

# Faktor-Faktor Determinan dan Nilai Tambah Osteoprotegerin (OPG) dalam Mendeteksi Penebalan Tunika Intima-Media (TIM) Karotis pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2

## *Determinant Factors and Added Value of Osteoprotegerin (OPG) to Detect Carotid Intima-Media Thickness (CIMT) in Type 2 Diabetes Mellitus Patient*

Shirly Elisa Tedjasaputra<sup>1</sup>, Em Yunir<sup>2</sup>, Ika Prasetya Wijaya<sup>3</sup>, Siti Setiati<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/RS dr. Cipto Mangunkusumo, Jakarta

<sup>2</sup>Divisi Metabolik Endokrin, Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/RS dr. Cipto Mangunkusumo, Jakarta

<sup>3</sup>Divisi Kardiologi, Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/RS dr. Cipto Mangunkusumo, Jakarta

<sup>4</sup>Unit Epidemiologi Klinik, Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/RS dr. Cipto Mangunkusumo, Jakarta

### Korespondensi:

Em Yunir, Divisi Metabolik Endokrin, Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/RS dr. Cipto Mangunkusumo, Jln Diponegoro 71, Jakarta 10430, Indonesia. Email: dr\_yunir@yahoo.com

### ABSTRAK

**Pendahuluan.** Kalsifikasi vaskular yang ditandai dengan penebalan tunika intima-media (TIM) karotis pada pasien diabetes melitus (DM) tipe 2 merupakan faktor prediktor terhadap kejadian serebro-kardiovaskular. Osteoprotegerin (OPG) merupakan penanda disfungsi endotel yang dapat digunakan sebagai prediktor terhadap penebalan TIM karotis. Penggunaan ultrasonografi (USG) karotis untuk menilai ketebalan TIM karotis masih terbatas di Indonesia sehingga diperlukan metode diagnostik lain yang lebih *cost effective*. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan faktor-faktor determinan yang bermakna dan nilai tambah diagnostik pemeriksaan OPG dalam mendeteksi penebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2.

**Metode.** Studi potong lintang dilakukan di poliklinik Metabolik Endokrin dan poliklinik spesialis Ilmu Penyakit Dalam RS Cipto Mangunkusumo (RSCM) pada bulan April–Juni 2012 pada pasien DM tipe 2 tanpa komplikasi serebro-kardiovaskular, tanpa komplikasi penyakit ginjal kronik (PGK) stadium III–V dan tidak merokok. Pada penelitian ini dilakukan analisis bivariat dan multivariat pada variabel lama menderita DM, hipertensi, dislipidemia, HbA1c, dan OPG. Selanjutnya, ditentukan nilai tambah pemeriksaan OPG dalam mendeteksi penebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS versi 17.0.

**Hasil.** Dari 70 subjek penelitian, didapatkan jumlah subjek dengan peningkatan OPG dan penebalan TIM karotis adalah sebesar 45,7% dan 70%. Dari 49 subjek dengan penebalan TIM karotis, didapatkan 61,2% subjek dengan peningkatan OPG. Lama menderita DM (OR 26,9; IK 95% 2–365,6), hipertensi (OR 22; IK 95% 2,3–207,9), dislipidemia (OR 85,2; IK 95% 3,6–203,6) dan OPG (OR 12,9; IK 95% 1,4–117,3) berhubungan secara bermakna dengan penebalan TIM karotis. Pemeriksaan OPG mempunyai spesifisitas dan nilai duga positif tinggi (90,5% dan 84%). Nilai tambah diagnostik OPG hanya sebesar 2,3% dalam mendeteksi penebalan TIM karotis.

**Simpulan.** Faktor-faktor determinan yang bermakna untuk mendeteksi penebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2 adalah lama menderita DM, hipertensi, dislipidemia dan OPG. Nilai tambah diagnostik dari pemeriksaan OPG adalah sebesar 2,3% dalam mendeteksi penebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2.

**Kata Kunci:** Diabetes melitus (DM) tipe 2, Faktor determinan, Osteoprotegerin (OPG), Penebalan tunika intima-media (TIM) karotis

### ABSTRACT

**Introduction.** Vascular calcification measured by carotid intima-media thickness (CIMT) in type 2 diabetes mellitus (DM) patient is a predictor for cerebro-cardiovascular event. Osteoprotegerin (OPG) as a marker for endothelial dysfunction can be used as a predictor for increased CIMT. Applicability of carotid ultrasonography (USG) in Indonesia is still limited, therefore

other diagnostic method that is more cost effective is needed. This study aims to determine the significant determinant factors and the diagnostic added value of OPG to detect increased CIMT in type 2 DM patient.

**Methods.** Cross sectional study was conducted in Metabolic Endocrine and Internal Medicine outpatient clinic Cipto Mangunkusumo Hospital between April and June 2012 in type 2 DM patient without history of cerebro-cardiovascular event, without history of chronic kidney disease (CKD) stage III–V and without smoking. Bivariate analysis and multivariate analysis were performed to variables duration of DM, hypertension, dyslipidemia, HbA1c and OPG, followed by determining the diagnostic added value of OPG to detect increased CIMT in type 2 DM patient.

**Results.** From 70 subjects, there were 45,7% subject with increased OPG and 70% subject with increased CIMT. From 49 subject with increased CIMT, 61,2% subject had increased OPG. Duration of DM (OR 26,9; IK 95% 2–365,6), hypertension (OR 22; IK 95% 2,3–207,9), dyslipidemia (OR 85,2; IK 95% 3,6–203,6) and OPG (OR 12,9; IK 95% 1,4–117,3) were correlated significantly to increased CIMT. OPG measurement had high specificity and positive predictive value (90,5% and 84%). Diagnostic added value of OPG was only as 2,3% to detect increased CIMT in type 2 DM patient.

**Conclusions.** The significant determinant factors for detection of increased CIMT in type 2 DM patient were duration of DM, hypertension, dyslipidemia and OPG. The diagnostic added value of OPG was 2,3% to detect increased CIMT in type 2 DM patient.

**Keywords:** Determinant factors, Increased carotid intima-media thickness (CIMT), Osteoprotegerin (OPG), Type 2 diabetes mellitus (DM)

## PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskular merupakan salah satu komplikasi kronik diabetes melitus (DM) tipe 2. Komplikasi kronik tersebut didasarkan oleh berbagai macam faktor, antara lain kalsifikasi vaskular.<sup>1–3</sup> Beberapa penelitian yang dilakukan di Eropa menunjukkan bahwa prevalensi kalsifikasi vaskular yang ditandai dengan penebalan tunika intima-media (TIM) karotis pada pasien DM tipe 2 cukup tinggi, yaitu berkisar antara 37–70,5%.<sup>4–6</sup>

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk menentukan faktor-faktor determinan yang berhubungan secara bermakna dengan kalsifikasi vaskular pada pasien DM tipe 2. Beberapa studi melaporkan bahwa faktor-faktor determinan yang berhubungan dengan progresivitas kalsifikasi vaskular adalah diabetes melitus (DM), usia, hipertensi, kadar kolesterol LDL darah, kadar HbA1c, penggunaan statin, dislipidemia, indeks massa tubuh (IMT), dan kadar osteoprotegerin (OPG) darah.<sup>7–10</sup> Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, faktor-faktor determinan utama yang berhubungan secara bermakna dengan kalsifikasi vaskular adalah DM, hipertensi, dan dislipidemia.

Kalsifikasi vaskular pada DM tipe 2 dapat dinilai dengan pemeriksaan ultrasonografi (USG) karotis, yaitu dengan menilai ketebalan tunika intima-media (TIM) karotis. Aterosklerosis arteri karotis merupakan indikator proses aterosklerosis secara luas.<sup>6</sup> Pemeriksaan USG karotis mempunyai sensitivitas 93,4% dan spesifisitas 94% untuk menilai aterosklerosis koroner. Namun, hasil USG karotis sangat tergantung pada operator, memerlukan biaya yang mahal dan waktu yang lama, alat tidak selalu tersedia, dan belum dilakukan secara rutin.<sup>11</sup> Dengan adanya keterbatasan tersebut, maka diperlukan metode

diagnostik lain yang bersifat non invasif, mudah dilakukan, murah, serta mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang baik.

Beberapa biomarker spesifik yang dapat digunakan sebagai prediktor kalsifikasi vaskular, antara lain OPG, *receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand* (RANKL), dan *tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand* (TRAIL).<sup>12</sup> Osteoprotegerin (OPG) merupakan molekul yang dihasilkan di dalam berbagai jaringan, termasuk pembuluh darah dan tulang, yang berfungsi sebagai reseptor untuk *ligand of receptor activator of NF- $\kappa$ B* (RANK). Aksis OPG/RANKL/TRAIL mempunyai peranan penting pada modulasi osteogenik dari pembuluh darah pada DM.<sup>13</sup> Adanya peningkatan kadar OPG yang bersirkulasi menunjukkan adanya kerusakan pada dinding arteri, misalnya pada DM dan penyakit lainnya dimana terdapat kalsifikasi vaskular.<sup>13</sup> Osteoprotegerin (OPG) dapat dideteksi pada bagian sklerosis Monckeberg yang mengalami kalsifikasi dan arteri yang mengalami aterosklerosis yang ditandai dengan pembentukan plak.<sup>14</sup>

Saat ini, telah dilakukan beberapa penelitian terhadap peranan OPG untuk mendeteksi terjadinya kalsifikasi vaskular. Berbagai penelitian klinis menunjukkan bahwa peningkatan kadar OPG darah berhubungan secara bermakna dengan terjadinya kalsifikasi vaskular yang ditandai dengan penebalan TIM karotis, penyakit arteri koroner, stroke, dan penyakit kardiovaskular lainnya. Hal tersebut menunjukkan bahwa OPG berpotensi menjadi biomarker terjadinya kalsifikasi vaskular.<sup>15</sup>

Penelitian diagnostik mengenai nilai tambah OPG dalam mendeteksi penebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2 belum pernah dilakukan. Melalui penelitian ini, diharapkan pemeriksaan kadar OPG darah dapat menjadi

pemeriksaan skrining awal dalam mendeteksi penebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian *cross-sectional* berbasis penelitian diagnostik. Penelitian dilakukan di poliklinik metabolik endokrin dan poliklinik spesialis Ilmu Penyakit Dalam RSUPN Cipto Mangunkusumo (RSCM) pada bulan April–Juni 2012. Subjek penelitian adalah pasien DM tipe 2 yang kontrol ke poliklinik Metabolik Endokrin dan poliklinik spesialis Ilmu Penyakit Dalam RSCM. Subjek dipilih dengan cara *consecutive sampling* dengan kriteria inklusi yaitu pasien yang sudah didiagnosis DM tipe 2 dan bersedia turut serta dalam penelitian. Sementara itu, kriteria eksklusi subjek yaitu: 1) pasien dengan penyakit jantung koroner; 2) memiliki riwayat stroke; 3) pasien dengan penyakit ginjal kronik stadium III–V; 4) memiliki riwayat merokok atau perokok aktif; 5) pasien dengan infeksi akut; 6) pasien gagal ginjal; dan 7) terdapat kondisi lokal di leher yang menyulitkan pemeriksaan USG karotis, misalnya massa, ulkus, fiksasi servikal atau subjek tidak dapat berbaring.

Pada subjek yang memenuhi kriteria penelitian dilakukan pemeriksaan yang meliputi anamnesis lengkap, pemeriksaan fisik, pengisian kuesioner dan konfirmasi dengan status rekam medik, pengambilan sampel darah, pemeriksaan EKG, dan pemeriksaan USG. Pemeriksaan fisik yang dilakukan meliputi pemeriksaan tekanan darah, berat badan, tinggi badan, dan indeks massa tubuh (IMT). Pengambilan sampel darah hanya dilakukan apabila tidak terdapat data laboratorium pada status rekam medik atau data yang tersedia lebih dari tiga bulan. Pemeriksaan darah meliputi kadar profil lipid, HbA1c, kreatinin, dan kadar OPG darah. Sementara itu, pemeriksaan USG karotis dilakukan untuk menilai ketebalan TIM karotis.

Pengolahan data penelitian dilakukan secara elektronik menggunakan perangkat SPSS versi 17.0 untuk mendapatkan tabel frekuensi dan tabel silang sesuai dengan tujuan penelitian. Perhitungan nilai rerata hitung dan sebaran baku dilakukan untuk data yang bersifat kuantitatif dan dihitung rentang nilainya menurut batas 95% batas kepercayaan (*confidence interval*). Pengujian kemaknaan statistik dilakukan sesuai dengan karakteristik data dan tujuan penelitian. Untuk pengujian statistik hubungan antara dua variabel kualitatif dikotom dilakukan dengan uji Chi-square berdasarkan batas kemaknaan ( $\alpha$ ) sebesar 5% dalam pengambilan kesimpulan kemaknaan statistik. Kemampuan diagnostik lima faktor risiko (lama DM, hipertensi, dislipidemia, kadar HbA1c, dan kadar OPG) dinilai dengan menentukan *area under the curve*

(AUC) dan interval kepercayaan 95%. Kemampuan prediksi lima faktor risiko tersebut ditentukan dengan AUC dari nilai *predicted probability* terhadap penebalan TIM karotis yang didapat dari analisis multivariat regresi logistik. Kemampuan prediksi dianggap baik bila  $AUC > 0,8$  dan batas bawah interval kepercayaan 95% melebihi angka 0,5.

Penelitian ini telah mendapatkan Surat Lolos Kaji Etik dari Panitia Tetap Etik Penelitian Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia nomor 112/PT02.FK/ETIK/2012.

## HASIL

Jumlah subjek yang ikut serta dalam penelitian ini adalah sebanyak 70 orang. Karakteristik demografis dan klinis subjek penelitian dapat dilihat pada Tabel 1. Pengukuran ketebalan TIM karotis dilakukan oleh dua orang operator (IPW dan RYS) yang telah mempunyai sertifikasi kompetensi pemeriksaan USG karotis. Untuk menghindari bias intra-observer dan memastikan realibilitas pengukuran, maka dilakukan pengukuran acak terhadap 70 subjek penelitian pada waktu berbeda dan didapatkan nilai kappa=1 (baik).

Pemeriksaan USG karotis dilakukan pada sisi proksimal, mid, dan distal. Masing-masing dinilai dari sisi anterior, oblik, dan lateral untuk mengukur ketebalan TIM pada arteri karotis komunis kanan/*right communis carotid artery* (RCCA), arteri karotis komunis kiri/*left communis carotid artery* (LCCA), bulbus karotis kanan/*right bulb carotis*, dan bulbus karotis kiri/*left bulb carotis*. Nilai ketebalan rerata TIM arteri karotis komunis dan bulbus karotis ditentukan berdasarkan hasil perhitungan rerata hasil pengukuran.

Pada perhitungan nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif, dan nilai duga negatif pemeriksaan OPG menggunakan tabel 2x2, didapatkan nilai masing-masing yaitu 61,2%, 90,5%, 84%, dan 50% secara berturut-turut. Sementara itu, analisis bivariat yang dilanjutkan dengan multivariat dilakukan untuk menentukan faktor-faktor determinan yang berhubungan dengan penebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2. Hasil analisis disajikan pada Tabel 2 dan 3.

Kualitas diskriminasi tanpa variabel OPG dinilai melalui analisis ROC (*receiver operating characteristic*) dan didapatkan nilai AUC (*area under the curve*) sebesar 0,937 (IK 95% 0,866–1,008) (Gambar 1). Sementara itu, kualitas diskriminasi dengan variabel OPG yang dinilai melalui analisis ROC menunjukkan nilai AUC sebesar 0,960 (IK 95% 0,911–1,009) (Gambar 2).

## DISKUSI

### Karakteristik Subjek Penelitian

Pada penelitian ini, subjek didominasi oleh kelompok perempuan yaitu sebanyak 38 orang (54,3%). Rerata umur subjek adalah 56,8 tahun (Simpang Baku [SB] 9 tahun) dengan kelompok umur terbanyak yaitu kelompok umur 51–60 tahun (38,6%).

**Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian**

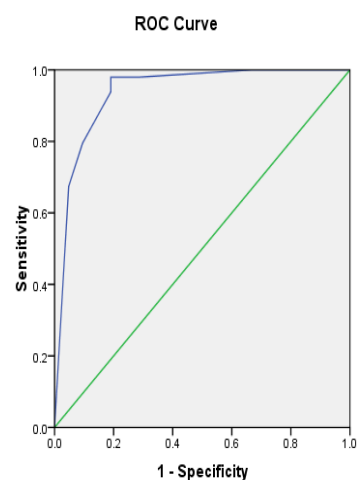
Karakteristik	
Jenis kelamin Perempuan, n (%)	38 (54,3)
Umur (tahun), rerata (simpang baku [SB])	56,8 (9)
obese I (Indeks massa tubuh=25–29,9 )	31 (44,3)
Terapi	
Insulin	23 (32,9)
Obat hipoglikemik oral (OHO)	
Biguanid	21 (30)
Sulfonilurea	4 (5,7)
Acarbose	3 (4,3)
Biguanid + Sulfonilurea	25 (35,7)
Biguanid + Acarbose	4 (5,7)
Sulfonilurea + Acarbose	5 (7,1)
Biguanid + Sulfonilurea + Acarbose	2 (2,9)
Obat anti hipertensi	
Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor	16 (22,9)
Angiotensin receptor blocker (ARB)	14 (20)
Calcium channel blocker (CCB)	6 (8,6)
Beta blocker	1 (1,4)
ACE inhibitor + CCB	2 (2,9)
ARB + CCB	2 (2,9)
Statin	45 (64,3)
Anti platelet	27 (38,6)
Lama menderita DM $\geq 5$ tahun	49 (70)
Hipertensi	52 (74,3)
Dislipidemia	18 (74,3)
Kadar HbA1c $\geq 7\%$	42 (60)
Ketebalan tunika intima-media (TIM) karotis (mm), median (rentang)	
TIM right communis carotid artery	0,77 (0,10 – 1,12)
TIM right bulb carotis	0,93 (0,54 – 2,83)
TIM right communis carotid artery	0,75 (0,44 – 1,32)
TIM left bult carotis	0,96 (0,44 – 3)
Tunika intima-media karotis	
Mennebal dengan plak	32 (45,7)
Tidak mennebal dengan plak	10 (14,3)
Mennebal dan kadar Osteoprotegerin meningkat	30 (42,9)
Tidak mennebal dan kadar Osteoprotegerin meningkat	2 (2,9)

**Tabel 2. Hasil analisis bivariat faktor-faktor determinan penebalan TIM Karotis pada pasien DM tipe 2**

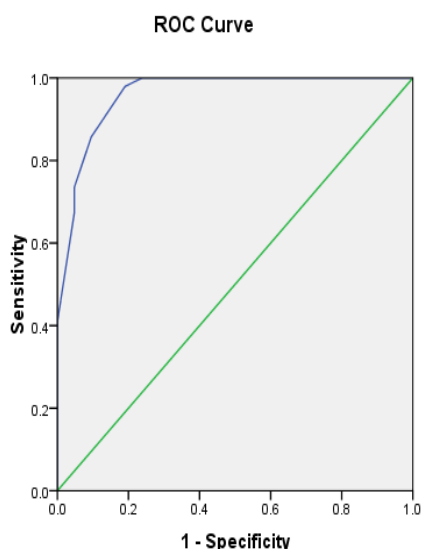
Variabel	USG TIM Karotis		p
	Menebal n (%)	Tidak menebal n (%)	
Lama menderita DM			
≥5 tahun	42 (85,7)	7 (33,3)	<0,001
<5 tahun	7 (14,3)	14 (66,7)	
Hipertensi			
Ya	46 (93,9)	6 (28,6)	<0,001
Tidak	3 (6,1)	15 (71,4)	
Dislipidemia			
Ya	42 (85,7)	10 (47,6)	0,001
Tidak	7 (14,3)	11 (52,4)	
Kadar HbA1c			
HbA1c ≥7%	34 (69,4)	8 (38,1)	0,014
HbA1c <7%	15 (30,6)	13 (61,9)	
Kadar OPG			
Meningkat	30 (61,2)	2 (9,5)	<0,001
Tidak meningkat	19 (38,8)	19 (90,5)	

**Tabel 3. Hasil analisis multivariate faktor-faktor determinan penebalan TIM Karotis pada pasien DM tipe 2**

Variabel	OR (IK 95%)	P
Tanpa Variabel OPG		
Lama menderita DM	23,6 (2,2–251,5)	0,009
Hipertensi	29,6 (4–221,5)	0,001
Dislipidemia	39,1 (3,3–468,8)	0,004
Dengan variabel OPG		
Lama menderita DM	26,9 (2–365,6)	0,013
Hipertensi	22 (2,3–207,9)	0,007
Dislipidemia	85,2 (3,6–203,6)	0,006
Kadar OPG	12,9 (1,4–117,3)	0,023



**Gambar 1. Kurva ROC model analisis tanpa variabel OPG**



Gambar 2. Kurva ROC model analisis dengan variabel OPG

Pada pemeriksaan indeks massa tubuh (IMT), sebagian besar subjek mempunyai IMT antara 25–29,9 (obesitas I), yaitu sebanyak 31 orang (44,3%) dan hanya 20 orang (28,6%) subjek penelitian yang mempunyai IMT antara 18,5–22,9 (berat badan normal). Prevalensi obesitas yang didapatkan pada penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Mulya<sup>16</sup> pada pasien DM tipe 2 di poliklinik Ilmu Penyakit Dalam RSCM pada bulan November–Desember 2007. Pada penelitian tersebut, didapatkan jumlah subjek dengan IMT  $\geq 25$  adalah sebanyak 45%. Obesitas telah diketahui berhubungan dengan resistensi insulin dan peningkatan risiko komplikasi kardiovaskular pada pasien DM tipe 2.

Terapi obat hipoglikemik oral (OHO) yang terbanyak digunakan oleh subjek penelitian adalah kombinasi biguanid dengan sulfonilurea, yaitu sebanyak 25 orang (35,7%), sedangkan jumlah subjek yang menggunakan biguanid adalah sebanyak 21 orang (30%) (Tabel 1). Obat OHO golongan biguanid merupakan obat pilihan pertama pada tata laksana DM tipe 2 bila tidak didapatkan kontraindikasi. Obat golongan biguanid bekerja dengan menghambat glukoneogenesis hati dan meningkatkan sensitivitas reseptor insulin. Pada beberapa penelitian, metformin menunjukkan manfaat terhadap kardiovaskular. Metformin mempunyai efek antitrombotik dan memodulasi pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) sehingga dapat mengurangi progresivitas penebalan TIM karotis. Apabila pasien DM tipe 2 tidak dapat mencapai kontrol glikemik, sebaiknya diberikan obat tambahan, antara lain sulfonilurea yang bekerja dengan menstimulasi sekresi insulin oleh sel beta pankreas. Sulfonilurea sering

digunakan sebagai terapi kombinasi karena mempunyai kemampuan untuk meningkatkan atau mempertahankan sekresi insulin.<sup>1,17</sup>

Sebagian besar subjek penelitian menggunakan obat anti hipertensi golongan *angiotensin converting enzyme* (ACE) *inhibitor*, yaitu sebanyak 16 orang (22,9%). Obat anti hipertensi golongan ACE *inhibitor* merupakan pilihan terapi pada pasien hipertensi dengan diabetes melitus karena bersifat kardioprotektif dan renoprotektif. *Angiotensin converting enzyme* (ACE) *inhibitor* juga dapat mengurangi risiko terjadinya infark miokard, stroke, kematian akibat penyakit kardiovaskular, mortalitas, dan nefropati yang berat. Pada penelitian Zheng, dkk.<sup>18</sup> didapatkan hasil bahwa terapi anti hipertensi dapat mengurangi progresivitas penebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2. Penelitian Hosomi, dkk.<sup>19</sup> menunjukkan bahwa ACE *inhibitor* dapat mengurangi penebalan TIM karotis sebanyak 0,01 mm/tahun (SB 0,004 mm/tahun) dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Sebagian besar subjek penelitian (64,3%) mendapatkan terapi statin. Jumlah tersebut lebih rendah dibandingkan dengan jumlah subjek yang menderita dislipidemia, yaitu sebanyak 52 orang (74,3%). Penelitian *Stop Atherosclerosis in Native Diabetics Study* (SANDS) melaporkan bahwa penggunaan statin menunjukkan pengurangan penebalan TIM karotis pada kelompok dengan target kolesterol agresif ( $\leq 1,8$  mmol/L) dibandingkan dengan kelompok dengan target kolesterol standar ( $\leq 2,6$  mmol/L).<sup>20</sup> *Adult Treatment Panel-III* (ATP-III) merekomendasikan target kadar LDL pada pasien DM tipe 2 tanpa komplikasi serebro-kardiovaskular adalah  $<100$  mg/dl.<sup>21</sup>

Penggunaan obat anti platelet hanya didapatkan pada 27 subjek (38,6%). Pada penelitian Kodama, dkk.<sup>22</sup> didapatkan bahwa penggunaan obat anti platelet dapat mengurangi progresivitas penebalan TIM karotis sebanyak 50% (0,033 mm/tahun) dibandingkan dengan kelompok kontrol. Obat anti platelet untuk pencegahan komplikasi serebro-kardiovaskular pada pasien DM tipe 2 sebaiknya digunakan secara rutin karena DM merupakan suatu keadaan protrombotik, ditandai dengan peningkatan fibrinogen dan aktivasi NF- $\kappa$ B yang menginduksi sintesis PAI-I dan koagulopati yang merupakan faktor risiko penyakit serebro-kardiovaskular.<sup>22</sup>

Pada pengukuran kadar OPG, didapatkan nilai median 6 pmol/L (rentang 1,58–28,7 pmol/L). Pada penelitian ini, didapatkan jumlah subjek tanpa peningkatan OPG dan dengan peningkatan OPG sebanyak 38 orang (54,3%) dan 32 orang (45,7%). Pada penelitian Anand, dkk.<sup>7</sup> terhadap 510 subjek pasien DM tipe 2 tanpa komplikasi didapatkan



nilai median kadar OPG adalah 6,82 pmol/L (rentang 4,68–11,55 pmol/L), sedikit lebih tinggi dengan nilai median kadar OPG pada penelitian ini. Sedangkan, pada penelitian Avignon, dkk.<sup>23</sup> didapatkan rerata kadar OPG lebih tinggi pada pasien DM tipe 2 dengan kalsifikasi vaskular dibandingkan dengan pasien DM tipe 2 tanpa kalsifikasi vaskular (13 pmol/L (SB 3,9 pmol/L) vs. 10,4 pmol/L (SB 5,9 pmol/L);  $p=0,01$ ). Pada penelitian tersebut didapatkan jumlah subjek dengan peningkatan OPG yaitu sebanyak 70%, lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian ini.

Pada pemeriksaan USG karotis bilateral didapatkan jumlah subjek dengan pennebalan TIM karotis adalah sebanyak 49 orang (70%). Hasil pemeriksaan USG karotis tersebut menunjukkan bahwa prevalensi pennebalan TIM karotis cukup tinggi pada pasien DM tipe 2 tanpa komplikasi serebro-kardiovaskular dan PGK stadium III–V, serta bukan perokok. Prevalensi tersebut tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Lavranos, dkk.<sup>6</sup> yang mendapati prevalensi pennebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2 sebanyak 70,5%. Sedangkan, penelitian yang dilakukan oleh Anand, dkk.<sup>13</sup> mendapati prevalensi kalsifikasi vaskular pada pasien DM tipe 2 yang lebih rendah, yaitu sebesar 46,3%.

Hasil pengukuran ketebalan TIM karotis menunjukkan bahwa nilai median ketebalan TIM RCCA, TIM *right bulb carotis*, TIM LCCA, TIM *left bulb carotis* masing-masing adalah 0,77 mm, 0,93 mm, 0,75 mm, dan 0,96 mm (Tabel 1). Nilai tersebut lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian oleh Mulya.<sup>16</sup> Pada penelitian tersebut dinilai rerata ketebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2 tanpa menilai komplikasi kronik dan didapatkan nilai median TIM RCCA, LCCA adalah 0,95 mm (0,40–2,57) dan 0,93 mm (0,520–3,82 mm), namun tidak dilakukan penilaian plak aterosklerosis. Hasil yang lebih tinggi pada penelitian tersebut dapat disebabkan karena subjek yang diikutsertakan adalah pasien DM tipe 2 yang belum mengalami komplikasi kronik. Pada pasien DM tipe 2 dengan komplikasi, kalsifikasi vaskular terjadi lebih luas dan risiko terhadap kejadian kardiovaskular menjadi lebih tinggi.<sup>24,25</sup>

Pada penelitian yang dilakukan oleh Hansa, dkk.<sup>26</sup> di New Delhi didapatkan hasil bahwa ketebalan TIM karotis maksimal lebih besar pada kelompok yang menderita CAD dibandingkan dengan kelompok kontrol (1,02 vs. 0,8 mm). Sedangkan, rerata ketebalan TIM karotis lebih besar pada kelompok yang menderita CAD dibandingkan dengan kelompok kontrol (0,82 vs 0,67 mm).<sup>26</sup> Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian *Atherosclerosis Risk in Communities* (ARIC) yang menunjukkan bahwa TIM karotis didapatkan lebih tinggi secara bermakna pada

pasien dengan faktor-faktor risiko penyakit kardiovaskular dibandingkan dengan kontrol normal. Pada penelitian ARIC didapatkan bahwa pennebalan TIM karotis 0,19 mm akan meningkatkan risiko kardiovaskular sebesar 36% dan pennebalan tiap 0,1 mm akan meningkatkan risiko infark miokard sebesar 11%.<sup>27</sup> Penelitian Brohall, dkk.<sup>28</sup> dan Lee, dkk.<sup>29</sup> juga menunjukkan bahwa ketebalan TIM karotis meningkat pada subjek dengan DM tipe 2 dibandingkan dengan subjek sehat.

## Faktor-Faktor Determinan Penebalan TIM karotis

### Lama Menderita DM

Pada penelitian ini, sebanyak 70% subjek mempunyai riwayat lama menderita DM selama  $\geq 5$  tahun. Pada analisis multivariat, variabel lama menderita DM mempunyai kemaknaan secara statistik dalam mendeteksi pennebalan TIM karotis (OR 26,9; IK 95% 2–365,6;  $p=0,013$ ). Penelitian yang dilakukan oleh Lonn, dkk.<sup>30</sup> mendapatkan hasil bahwa terdapat progresivitas linear pennebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2, yaitu sebesar 0,02 mm/tahun. Dengan demikian, dalam 5 tahun akan terdapat peningkatan ketebalan TIM karotis sekitar 0,1 mm yang akan meningkatkan risiko komplikasi serebro-kardiovaskular dan meningkatkan mortalitas.

### Hipertensi

Sebanyak 74,3% subjek penelitian menderita hipertensi. Pada analisis multivariat, variabel hipertensi mempunyai kemaknaan secara statistik dalam mendeteksi pennebalan TIM karotis (OR 22; IK 95% 2,3–207,9;  $p=0,007$ ). Namun, pada penelitian ini tidak dilakukan analisis terhadap variabel lama menderita hipertensi dan keterkontrolan hipertensi.

Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian *Atherosclerosis Risk in Communities* (ARIC) dan penelitian Rotterdam yang menunjukkan bahwa hipertensi merupakan faktor determinan pennebalan TIM karotis.<sup>31</sup> Hipertensi merupakan salah satu faktor determinan utama terjadinya kalsifikasi vaskular yang ditandai dengan pennebalan TIM karotis pada DM tipe 2. Hipertensi menyebabkan aktivasi endotel vaskular yang ditandai dengan peningkatan kadar molekul-molekul adesi dan gangguan availabilitas *nitric oxide* (NO) sehingga menyebabkan terjadinya disfungsi endotel.<sup>32</sup>

### Dislipidemia

Pada penelitian ini sebanyak 74,3% subjek menderita dislipidemia. Pada analisis multivariat, variabel dislipidemia mempunyai kemaknaan secara statistik

dalam mendeteksi penebalan TIM karotis (OR 85,2; IK 95% 3,6–203,6;  $p=0,006$ ). Namun, pada penelitian ini tidak dilakukan analisis terhadap variabel lama menderita dislipidemia dan keterkontrolan dislipidemia.

Diabetes melitus (DM) tipe 2 ditandai dengan peningkatan lipoprotein yang banyak mengandung triasilgliserol (kilomikron dan partikel-partikel LDL) yang dapat meningkatkan stres oksidatif dan mengganggu fungsi endotel secara langsung dan tidak langsung dengan meningkatkan produksi partikel-partikel *small-dense* LDL dan mengurangi HDL. Selain itu, lipid inflamasi seperti LDL teroksidasi (LDL-ox) dan isoprostaglandin E2 akan meningkatkan ekspresi marka osteoblastik, alkali fosfatase dan mineralisasi.<sup>33</sup> Perubahan-perubahan tersebut berperan terhadap terjadinya kalsifikasi vaskular pada DM tipe 2 yang ditandai dengan penebalan TIM karotis.<sup>32</sup>

#### HbA1c

Sebanyak 60% subjek penelitian mempunyai kadar HbA1c  $\geq 7\%$ . Pada analisis multivariat, variabel HbA1c tidak mempunyai kemaknaan secara statistik dalam mendeteksi penebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2. Hasil analisis statistik yang tidak bermakna tersebut kemungkinan besar disebabkan kadar HbA1c hanya mencerminkan kendali glukosa darah jangka waktu tiga bulan terakhir (jangka pendek).

Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Viswanathan, dkk.<sup>34</sup> terhadap 273 subjek DM tipe 2 dengan hasil penelitian bahwa HbA1c tidak mempunyai hubungan yang bermakna terhadap penebalan TIM karotis.<sup>34</sup> Namun hasil yang berbeda didapatkan pada penelitian Anand, dkk.<sup>35</sup> terhadap 510 subjek pasien DM tipe 2 tanpa komplikasi. Pada penelitian Anand, dkk.<sup>35</sup> didapatkan hasil bahwa peningkatan kadar HbA1c ( $\text{HbA1c} > 7$ ) merupakan faktor prediktor independen terhadap kalsifikasi vaskular pada pasien DM tipe 2 (OR 1,84; IK 95% 1,09–3,13;  $p=0,02$ ).

Liu, dkk.<sup>45</sup> melakukan penelitian mengenai hubungan antara ketebalan TIM karotis dan indeks kekakuan karotis kuantitatif (*quantitative carotid stiffness/QCS*) dengan HbA1c dan lama menderita DM terhadap 337 subjek pasien DM tipe 2. Pada penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa ketebalan TIM karotis yang merupakan ukuran struktural dinding arteri berhubungan dengan lama menderita DM, sedangkan QCS yang merupakan indeks fungsional berhubungan dengan pengontrolan kadar glukosa darah (HbA1c).<sup>36</sup>

#### Osteoprotegerin (OPG)

Pada penelitian ini, sebanyak 54,3% subjek

mempunyai kadar OPG normal, sedangkan sisanya meningkat. Sementara jumlah subjek dengan peningkatan kadar OPG dan penebalan TIM karotis adalah sebanyak 42,9%. Pada analisis multivariat, variabel OPG mempunyai kemaknaan secara statistik dalam mendeteksi penebalan TIM karotis (OR 12,9; IK 95% 1,4–117,3;  $p=0,023$ ). Penambahan nilai prediksi OPG dalam mendeteksi penebalan TIM karotis hanya sebesar 2,3%.

Adanya peningkatan kadar OPG yang bersirkulasi menunjukkan adanya kerusakan pada dinding arteri, misalnya pada DM dan penyakit lainnya dimana terdapat kalsifikasi vaskular.<sup>37,38</sup> Penelitian-penelitian klinis menunjukkan bahwa peningkatan kadar OPG serum berhubungan dengan kalsifikasi vaskular yang ditandai dengan penebalan TIM karotis, penyakit arteri koroner, stroke, dan penyakit kardiovaskular lainnya. Hal tersebut menunjukkan bahwa OPG berpotensi menjadi biomarker terjadinya kalsifikasi vaskular.<sup>14</sup>

#### Sensitivitas, Spesifisitas, dan Nilai Duga Pemeriksaan OPG

Pada pemeriksaan OPG didapatkan nilai spesifisitas dan nilai duga positif yang tinggi, yaitu sebesar 90,5% dan 84%, namun menunjukkan nilai sensitivitas dan nilai duga negatif yang rendah, yaitu sebesar 61,2% dan 50%. Nilai spesifisitas pemeriksaan OPG pada penelitian ini tidak jauh berbeda dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Anand, dkk.<sup>7</sup> terhadap 510 subjek pasien DM tipe 2 tanpa komplikasi. Pada penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa pemeriksaan OPG mempunyai sensitivitas 74% dan spesifisitas 91%. Adanya perbedaan sensitivitas pemeriksaan OPG pada kedua penelitian tersebut dapat disebabkan oleh penggunaan reagen yang berbeda dan jumlah sampel yang berbeda.<sup>7</sup>

#### Nilai Tambah OPG dalam Mendeteksi Penebalan TIM Karotis

Pada model analisis tanpa OPG didapatkan nilai AUC sebesar 0,937 (IK 95% 0,866–1,008). Penambahan pemeriksaan OPG meningkatkan kemampuan diskriminasi dengan nilai AUC sebesar 0,960 (IK 95% 0,911–1,009). Perhitungan AUC merupakan salah satu sisi kurva Gauss dan merupakan kombinasi atau tawar-menawar dari pengukuran sensitivitas dan spesifisitas. Nilai AUC berkisar antara 0–1 dan semakin mendekati nilai 1 maka semakin baik interpretasinya.

Pada penelitian ini, penambahan nilai prediksi OPG dalam mendeteksi penebalan TIM karotis hanya sebesar 2,3%. Pada penilaian *cost-effectiveness*, variabel-variabel prediktor yang digunakan untuk mendeteksi penebalan

Tabel 4. Perbandingan antarmodel analisis

Model	Variabel	Kalibrasi (Uji Hosmer Lemeshow)	Diskriminasi AUC (IK 95%)	Aplikasi klinis
Model 1	1. Lama menderita DM 2. Hipertensi 3. Dislipidemia	Baik (p > 0,05)	Kuat AUC = 0,937 (0,866 – 1,008)	Mampu laksana
Model 2	1. Lama menderita DM 2. Hipertensi 3. Dislipidemia 4. Osteoprotegerin (OPG)	Baik (p > 0,05)	Kuat AUC = 0,960 (0,911 – 1,009)	Mampu laksana bila tersedia fasilitas pemeriksaan OPG

TIM karotis pada pasien DM tipe 2 adalah lama menderita DM, hipertensi, dan dislipidemia.

#### Kelebihan dan Keterbatasan Penelitian

Kelebihan penelitian ini adalah merupakan suatu penelitian diagnostik untuk menentukan faktor-faktor determinan yang bermakna untuk mendeteksi penebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2 tanpa komplikasi serebro-kardiovaskular, tanpa komplikasi PGK stadium III-V, dan tidak merokok. Dengan demikian, terapi agresif dapat diberikan sejak dini. Pada penelitian ini juga ditentukan sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif dan nilai duga negatif, serta nilai tambah diagnostik pemeriksaan OPG dalam mendeteksi penebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2. Penelitian diagnostik yang bertujuan untuk menentukan nilai tambah diagnostik pemeriksaan OPG belum pernah dilakukan sebelumnya.

Keterbatasan penelitian ini adalah jumlah subjek penelitian lebih sedikit dibandingkan dengan perhitungan besar sampel sehingga hasil penelitian yang didapatkan harus diinterpretasikan dengan hati-hati. Selain itu, variabel lama menderita DM sulit ditentukan secara tepat dan penelitian ini hanya menilai lima faktor determinan dalam mendeteksi penebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2. Beberapa faktor determinan lain yang berhubungan dengan penebalan TIM karotis tidak diikutsertakan dalam penilaian, antara lain lama menderita hipertensi, lama menderita dislipidemia, kadar asam urat, CRP/hs-CRP, homosistein, dan kadar eNO (*endothelin nitrit oxide*) karena adanya keterbatasan fasilitas penelitian. Keterbatasan lainnya dari penelitian ini adalah sampel yang diambil hanya terbatas pada pasien DM tipe 2 tanpa komplikasi serebro-kardiovaskular, tanpa komplikasi PGK stadium III–V dan tidak merokok, sehingga hasil penelitian ini tidak dapat digeneralisasikan pada semua pasien DM tipe 2 secara umum. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai faktor-faktor determinan penebalan TIM karotis lainnya pada pasien DM tipe 2, sehingga hasil penelitian dapat digeneralisasikan pada populasi DM tipe 2 secara umum.

#### SIMPULAN

Faktor-faktor determinan yang bermakna untuk mendeteksi penebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2 adalah lama menderita DM, hipertensi, dislipidemia, dan osteoprotegerin (OPG). Pemeriksaan OPG mempunyai sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif, dan nilai duga negatif dalam mendeteksi penebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2 secara berturut-turut sebesar 61,2%, 90,5%, 84%, dan 50%. Sementara itu, nilai tambah diagnostik dari pemeriksaan OPG terhadap faktor determinan lama menderita DM, hipertensi, dislipidemia adalah sebesar 2,3% dalam mendeteksi penebalan TIM karotis pada pasien DM tipe 2.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Powers AC. *Diabetes mellitus*. In : Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 17<sup>th</sup> ed. New York: McGraw Hill. Med Pub Div; 2008. p.2275-304.
2. Eeg-Olofsson K, Cederholm J, Nilsson PM, Zethelius B, Nunez L, Gudbjörnsdóttir S, et al. Risk of cardiovascular disease and mortality in overweight and obese patients with type 2 diabetes: an observational study in 13.087 patients. *Diabetologia*. 2009;52(1):65-73.
3. Ishimura E, Okuno S, Taniwaki H, Kizu A, Tsuchida T, Shioi A, et al. Different risk factors for vascular calcification in end-stage renal disease between diabetics and nondiabetics : The respective importance of glycemic and phosphate control. *Kidney Blood Press Res*. 2008;31(1):10-5.
4. Anand DV, Lim E, Hopkins D, Corder R, Shaw LJ, Sharp P, et al. Risk stratification in uncomplicated type 2 diabetes : prospective evaluation of the combined use of coronary calcium imaging and selective myocardial perfusion scintigraphy. *Eur Heart J*. 2006;27(6):713-21.
5. Maffei E, Seitun S, Nieman, Martini C, Cuaricci AI, Tedeschi C, et al. Assessment of coronary artery disease and calcified coronary plaque burden by computed tomography in patients with and without diabetes mellitus. *Eur Radiol*. 2011;21(5):944-53.
6. Lavranos G, Stylianou A, Hatzizianni A, Christodoulides T, Savva I, Olymbios G. Association of carotid intima media thickness with the presence of nephropathy in patients with Diabetes Mellitus Type 2. *Diabetologie und Stoffwechsel*. 2011;6:137.
7. Anand DV, Lahiri A, Lim E, Hopkins D, Corder R. The relationship between plasma osteoprotegerin levels and coronary artery calcification in uncomplicated type 2 diabetic subjects. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47(9):1850-7.
8. Fried LP, Borhani NO, Enright P, Furberg CD, Gardin JM, Kronmal RA, et al. The Cardiovascular Health Study : design and rationale. *Ann Epidemiol*. 1991;1(3):263-76.
9. 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):459-67.
10. Lorenz MW, Kegler SV, Steinmetz H, Markus HS, Sitzer M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range : Prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke*. 2006;37(1):87-92.
11. Bots ML, Grobbee DE. Intima media thickness as a surrogate marker for generalized atherosclerosis. *Cardiovas Drugs Ther*. 2002;16(4):341-51.
12. Bellasi A, Raggi P. Techniques and technologies to assess vascular calcification. *Semin Dial*. 2007;20(2):129-33.
13. Mesquita M, Demulder A, Damry N, Melot C, Wittersheim E, Willems D, et al. Plasma osteoprotegerin is an independent risk factor for mortality and an early biomarker of coronary vascular calcification in chronic kidney disease. *Clin Chem Lab Med*. 2009;47(3):339-46.
14. Schoppet M, Al-Fakhri N, Franke FE, Katz N, Barth PJ, Maisch B, et al. Localization of osteoprotegerin, tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, and receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand in Monckeberg's sclerosis and atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(8):4104-12.
15. Campenhout AV, Golledge J. Osteoprotegerin, vascular calcification and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2009;204(2):321-9.
16. Mulya E. Gambaran ketebalan tunika intima media arteri karotis penyandang DM tipe 2 di Departemen Ilmu Penyakit Dalam RSCM [Tesis]. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI; 2007.
17. Onge EL, Motycka CA, Miller SA. A review of cardiovascular risks associated with medications used to treat type 2 diabetes mellitus. *Pharmacy and Therapeutics*. 2009;34(7):368-78.
18. Zheng L, Hodis HN, Buchanan TA, Li Y, Mack WJ. Effect of antihypertensive therapy on progression of carotid intima-media thickness in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol*. 2007;99(7):956-60.
19. Hosomi N, Mizushige K, Ohyama H, Takahashi T, Kitadai M, Hatanaka Y, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition with enalapril slows progressive intima-media thickening of the common carotid artery in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Stroke*. 2001;32(7):1539-45.
20. Fleg JL, Mete M, Howard BV, Umans JG, Roman MJ, Ratner RE, et al. Effect of statins alone versus statins plus ezetimibe on carotid atherosclerosis in type 2 diabetes : the SANDS (Stop Atherosclerosis in Native Diabetics Study) trial. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(25):2198-205.
21. Hayden MR, Tyagi SC. Isolated low high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) : implications of global risk reduction. Case report and systemic scientific review. *Cardiovasc Diabetol*. 2005;4(1):1-9.
22. Singh DK, Winocour P, Farrington K. Endothelial cell dysfunction, medial arterial calcification and osteoprotegerin in diabetes. *Br J Diabetes Vasc Dis*. 2010;10(2):71-7.
23. Avignon A, Sultan A, Piot C, Elaerts S, Cristol JP, Dupuy AM. Osteoprotegerin is associated with silent coronary artery disease in high risk but asymptomatic type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2005;28(9):2176-80.
24. Howard G, Sharrett AR, Heis G, Evans GW, Chambless LE, Riley WA, et al. Carotid artery intimal-media thickness distribution in general population as evaluated by B-mode ultrasound. *Stroke*. 1993;24(9):1297-304.
25. Wagenknecht LE, Bowden DW, Carr JJ, Langefeld CD, Freedman BI, Rich SS. Familial aggregation of coronary artery calcium in families with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2001;50(4):861-6.
26. Hansa G, Bhargava K, Bansal M, Tandon S, Kasliwal RR. Carotid intima-media thickness and coronary artery disease : an Indian Perspective. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*. 2003;11(3):217-21.
27. Heiss G, Sharrett AR, Barnes R, Chambless LE, Szklo M, Alzola C. Carotid atherosclerosis measured by B-mode ultrasound in populations association with cardiovascular risk factor in the ARIC study. *Am J Epidemiol*. 1997;134(3):250-6.
28. Brohall G, Oden A, Fagerberg B. Carotid artery intima-media thickness in patients with Type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance: a systematic review. *Diabet Med*. 2006;23(6):609-16.
29. Lee CD, Folsom AR, Pankow JS, Brancati FL. Cardiovascular events in diabetic and nondiabetic adults with or without history of myocardial infarction. *Circulation*. 2004;109(7):855-60.
30. Lonn E, Yusuf S, Dzavik V, Doris C, Yi Q, Smith S, et al. Effects of ramipril and vitamin E on atherosclerosis : The study to evaluate carotid ultrasound changes in patients treated with ramipril and vitamin E (SECURE). *Circulation*. 2001;103(7):919-25.
31. Chambless LE, Folsom AR, Davis V, Sharrett R, Heiss G, Sorlie P, et al. Risk factors for progression of common carotid atherosclerosis: the Atherosclerosis Risk in Communities Study, 1987-1998. *Am J Epidemiol*. 2002;155(1):38-47.
32. Schalkwijk CG, Stehouwer CAD. Vascular complications in diabetes mellitus : the role of endothelial dysfunction. *Clin Sci (Lond)*. 2005;109(2):143-59.
33. Hayden MR, Tyagi SC. Isolated low high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) : implications of global risk reduction. Case report and systemic scientific review. *Cardiovasc Diabetol*. 2005;4(1):1-9.
34. Viswanathan V, Snehalatha C, Mohan RS, Nair BM, Ramachandran A. Increased carotid intimal media thickness precedes albuminuria in South Indian type 2 diabetic subjects. *Br J Diabet Vasc Dis*. 2003;3:146-9.
35. Anand DV, Lim E, Darko D, Bassett P, Hopkins D, Lipkin D, et al. Determinants of Progression of coronary artery calcification in type 2 diabetes : Role of Glycemic Control and Inflammatory/Vascular Calcification Markers. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(23):2218-25.
36. Liu YP, Zhan WW, Zhang YF, Chen YH, Lin YY, Zhu Y, et al. Carotid intima-media thickness and stiffness in relation to type 2 diabetes in Chinese. *Endocr*. 2007;31(3):289-93.
37. Nybo M, Rasmussen LM. The capability of plasma osteoprotegerin as a predictor of cardiovascular disease: a systematic literature review. *Eur J Endocrinol*. 2008;159(5):603-8.
38. Olesen P, Ledet T & Rasmussen LM. Arterial osteoprotegerin : increased amounts in diabetes and modifiable synthesis from vascular smooth muscle cells by insulin and TNF- $\alpha$ . *Diabetologia*. 2005;48(3):561-8.