

Hubungan status asetilasi dengan terjadinya neuropati otonom: Kajian kasus neuropati diabetika

Samekto Wibowo*, Abdulcholiq Chuseri**, Soedjono Aswin***, dan Budiono Santoso****
Bagian Ilmu Penyakit Saraf*, Bagian Ilmu Faal**, Bagian Ilmu Anatomi, Embriologi dan Antropologi***, dan Bagian Farmakologi Klinik****
Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada
Yogyakarta

ABSTRACT

Samekto Wibowo, Abdulcholiq Chuseri, Soedjono Aswin, dan Budiono Santoso - *The association of acetylation status with the occurrence of autonomic neuropathy: Diabetic neuropathy cases study*

Background: Acetylation is a type of drug metabolism pathway. People can be divided into two groups: rapid acetylators, i.e. those who will acetylate drugs (chemical substances) rapidly, and slow acetylators, i.e. those who will acetylate drugs (chemical substances) slowly. Many studies reported that slow acetylator become more susceptible to certain diseases compared to rapid acetylators. Neuropathy might occur in diabetes mellitus, with the following symptoms mononeuropathy, symmetrical peripheral polyneuropathy and/or autonomic neuropathy.

Objective: To study the association between acetylation status with the occurrence of autonomic neuropathy on diabetic neuropathy cases.

Methods: An analytical descriptive study involving 140 patients of diabetic neuropathy was conducted at Sardjito Central General Hospital, Yogyakarta, Indonesia.

Results: Schellong Test confirmed a definite sympatic neuropathy in 11 (7,9%) patients. The examination of acetylation status revealed that 68% of patients were rapid acetylators, and 32% patients were slow acetylators. Among the patients with autonomic neuropathy, it was found that 64% were slowly acetylators, whereas only 36% were rapid acetylators. Among the patients without autonomic neuropathy, 30,5% were slowly acetylators, whereas 69,5% were rapid acetylators: this distribution frequency was similar to the normal population.

Conclusion: Slow acetylation status had significant association ($p < 0,05$) with the occurrence of autonomic neuropathy.

Key words: acetylation status - autonomic neuropathy - diabetic neuropathy - sympatic neuropathy - Schellong Test

ABSTRAK

Samekto Wibowo, Abdulcholiq Chuseri, Soedjono Aswin, dan Budiono Santoso - *Hubungan status asetilasi dengan terjadinya neuropati otonom : Kajian kasus neuropati diabetika*

Latar belakang: Asetilasi merupakan salah satu tipe lintasan metabolisme obat. Populasi dapat dibagi dalam dua kelompok: asetilator cepat, yakni mereka yang mampu mengasetilasi obat (bahan kimia) dengan cepat, dan asetilator lambat, yakni mereka yang mengasetilasi obat (bahan kimia) dengan lambat. Banyak studi melaporkan bahwa asetilator lambat lebih mudah menderita penyakit tertentu dibanding dengan asetilator cepat. Neuropati dapat terjadi pada diabetes mellitus yang manifestasinya dapat berupa mononeuropati, polineuropati perifer simetris dan/atau neuropati otonom.

Tujuan: untuk mengungkapkan hubungan antara status asetilasi dengan terjadinya neuropati otonom pada kasus neuropati diabetika.

Bahan dan cara: Suatu studi deskriptif analitik yang melibatkan 140 pasien neuropati diabetika telah dilakukan di RSUP Dr. Sardjito, Yogyakarta. Tes Schellong digunakan untuk memastikan adanya neuropati simpatis pada 11 (7,9%) pasien. Pemeriksaan status asetilasi menunjukkan bahwa 68% pasien merupakan asetilator cepat, dan 32% pasien merupakan asetilator lambat. Di antara pasien yang menderita neuropati otonom, ditemukan

asetilator lambat sejumlah 64%, sedangkan asetilator cepatnya hanya 36%. Di antara pasien tanpa neuropati otonom, 30,5% merupakan asetilator lambat, sedangkan 69,5% merupakan asetilator cepat: frekuensi distribusi ini menyerupai pada populasi normal.

Simpulan: status asetilasi lambat mempunyai hubungan bermakna ($p < 0,05$) dengan terjadinya neuropati otonom.

(B.I.Ked. Vol. 31, No. 2:99-104, Juni 1999)

PENGANTAR

Neuropati diabetika terdiri atas tiga bentuk, yakni: mononeuropati, polineuropati perifer simetris dan neuropati otonom¹. Manifestasi neuropati otonom diabetika bermacam-macam sesuai dengan distribusi saraf otonom. Menurut jenisnya, neuropati otonom dapat simpatis dan/atau parasimpatis. Untuk pemeriksaan atau tes diagnostik, paling banyak digunakan uji sistem kardiovaskular. Hipotensi postural merupakan salah satu kelainan yang sering dijumpai. Uji neuropati simpatis dengan pemeriksaan adanya hipotensi postural dikenal dengan tes Schellong². Salah satu penyebab timbulnya komplikasi neuropati diabetika, menurut Thomas³ adalah faktor metabolik. Kemampuan memetabolisasi suatu senyawa atau obat dapat berbeda antara subjek yang satu dengan yang lain, misalnya disebabkan oleh perbedaan jumlah enzim. Salah satu contoh yang dapat menunjukkan hal tersebut ialah kemampuan melakukan asetilasi dalam proses biotransformasi obat.

Asetilasi merupakan salah satu cara metabolisme obat. Kemampuan tubuh untuk mengolah senyawa kimia atau obat tersebut merupakan suatu fenomena farmakodinamik dan farmakokinetik yang dipengaruhi oleh faktor genetik⁴. Evans⁵ menyatakan bahwa sejumlah *minor gene* mengendalikan kemampuan asetilasi seseorang. Selanjutnya diketahui bahwa ternyata kecepatan asetilasi berbeda antara kelompok-kelompok bangsa. Proporsi asetilator cepat pada orang Jepang lebih besar daripada kelompok orang Kaukasoid. Pada orang Negro dan Kaukasoid alel lambat hampir tiga kali lebih sering dijumpai daripada alel cepat. Insidensi asetilator lambat mempunyai tendensi naik di antara orang-orang Oriental dari daerah Utara ke daerah Selatan. Ras Kaukasoid umumnya bersifat asetilator lambat. Frekuensi asetilator lambat lebih banyak di Mesir, Saudi Arabia, dan Marokko (yakni lebih dari

70%). Sebaliknya pada populasi oriental jumlah asetilator lambat jelas rendah (biasanya kurang dari 25%). Frekuensi asetilator lambat pada orang Jepang adalah 7 persen, dan di daratan Cina 13 persen⁶. Pada populasi Jawa, Santoso⁷ mendapatkan asetilator lambat sejumlah 32,8%. Orang yang mampu mengasetilasi obat dengan cepat disebut asetilator cepat dan yang mempunyai kemampuan asetilasi obat dengan lambat disebut asetilator lambat. Salah satu enzim yang berperan dalam proses tersebut ialah N-asetil-transferase. Jumlah N-asetiltransferase dalam hati merupakan faktor penentu dalam menetapkan status asetilasi tiap individu.

Tujuan penelitian ini ialah untuk mengungkap hubungan status asetilasi dengan terjadinya neuropati otonom diabetika. Dengan diketahui adanya hubungan tersebut, hal ini dapat dipakai untuk mengidentifikasi individu penderita diabetes mellitus atau neuropati diabetika yang mempunyai kecenderungan menderita neuropati otonom, sehingga penanganan penderita akan lebih cermat.

BAHAN DAN CARA

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Pemeriksaan dilakukan terhadap penderita diabetes mellitus yang dirawat di RSUP Dr. Sardjito, Yogyakarta. Penelitian dilakukan di Laboratorium Neurofisiologi Klinis SMF Penyakit Saraf RSUP Dr. Sardjito dan Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Subjek adalah penderita neuropati diabetika dari kedua jenis kelamin, usia dewasa. Kausa diabetes mellitus tidak dipersoalkan. Kriteria inklusi ialah: (1) kasus neuropati diabetika (polineuropati perifer simetris), diabetes mellitus (DM) tipe II. Diagnosis neuropati memenuhi kriteria WHO 1985: klinis dan laboratoris (ENMG), (2) bersedia menjadi subjek penelitian (dengan *informed consent*). Kriteria eksklusi: (1) menderita gangguan fungsi ginjal (termasuk pemeriksaan kadar

ureum dan kreatinin), (2) menderita gangguan fungsi hati (pemeriksaan SGOT, SGPT, gamma-GT, bilirubin, bilirubin direk/indirek, albumin/globulin), (3) peminum alkohol.

Untuk pemeriksaan status asetilasi diperlukan sulfadimidin (sebagai bahan obat uji) dan natrium hidroksida. Pemeriksaan status asetilasi menggunakan spektrofotometer. Sampel urin diambil dua kali, sebelum percobaan dan jam ke 5-6 setelah pemberian sulfadimidin. Urin sampel diambil sejumlah 5 cc, disimpan dalam tabung steril, dalam almari pendingin pada suhu -20°C. Persentase asetilasi adalah sebagai berikut.

$$\frac{\text{konsentrasi total} - \text{konsentrasi bebas}}{\text{konsentrasi total}} \times 100\%$$

atau:

$$\frac{\text{absorban total} - \text{absorban bebas}}{\text{absorban total}} \times 100\%$$

Subjek disebut asetilator cepat bila persentase asetilasi lebih dari 80 persen, dan disebut asetilator lambat apabila persentase asetilasi kurang dari 80 persen⁸. Pemeriksaan adanya neuropati otonom memakai tes Schellong, yakni mengidentifikasi adanya hipotensi postural. Tes Schellong ini merupakan uji adanya neuropati otonom simpatis. Diukur perubahan tekanan darah dari posisi berbaring ke posisi berdiri. Pada waktu itu darah akan terkumpul di tungkai dan kaki, yang dalam waktu singkat akan dikoreksi dengan kombinasi efek vasokonstriksi perifer, *splanchnicus*, dan takhikardia. Pengukuran tekanan darah dilakukan pada waktu pasien berbaring dan kemudian satu menit setelah berdiri. Perbedaan tekanan sistolik 10 mm Hg atau kurang dianggap normal, 11-29 mm Hg meragukan (*borderline*) dan 30 mm Hg atau lebih dianggap abnormal, yakni terdapat neuropati otonom simpatis.

Untuk mengetahui adanya hubungan antara status asetilasi dengan terjadinya neuropati otonom digunakan tes *Chi square*.

HASIL

Penelitian ini melibatkan 140 subjek neuropati diabetika, yakni 72 perempuan dan 68

laki-laki. Umur subjek berkisar antara 16 sampai 83 tahun dengan rerata ± SD: 54,1 ± 10,82 tahun. Umur subjek (rerata ± SD) yang menderita neuropati otonom adalah 58,27 ± 8,45 tahun, subjek tanpa neuropati otonom 53,28 ± 10,99 tahun.

Uji neuropati otonom simpatis menunjukkan bahwa subjek yang positif neuropati otonom sejumlah 11 orang (7,9%), sedangkan yang meragukan 23 kasus (16,4%). Pada subjek perempuan, positif neuropati otonom sejumlah 3 kasus (4,2%), dan meragukan 13 kasus (18,1%). Pada subjek laki-laki, positif neuropati otonom 8 kasus (11,8%), sedangkan yang meragukan 10 kasus (14,7%).

TABEL 1. - Hubungan antara status asetilasi dengan terjadinya neuropati otonom

Neuropati otonom	asetilator lambat (%)	asetilator cepat (%)
positif	63,6	36,4
negatif	30,5	69,5

Keterangan : $p < 0,05$. OR: 3,99. 95% CI: 1,10-14,43

Pada kelompok dengan neuropati otonom positif, terdapat asetilator lambat sejumlah 7 subyek (63,6%) dan asetilator cepat 4 subyek (36,4%). Pada kelompok tanpa neuropati otonom, terdapat asetilator lambat sejumlah 39 subyek (30,5%) dan asetilator cepat 89 subyek (69,5 persen) (lihat TABEL 1). Dengan tes *Chi square*, perbedaan tersebut bermakna ($p < 0,05$). Untuk perhitungan berkaitan dengan status asetilasi ini, satu subjek etnis Cina tidak dimasukkan. *Odds Ratio* (OR): 3,99. (95% CI: 1,10-14,43) Risiko terjadinya neuropati otonom (simpatis) pada kelompok asetilator lambat adalah 3,99 kali lebih besar dibandingkan dengan kelompok asetilator cepat. Tentang unsur jenis kelamin dalam kelompok subjek, nampak hal-hal sebagai berikut: pada kelompok dengan neuropati otonom, terdapat 3 wanita (27,3%), yakni 1 asetilator lambat dan 2 asetilator cepat, serta 8 laki-laki (72,7%): 6 asetilator lambat dan 2 asetilator cepat. Pada kelompok tanpa neuropati otonom, terdapat 69 wanita (53,9%), yakni 20 orang asetilator lambat dan 49 orang asetilator cepat, serta 59 laki-laki (46,1%), yakni 19 orang asetilator lambat dan 40 orang asetilator cepat. Dengan tes *chi square*, tidak terdapat perbedaan bermakna ($p > 0,05$).

PEMBAHASAN

Berdasarkan terdapatnya dua bagian fungsional saraf otonom, maka kelainan atau neuropati otonom dapat dilihat dari dua aspek, yakni: (1) neuropati simpatis, dan (2) neuropati parasimpatis. Sejumlah kelainan akibat neuropati otonom dapat dijumpai pada organ-organ yang dipelihara oleh serabut saraf otonom yang berkaitan. Mathias⁹ juga membagi neuropati menjadi dua, yakni: (1) neuropati primer jika tidak ditemukan penyebab kelainannya, dan (2) neuropati sekunder, jika dapat ditemukan penyakit penyebabnya (misalnya diabetes mellitus). Pemeriksaan pada kasus tersangka neuropati otonom tergantung pada gejala klinik yang didapat. Pada umumnya dilakukan uji simpatis dan parasimpatis pada sistem kardiovaskular. Kelainan pada sistem lain dapat diperiksa juga kalau memang ada indikasi^{2,9,10}.

Pada penelitian ini dipakai uji simpatis pada sistem kardiovaskular. Dalam hal ini yang dicari adalah terdapatnya hipotensi postural, yakni perbedaan tekanan darah dalam jumlah tertentu pada waktu berbaring dibandingkan dengan tekanan darah segera setelah berdiri, yang dikenal dengan tes Schellong. Tes ini menurut penelitian Kurdi¹¹ mempunyai kesepakatan *inter-observer* yang cukup baik (Kappa 0,730); sedangkan kesepakatan *intra-observer* sangat baik (Kappa 0,799). Dengan metode tersebut penelitian ini mendapatkan kasus neuropati otonom sejumlah 7,9%. Jumlah tersebut memang tidak terlalu besar mengingat diabetes mellitus pada subjek penelitian baru diderita rata-rata 4,5 tahun. Metode tersebut adalah metode untuk mengetahui adanya neuropati simpatis. Canal & Pozza¹² mencatat angka sebesar 7,8% untuk neuropati simpatis pada kasus diabetes mellitus dengan durasi 1-5 tahun. Manifestasi kelainan parasimpatis mendahului kelainan simpatis. Karena itu persentasenya lebih tinggi. Pada diabetes mellitus dengan durasi 1-5 tahun tersebut, didapat kelainan parasimpatis 18,4%. Nursetyo¹³ pada penelitiannya di RSUP Dr. Sardjito mendapatkan angka neuropati otonom diabetika pada sistem kardiovaskular sejumlah 79% yang meliputi kelainan simpatis dan parasimpatis. Neuropati parasimpatis saja 57%, neuropati parasimpatis dan simpatis 43%, sedangkan yang murni neuropati simpatis saja

tidak ditemukan. Lama menderita diabetes mellitus pada subjek yang diteliti sampai lebih dari 10 tahun. Berikutnya, Kurdi¹¹ pada penelitian di RSUP Dr. Sardjito mendapatkan neuropati simpatis dengan metode tes Schellong sejumlah 38,3% pada subjek yang menderita diabetes mellitus sampai lebih dari 10 tahun.

Hipotensi postural tidak selalu disertai gejala pada semua pasien. Gejala-gejala yang mungkin terjadi berupa: *dizziness*, kelemahan, gangguan penglihatan, dan mau jatuh waktu berdiri. Penyebab hipotensi postural pada diabetes mellitus, menurut Ross¹⁴, adalah gangguan refleks vaso-konstriksi waktu berdiri, dan juga kegagalan kompensasi takhikardia. Menentukan diabetes mellitus sebagai penyebab neuropati sering sulit kalau misalnya terdapat lebih dari satu penyebab neuropati yang potensial.

Asetilator lambat, terdapat lebih banyak secara bermakna ($p < 0,05$) pada kelompok dengan neuropati otonom (63,6%), dibandingkan pada kelompok tanpa neuropati otonom (30,5%). Fenotipe asetilator seseorang memang sering dikaitkan dengan kepekaan terhadap penyakit. Asetilator lambat menaikkan risiko terjadinya kanker kandung kencing yang dipicu oleh benzidid. Frekuensi kejadian kanker kandung kencing tersebut lebih besar pada asetilator lambat dibandingkan dengan pada asetilator cepat. Efek toksis terhadap hidralazin juga lebih banyak dijumpai pada asetilator lambat, demikian pula halnya dengan lupus eritematosus sistemik karena pengaruh prokainamid. Sebaliknya, asetilator cepat merupakan salah satu faktor risiko terjadinya kanker payudara.

Weinshilboum¹⁵ mengungkapkan bahwa terdapat variasi individual dalam lintasan metabolisme obat, dan hal ini terjadi karena faktor keturunan. Enzim yang memetabolisasi obat mempunyai peran penting dalam proses detoksikasi obat, mutagenesis kimiawi, karsinogenesis dan toksisitas yang diperankan oleh aktivitas metabolik. Yang pasti misalnya pada polimorfisme genetik N-asetiltransferase. N-asetilasi dikatalisasi oleh N-asetiltransferase yang merupakan satu reaksi konjugasi II dan menunjukkan variabilitas individual¹⁶. Secara enzimologi, fenotipe asetilator cepat dan lambat ditandai oleh perbedaan varian isozimik enzim yang melakukan asetilasi pada sitosol hepar, mukosa intestinum dan lain

jaringan tertentu. Contoh obat yang diasetilasi tersebut ialah: INH, prokainamid, dapson, hidralazin dan sulfonamid tertentu. Berdasar studi asetilasi tersebut, diketahui bahwa asetilator cepat pada populasi Oriental berjumlah sekitar 80-95%, dengan rincian asetilator cepat pada populasi Jepang 88-90%, dan Cina 78-85%. Dengan memakai sulfametazin sebagai bahan obat uji, subjek Arab Saudi mempunyai frekuensi asetilator lambat 63,4%, dan 72,3% dengan memakai metabolit kafein. Asetilator lambat pada populasi Arab Lybia, 65% (dengan sulfametazin) dan populasi Mesir (memakai INH) 82%^{16,17}. Santoso⁷ dalam suatu penelitian menggunakan dapson sebagai bahan obat uji mendapatkan data status asetilasi pada orang sehat populasi Jawa (67 subjek), yakni 32,8% merupakan asetilator lambat dan 67,2% asetilator cepat. Asetilator lambat pada penderita tuberkulosis (145 orang) 35,2 % dan asetilator cepat 64,8%.

Data yang melibatkan kasus diabetes mellitus sedang dievaluasi. Insidensi diabetes mellitus pada orang Eropa lebih besar, sebaliknya di Saudi Arabia lebih kecil¹⁶. McLaren et al.¹⁷, melaporkan tentang terdapatnya proporsi asetilator cepat yang lebih tinggi pada kelompok diabetik tanpa neuropati dibanding dengan yang menderita neuropati atau dengan populasi normal. Belum ada keterangan yang pasti tentang penyebab timbulnya perbedaan tersebut.

Pada penelitian ini ternyata sebagian besar subjek merupakan asetilator cepat, yakni 67,75%, dan asetilator lambat 32,25%. Penelitian ini menunjukkan bahwa status asetilasi mempunyai hubungan statistik bermakna dengan terjadinya neuropati otonom ($p < 0,05$). Asetilator lambat pada subjek neuropati otonom positif, adalah 63,6%, sedangkan asetilator cepat 36,4%. Asetilator lambat pada kelompok neuropati otonom negatif, 30,5%, sedang asetilator cepatnya 69,5%. Dengan uji *chi square* perbedaan tersebut bermakna ($p < 0,05$). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa asetilator lambat merupakan faktor risiko terjadinya neuropati otonom diabetika. Belum ada keterangan pasti yang dapat menjelaskan penyebabnya. Sistem saraf simpatis kardiovaskular kemungkinan pada kelompok asetilator lambat tersebut menjadi lebih sensitif dan lebih cepat mengalami kerusakan, karena sebelumnya telah mengalami berbagai trauma

karena lambatnya proses asetilasi senyawa kimia di dalam tubuh.

Sebetulnya bukan hanya polimorfisme asetilasi yang dimiliki individu, tapi juga polimorfisme oksidasi obat. Penemuan studi farmakoepidemiologi menunjukkan bahwa variasi metabolisme obat secara genetik nampaknya memang merupakan salah satu determinan utama dalam respons obat¹⁸. Graf et al.¹⁹, menyatakan bahwa dalam metabolisme obat, ada dua variasi herediter yang lazim, yakni: (1) oksidasi obat, polimorfisme tipe debrisoquin atau spartein, dan (2) polimorfisme asetilasi. Fenotip hidroksilasi dan asetilasi dapat diperkirakan dengan metode yang baru dikembangkan yang didasarkan atas amplifikasi mutasi spesifik DNA oleh reaksi cincin polimerase yang juga mampu dipakai untuk identifikasi karier heterozigot dari satu alel mutan. Berdasarkan kemampuan hidroksilasi dan asetilasi, individu dapat dibagi menjadi: (1) *metabolizer* ekstensif atau buruk, dan (2) asetilator cepat atau lambat. Fenotip *metabolizer* buruk dan asetilator lambat akan diwariskan dengan alur resesif otosomal. Populasi Kaukasus, 8-10% adalah *metabolizer* buruk untuk debrisoquin dan 40-70% asetilator lambat. Pemeriksaan metabolisme kafein untuk menentukan fenotip dan genotip asetilator golongan populasi manusia banyak dilakukan pada sekitar tahun 1980-an²⁰. Kafein sering digunakan karena mudah didapat, mudah pemberiannya dan aman.

SIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa asetilator lambat mempunyai hubungan dengan terjadinya neuropati otonom. Asetilator lambat merupakan salah satu faktor risiko terjadinya neuropati otonom diabetika.

SARAN

Pada penderita diabetes mellitus yang kebetulan termasuk tipe asetilator lambat, harus lebih cermat dalam mengendalikan kadar gula darah dan lain-lain manajemen diabetesnya, oleh karena penderita tersebut akan lebih berpotensi menderita neuropati otonom.

KEPUSTAKAAN

1. Unger RH, Foster DW. Diabetes mellitus. In: Wilson JD, Foster DW, editors. Textbook of endocrinology 7th Ed, pp:1018-80. Philadelphia: WB. Saunder's Co, 1985.
2. Ewing DJ, Clarke BF. Diagnosis and management of diabetic autonomic neuropathy. *BMJ* 1982; 285: 916-18.
3. Thomas PK. The aetiological problems of diabetic neuropathy. In: Goto Y, Horiuchi A, Kogure K, editors. Diabetic neuropathy. Amsterdam: Excerpta Medica, International Congress Series, 1981.
4. Carreia MA, Castagnoli N. Pharmacokinetics: II. Drug bio-transformation. In: Katzung BG, editor. Basic and clinical pharmacology, 3rd edition, Chapter 3. Norwalk, Connecticut: Appleton & Lange, 1987: 36-43.
5. Evans DAP. Genetic variations in the acetylation of isoniazid and other drugs. *Ann NY Acad Sci.* 1968; 151: 723-33.
6. Ishizaki T. Genetically determined N-acetylation and oxidation polymorphisms: Their clinical implications in far eastern oriental populations. *Asia Pacific J Pharmacol.* 1991; 6 :187-99.
7. Santoso B. Genetic and environmental influences on polymorphic drug acetylation [dissertation]. Newcastle upon Tyne : University of Newcastle upon Tyne, 1983.
8. Suhardjono D. The influence of blood glucose on acetylation status [Thesis]. Sydney: University of Sydney, 1995.
9. Mathias CJ. Disorders of the autonomic nervous system. In: Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Marsden CD, editors. Neurology in clinical practice. Vol. II. pp: 1661-85. Chap. 79. Boston: Butterworth-Heinemann, 1991.
10. Ewing DJ. Anatomic neuropathy. In: Pickup JC, Williams B, editors. Textbook of diabetes, Vol . II, Chap. 63, pp: 635-47 Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1991.
11. Kurdi. Ketidaksepakatan antara dua orang pemeriksa dalam interpretasi tes Schellong pada penderita neuropati diabetika [Thesis]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada, 1996.
12. Canal N, Pozza G. Clinical aspects of peripheral neuropathies in diabetes. In : Andriani G, Crepaldi G, Di Mario U, Pozza G, editors. Diabetic complications; early diagnosis and treatment, Chap. 15, pp:155-65. Chichester: John Wiley & Sons, 1987.
13. Nursetyo. Neuropati otonom diabetika [Thesis]. Yogyakarta, University Gadjah Mada, 1992.
14. Ross MA. Neuropathies associated with diabetes. *Contemporary Clin Neurol* 1993; 77(1):111-24.
15. Weinshilboun RM. Methylation pharmacogenetics: thiopurine methyltransferase as a model system. *Xenobiotica* 1992; 22(9/10):1055-71.
16. Sardas S, Lahijany B, Cok I, Karakaya AE. N-acetylation phenotyping with sulfamethazine in an Iranian population. *Pharmacogenetics* 1993; 3:131-4.
17. May DG, Black CM, Olsen, NJ, Cauka, ME, Tanner SB, Bellino L. et al. Scleroderma is associated with differences in individuals routes of drug metabolism: A study with dapsone, debrisoquin and mephenytoin. *Clin Pharmacol Ther* 1990; 48: 286-95.
18. Horai Y, Nakano M, Ishizaki T, Ishikawa K, Zhou HH, Zhou BJ. Metoprolol and mephenytoin oxidation polymorphisms in far eastern oriental subjects: Japanese versus mainland Chinese. *Clin Pharmacol Ther* 1989; 46:198-207.
19. Graf T, Broly E, Hoffmann F, Probst M, Meyer UA, Howald H. Prediction of phenotype for acetylation for debrisoquine hydroxylation by DNA-tests in healthy human volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 1992; 43: 399-403.
20. Mellini DW, Capporaso NE , Issac HJ. Determination of caffeine metabolite AFMU in human urine by column switching HPLC. *J Liq Chromatography* 1993; 16(16): 1419-26.