressure device? *Int J Clin Pract*. 2008;62:1001–1007.

Aboyans V, Lacroix P, Lebourdon A, Preux PM, Ferrieres J, Laskar M. The intra- and interobserver variability of ankle-arm blood pressure index according to its mode of calculation. *J Clin Epidemiol*. 2003;56:215–220.

Abraham P, Desvaux B, Colin D, Leftheriotis G, Saumet JL. Heart rate-corrected ankle-to-arm index in the diagnosis of moderate lower extremity arterial disease. *Angiology*. 1995;46:673–677.

ACCF/AHA Task Force on Practice Guidelines. Methodologies and Policies from the ACCF/AHA Task Force on Practice Guidelines. Available at: http://assets.cardiosource.com/Methodology_Manual_for_ACC_AHA_Writing_Committees.pdf and <http://circ.ahajournals.org/manual/>. Accessed August 27, 2010.

Akllilu E, Mugusi S, Ngaimisi E et al., 2011. Frequency of the SLCO1B1 388A>G and the 521T>C polymorphism in Tanzania genotyped by a new LightCycler®-based method. *Eur J Clin Pharmacol* 67:1139–1145

Albert, J.A. Lovastatin and beyond: the history of the HMG-CoA reductase inhibitors. *Nat. Rev. Drug Discov*. 2, 517–526 (2003).

Alberts MJ, Bhatt DL, Mas JL, Ohman EM, Hirsch AT, Rother J, Salette G, Goto S, Smith SC Jr, Liao CS, Wilson PW, Steg PG; Reduction of Atherothrombosis for Continued Health Registry Investigators. Three-year follow-up and event rates in the international Reduction of Atherothrombosis for Continued Health Registry. *Eur Heart J*. 2009;30:2318–2326.

Allison MA, Aboyans V, Granston T, McDermott MM, Kamineni A, NiH, Criqui MH. The relevance of different methods of calculating the ankle-brachial index: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Epidemiol*. 2010;171:368–376.

Allison MA, Criqui MH, McClelland RL, Scott JM, McDermott MM, Liu K, Folsom AR, Bertoni AG, Sharrett AR, Homma S, Kori S. The effect of novel

cardiovascular risk factors on the ethnic-specific odds for Peripheral arterial disease in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *J Am Coll Cardiol.* 2006;48:1190–1197.

Allison MA, Peralta CA, Wassel CL, ET AL. Genetic ancestry and lower Extremity peripheral artery disease in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Vasc Med.* 2010;15:351–359.

Alnaeb ME, Boutin A, Crabtree VP, Mikhailidis DP, Seifalian AM, Hamilton G. Assessment of lower extremity peripheral arterial disease Using a novel automated optical device. *Vasc Endovascular Surg.* 2007;41:522–527.

Amato M, Montorsi P, Ravani A, et al. Carotid intima-media thickness by B-mode ultrasound as surrogate of coronary atherosclerosis: correlation with quantitative coronary angiography and coronary intravascular ultrasound findings. *Eur Heart J.* 2007;28(17):2094–2101.

Amighi J, Sabeti S, Schlager O, Francesconi M, Ahmadi R, Minar E, Schillinger M. Outcome of conservative therapy of patients with severe Intermittent claudication. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2004;27:254–258.

Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD. Close relationship of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol.* 1995;26:1235–1241.

Ankle Brachial Index Collaboration, Fowkes FG, Murray GD, Butcher I, Heald CL, et al. Ankle brachial index combined with Framingham risk score To predict cardiovascular events and mortality: a meta-analysis. *JAMA.* 2008;300:197–208.

Aoki M, Terada T, Ogasawara K, Katsura T, Hatano E, Ikai I, and Inui K, 2009. Impact of regulatory polymorphisms in organic anion transporter genes in the human liver. *Pharmacogenet Genomics* 19:647–656.

Aquilante CL, Bushman LR, Knutsen SD, Burt LE, Rome LC, and Kosmiski LA, 2008. Influence of SLCO1B1 and CYP2C8 gene polymorphisms on rosiglitazone pharmacokinetics in healthy volunteers. *Hum Genomics* 3:7–16.

Asmar R, Hosseini H. Endpoints in clinical trials: does evidence only originate from 'hard' or mortality endpoints? *J Hypertens.* 2009;27(suppl 2):S45–S50.

Bachmakov I, Glaeser H, Fromm MF, König J, 2008. Interaction of oral antidiabetic drugs with hepatic uptake transporters: focus on organic anion transporting polypeptides and organic cation transporter 1. *Diabetes* 57: 1463–1469.

Backman, J.T., Kyrklund, C., Kivistö, K.T., Wang, J.S. & Neuvonen, P.J. Plasma concentrations of active simvastatin acid are increased by gemfibrozil. *Clin. Pharmacol. Ther.* **68**, 122–129 (2000).

Backman, J.T., Kyrklund, C., Neuvonen, M. & Neuvonen, P.J. Gemfibrozil greatly increases plasma concentrations of cerivastatin. *Clin. Pharmacol. Ther.* **72**, 685–691 (2002).

Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C *et al.* Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective metaanalysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet* 2005; 366: 1267–1278.

Baker JD, Dix DE. Variability of Doppler ankle pressures with arterialOcclusive disease: an evaluation of ankle index and brachial-anklePressure gradient. *Surgery*. 1981;89:134 –137.

Barber MJ, Mangravite LM, Hyde CL, Chasman DI, Smith JD, McCarty CA, Li X, Wilke RA, Rieder MJ, Williams PT, Ridker PM, Chatterjee A, Rotter JI, Nickerson DA, Stephens M, Krauss RM. Genome-wide association of lipid-lowering response to statins in combined study populations. *PLoS One* 2010;5:e9763. doi:10.1371/journal.pone.0009763.

Baxter GM, Polak JF. Lower limb colour flow imaging: a comparisonWith ankle:brachial measurements and angiography. *Clin Radiol*. 1993;47:91–95.

Beckman JA, Higgins CO, Gerhard-Herman M. Automated oscillometricDetermination of the ankle-brachial index provides accuracyNecessary for office practice. *Hypertension*. 2006;47:35–38.

Becquemont L, Neuvonen M, Verstuyft C, Jaillon P, Letierce A, Neuvonen PJ, and Funck-Brentano C, 2007. Amiodarone interacts with simvastatin but not with pravastatin disposition kinetics. *Clin Pharmacol Ther* 81:679 –684.

Benchimol D, Pillois X, Benchimol A, Houitte A, Sagardiluz P, TortelierL, Bonnet J. Accuracy of ankle-brachial index using an automaticBlood pressure device to detect peripheral artery disease in preventiveMedicine. *Arch Cardiovasc Dis*. 2009;102:519 –524.

Berg, J.S.; Dischler, J.; Wagner, D.J.; Raia, J.J.; Palmer-Shevlin, N. Medication compliance: A healthcare problem. *Ann. Pharmacother*. 1993, 27, S1–S24.

Berry KL, Skyrme-Jones RA, Meredith IT. Occlusion cuff position is an important determinant of the time course and magnitude of human brachial artery flow-mediated dilation. *Clin Sci (Lond)*. 2000;99: 261–267.

Bird CE, Criqui MH, Fronck A, Denenberg JO, Klauber MR, LangerRD. Quantitative and qualitative progression of peripheral arterialDisease by non-invasive testing. *Vasc Med*. 1999;4:15–21.

Boekholdt SM, Arsenault BJ, Mora S, *et al.* Association of LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, and apolipoprotein B levels with risk of cardiovascular events among patients treated with statins: a meta-analysis. *JAMA* 2012;307:1302–1309. [PubMed] [Google Scholar]

Bots ML, Baldassarre D, Simon A, *et al.* Carotid intima-media thickness and coronary atherosclerosis: weak or strong relations? *Eur Heart J*. 2007;28(4):398–406.

Bots ML, Evans GW, Riley WA, Grobbee DE. Carotid intima-media thickness measurements in intervention studies: design options, progression rates, and sample size considerations: a point of view. *Stroke*. 2003;34(12):2985–2994.

Brenner DJ, Hall EJ. Computed tomography—an increasing source of radiation exposure. *N Engl J Med*. 2007;357(22):2277–2284.

Brindle P, Beswick A, Fahey T, Ebrahim S. Accuracy and impact of risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Heart*. 2006;92:1752–1759.

Brown CDA, Windass A, Bleasby K, Lauffart B. Rosuvastatin is a high affinity substrate of hepatic organic anion transporter OATP-C (abstract). *Atherosclerosis*. 2001; 2: 90.

Brunham, L.R. *et al.* Differential effect of the rs4149056 variant in SLCO1B1 on myopathy associated with simvastatin and atorvastatin. *Pharmacogenomics J*. (2011), e-pub ahead of print 18 January 2011.

Buch S, Schafmayer C, Vo"lzke H, Seeger M, Miquel JF, Sookoian SC, Egberts JH, Arlt A, Pirola CJ, Lerch MM, et al. (2010) Loci from a genome-wide analysis of bilirubin levels are associated with gallstone risk and composition. *Gastroenterology* 139:1942–1951.e2.

Cai WM, J. Xu, B. Chen, F.M. Zhang, Y.Z. Huang, Y.D. Zhang. Effect of CYP2D6*10 genotype on propafenone pharmacodynamics in Chinese patients with ventricular arrhythmia. *Acta Pharmacol Sin*, 23 (2002), pp. 1040–1044

Carmelli D, Fabsitz RR, Swan GE, Reed T, Miller B, Wolf PA. Contribution of genetic and environmental influences to ankle-brachial blood pressure index in the NHLBI Twin Study: National Heart, Lung, and Blood Institute. *Am J Epidemiol*. 2000;151:452–458.

Carter SA. Response of ankle systolic pressure to leg exercise in mild or questionable arterial disease. *N Engl J Med*. 1972;287:578–582.

Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, Deanfield JE. Cigarette smoking is associated with dose-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation*. 1993;88:2149–2155.

Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992;340:1111–1115.

Ceriello A, Cavarape A, Martinelli L, Da Ros R, Marra G, Quagliari L, Piconi L, Assaloni R, Motz E. The post-prandial state in type 2 diabetes and endothelial dysfunction: effects of insulin aspart. *Diabet Med*. 2004; 21:171–175.

Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987–1993. *Am J Epidemiol*. 1997;146(6):483–494.

Chang C, Pang KS, Swaan PW, and Ekins S, 2005. Comparative pharmacophore modeling of organic anion transporting polypeptides: a meta-analysis of rat Oatp1a1 and human OATP1B1. *J Pharmacol Exp Ther* 314:533–541.

Charland, S.L.; Agatep, B.C.; Epstein, R.S.; Frueh, F.W.; Herrera, V.; Devlin, J.; Superko, H.; Stanek, E.J. Patient knowledge of pharmacogenetic information improves adherence to statin therapy: Results of the additional kif6 risk offers better adherence to statins (akrobats) trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2012, 59, doi:10.1016/S0735-1097(12)61849-X

Chasman DI, Posada D, Subrahmanyam L, Cook NR, Stanton VP Jr., Ridker PM. Pharmacogenetic study of statin therapy and cholesterol reduction. *JAMA* 2004;291:2821-2827. doi:10.1001/jama.291.23.2821.

Choi EK, Choi SI, Rivera JJ, et al. Coronary computed tomography angiography as a screening tool for the detection of occult coronary artery disease in asymptomatic individuals. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52:357–65.

Choi MK, Song IS (2008) Organic cation transporters and their pharmacokinetic and pharmacodynamic consequences *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 23: 243 – 253

Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration, Baigent C, Blackwell L, Emberson J, Holland LE, Reith C, Bhalra N, Peto R, Barnes EH, Keech A, Simes J, Collins R. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170 000 participants in 26 randomised trials. *Lancet* 2010;376:1670–1681. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Clairotte C, Retout S, Potier L, Roussel R, Escoubet B. Automated Ankle-brachial pressure index measurement by clinical staff for peripheral Arterial disease diagnosis in nondiabetic and diabetic patients. *Diabetes Care.* 2009;32:1231–1236.

Clarkson P, Montgomery HE, Mullen MJ, Donald AE, Powe AJ, Bull T, Jubb M, World M, Deanfield JE. Exercise training enhances endothelial function in young men. *J Am Coll Cardiol.* 1999;33:1379 –1385.

Cobble M & Bale B. *Carotid Intima-Media Thickness: Knowledge and Application to Everyday Practice, Postgraduate Medicine*, 122:1, 10-18, 2010. DOI: 10.3810/pgm.2010.01.2091.

Collins R, Reith C, Emberson J, et al. Interpretation of the evidence for the efficacy and safety of statin therapy. *Lancet* 2016;388:2532–2561. [PubMed] [Google Scholar]

Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:257–265.

Corretti MC, Plotnick GD, Vogel RA. Technical aspects of evaluating brachial artery vasodilatation using high-frequency ultrasound. *Am J Physiol.* 1995;268:H1397–H1404.

Couvert P, Giral P, Dejager S, Gu J, Huby T, Chapman MJ, Bruckert E, and Carrie A (2008) Association between a frequent allele of the gene encoding OATP1B1 and enhanced LDL-lowering response to fluvastatin therapy. *Pharmacogenomics* 9:1217–1227.

Criqui MH, mccllelland RL, mcdermott MM, et al. The ankle-brachial Index and incident cardiovascular events in the MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *J Am Coll Cardiol*. 2010;56:1506–1512.

Criqui MH, Ninomiya JK, Wingard DL, Ji M, Fronck A. Progression of Peripheral arterial disease predicts cardiovascular disease morbidity and Mortality. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:1736–1742.

Cronenwett JL, Warner KG, Zelenock GB, Whitehouse WM Jr, Graham LM, Lindenauer M, Stanley JC. Intermittent claudication: current results of nonoperative management. *Arch Surg*. 1984;119:430–436.

Crouse JR 3rd, Raichlen JS, Riley WA, et al. Effect of rosuvastatin on progression of carotid intima-media thickness in low-risk individuals with subclinical atherosclerosis: the METEOR trial. *JAMA*. 2007;297(12):1344–1353.

Cui Y, König J, Leier I, Buchholz U, Keppler D (2001). Hepatic uptake of bilirubin and its conjugates by the human organic anion transporter SLC21A6. *J Biol Chem* 276: 9626–9630.

Dahl ML, Johansson I, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M, and Sjöqvist F (1995) Ultrarapid hydroxylation of debrisoquine in a Swedish population. Analysis of the molecular genetic basis. *J Pharmacol Exp Ther* 274:516–520.

Davidson MH, Stein EA, Dujovne CA, Hunninghake DB, Weiss SR, Knopp RH, Illingworth DR, Mitchel YB, Melino MR, Zupkis RV, et al. (1997) The efficacy and six-week tolerability of simvastatin 80 and 160 mg/day. *Am J Cardiol* 79:38–42.

Deng JW, Song IS, Shin HJ, Yeo CW, Cho DY, Shon JH et al. The effect of SLCO1B1*15 on the disposition of pravastatin and pitavastatin is substrate dependent: the contribution of transporting activity changes by SLCO1B1*15. *Pharmacogenet Genomics* 2008; 18: 424–433.

Descamps OS, Bruniaux M, Guilmot PF, Tonglet R, Heller FR. Lipoprotein concentrations in newborns are associated with allelic variations in their mothers. *Atherosclerosis* 2004;172:287–298. [PubMed] [Google Scholar]

Dolan M.E., Newbold K.G., Nagasubramanian R., et al, 2004. Heritability and linkage analysis of sensitivity to cisplatin-induced cytotoxicity. *Cancer Res*. 64:4353–4356.

Donnelly, L.A.; Doney, A.S.; Tavendale, R.; Lang, C.C.; Pearson, E.R.; Colhoun, H.M.; McCarthy, M.I.; Hattersley, A.T.; Morris, A.D.; Palmer, C.N. Common nonsynonymous substitutions in *slco1b1* predispose to statin intolerance in routinely treated individuals with type 2 diabetes: A go-darts study. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2011, 89, 210–216.



DuBroff R. Cholesterol paradox: a correlate does not a surrogate make. *Evid Based Med* 2017;22:15–19. [PubMed] [Google Scholar]

Egan, A.; Colman, E. Weighing the benefits of high-dose simvastatin against the risk of myopathy. *N. Engl. J. Med.* 2011, 365, 285–287.

Eichelbaum M., Ingelman-Sundberg M., and Evans W.E., 2006. Pharmacogenomics and individualized drug therapy. *Annu Rev Med* 57:119-137.

Emerging Risk Factors C, Di Angelantonio E, et al. Lipid-related markers and cardiovascular disease prediction. *JAMA* 2012;307:2499–2506. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Eskurza I, Monahan KD, Robinson JA, Seals DR. Ascorbic acid does not affect large elastic artery compliance or central blood pressure in young and older men. *Am J Physiol.* 2004;286:H1528–H1534.

Espeland MA, Regensteiner JG, Jaramillo SA, Gregg E, Knowler WC, Wagenknecht LE, Bahnson J, Haffner S, Hill J, Hiatt WR; LookAHEAD Study Group. Measurement characteristics of the ankle-brachial index: results from the Action for Health in Diabetes study. *Vasc Med.* 2008;13:225–233.

Espinola-Klein C, Rupprecht HJ, Bickel C, Lackner K, Savvidis S, Messow CM, Munzel T, Blankenberg S; atherogene Investigators. Different calculations of ankle-brachial index and their impact on cardiovascular risk prediction. *Circulation.* 2008;118:961–967.

Evans WE and Relling MV (2004) Moving towards individualized medicine with pharmacogenomics. *Nature* 429:464–468.

Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001;285(19):2486–2497

Ference BA, Majeed F, Penumetcha R, Flack JM, Brook RD. Effect of naturally random allocation to lower low-density lipoprotein cholesterol on the risk of coronary heart disease mediated by polymorphisms in NPC1L1, HMGCR, or both: a 2 x 2 factorial Mendelian randomization study. *J Am Coll Cardiol* 2015;65:1552–1261. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Ference BA, Robinson JG, Brook RD, Catapano AL, Chapman MJ, Neff DR, Voros S, Giugliano RP, Davey Smith G, Fazio S, Sabatine MS. Variation in PCSK9 and HMGCR and risk of cardiovascular disease and diabetes. *N Engl J Med* 2016; 375:2144–2153. [PubMed] [Google Scholar]

Finn AV, Kolodgie FD, Virmani R. Correlation between Carotid Intimal/Medial Thickness and Atherosclerosis. A Point of View from Pathology [published online ahead of print August 13, 2009]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*

Fisher CM, Burnett A, Makeham V, Kidd J, Glasson M, Harris JP. Variation in measurement of ankle-brachial pressure index in routine clinical practice. *J Vasc Surg*. 1996;24:871–875.

Fowkes FG, Murray GD, Butcher I, et al. Ankle brachial index combined with Framingham Risk Score to predict cardiovascular events and mortality: a meta-analysis. *JAMA*. 2008;300:197–208.

Fowl RJ, Gewirtz RJ, Love MC, Kempczinski RF. Natural history of Claudicants with critical hemodynamic indices. *Ann Vasc Surg*. 1992;6:31–33.

Franzoni F, Ghiadoni L, Galetta F, et al. Physical activity, plasma antioxidant capacity, and endothelium-dependent vasodilation in young and older men. *Am J Hypertens*. 2005;18:510–516.

Fujino H, Saito T, Ogawa S, and Kojima J (2005) Transporter-mediated influx and efflux mechanisms of pitavastatin, a new inhibitor of HMG-CoA reductase. *J Pharm Pharmacol* 57:1305–1311.

Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288: 373–376.

Furihata T, Satoh T, Yamamoto N, Kobayashi K, and Chiba K (2007) Hepatocyte nuclear factor 1 alpha is a factor responsible for the interindividual variation of OATP1B1 mRNA levels in adult Japanese livers. *Pharm Res* 24:2327–2332.

Gasparyan AY. The use of carotid artery ultrasonography in different clinical conditions. *Open Cardiovasc Med J*. 2009;3:78–80

Gepner AD, Korcarz CE, Aeschlimann SE, et al. Validation of a carotid intima-media thickness border detection program for use in an office setting. *J Am Soc Echocardiogr*. 2006;19(2):223–228.

Gerloff T, Schaefer M, Mwinyi J, Johne A, Sudhop T, Lu" tjohnann D, Roots I, and von Bergmann K (2006) Influence of the SLCO1B1*1b and *5 haplotypes on pravastatin's cholesterol lowering capabilities and basal sterol serum levels. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 373:45–50.

Ghatak A, Faheem O, and Thompson PD (2010) The genetics of statin-induced myopathy. *Atherosclerosis* 210:337–343.

Giacomini KM, Huang SM, Tweedie DJ, Benet LZ, Brouwer KL, Chu X, Dahlin A, Evers R, Fischer V, Hillgren KM, et al. (2010) Membrane transporters in drug development. *Nat Rev Drug Discov* 9:215–236.

Gill RW. Measurement of blood flow by ultrasound: accuracy and sources of error. *Ultrasound Med Biol*. 1985;11:625–641.

Global Lipids Genetics Consortium. Discovery and refinement of loci associated with lipid levels. *Nat Genet* 2013;45:1274–1283. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

GO-DARTS (Genetics of Diabetes Audit and Research)

Goldstein JL, Brown MS. A century of cholesterol and coronaries: from plaques to genes to statins. *Cell* 2015;161:161–172. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Gornik HL, Garcia B, Wolski K, Jones DC, Macdonald KA, Fronck A. Validation of a method for determination of the ankle-brachial index in the seated position. *J Vasc Surg*. 2008;48:1204–1210.

Graham, D.J. *et al.* Incidence of hospitalized rhabdomyolysis in patients treated with lipid-lowering drugs. *JAMA* **292**, 2585–2590 (2004).

Green D. Point: flow-mediated dilation does reflect nitric oxide-mediated endothelial function. *J Appl Physiol*. 2005;99:1233–1234; discussion 1237–1238.

Greenland P, Bonow RO, Brundage BH, *et al.* ACCF/AHA 2007 clinical expert consensus document on coronary artery calcium scoring by computed tomography in global cardiovascular risk assessment and in evaluation of patients with chest pain: a report of the American College of Cardiology Foundation Clinical Expert Consensus Task Force (ACCF/AHA Writing Committee to Update the 2000 Expert Consensus Document on Electron Beam Computed Tomography) developed in collaboration with The Society of Atherosclerosis Imaging and Prevention and the Society of Cardiovascular Computed Tomography. *Circulation*. 2007;115:402–426.

Greenland P, Labree L, Azen SP, Doherty TM, Detrano RC. Coronary artery calcium score combined with Framingham score for risk prediction in asymptomatic individuals. *JAMA*. 2004;291:210–215.

Growth and Development Study (HGDS), Multicenter AIDS Cohort Study (MACS), Multicenter Hemophilia Cohort Study (MHCS), San Francisco City Cohort (SFCC), ALIVE Study. *Science* 277:959–965.

Grube M, Köck K, Oswald S, Draber K, Meissner K, Eckel L *et al.* (2006). Organic anion transporting polypeptide 2B1 is a high-affinity transporter for atorvastatin and is expressed in the human heart. *Clin Pharmacol Ther* 80: 607–620.

Guo X, Li J, Pang W, Zhao M, Luo Y, Sun Y, Hu D. Sensitivity and specificity of ankle-brachial index for detecting angiographic stenosis of peripheral arteries. *Circ J*. 2008;72:605–610.

Hagenbuch B and Meier PJ (2004) Organic anion transporting polypeptides of the OATP/SLC21 family: phylogenetic classification as OATP/SLCO superfamily, new nomenclature and molecular/functional properties. *Pflugers Arch* 447:653–665.

Hamalainen H, Ronnema T, Halonen JP, Toikka T. Factors predicting lower extremity amputations in patients with type 1 or type 2 diabetes mellitus: a population-based 7-year follow-up study. *J Intern Med*. 1999;246:97–103.

Han YH, Busler D, Hong Y, Tian Y, Chen C, and Rodrigues AD (2010) Transporter studies with the 3-O-sulfate conjugate of 17alpha-ethinylestradiol: assessment of human liver drug transporters. *Drug Metab Dispos* 38:1072–1082.

Hanukoglu I., 1992. "Steroidogenic enzymes: structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 43 (8): 779–804.

Harper CR, Jacobson TA. The broad spectrum of statin myopathy: from myalgia to rhabdomyolysis. *Curr Opin Lipidol* 2007; 18: 401–408.

Harris RA, Padilla J, Hanlon KP, Rink LD, Wallace JP. The flow-mediated dilation response to acute exercise in overweight active and inactive men. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16:578 –584.

Harris RA, Padilla J, Rink LD, Wallace JP. Variability of flow-mediated dilation measurements with repetitive reactive hyperemia. *Vasc Med*. 2006;11:1– 6.

Harris RA, Padilla J. Proper "normalization" of flow-mediated dilation for shear. *J Appl Physiol*. 2007;103:1108; author reply 1109.

Harvey PJ, Morris BL, Kubo T, Picton PE, Su WS, Notarius CF, Floras JS. Hemodynamic after-effects of acute dynamic exercise in sedentary normotensive postmenopausal women. *Hypertension*. 2005;23:285–292.

Hashimoto M, Akishita M, Eto M, Ishikawa M, Kozaki K, Toba K, Sagara Y, Taketani Y, Orimo H, Ouchi Y. Modulation of endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery by sex and menstrual cycle. *Circulation*. 1995;92:3431–3435.

Hayashi C, Ogawa O, Kubo S, Mitsuhashi N, Onuma T, Kawamori R. Ankle brachial pressure index and carotid intima-media thickness as Atherosclerosis markers in Japanese diabetics. *Diabetes Res Clin Pract*. 2004;66:269 –275.

Heart Protection Study Collaborative Group. Effects on 11-year mortality and morbidity of lowering LDL cholesterol with simvastatin for about 5 years in 20 536 high-risk individuals: a randomised controlled trial. *Lancet* **378**, 2013–2020 (2011).

Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF heart protection study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 7–22.

Herman G.E., 2003. Disorders of cholesterol biosynthesis: prototypic metabolic malformation syndromes. *Human Molecular Genetics*. 12 Spec No 1:R75-88.

Hiatt WR, Goldstone J, Smith SC Jr, mcdermott M, Moneta G, Oka R, Newman AB, Pearce WH; American Heart Association Writing Group1. Atherosclerotic peripheral vascular disease symposium II: nomenclature For vascular diseases. *Circulation*. 2008;118:2826 –2829.

Hiatt WR, Hoag S, Hamman RF. Effect of diagnostic criteria on the prevalence of peripheral arterial disease: the San Luis Valley Diabetes Study. *Circulation*. 1995;91:1472–1479.

Hirsch AT, Criqui MH, Treat-Jacobson D, et al. Peripheral arterial disease detection, awareness, and treatment in primary care. *JAMA*. 2001;286:1317–1324.

Ho R.H., et al, 2006. Drug and bile acid transporters in rosuvastatin hepatic uptake: function, expression, and pharmacogenetics. *Gastroenterology*. 130, 1793–1806.

Ho RH, Choi L, Lee W, Mayo G, Schwarz UI, Tirona RG *et al*. Effect of drug transporter genotypes on pravastatin disposition in European- and African-American participants. *Pharmacogenet Genomics* 2007; 17: 647–656.

Ho RH, Tirona RG, Leake BF, Glaeser H, Lee W, Lemke CJ *et al*. Drug and bile acid transporters in rosuvastatin hepatic uptake: function, expression, and pharmacogenetics. *Gastroenterology* 2006; 130: 1793–1806.

Holmes MV, Asselbergs FW, Palmer TM, et al. Mendelian randomization of blood lipids for coronary heart disease. *Eur Heart J* 2015;36:539–550. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Hsiang B, Zhu Y, Wang Z, Wu Y, Sasseville V, Yang WP *et al*. A novel human hepatic organic anion transporting polypeptide (OATP2). Identification of a liver-specific human organic anion transporting polypeptide and identification of rat and human hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitor transporters. *J Biol Chem* 1999; 274: 37161–37168.

Huang AL, Silver AE, Shvenke E, et al. Predictive value of reactive hyperemia for cardiovascular events in patients with peripheral arterial disease undergoing vascular surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:2113–2119.

Humphrey JD. Mechanisms of arterial remodeling in hypertension: Coupled roles of wall shear and intramural stress. *Hypertension*. 2008;52:195–200.

Hunt KJ, Sharrett AR, Chambless LE, Folsom AR, Evans GW, Heiss G. Acoustic shadowing on B-mode ultrasound of the carotid artery predicts CHD. *Ultrasound Med Biol*. 2001;27(3):357–365

Igel M, Arnold KA, Niemi M, Hofmann U, Schwab M, Lutjohann D *et al*. Impact of the SLCO1B1 polymorphism on the pharmacokinetics and lipid-lowering efficacy of multiple-dose pravastatin. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 79: 419–426.

Ingelman-Sundberg M, S.C. Sim, A. Gomez, C. Rodriguez-Antona. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoepigenetic and clinical aspects. *Pharmacol Ther*, 116 (2007), pp. 496–526

Jaakkola T, Backman JT, Neuvonen M, and Neuvonen PJ (2005) Effects of gemfibrozil, itraconazole, and their combination on the pharmacokinetics of pioglitazone. *Clin Pharmacol Ther* 77:404–414.

Jarvisalo MJ, Jartti L, Marniemi J, Ronnema T, Viikari JS, Lehtimäki T, Raitakari OT. Determinants of short-term variation in arterial flow-mediated dilatation in healthy young men. *Clin Sci (Lond)*. 2006;110: 475–482.

Jarvisalo MJ, Jartti L, Nanto-Salonen K, et al. Increased aortic intima-media thickness: a marker of preclinical atherosclerosis in high-risk children. *Circulation*. 2001;104(24):2943–2947.

Johnson AD, Kavousi M, Smith AV, Chen MH, Dehghan A, Aspelund T, Lin JP, van Duijn CM, Harris TB, Cupples LA, et al. (2009) Genome-wide association meta-analysis for total serum bilirubin levels. *Hum Mol Genet* 18:2700–2710.

Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES study). *Am J Cardiol* 1998;81:582-587. doi:10.1016/S0002-9149(97)00965-X.

Jonsson B, Lindberg LG, Skau T, Thulesius O. Is oscillometric ankle pressure reliable in leg vascular disease? *Clin Physiol*. 2001;21:155–163.

Joy TR, Hegele RA. Narrative review: statin-related myopathy. *Ann Intern Med* 2009; 150: 858–868.

Jung D, Hagenbuch B, Gresh L, Pontoglio M, Meier PJ, and Kullak-Ublick GA (2001) Characterization of the human OATP-C (SLC21A6) gene promoter and regulation of liver-specific OATP genes by hepatocyte nuclear factor 1 alpha. *J Biol Chem* 276:37206–37214.

Kablak-Ziembicka A, Przewlocki T, Tracz W, Pieniazek P, Musialek P, Sokolowski A. Gender differences in carotid intima-media thickness in patients with suspected coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2005;96(9):1217–1222.

Kaiser V, Kester AD, Stoffers HE, Kitslaar PJ, Knottnerus JA. The influence of experience on the reproducibility of the ankle-brachial systolic pressure ratio in peripheral arterial occlusive disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 1999;18:25–29.

Kalliokoski A, Backman JT, Neuvonen PJ, Niemi M. Effects of the SLCO1B1*1B haplotype on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of repaglinide and nateglinide. *Pharmacogenet Genomics* 2008; 18: 937–942.

Kalliokoski A, Neuvonen M, Neuvonen PJ, and Niemi M (2008c) Different effects of SLCO1B1 polymorphism on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of repaglinide and nateglinide. *J Clin Pharmacol* 48:311–321.

Kalliokoski A, Neuvonen M, Neuvonen PJ, and Niemi M (2008d) The effect of SLCO1B1 polymorphism on repaglinide pharmacokinetics persists over a wide dose range. *Br J Clin Pharmacol* 66:818–825.

Kalliokoski A, Neuvonen PJ, and Niemi M (2010) SLCO1B1 Polymorphism and Oral Antidiabetic Drugs. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. Kalliokoski A and Niemi M (2009) Impact of OATP transporters on pharmacokinetics. *Br J Pharmacol* 158:693–705.

Kalliokoski, A. & Niemi, M. Impact of OATP transporters on pharmacokinetics. *Br. J. Pharmacol.* **158**, 693–705 (2009).

Kalow W and Gunn DR (1959) Some statistical data on atypical cholinesterase of human serum. *Ann Hum Genet* 23:239–250.

Kalow W., Tang B.K., and Endrenyi L., 1998. Hypothesis: comparisons of inter- and intra-individual variations can substitute for twin studies in drug research. *Pharmacogenetics* 8:283–289.

Kalow W, Tang BK, and Endrenyi L (1998) Hypothesis: comparisons of inter- and intra-individual variations can substitute for twin studies in drug research. *Pharmacogenetics* 8:283–289.

Kameyama Y, Yamashita K, Kobayashi K, Hosokawa M, Chiba K. Functional characterization of SLCO1B1 (OATP-C) variants, SLCO1B1*5, SLCO1B1*15 and SLCO1B1*15+C1007G, by using transient expression systems of HeLa and HEK293 cells. *Pharmacogenet Genomics* 2005; 15: 513–522.

Kang TW, Kim HJ, Ju H, Kim JH, Jeon YJ, Lee HC, Kim KK, Kim JW, Lee S, Kim JY, et al. (2010) Genome-wide association of serum bilirubin levels in Korean population. *Hum Mol Genet* 19:3672–3678.

Kastelein JJ, Akdim F, Stroes ES, et al; ENHANCE Investigators. Simvastatin with or without ezetimibe in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med.* 2008;358:1431–1443.

Kastelein JJ, de Groot E. Ultrasound imaging techniques for the evaluation of cardiovascular therapies. *Eur Heart J.* 2008;29(7):849–858.

Kato T, Inoue T, Morooka T, Yoshimoto N, Node K. Short-term passive smoking causes endothelial dysfunction via oxidative stress in nonsmokers. *Can J Physiol Pharmacol.* 2006;84:523–529.

Katz DA, Carr R, Grimm DR, Xiong H, Holley-Shanks R, Mueller T, Leake B, Wang Q, Han L, Wang PG, et al. (2006) Organic anion transporting polypeptide 1B1 activity classified by SLCO1B1 genotype influences atorvastatin pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 79:186–196.

Katz S, Globerman A, Avitzour M, Dolfin T. The ankle-brachial index in normal neonates and infants is significantly lower than in older children and adults. *J Pediatr Surg.* 1997;32:269–271.

Keskitalo JE, Kurkinen KJ, Neuvonen M, Backman JT, Neuvonen PJ, Niemi M. No significant effect of ABCB1 haplotypes on the pharmacokinetics of fluvastatin, pravastatin, lovastatin, and rosuvastatin. *Br J Clin Pharmacol* 2009; 68: 207–213.

Keskitalo JE, Pasanen MK, Neuvonen PJ, and Niemi M (2009a) Different effects of the ABCG2 c.421C>A SNP on the pharmacokinetics of fluvastatin, pravastatin and simvastatin. *Pharmacogenomics* 10:1617–1624.

Keskitalo JE, Zolk O, Fromm MF, Kurkinen KJ, Neuvonen PJ, Niemi M. ABCG2 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 2009; 86: 197–203.

Khot UN, Khot MB, Bajzer CT, et al. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA*. 2003;290(7):898–904.

Kim RB. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors (statins) and genetic variability (single nucleotide polymorphisms) in a hepatic drug uptake transporter: what's it all about? *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75: 381–385.

Kimura Y., Tanaka K., 2010. Regulatory mechanisms involved in the control of ubiquitin homeostasis. *The Journal of Biochemistry*. 147:793-798

Kitamura S, Maeda K, Wang Y, and Sugiyama Y (2008) Involvement of multiple transporters in the hepatobiliary transport of rosuvastatin. *Drug Metab Dispos* 36:2014–2023.

Klaassen CD and Aleksunes LM (2010) Xenobiotic, bile acid, and cholesterol transporters: function and regulation. *Pharmacol Rev* 62:1–96.

Klein S, Hage JJ. Measurement, calculation, and normal range of the Ankle-arm index: a bibliometric analysis and recommendation for standardization. *Ann Vasc Surg*. 2006;20:282–292.

Konig J, Nies AT, Cui Y, Leier I, Keppler D (1999) conjugate export pump of the multidrug resistance protein (MRP) family: localization substrate specificity and MRP 2 – mediated drug resistance. *Biochemica and Biophysica Acta* 1461 (2) 377

Kooijman M, Thijssen DHJ, de Groot PCE, Bleeker MWP, van Kuppevelt HJM, Green DJ, Rongen GA, Smits P, Hopman MTE. Flow-mediated dilatation in the superficial femoral artery is nitric oxide mediated in humans. *J Physiol*. 2008;586:1137–1145.

Korno M, Eldrup N, Sillesen H. Comparison of ankle-brachial index Measured by an automated oscillometric apparatus with that by standard Doppler technique in vascular patients. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2009;38:610–615.

Kovacs W.J., Olivier L.M., Krisans S.K., 2002. Central role of peroxisomes in isoprenoid biosynthesis. *Progress in Lipid Research*. 41:369-391.

Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, Watkins PB, Daly A, Wrighton SA, Hall SD, et al. (2001) Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet* 27:383–391.

Kuehl P., Zhang J., Lin Y., et al, 2001. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genetics*. 27:383–391.

Kullak-Ublick GA, Hagenbuch B, Stieger B, Scheingart CD, Hofmann AF, Wolkoff AW, and Meier PJ (1995) Molecular and functional characterization of an

organic anion transporting polypeptide cloned from human liver. *Gastroenterology* 109:1274–1282.

Kullak-Ublick, G., et al., Organic anion-transporting polypeptide B (OATP-B) and its functional comparison with three other OATPs of human liver. *Gastroenterology* 2001. 120(2): p. 525-33.

Laing S, Greenhalgh RM. The detection and progression of asymptomatic Peripheral arterial disease. *Br J Surg.* 1983;70:628–630.

Lamba JK, Lin YS, Thummel K, Daly A, Watkins PB, Strom S, Zhang J, and Schuetz EG (2002) Common allelic variants of cytochrome P4503A4 and their prevalence in different populations. *Pharmacogenetics* 12:121–132.

Lamba V., Panetta J.C., Strom S., Schuetz E.G., 2010. Genetic predictors of inter-individual variability in hepatic CYP3A4 expression. *J Pharmacol Exp Ther.* 332:1088–1099.

Lawlor DA, Harbord RM, Sterne JA, Timpson N, Davey Smith G. Mendelian randomization: using genes as instruments for making causal inferences in epidemiology. *Stat Med* 2008;27:1133–1163. [PubMed] [Google Scholar]

Lecerf J.M., de Lorgeril M., 2011. Dietary cholesterol: from physiology to cardiovascular risk. *Br J Nutr* 106 (1): 6–14.

Lee E, Ryan S, Birmingham B, Zalikowski J, March R, Ambrose H *et al.* Rosuvastatin pharmacokinetics and pharmacogenetics in white and Asian subjects residing in the same environment. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 78: 330–341.

Lester SJ, Eleid MF, Khandheria BK, Hurst RT. Carotid intima-media thickness and coronary artery calcium score as indications of subclinical atherosclerosis. *Mayo Clin Proc.* 2009;84(3):229–233

Li C, Engstrom G, Berglund G, Janzon L, Hedblad B. Incidence of ischemic stroke in relation to asymptomatic carotid artery atherosclerosis in subjects with normal blood pressure. A prospective cohort study. *Cerebrovasc Dis.* 2008;26(3):297–303

Li T, C.Y. Chang, D.Y. Jin, P.J. Lin, A. Khvorova, D.W. Stafford. Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase. *Nature*, 427 (2004), pp. 541–544

Lijmer JG, Hunink MG, van den Dungen JJ, Loonstra J, Smit AJ. ROC Analysis of noninvasive tests for peripheral arterial disease. *Ultrasound Med Biol.* 1996;22:391–398.

Link E, Parish S, Armitage J, Bowman L, Heath S, Matsuda F *et al.* SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy—a genomewide study. *N Engl J Med* 2008; 359: 789–799.

Link E. Oxford: University of Oxford; 2009. Genome-wide association of statin-induced myopathy (PhD thesis).

Little WC, Constantinescu M, Applegate RJ, et al. Can coronary angiography predict the site of a subsequent myocardial infarction in patients with mild-to-moderate coronary artery disease? *Circulation*. 1988;78(5 pt 1):1157–1166.

London GM, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Stimpel M. Influence of sex on arterial hemodynamics and blood pressure: role of body height. *Hypertension*. 1995;26:514–519.

Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation*. 2007;115(4):459–467.

Lu AY (1998) Drug-metabolism research challenges in the new millennium: individual variability in drug therapy and drug safety. *Drug Metab Dispos* 26:1217–1222.

Lu AYH and Ma Q (2010) Pharmacogenetics and individualized medicine, in *ADME Enabling Technologies in Drug Design and Development* (Zhang D and Surapaneni S eds), in press. Wiley & Sons, New York.

Ma Q and Lu AY (2008) The challenges of dealing with promiscuous drug metabolizing enzymes, receptors and transporters. *Curr Drug Metab* 9:374–383.

Ma Q and Lu AY. Pharmacogenetics, Pharmacogenomics, and Individualized Medicine. *Pharmacol Rev*. 2011 Jun;63(2):437-59. doi: 10.1124/pr.110.003533.

Macdonald E, Froggatt P, Lawrence G, Blair S. Are automated blood Pressure monitors accurate enough to calculate the ankle brachial Pressure index? *J Clin Monit Comput*. 2008;22:381–384.

Maeda K, Ieiri I, Yasuda K, Fujino A, Fujiwara H, Otsubo K *et al*. Effects of organic anion transporting polypeptide 1B1 haplotype on pharmacokinetics of pravastatin, valsartan, and temocapril. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 79: 427–439.

Maeda K, Sugiyama Y. Impact of genetic polymorphisms of transporters on the pharmacokinetic, pharmacodynamic and toxicological properties of anionic drugs. *Drug Metab Pharmacokinet* 2008; 23: 223–235.

Mahgoub A., Idle R.J., Dring L.G., et al, 1977. Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man. *Lancet*. 2:584–586.

Mangravite LM, Thorn CF, Krauss RM. Clinical implications of pharmacogenomics of statin treatment. *Pharmacogenomics J* 2006;6:360-374. doi:10.1038/sj.tpj.6500384.

Marcianti, K.D.; Durda, J.P.; Heckbert, S.R.; Lumley, T.; Rice, K.; McKnight, B.; Totah, R.A.; Tamraz, B.; Kroetz, D.L.; Fukushima, H.; et al. Cerivastatin, genetic variants, and the risk of rhabdomyolysis. *Pharmacogenet. Genomics* 2011, 21, 280–288.

Mareedu, R.K. *et al*. Use of an electronic medical record to characterize cases of intermediate statin-induced muscle toxicity. *Prev. Cardiol*. 12, 88–94 (2009).

Marston WA, Davies SW, Armstrong B, Farber MA, Mendes RC, Fulton JJ, Keagy BA. Natural history of limbs with arterial insufficiency and chronic ulceration treated without revascularization. *J Vasc Surg.* 2006;44:108–114.

Marzolini C, Tirona RG, Gervasini G, Poonkuzhali B, Assem M, Lee W, Leake BF, Schuetz JD, Schuetz EG, and Kim RB (2007) A common polymorphism in the bile acid receptor farnesoid X receptor is associated with decreased hepatic target gene expression. *Mol Endocrinol* 21:1769–1780.

Matsushima S, Maeda K, Kondo C, Hirano M, Sasaki M, Suzuki H, and Sugiyama Y (2005) Identification of the hepatic efflux transporters of organic anions using double-transfected Madin-Darby canine kidney II cells expressing human organic anion-transporting polypeptide 1B1 (OATP1B1)/multidrug resistance-associated protein 2, OATP1B1/multidrug resistance 1, and OATP1B1/breast cancer resistance protein. *J Pharmacol Exp Ther* 314:1059–1067.

Mattace-Raso F, van Popele NM, Schalekamp MA, van der Cammen TJ. Intima-media thickness of the common carotid arteries is related to coronary atherosclerosis and left ventricular hypertrophy in older adults. *Angiology.* 2002;53(5):569–574

McClure, D.L., Valuck, R.J., Glanz, M., Murphy, J.R. & Hokanson, J.E. Statin and statin-fibrate use was significantly associated with increased myositis risk in a managed care population. *J. Clin. Epidemiol.* **60**, 812–818 (2007).

Meador, B.M. & Huey, K.A. Statin-associated myopathy and its exacerbation with exercise. *Muscle Nerve* **42**, 469–479 (2010).

Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, Walker JR, Antman EM, Macias WL, Braunwald E, et al. (2009) Cytochrome P450 genetic polymorphisms and the response to prasugrel: relationship to pharmacokinetic, pharmacodynamic, and clinical outcomes. *Circulation* 119:2553–2560.

Mega JL, Morrow DA, Brown A, Cannon CP, Sabatine MS. Identification of genetic variants associated with response to statin therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:1310-1315.

Meier-Abt F, Mokrab Y, and Mizuguchi K (2005) Organic anion transporting polypeptides of the OATP/SLCO superfamily: identification of new members in non-mammalian species, comparative modeling and a potential transport mode. *J Membr Biol* 208:213–227.

Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med.* 1999;340:1801–1811.

Michalski C, Cui Y, Nies AT, Nuessler AK, Neuhaus P, Zanger UM *et al.* A naturally occurring mutation in the SLC21A6 gene causing impaired membrane localization of the hepatocyte uptake transporter. *J Biol Chem* 2002; **277**: 43058–43063.

Mitchell GF, Parise H, Vita JA, et al. Local shear stress and brachial artery flow-mediated dilation: the Framingham Heart Study. *Hypertension*. 2004;44:134–139.

Mundt KA, Chambless LE, Burnham CB, Heiss G. Measuring ankle Systolic blood pressure: validation of the Dinamap 1846 SX. *Angiology*. 1992;43:555–566.

Mwinyi J, John A, Bauer S, Roots I, Gerloff T. Evidence for inverse effects of OATP-C (SLC21A6) 5 and 1b haplotypes on pravastatin kinetics. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75: 415–421.

Naghavi M, Falk E, Hecht HS, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient—Part III: Executive summary of the Screening for Heart Attack Prevention and Education (SHAPE) Task Force report. *Am J Cardiol*. 2006;98(2A):2H–15H.

National Heart, Lung, and Blood Institute. Chartbook on Cardiovascular, Lung, and Blood Diseases. <http://www.nhlbi.nih.gov/resources/docs/cht-book.htm>. Accessed November 5, 2009

Neuvonen PJ, Niemi M, Backman JT. Drug interactions with lipidlowering drugs: mechanisms and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 80: 565–581.

Neuvonen, P.J., T. Kantola, and K.T. Kivisto, Simvastatin but not pravastatin is very susceptible to interaction with the CYP3A4 inhibitor itraconazole. *Clin Pharmacol Ther*, 1998. 63(3): p. 332-41.

Newman AB, Shemanski L, Manolio TA, et al. Ankle-arm index as a predictor of Cardiovascular disease and mortality in the Cardiovascular Health Study: The Cardiovascular Health Study Group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:538–545.

NHLBI Fact Book. Available online: <http://www.nhlbi.nih.gov/about/factpdf.htm> (accessed on 1 June 2012)].

Nicholls SJ, Ballantyne CM, Barter PJ, et al. Effect of two intensive statin regimens on progression of coronary disease. *N Engl J Med* 2011;365:2078–2087. [PubMed] [Google Scholar]

Nicoloff AD, Taylor LM Jr, Sexton GJ, et al. Homocysteine and Progression of Atherosclerosis Study Investigators. Relationship Between site of initial symptoms and subsequent progression of disease In a prospective study of atherosclerosis progression in patients Receiving long-term treatment for symptomatic peripheral arterial Disease. *J Vasc Surg*. 2002;35:38–46.

Niebauer J, Cooke JP. Cardiovascular effects of exercise: role of endothelial shear stress. *J Am Coll Cardiol*. 1996;28:1652–1660.

Niemi M (2007) Role of OATP transporters in the disposition of drugs. *Pharmacogenomics* 8:787–02.

Niemi M (2010) Transporter pharmacogenetics and statin toxicity. *Clin Pharmacol Ther* 87:130–133.

Niemi M, Backman JT, Kajosaari LI, Leathart JB, Neuvonen M, Daly AK, Eichelbaum M, Kivisto KT, and Neuvonen PJ (2005) Polymorphic organic anion transporting polypeptide 1B1 is a major determinant of repaglinide pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 77:468–478.

Niemi M, *Clin Pharmacol Ther*. 2010. Jan; 87 (1): 130-3

Niemi M, Pasanen MK, Neuvonen PJ (2006a). SLCO1B1 polymorphism and sex affect the pharmacokinetics of pravastatin but not fluvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 80: 356–366.

Niemi M, Schaeffeler E, Lang T, Fromm MF, Neuvonen M, Kyrklund C, Backman JT, Kerb R, Schwab M, Neuvonen PJ. High plasma pravastatin concentrations are associated with single nucleotide polymorphisms and haplotypes of organic anion transporting polypeptide-C (OATP-C, SLCO1B1). *Pharmacogenetics*. 2004; 14(7):429–440. [PubMed: 15226675]

Niemi M. Role of OATP transporters in the disposition of drugs. *Pharmacogenomics* 2007; 8: 787–802.

Niemi M., Pasanen M.K., Neuvonen P.J., 2011. Organic anion transporting polypeptide 1B1: a genetically polymorphic transporter of major importance for hepatic drug uptake. *Pharmacol Rev*. 63:157–181.

Niemi, M. *et al*. High plasma pravastatin concentrations are associated with single nucleotide polymorphisms and haplotypes of organic anion transporting polypeptide-C (OATP-C, SLCO1B1). *Pharmacogenetics* 14, 429–440 (2004).

Niemi, M. Transporter pharmacogenetics and statin toxicity. *Clin Pharmacol Ther*. 2010, 87, 130–133.

Niemi, M., Pasanen, M.K. & Neuvonen, P.J. Organic anion transporting polypeptide 1B1: a genetically polymorphic transporter of major importance for hepatic drug uptake. *Pharmacol. Rev*. 63, 157–181 (2011).

Nishiyama SK, Wray DW, Berkstresser K, Ramaswamy M, Richardson RS. Limb-specific differences in flow-mediated dilation: the role of shear rate. *J Appl Physiol*. 2007;103:843–851.

Nishizato Y, Ieiri I, Suzuki H, Kimura M, Kawabata K, Hirota T *et al*. Polymorphisms of OATP-C (SLC21A6) and OAT3 (SLC22A8) genes: consequences for pravastatin pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 73: 554–565.

Noe J, Portmann R, Brun ME, and Funk C (2007) Substrate-dependent drug-drug interactions between gemfibrozil, fluvastatin and other organic anion-transporting peptide (OATP) substrates on OATP1B1, OATP2B1, and OATP1B3. *Drug Metab Dispos* 35:1308–1314.

Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, *et al*. European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed

and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease. Consensus Statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J* 2013;34:3478–3490. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Nordestgaard BG, Zilversmit DB. Large lipoproteins are excluded from the arterial wall in diabetic cholesterol-fed rabbits. *J Lipid Res* 1988;29:1491–1500. [PubMed] [Google Scholar]

Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG; TASC II Working Group. Inter-society consensus for the management of peripheral arterial disease (TASC II). *J Vasc Surg*. 2007;45(suppl S):S5–S67.

O'Hare AM, Katz R, Shlipak MG, Cushman M, Newman AB. Mortality and cardiovascular risk across the ankle-arm index spectrum: results from the Cardiovascular Health Study. *Circulation*. 2006;113:388–393.

O'leary DH, Polak JF, Kronmal RA, et al. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999;340(1):14–22.

Ogilvie BW, Zhang D, Li W, Rodrigues AD, Gipson AE, Holsapple J, Toren P, and Parkinson A (2006) Glucuronidation converts gemfibrozil to a potent, metabolism-dependent inhibitor of CYP2C8: implications for drug-drug interactions. *Drug Metab Dispos* 34:191–197.

Olin B.R., 1998. Facts and comparisons. Philadelphia: JB Lippincott.

Osborn LA, Vernon SM, Reynolds B, Timm TC, Allen K. Screening for subclavian artery stenosis in patients who are candidates for coronary bypass surgery. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2002;56:162–165.

Oshiro, C.; Mangravite, L.; Klein, T.; Altman, R. Pharmacogenomics very important pharmacogene: *Slco1b1*. *Pharmacogenet. Genomics* 2010, 20, 211–216.

Oswald S, König J, Lutjohann D, Giessmann T, Kroemer HK, Rimbach C et al. (2008). Disposition of ezetimibe is influenced by polymorphisms of the hepatic uptake carrier OATP1B1. *Pharmacogenet Genomics* 18: 559–568.

Ouriel K, McDonnell AE, Metz CE, Zarins CK. Critical evaluation of stress testing in the diagnosis of peripheral vascular disease. *Surgery*. 1982;91:686–693.

Ovbiagele B. Association of ankle-brachial index level with stroke. *J Neurol Sci*. 2009;276:14–17.

Ozaki K, Kubo T, Imaki R, et al. The anti-atherosclerotic effects of lipid lowering with atorvastatin in patients with hypercholesterolemia. *J Atheroscler Thromb*. 2006;13(4):216–219.

Padilla J, Harris RA, Fly AD, Rink LD, Wallace JP. The effect of acute exercise on endothelial function following a high-fat meal. *Eur J Appl Physiol*. 2006;98:256–262.

Padilla J, Johnson BD, Newcomer SC, Wilhite DP, Mickleborough TD, Fly AD, Mather KJ, Wallace JP. Normalization of flow-mediated dilation to shear stress area under the curve eliminates the impact of variable hyperemic stimulus. *Cardiovasc Ultrasound*. 2008;6:44.

Papamichael CM, Aznaouridis KA, Karatzis EN, Karatzi KN, Stamatelopoulos KS, Vamvakou G, Lekakis JP, Mavrikakis ME. Effect of coffee on endothelial function in healthy subjects: the role of caffeine. *Clin Sci (Lond)*. 2005;109:55–60.

Pasanen MK, Backman JT, Neuvonen PJ, Niemi M. Frequencies of single nucleotide polymorphisms and haplotypes of organic anion transporting polypeptide 1B1 SLCO1B1 gene in a Finnish population. *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62: 409–415.

Pasanen MK, Fredrikson H, Neuvonen PJ, Niemi M. Different effects of SLCO1B1 polymorphism on the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 82: 726–733.

Pasanen MK, Neuvonen M, Neuvonen PJ, Niemi M. SLCO1B1 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of simvastatin acid. *Pharmacogenet Genomics* 2006; 16: 873–879.

Pasanen MK, Neuvonen PJ, Niemi M. Global analysis of genetic variation in SLCO1B1. *Pharmacogenomics* 2008; 9: 19–33.

Pasternak RC, Abrams J, Greenland P, et al. 34th Bethesda Conference: task force #1—identification of coronary heart disease risk: is there a detection gap? *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:1863–74.

Pearson TA, Laurora I, Chu H, Kafonek S. The lipid treatment assessment project (L-TAP): a multicenter survey to evaluate the percentages of dyslipidemic patients receiving lipid-lowering therapy and achieving low-density lipoprotein cholesterol goals. *Arch Intern Med* 2000; 160: 459–467.

Phillips KA, Veenstra DI, Oren E, Lee JK, Sadee W (2001) Potential role of Pharmacogenetics in reducing adverse drug reactions: a systemic review. *Journal of American Medical Association* 286 (18) 2270 – 9.

Phipps Green A, Hollis Moffa HJE, Dalbeth N, et al. (2010) A strong role for the ABCG2 gene in susceptibility to gout in New Zealand, Pacific island and Caucasian, but not Maori, case and control sample sets. *Human Molecular Genetics* 19 (24): 4813 – 4819

Pickering TG, Hall JE, Appel LJ, et al. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals, part 1: Blood pressure measurement in humans: a statement for professionals From the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. *Circulation*. 2005;111:697–716.

Pollak EW, Chavis P, Wolfman EF. The effect of postural changes upon the ankle arterial perfusion pressure. *Vasc Surg*. 1976;10:219 –222.

Prospective Studies Collaboration, Lewington S, Whitlock G, Clarke R, Sherliker P, Emberson J, Halsey J, Qizilbash N, Peto R, Collins R. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55,000 vascular deaths. *Lancet* 2007;370:1829–1839. [PubMed] [Google Scholar]

Puccetti, L., Ciani, F. & Auteri, A. Genetic involvement in statins induced myopathy. Preliminary data from an observational case-control study. *Atherosclerosis* 211, 28–29 (2010).

Purroy F, Coll B, Oro M, et al. Predictive value of ankle-brachial index in patients with acute ischaemic stroke. *Eur J Neurol*.2010;17:602– 606.

Pyke K, Green DJ, Weisbrod C, et al. Nitric oxide is not obligatory for radial artery flow mediated dilation following release of 5 or 10 min distal occlusion. *Am J Physiol*. 2010;298:H119–H126.

Pyke KE, Tschakovsky ME. Peak vs. total reactive hyperemia: which determines the magnitude of flow-mediated dilation? *J Appl Physiol*. 2007;102:1510–1519.

Pyke KE, Tschakovsky ME. The relationship between shear stress and flow-mediated dilatation: implications for the assessment of endothelial function. *J Physiol*. 2005;568:357–369.

Rabago Rodriguez R, Gomez-Diaz RA, Tanus Haj J. Carotid intima-media thickness in pediatric type 1 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2007;30(10):2599–2602

Radegran G, Saltin B. Nitric oxide in the regulation of vasomotor tone in human skeletal muscle. *Am J Physiol*. 1999;276:H1951–H1960.

Ramanathan A, Conaghan PJ, Jenkinson AD, Bishop CR. Comparison of ankle-brachial pressure index measurements using an automated oscillometric device with the standard Doppler ultrasound technique. *ANZ J Surg*. 2003;73:105–108.

Ramos R, Quesada M, Solanas P, et al. REGICOR Investigators. Prevalence of symptomatic and asymptomatic peripheral arterial disease and the value of the ankle-brachial index to stratify cardiovascular risk. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2009;38:305–311.

Ramsey, L.B. et al. Rare versus common variants in pharmacogenetics: SLCO1B1 variation and methotrexate disposition. *Genome Res*. 22, 1–8 (2012).

Rathz DA, K.M. Brown, L.A. Kramer, S.B. Liggett. Amino acid 49 polymorphisms of the human beta1-adrenergic receptor affect agonist-promoted trafficking. *J Cardiovasc Pharmacol*, 39 (2002), pp. 155–160

Ravnskov U, Diamond DM, Hama R, et al. Lack of an association or an inverse association between low-density-lipoprotein cholesterol and mortality in the elderly: a systematic review. *BMJ Open* 2016;6:e010401. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Resnick HE, Foster GL. Prevalence of elevated ankle-brachial index in The United States 1999 to 2002. *Am J Med*. 2005;118:676–679.

Resnick HE, Lindsay RS, mcdermott MM, Devereux RB, Jones KL, Fabsitz RR, Howard BV. Relationship of high and low ankle brachial index to all-cause and cardiovascular disease mortality: the Strong Heart Study. *Circulation*. 2004;109:733–739.

Rettie AE and Tai G (2006) The pharmacogenomics of warfarin: closing in on personalized medicine. *Mol Interv* 6:223–227.

Riccioni G. Statins and carotid intima-media thickness reduction: an up-to-date review. *Curr Med Chem*. 2009;16(14):1799–1805.

Riccioni G. The effect of antihypertensive drugs on carotid intima media thickness: an up-to-date review. *Curr Med Chem*. 2009;16(8): 988–996.

Richardson RS, Donato AJ, Uberoi A, Wray DW, Lawrenson L, Nishiyama S, Bailey DM. Exercise-induced brachial artery vasodilation: role of free radicals. *Am J Physiol*. 2007;292:H1516–H1522.

Rifqi, Sodiqur. Lipid dan Penyakit Jantung Koroner, Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia, 2009

Riset Kesehatan Dasar, Departemen Kesehatan RI, 2013.

Riset Kesehatan Dasar, Departemen Kesehatan RI, 2018.

Roden D.M., Stein C.M., 2009. Clopidogrel and the concept of high-risk pharmacokinetics. *Circulation*. 119:2127–2130.

Roden DM, Altman RB, Benowitz NL, Flockhart DA, Giacomini KM, Johnson JA, Krauss RM, McLeod HL, Ratain MJ, Relling MV, et al. (2006) Pharmacogenomics: challenges and opportunities. *Ann Intern Med* 145:749–757.

Romaine SPR, Bailey KM, Hall AS and Balmforth AJ. The Influence of SLCO1B1 (OATP1B1) gene polymorphisms on response to statin therapy. *The Pharmacogenomics Journal* (2010) 10, 1–11; doi:10.1038/tpj.2009.54; published online 3 November 2009

Ronaldson, K.J., O'Shea, J.M. & Boyd, I.W. Risk factors for rhabdomyolysis with simvastatin and atorvastatin. *Drug Saf*. 29, 1061–1067 (2006).

Rooke TW, Hirsch AT, Misra S, et al. ACCF/AHA focused Update of the guideline for the management of patients with peripheral Artery disease (updating the 2005 guideline): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2011;124:2020–2045.

Rosamond W, Flegal K, Friday G, Furie K, Go A, Greenlund K et al. Heart disease and stroke statistics—2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2007; 115: e69–e171.

Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340:115–126.

Rosvall M, Janzon L, Berglund G, et al. Incident coronary events and case fatality in relation to common carotid intima-media thickness. *J Intern Med.* 2005;257(5):430–437.

Rowan, C. et al. Rhabdomyolysis reports show interaction between simvastatin and CYP3A4 inhibitors. *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.* **18**, 301–309 (2009).

Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, et al. (2001) A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 409:928–933.

Sakurai T, Matsushita M, Nishikimi N, Nimura Y. Effect of walking distance on the change in ankle-brachial pressure index in patients with intermittent claudication. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1997;13:486–490.

Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation.* 1993;87(3 suppl):II56–II65.

Sankar P, Cho MK, Mountain J. 2007. Race and ethnicity in genetic research. *Am J Med Genet Part A* 143A:961–970.

Sanna S, Busonero F, Maschio A, McArdle PF, Usala G, Dei M, Lai S, Mulas A, Piras MG, Perseu L, et al. (2009) Common variants in the SLCO1B3 locus are associated with bilirubin levels and unconjugated hyperbilirubinemia. *Hum Mol Genet* 18:2711–2718.

Santoso, Anwar. Lipid dan Penyakit Jantung Koroner, Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia, 2009

Schmidt HH, Hill S, Makariou EV, Feuerstein IM, Dugi KA, Hoeg JM. Relationship of cholesterol-year score to severity of calcific atherosclerosis and tissue deposition in homozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 1996;77:575–580. [PubMed] [Google Scholar]

Schmitz G, Langmann T. Pharmacogenomics of cholesterol-lowering therapy. *Vascul.Pharmacol.*44(2),75–89 (2006).

Schneck, D.W. et al. The effect of gemfibrozil on the pharmacokinetics of rosuvastatin. *Clin. Pharmacol. Ther.* **75**, 455–463 (2004).

Schunkert H, König IR, Kathiresan S, et al., Large-scale association analysis identifies 13 new susceptibility loci for coronary artery disease. *Nat Genet* 2011;43:333-338. doi:10.1038/ng.784.

SEARCH Collaborative Group, Link E, Parish S, Armitage J, Bowman L, Heath S, Matsuda F, Gut I, Lathrop M, and Collins R (2008) SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy—a genomewide study. *N Engl J Med* 359:789–799.

Sessa WC. eNOS at a glance. *J Cell Sci.* 2004;117:2427–2429.

Sharma K, Blaha MJ, Blumenthal RS, Musunuru K. Clinical and research applications of carotid intima-media thickness. *Am J Cardiol.* 2009;103(9):1316–1320

Shimokawa H, Yasutake H, Fujii K, et al. The importance of the hyperpolarizing mechanism increases as the vessel size decreases in endothelium-dependent relaxations in rat mesenteric circulation. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1996;28:703–711.

Shitara Y, Hirano M, Sato H, Sugiyama Y. Gemfibrozil and its glucuronide inhibit the organic anion transporting polypeptide 2 (OATP2/OATP1B1:SLC21A6)-mediated hepatic uptake and CYP2C8-mediated metabolism of cerivastatin: analysis of the mechanism of the clinically relevant drug-drug interaction between cerivastatin and gemfibrozil. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 311: 228–236.

Shitara Y, Sugiyama Y. Pharmacokinetic and pharmacodynamic alterations of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors: drug-drug interactions and interindividual differences in transporter and metabolic enzyme functions. *Pharmacol Ther* 2006; 112: 71–105.

Shuldiner AR, J.R. O'Connell, K.P. Bliden, et al. Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy. *JAMA*, 302 (2009), pp. 849–857

Singel DJ, Stamler JS. Chemical physiology of blood flow regulation by red blood cells: the role of nitric oxide and S-nitrosohemoglobin. *Annu Rev Physiol.* 2005;67:99–145.

Skálén K, Gustafsson M, Rydberg EK, Hultén LM, Wiklund O, Innerarity TL, Borén J. Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. *Nature* 2002;417:750–754. [PubMed] [Google Scholar]

Smith FB, Lee AJ, Price JF, van Wijk MC, Fowkes FG. Changes in Ankle brachial index in symptomatic and asymptomatic subjects in the General population. *J Vasc Surg.* 2003;38:1323–1330.

Smith NF, Acharya MR, Desai N, Figg WD, and Sparreboom A (2005) Identification of OATP1B3 as a high-affinity hepatocellular transporter of paclitaxel. *Cancer Biol Ther* 4:815–818.

Smith SM, H.M. Judge, G. Peters, et al. PAR-1 genotype influences platelet aggregation and procoagulant responses in patients with coronary artery disease prior to and during clopidogrel therapy. *Platelets*, 16 (2005), pp. 340–345

Spence JD. Technology Insight: ultrasound measurement of carotid plaque—patient management, genetic research, and therapy evaluation. *Nat Clin Pract Neurol.* 2006;2(11):611–619

Staffa, J.A.; Chang, J.; Green, L. Cerivastatin and reports of fatal rhabdomyolysis. *N. Engl. J. Med.* 2002, 346, 539–540.

Stein JH, Douglas PS, Srinivasan SR, et al. Distribution and cross-sectional age-related increases of carotid artery intima-media thickness in young adults: the Bogalusa Heart Study. *Stroke*. 2004;35(12): 2782–2787.

Stein JH, Fraizer MC, Aeschlimann SE, Nelson-Worel J, McBride PE, Douglas PS. Vascular age: integrating carotid intima-media thickness measurements with global coronary risk assessment. *Clin Cardiol*. 2004;27(7):388–392.

Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, et al. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr*. 2008; 21(2), 93–111.

Steinberger J, Daniels SR, Eckel RH, et al. Progress and challenges in metabolic syndrome in children and adolescents: a scientific statement from the American Heart Association Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in the Young Committee of the Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular Nursing; and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. 2009;119(4):628–647.

Stoffers HE, Kester AD, Kaiser V, Rinkens PE, Kitslaar PJ, Knottnerus JA. The diagnostic value of the measurement of the ankle-brachial Systolic pressure index in primary health care. *J Clin Epidemiol*. 1996; 49:1401–1405.

Strinden ST, Stellwagen RH. Inhibition of guanylate cyclases by methylxanthines and papaverine. *Biochem Biophys Res Commun*. 1984;123: 1194–1200.

Study of the Effectiveness of Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteine (SEARCH) Collaborative Group

Su HM, Chang JM, Lin FH, Chen SC, Voon WC, Cheng KH, Wang CS, Lin TH, Lai WT, Sheu SH. Influence of different measurement timePoints on brachial-ankle denyt wave velocity and ankle-brachial index inHemodialysis patients. *Hypertens Res*. 2007;30:965–970.

SEARCH Collaborative Group. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy—a genomewide study. *N Engl J Med* 2008;359:789-799

Soerianata, Sunarya. Lipid dan Penyakit Jantung Koroner, Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia, 2009

Tabas I, Williams KJ, Borén J. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications. *Circulation* 2007;116:1832–1844. [PubMed] [Google Scholar]

Tachibana-Iimori R, Tabara Y, Kusuvara H, Kohara K, Kawamoto R, Nakura J et al. Effect of genetic polymorphism of OATP-C (SLCO1B1) on lipid-lowering response to HMG-CoA reductase inhibitors. *Drug Metab Pharmacokinet* 2004; 19: 375–380.



Takahashi O, Shimbo T, Rahman M, Musa R, Kurokawa W, Yoshinaka T, Fukui T. Validation of the auscultatory method for diagnosing peripheral Arterial disease. *Fam Pract.* 2006;23:10–14.

Tang, H., et al. Genetic structure, self-identified race/ethnicity, and confounding in case-control association studies. *American Journal of Human Genetics* 76, 268–275 (2005)

Tantisira KG, Lake S, Silverman ES, et al. Corticosteroid pharmacogenetics: association of sequence variants in CRHR1 with improved lung function in asthmatics treated with inhaled corticosteroids. *Hum Mol Genet.* 2004 Jul 1;13(13):1353-9.

Taylor AJ, Bindeman J, Feuerstein I, et al. Coronary calcium independently predicts incident premature coronary heart disease over measured cardiovascular risk factors: mean three-year outcomes in the Prospective Army Coronary Calcium (PACC) project. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46:807–14.

Taylor AJ, Lee HJ, Sullenberger LE. The effect of 24 months of combination statin and extended-release niacin on carotid intima-media thickness: ARBITER 3. *Curr Med Res Opin.* 2006;22(11):2243–2250.

Taylor AJ, Sullenberger LE, Lee HJ, Lee JK, Grace KA. Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol (ARBITER) 2: a double-blind, placebo-controlled study of extended-release niacin on atherosclerosis progression in secondary prevention patients treated with statins. *Circulation.* 2004;110(23):3512–3517

Taylor AJ, Villines TC, Stanek EJ. Extended-release niacin or ezetimibe and carotid intima-media thickness. *N Engl J Med.* 2009;361(22):2113–2122.

Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature* 2010;466:707–713. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, et al., *Nature* 2010;466:707-713. doi:10.1038/nature09270.

The CURRENT-OASIS 7 Investigators. Dose comparisons of clopidogrel and aspirin in acute coronary syndromes. *N Engl J Med*, 363 (2010), pp. 930–942

The SEARCH Collaborative Group, 2008. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy – a genome-wide study. *N Engl J Med.* 359:789–799.

The Society of Atherosclerosis Imaging and Prevention. Advocacy update. <http://www.sai.org/advocacy.cfm>. Accessed November 5, 2009

Thijssen DH, Bullens LM, van Bommel MM, et al. Does arterial shear explain the magnitude of flow-mediated dilation?: a comparison between young and older humans. *Am J Physiol.* 2009;296:H57–H64.

Thijssen DH, Dawson EA, Black MA, Hopman MT, Cable NT, Green DJ. Heterogeneity in conduit artery function in humans: impact of arterial size. *Am J Physiol.* 2008;295:H1927–H1934.

Thijssen DH, van Bemmel MM, Bullens LM, et al. The impact of baseline diameter on flow-mediated dilation differs in young and older humans. *Am J Physiol*. 2008;295:H1594–H1598.

Thompson J, Man M, Johnson K, Wood L, Lira M, Lloyd D, Banerjee P, Milos P, Myrand S, Paulauskis J. An association study of 43 SNPs in 16 candidate genes with atorvastatin response. *Pharmacogenomics J*. 2005; 5(6):352–358. [PubMed: 16103896]

Thompson JF, Hyde CL, Wood LS, Paciga SA, Hinds DA, Cox DR, Hovingh GK, Kastelein JJ. Comprehensive whole-genome and candidate gene analysis for response to statin therapy in the Treating to New Targets (TNT) cohort. *Circ Cardiovasc Genet* 2009;2:173-181. doi:10.1161/CIRCGENETICS.108.818062.

Thompson JF, Man M, Johnson KJ, Wood LS, Lira ME, Lloyd DB *et al*. An association study of 43 SNPs in 16 candidate genes with atorvastatin response. *Pharmacogenomics J* 2005; 5: 352–358.

Thompson, P.D., Clarkson, P. & Karas, R.H. Statin-associated myopathy. *JAMA* **289**, 1681–1690 (2003).

Tirona R.G., Leake B.F., Merino G. & Kim R.B., 2001. Polymorphisms in OATP-C: identification of multiple allelic variants associated with altered transport activity among European- and African-Americans. *J. Biol. Chem.* 276, 35669–35675.

Tirona RG, Leake BF, Merino G, and Kim RB (2001) Polymorphisms in OATP-C: identification of multiple allelic variants associated with altered transport activity among European- and African-Americans. *J Biol Chem* 276:35669–35675.

Tomlinson B, Hu M, Lee VW, Lui SS, Chu TT, Poon EW, Ko GT, Baum L, Tam LS, and Li EK (2010) ABCG2 polymorphism is associated with the low-density lipoprotein cholesterol response to rosuvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 87:558–562.

Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S., Mannheim intima-media thickness consensus. *Cerebrovasc Dis*. 2004;18(4):346–349

Tschakovsky ME, Pyke KE. Counterpoint: flow-mediated dilation does not reflect nitric oxide-mediated endothelial function. *J Appl Physiol*. 2005;99:1235–1237.

Tsimikas S, Willerson JT, Ridker PM. C-reactive protein and other Emerging blood biomarkers to optimize risk stratification of vulnerable Patients. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47(suppl):C19–C31.

Tzou WS, Douglas PS, Srinivasan SR, et al. Distribution and predictors of carotid intima-media thickness in young adults. *Prev Cardiol*. 2007;10(4):181–189.

Uehata A, Lieberman EH, Gerhard MD, Anderson TJ, Ganz P, Polak JF, Creager MA, Yeung AC. Noninvasive assessment of endothelium-dependent flow-mediated dilation of the brachial artery. *Vasc Med*. 1997; 2:87–92.

van de Steeg E. *et al.* Complete OATP1B1 and OATP1B3 deficiency causes human Rotor syndrome by interrupting conjugated bilirubin reuptake into the liver. *J Clin Invest.* (2012), *e-pub ahead of print* 9 January 2012.

van der Deure WM, Friesema EC, de Jong FJ, de Rijke YB, de Jong FH, Uitterlinden AG, Breteler MM, Peeters RP, and Visser TJ (2008) Organic anion transporter 1B1: an important factor in hepatic thyroid hormone and estrogen transport and metabolism. *Endocrinology* 149:4695–4701.

Van der Meer IM, Bots ML, Hofman A, del Sol AI, van der Kuip DA, Witteman JC. Predictive value of noninvasive measures of atherosclerosis for incident myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation.* 2004;109:1089 –1094.

Veldhuijzen van Zanten JJ, Kitas GD. Inflammation, carotid intima-media thickness and atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(1):102

Verma S, Buchanan MR, Anderson TJ. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease. *Circulation.* 2003;108:2054 –2059.

Vierron E, Halimi JM, Tichet J, Balkau B, Cogneau J, Giraudeau B; DESIR Study Group. Center effect on ankle-brachial index measurement when using the reference method (Doppler and manometer): Results from a large cohort study. *Am J Hypertens.* 2009;22:718 –722.

Voora D, C. Eby, M.W. Linder, *et al.* Prospective dosing of warfarin based on cytochrome P-450 2C9 genotype. *Thromb Haemost,* 93 (2005), pp. 700–705

Voora D, J. Horton, S.H. Shah, L.K. Shaw, L.K. Newby. Polymorphisms associated with in vitro aspirin resistance are not associated with clinical outcomes in patients with coronary artery disease who report regular aspirin use. *Am Heart J,* 162 (2011), pp. 166–172.e1

Voora D, Koboldt DC, King CR, *et al.* (2010) A polymorphism in the VKORC1 regulator calumenin predicts higher warfarin dose requirements in African Americans. *Clin Pharmacol Ther* 87:445–451.

Voora D, S.H. Shah, C.R. Reed, *et al.* Pharmacogenetic predictors of statin-mediated low-density lipoprotein cholesterol reduction and dose response. *Circ Cardiovasc Genet,* 1 (2008), pp. 100–106.

Voora D., Shah S.H., Spasojevic I., Ali S., Reed C.R., Salisbury B.A., Ginsburg G.S., 2009. The SLCO1B1*5 genetic variant is associated with statin-induced side effects. *J Am Coll Cardiol.* 54:1609–1616.

Wang D, Guo Y, Wrighton S, Cooke G, Sadee W. Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs. *Pharmacogenomics J.* 2011; 11(4):274–286. [PubMed: 20386561]

Wang L, Zhang D, Raghavan N, Yao M, Ma L, Frost CE, Frost CA, Maxwell BD, Chen SY, He K, *et al.* (2010) In vitro assessment of metabolic drug-drug interaction potential of apixaban through cytochrome P450 phenotyping, inhibition, and induction studies. *Drug Metab Dispos* 38:448–458.

Watanabe T, Kusuvara H, and Sugiyama Y (2010) Application of physiologically based pharmacokinetic modeling and clearance concept to drugs showing transporter-mediated distribution and clearance in humans. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 37:575–590.

Watters J.W., Kraja A., Meucci M.A., et al, 2004. Genome-wide discovery of loci influencing chemotherapy cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 101:11809 – 11814.)

Weatherley BD, Nelson JJ, Heiss G, Chambless LE, Sharrett AR, Nieto FJ, Folsom AR, Rosamond WD. The association of the ankle-brachial Index with incident coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study, 1987–2001. *BMC Cardiovasc Disord*. 2007;3.

Weaver YM and Hagenbuch B (2010) Several conserved positively charged amino acids in OATP1B1 are involved in binding or translocation of different substrates. *J Membr Biol* 236:279 –290.

Weber WW (1987) *The Acetylator Genes and Drug Response*, Oxford University

Wechsler M E and Israel E. (2005) How pharmacogenomics will play a role in the management of asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Medicine* 172(1): 12-18.

Weinshilboum R (2003a) Inheritance and drug response. *N Engl J Med* 348:529–37.

Weinshilboum RC, Francis S, Weinshilboum (2003) Inheritance in drug response. *New England Journal of medicine* 348 (6): 529 – 37

Whiteley MS, Fox AD, Horrocks M. Photoplethysmography can replace Hand-held Doppler in the measurement of ankle/brachial indices. *Ann R Coll Surg Engl*. 1998;80:96 –98.

Wilke R.A., Reif D.M., Moore J.H., 2005. Combinatorial pharmacogenetics. *Nat Rev Drug Discov*. 4:911–18.

Wilke, R.A. & Dolan, M.E. Genetics and variable drug response. *JAMA* **306**, 306–307 (2011).

Wilke, R.A. *et al*. Identifying genetic risk factors for serious adverse drug reactions: current progress and challenges. *Nat. Rev. Drug Discov*. **6**, 904–916 (2007).

Wilke, R.A., Reif, D.M. & Moore, J.H. Combinatorial pharmacogenetics. *Nat. Rev. Drug Discov*. **4**, 911–918 (2005).

Wilke, R.A.; Ramsey, L.B.; Johnson, S.G.; Maxwell, W.D.; McLeod, H.L.; Voora, D.; Krauss, R.M.; Roden, D.M.; Feng, Q.; Cooper-DeHoff, R.M.; et al. The clinical pharmacogenomics implementation consortium: Cpic guideline for slco1b1 and simvastatin-induced myopathy. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2012; **92**, 112–117

Wilkinson IB, maccallum H, Flint L, Cockcroft JR, Newby DE, WebbDJ. The influence of heart rate on augmentation index and centralArterial pressure in humans. *J Physiol*. 2000;525(pt 1):263–270.

William J. Canestaro, David G. Brooks, Donald Chaplin, Niteesh K. Choudhry, Elizabeth Lawler, Lori Martell, Troyen Brennan and E. Robert Wassman. Statin Pharmacogenomics: Opportunities to Improve Patient Outcomes and Healthcare Costs with Genetic Testing. *J. Pers. Med.* 2012, 2, 158-174; doi:10.3390/jpm2040158]

Williams DT, Harding KG, Price P. An evaluation of the efficacy of Methods used in screening for lower-limb arterial disease in diabetes. *Diabetes Care*. 2005;28:2206 –2210.

Winsor T. Influence of arterial disease on the systolic blood pressureGradients of the extremity. *Am J Med Sci*. 1950;220:117–126.

World Health Organization. World Health Report 2004: Changing History. Statistical annex Table 2: Deaths by cause, sex, and mortality stratum in WHO regions, estimates for 2002. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2004.

Wray DW, Uberoi A, Lawrenson L, Bailey DM, Richardson RS. Oral antioxidants and cardiovascular health in the exercise-trained and untrained elderly: a radically different outcome. *Clin Sci (Lond)*. 2009; 116:433– 441.

Wray DW, Uberoi A, Lawrenson L, Richardson RS. Evidence of preserved endothelial function and vascular plasticity with age. *Am J Physiol*. 2006;290:H1271–H1277.

Xiang X, Han Y, Neuvonen M, Pasanen MK, Kalliokoski A, Backman JT, Laitila J, Neuvonen PJ, and Niemi M (2009) Effect of SLCO1B1 polymorphism on the plasma concentrations of bile acids and bile acid synthesis marker in humans. *Pharmacogenet Genomics* 19:447– 457.

Yamaguchi H, Okada M, Akitaya S, Ohara H, Mikkaichi T, Ishikawa H, Sato M, Matsuura M, Saga T, Unno M, et al. (2006) Transport of fluorescent chenodeoxycholic acid via the human organic anion transporters OATP1B1 and OATP1B3. *J Lipid Res* 47:1196 –1202.

Yao ST, Hobbs JT, Irvine WT. Ankle systolic pressure measurements inArterial disease affecting the lower extremities. *Br J Surg*. 1969;56:676–679.

Yataco AR, Gardner AW. Acute reduction in ankle/brachial index followingSmoking in chronic smokers with peripheral arterial occlusiveDisease. *Angiology*. 1999;50:355–360.

Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanan F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L.; INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004;364:937–952. [PubMed] [Google Scholar]

Zhang W, He YJ, Han CT, Liu ZQ, Li Q, Fan L, Tan ZR, Zhang WX, Yu BN, Wang D, et al. (2006) Effect of SLCO1B1 genetic polymorphism on the pharmacokinetics of nateglinide. *Br J Clin Pharmacol* 62:567–572.

Zhang W, Yu BN, He YJ, Fan L, Li Q, Liu ZQ et al. Role of BCRP 421C4A polymorphism on rosuvastatin pharmacokinetics in healthy Chinese males. *Clin Chim Acta* 2006; 373: 99–103.

Zheng HX, Huang Y, Frassetto LA, and Benet LZ (2009) Elucidating rifampin's inducing and inhibiting effects on glyburide pharmacokinetics and blood glucose in healthy volunteers: unmasking the differential effects of enzyme induction and transporter inhibition for a drug and its primary metabolite. *Clin Pharmacol Ther* 85:78–85.

Zheng ZJ, Rosamond WD, Chambless LE, et al. Lower Extremity arterial disease assessed by ankle-brachial index in a Middle-aged population of African Americans and whites: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Prev Med.* 2005;29(suppl 1):42– 49.

Zheng ZJ, Sharrett AR, Chambless LE, Rosamond WD, Nieto FJ, Sheps DS, Dobs A, Evans GW, Heiss G. Associations of ankle-brachial index with clinical coronary heart disease, stroke and preclinical carotid and popliteal atherosclerosis: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Atherosclerosis.* 1997;131:115–125.

Zhou SF, Di YM, Chan E, Du YM, Chow VD, Xue CC, Lai X, Wang JC, Li CG, Tian M, Duan W. Clinical pharmacogenetics and potential application in personalized medicine. *Curr Drug Metab.* 2008 Oct;9(8):738-84.

Zineh I. HMG-CoA reductase inhibitor pharmacogenomics: overview and implications for practice. *Future Cardiol* 2005; 1: 191–206.