

# Hubungan Kadar Proprotein *Convertase Kexin/Type 9* (PCSK9) dengan Aterosklerosis pada Penyandang Diabetes Melitus Tipe 2: Sebuah Telaah Sistematis

## *Association of Proprotein Convertase Kexin/Type 9 with Atherosclerosis in People with Type 2 Diabetes Mellitus: a Systematic Review*

Farissa Luthfia<sup>1</sup>, Wismandari Wisnu<sup>2</sup>, Dicky Levenus Tahapary<sup>2</sup>, Pringgodigdo Nugroho<sup>3</sup>

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

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

<sup>3</sup>Unit Epidemiologi Klinik, Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/RSUPN dr. Cipto Mangunkusumo, Jakarta

Korespondensi:

Wismandari Wisnu. Divisi Metabolik Endokrin, Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/RSUPN dr. Cipto Mangunkusumo. Jln. Diponegoro no.71, Jakarta Pusat. Email: wisma\_slamet@yahoo.com

### ABSTRAK

**Pendahuluan.** Diabetes melitus (DM) tipe 2 merupakan salah satu faktor risiko penyakit kardiovaskular dengan peningkatan *low density lipoprotein* sebagai mekanisme utama terjadinya aterosklerosis. PCSK9 adalah regulator reseptor LDL utama sehingga kaitannya dengan aterosklerosis saat ini sedang banyak diteliti. Beberapa studi mengenai hubungan kadar PCSK9 dengan aterosklerosis pada penyandang DM tipe 2 telah tersedia namun bersifat inkonsisten. Untuk itu, telaah penelitian ini dilakukan untuk menelaah lebih lanjut mengenai hubungan kadar PCSK9 dengan aterosklerosis pada pasien DM tipe 2 secara sistematis.

**Metode.** Penelitian ini berbentuk telaah sistematis yang telah didaftarkan di PROSPERO. Penelusuran pustaka sesuai panduan PRISMA dilakukan pada tanggal 18 Juli – 02 September 2020. Setelah dilakukan penilaian risiko bias dengan *Newcastle Ottawa scale*, kemudian dilakukan telaah naratif pada pustaka yang didapatkan oleh dua penilai independen.

**Hasil.** Didapatkan empat studi yang relevan dengan total subjek 430. Tiga studi memiliki kategori kualitas tinggi sementara satu studi dengan kualitas sedang. Hubungan antara kadar PCSK9 dengan aterosklerosis pada penyandang DM tipe 2 didapatkan pada studi oleh Guo, dkk. dengan nilai OR: 1,12 (IK 95% 1,041 – 1,204), p: 0,002 dan studi oleh Ma, dkk. dengan p<0,05. Sementara dua studi lainnya melaporkan tidak ada hubungan antara kadar PCSK9 dengan aterosklerosis pada penyandang DM tipe 2. Cheng, dkk. melaporkan nilai  $\beta$ : 1,08 (IK 95% -0,59 -2,75) dan Xie, dkk. melaporkan nilai p=0,334 (IK 95% -18 – 10).

**Simpulan.** Belum ada bukti yang cukup untuk menjelaskan hubungan antara PCSK9 dengan aterosklerosis pada pasien DM tipe 2 sehingga dibutuhkan penelitian primer yang bersifat longitudinal.

**Kata Kunci:** Aterosklerosis, DM tipe 2, PCSK9

### ABSTRACT

**Introduction.** Type 2 diabetes mellitus is the leading cause of cardiovascular event with high level of low-density lipoprotein as the main predictor marker of atherosclerosis. PCSK9 plays a role in LDL-receptor regulation, its association with atherosclerosis had been investigated but the result is inconsistent. This study aimed to examine the association between PCSK9 level and atherosclerosis in people with type 2 diabetes.

**Methods.** A systematic review was done in July 18 – September 02, 2020 and registered in PROSPERO. Risk of bias of each study was analyzed with *Newcastle Ottawa scale* tools. Studies involved in this systematic review then narratively analyzed by two independent reviewers.

**Results.** There are 430 subjects involved from 4 studies. Guo, et al. reported that there was a significant association between PCSK9 level with atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus (OR: 1.12 (CI 95% 1.041 – 1.204), p: 0.002), those association was also reported by Ma, et al. with p value <0.05. While a different result came from Xie, et al. (p: 0.334 (CI 95% -18 – 10) and Cheng, et al. ( $\beta$ : 1.08 (IK 95% -0.59 -2.75).

**Conclusions.** There is still insufficient evidence that show the association between PCSK9 level and atherosclerosis in type 2 DM. Therefore, longitudinal primary research is needed.

**Keywords:** Atherosclerosis, PCSK9, Type 2 diabetes mellitus

## PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang disebabkan oleh defek sekresi insulin, defek kerja insulin, maupun keduanya.<sup>1</sup> Angka kejadian DM tipe 2 meningkat dari 6,9% total penduduk Indonesia pada tahun 2013 menjadi 8,5% pada tahun 2018.<sup>2</sup> *International Diabetes Federation* (IDF) memperkirakan jumlah penyandang DM tipe 2 di seluruh dunia akan meningkat sebanyak 51% pada tahun 2045. Sementara itu, jumlah penyandang DM tipe 2 di Asia Tenggara sebanyak 88 juta jiwa dan diperkirakan akan meningkat sebanyak 74% menjadi 153 juta jiwa di tahun 2045.<sup>3</sup>

Berdasarkan laporan dari *World Health Organization* (WHO), penyakit kardiovaskular menduduki peringkat pertama penyebab kematian tersering di seluruh dunia. Diabetes melitus tipe 2 adalah salah satu kontributor utama terjadinya penyakit tersebut dengan aterosklerosis akibat disfungsi endotel sebagai mekanisme yang mendasari.<sup>4</sup> Pada penyandang DM tipe 2, angka kejadian penyakit kardiovaskular meningkat sebesar 2 – 4 kali lipat. Diperkirakan, dengan meningkatnya angka penderita DM tipe 2, maka angka penderita penyakit kardiovaskular juga akan bertambah.<sup>4,5</sup>

Aterosklerosis pada pasien DM tipe 2 ditengarai terjadi akibat adanya perubahan homeostasis vaskular akibat disfungsi endotel dan otot polos vaskular, terutama akibat dislipidemia, hiperglikemia, dan inflamasi kronik. Dari semua penyebab tersebut, dislipidemia terutama peningkatan *small-dense* (sd)-LDL memegang peran paling penting.<sup>6,7</sup> Sebuah penelitian di daerah urban Indonesia menunjukkan bahwa angka kejadian dislipidemia pada pasien diabetes melitus mencapai 50% dan sebuah penelitian di Bali pada tahun 2017 menunjukkan bahwa 79% pasien dengan DM tipe 2 memiliki kadar *small dense-low density lipoprotein* (sd-LDL) yang melebihi target. Sejalan dengan hasil penelitian di Bali tersebut, sebuah studi kohort bertajuk *framingham study* yang dilakukan pada 3.094 subjek tanpa aterosklerosis, mendapati sebanyak 20,2% subjek mengalami penyakit kardiovaskular terkait aterosklerosis setelah 16 tahun masa pemantauan. Dari berbagai parameter lipoprotein yang dinilai pada studi tersebut, sd-LDL dilaporkan sebagai parameter lipoprotein yang paling berkontribusi pada proses aterosklerosis.<sup>8-10</sup>

Dislipidemia pada penderita DM ditandai dengan adanya peningkatan plasma apolipoprotein B, kadar trigliserida puasa maupun postprandial, penurunan kadar kolesterol *high density lipoprotein* (HDL) dan peningkatan kadar kolesterol LDL yang didominasi oleh sd-LDL yang bersifat aterogenik. Beberapa bukti menunjukkan bahwa

pada dislipidemia diabetes terdapat gangguan pada laju katabolisme partikel LDL yang berkontribusi terhadap terjadinya penurunan ekspresi reseptor LDL. Mengingat pentingnya peran sd-LDL dalam kaitannya dengan peningkatan risiko kardiovaskular pada penyandang DM Tipe 2, maka mekanisme regulasi sd-LDL menjadi sangat penting untuk dipahami.<sup>11-13</sup>

Regulasi metabolisme LDL cukup kompleks. Sebelum tahun 2003, metabolisme LDL dipercaya hanya terjadi secara intraselular. Perkembangan ilmu mengenai *proprotein convertase subtilisin kexin type* (PCSK9) kemudian membuka cakrawala baru. PCSK9 merupakan enzim yang berperan besar dalam metabolisme lipid dipercaya berperan sebagai regulator degradasi LDL utama.<sup>14</sup> Enzim PCSK9 berperan pada metabolisme lipoprotein intraselular dan ekstraselular. Sebuah studi melaporkan mutasi *gain-of-function* pada PCSK9 terjadi pada pasien dengan autosomal dominan hiperkolesterolemia. Sementara itu pada populasi dengan mutasi *loss-of-function* PCSK9, didapatkan kadar LDL yang rendah dan risiko penyakit kardiovaskular yang rendah.<sup>14,15</sup> Ekspresi PCSK9 yang tinggi menyebabkan penurunan kemampuan pembersihan LDL sehingga memiliki hubungan positif dengan kadar kolesterol LDL dalam darah. Adanya pelepasan PCSK9 secara sistemik tersebut menyebabkan kadar PCSK9 dalam darah dapat diukur.<sup>15,17</sup>

Adanya korelasi yang erat antara PCSK9 dengan LDL serta potensi terjadinya disfungsi endotel akibat dislipidemia membuat PCSK9 menjadi prediktor kuat terjadinya aterosklerosis. Hubungan antara PCSK9 dengan aterosklerosis diperkuat oleh laporan sebuah studi pada tahun 2012 yang menyebutkan bahwa PCSK9 terdeteksi pada plak aterosklerosis.<sup>17</sup> Selain sebagai regulator utama ekspresi LDL, dalam beberapa studi terakhir didapatkan pula adanya pengaruh PCSK9 terhadap terjadinya aterosklerosis yang tidak berkaitan dengan jalur lipid, yaitu akibat adanya kaitan kadar PCSK9 dengan inflamasi kronik. Beberapa penelitian menunjukkan eratnya kaitan PCSK9 dengan aterosklerosis secara jalur inflamasi, sehingga meskipun kadar LDL rendah, aterosklerosis dapat terjadi pada pasien dengan kadar PCSK9 yang tinggi. Hal tersebut menjadi salah satu dasar pemikiran untuk menjadikan kadar PCSK9 sebagai salah satu parameter yang diperiksa pada pasien dengan risiko tinggi terhadap penyakit jantung koroner guna pencegahan terjadinya aterosklerosis.<sup>19,20</sup>

Pada tahun 2015, seiring dengan berjalannya pengetahuan mengenai PCSK9 dan kaitannya dengan metabolisme lipid serta pengaruh PCSK9 pada proses aterosklerosis, *food and drug administration* (FDA) di Amerika Serikat telah memberikan izin edar untuk obat

penyekat PCSK9 yang memiliki efektivitas yang tinggi dalam penurunan kadar kolesterol LDL.<sup>20</sup> Baik *American College of Cardiology (ACC)*, *American Diabetes Association (ADA)*, maupun Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (Perkeni) merekomendasikan pemberian penyekat PCSK9 sebagai agen hipolipodemik non-statin pada individu DM tipe 2 yang tidak mencapai target terapi LDL setelah pemberian statin dan ezetimibe. Sebuah telaah sistematis menunjukkan bahwa pada pasien yang mendapatkan terapi penyekat PCSK9, didapatkan penurunan angka kejadian penyakit kardiovaskular seperti penyakit jantung koroner maupun *stroke* secara bermakna. Namun demikian, penyekat PCSK9 di Indonesia saat ini belum tersedia.<sup>21-24</sup>

Meskipun kaitan antara PCSK9 dengan aterosklerosis telah diketahui secara luas, namun hubungan antara kadar PCSK9 dengan aterosklerosis pada pasien DM tipe 2 masih bersifat inkonsisten. Guo, dkk.<sup>18</sup> dari Nanjing Medical University melaporkan adanya hubungan antara kadar PCSK9 yang tinggi dengan aterosklerosis dini pada pasien dengan DM tipe 2. Penelitian Chan, dkk.<sup>24</sup> menunjukkan hasil yang berlawanan, yaitu meskipun kadar PCSK9 adalah faktor independen terhadap terjadinya aterosklerosis pada populasi asimtomatik, namun kadar PCSK9 dengan aterosklerosis pada populasi DM tipe 2 tidak bermakna. Inkonsistensi hasil laporan pada penelitian tersebut menjadi alasan penulis untuk menelaah lebih lanjut mengenai hubungan kadar PCSK9 dengan aterosklerosis pada pasien DM tipe 2 secara sistematis. Telaah sistematis mengenai hubungan kadar PCSK9 dengan aterosklerosis pada pasien DM tipe 2 sebelumnya belum pernah ada, sehingga diharapkan dengan adanya telaah kritis ini penulis dapat memberikan data baru yang nantinya dapat dipergunakan sebagai pertimbangan keperluan pemeriksaan kadar PCSK9 pada pasien DM tipe 2 sebagai langkah pencegahan terjadinya komplikasi akibat aterosklerosis. Selain itu, hasil telaah sistematis ini juga diharapkan dapat dijadikan data dasar untuk pengadaan penyekat PCSK9 sebagai salah satu agen hipolipodemik non-statin pada individu DM tipe 2 di Indonesia.

## METODE

Penelitian ini berbentuk telaah sistematis yang telah didaftarkan di *International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO)*. Protokol yang digunakan dalam penyusunan tinjauan sistematis ini mengikuti kaidah dari *The Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-analysis (PRISMA)*. Disusun PICO dengan P: Pasien dengan DM tipe 2, I: Kadar PCSK9, C: -, O: Aterosklerosis.

Strategi penelusuran pustaka dilakukan pada tanggal 18 Juli – 2 September 2020 menggunakan *database* elektronik yang diakses melalui situs PubMed, *Scopus*, CINAHL, Proquest, Embase, Global Index Mediscus, *Google Scholar*, dan perpustakaan dalam jaringan dari 46 Fakultas Kedokteran di Indonesia. Sementara untuk penelusuran pustaka non-elektronik dilakukan pada tanggal 18 – 23 Juli 2020 di Perpustakaan Universitas Indonesia dan Perpustakaan Nasional Republik Indonesia. Strategi pencarian menggunakan kombinasi *mesh term* dengan kata kunci: “*proprotein convertase substilisin/kexin type 9*” OR “PCSK9” AND “*atherosclerosis*” AND “*type 2 diabetes mellitus*”. Selain itu, dilakukan juga telusur daftar pustaka dari studi yang didapatkan secara *hand searching* dan *snowballing* serta korespondensi kepada peneliti yang telah melakukan publikasi terhadap PCSK9 setidaknya lebih dari 2 studi.

Studi yang dimasukkan dalam telaah sistematis ini adalah studi yang melibatkan penderita dengan DM tipe 2, sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi, tidak ada pembatasan tahun publikasi dari studi yang dilibatkan. Kriteria inklusi sampel meliputi: 1) studi potong lintang, kohort, maupun kasus kontrol, 2) melibatkan subjek penelitian berusia >18 tahun, 3) menyertakan penilaian aterosklerosis secara radiologis. Sedangkan, studi pada hewan dieksklusi dari sampel penelitian.

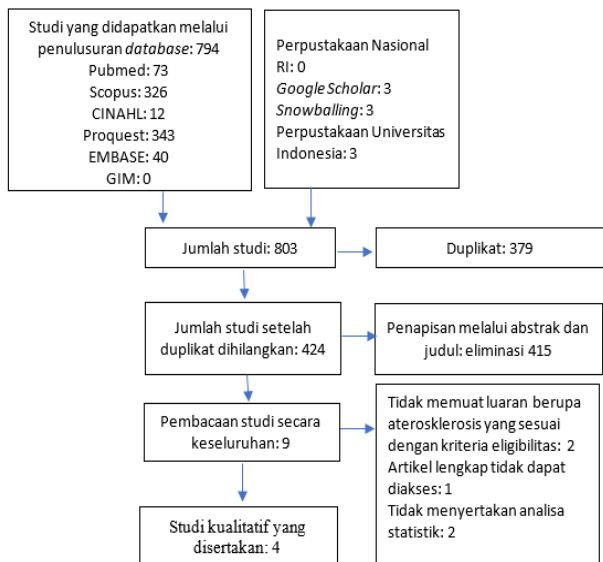
Untuk menghindari risiko bias penilaian maka telaah sistematis ini melibatkan dua peninjau yang melakukan penilaian terhadap studi yang didapatkan secara terpisah. Peninjau pertama adalah FA dan peninjau kedua adalah DLT. Perbedaan hasil peninjauan antara peninjau satu dan dua didiskusikan bersama dan apabila tidak didapatkan kesepakatan maka peninjau ketiga dilibatkan, yaitu PN. Risiko bias juga diminimalisasi dengan menggunakan perangkat *Newcastle Ottawa scale (NOS)* yang disesuaikan untuk masing-masing bentuk penelitian baik kasus kontrol, potong lintang, ataupun kohort.

Semua artikel yang telah terkumpul diteliti satu demi satu. Penilaian mengenai kesesuaian artikel akan dipastikan sejak awal melalui judul artikel, selanjutnya karakteristik studi disajikan dalam tabel. Ekstraksi dilanjutkan dengan meneliti abstrak dari studi dan penilaian bobot kualitas dari studi yang didapat, bila diperlukan, sistem penilaian akan diberlakukan sesuai kesepakatan dari dua peninjau. Studi yang didapatkan kemudian diberikan pembobotan sesuai dengan metode penelitian masing-masing studi. Data yang diekstraksi adalah proporsi risiko rerata pada kelompok yang dibandingkan. Penulis sebagai peninjau utama mengekstraksi data tersebut.

## HASIL

Telusur daftar pustaka dari studi yang didapatkan melalui *database* elektronik, non-elektronik, *hand searching*, dan *snowballing* serta korespondensi kepada peneliti yang telah melakukan publikasi terhadap PCSK9 setidaknya lebih dari 2 studi. Penulis melakukan korespondensi kepada narahubung dari studi yang tidak memberikan data yang lengkap pada publikasinya dan studi yang tidak terpublikasi. Dari lima yang dihubungi, dua narahubung memberikan jawaban bahwa data yang penulis inginkan tidak tersedia. Alur pemilihan sampel dan strategi penelusuran literatur secara lengkap disajikan pada Gambar 1.

Dari 4 studi yang didapatkan, terdapat 3 studi dengan desain penelitian potong lintang dan 1 studi dengan desain penelitian kohort. Pada ke empat studi tersebut dilakukan penilaian risiko bias dengan perangkat NOS yang terdiri atas tiga bagian penilaian yaitu proses pemilihan (*selection*), perbandingan (*comparability*), dan luaran (*outcome*), NOS yang digunakan dalam penelitian ini menyesuaikan jenis desain penelitian dari studi yang didapatkan. Ketiga studi dinilai memiliki kualitas tinggi berdasarkan penilaian NOS tersebut (Tabel 1 & 2). Penilaian NOS telah dilakukan oleh dua penilai untuk menghindari bias penilai.



Gambar 1. Strategi penelusuran literatur

## DISKUSI

Hubungan kadar PCSK9 dengan kemampuan pembentukan aterosklerosis pada satu dekade terakhir telah diketahui secara luas. Kaitan PCSK9 dengan aterosklerosis paling utama adalah karena peran PCSK9 sebagai regulator utama LDL. Selain itu, beberapa penelitian terakhir juga menunjukkan bahwa peran PCSK9 sebagai salah satu faktor risiko terjadinya aterosklerosis juga terkait dengan faktor non-lipid, misalnya inflamasi.<sup>42</sup>

Secara klinis, hubungan antara PCSK9 dengan kejadian penyakit kardiovaskular sudah banyak diteliti, salah satunya adalah oleh Leander, dkk.<sup>45</sup> yang dalam penelitiannya menyebutkan bahwa konsentrasi serum PCSK9 berkaitan dengan risiko penyakit kardiovaskular yang digambarkan dengan kejadian infark miokard, angina tidak stabil, maupun kematian akibat penyakit jantung koroner. Dibandingkan dengan kadar PCSK9 yang rendah, pada subjek dengan kadar PCSK9 tinggi terdapat peningkatan risiko terjadinya penyakit kardiovaskular sebesar 1,69% (IK 95% 1,12–1,95). Setelah dilakukan perhitungan dengan mengikutsertakan kolesterol LDL, HDL, Lp(a), TG, hipertensi, diabetes, merokok, obesitas, dan aktivitas fisik rendah, didapatkan nilai *hazard ratio* (HR) sebesar 1,48% (IK: 1,12 - 1,9).<sup>45</sup>

Penilaian mengenai hubungan kadar PCSK9 dengan keadaan aterosklerosis subklinis juga telah diteliti oleh Chan, dkk.<sup>42</sup> Studi tersebut melaporkan bahwa dari 295 pasien asimtomatik, didapatkan kadar PCSK9 memiliki hubungan positif dengan penebalan tunika intima media karotid ( $p < 0,05$ ), bersifat independen terhadap usia, BMI, lingkaran pinggang, tekanan darah sistolik, glukosa, insulin, nilai HOMA, trigliserida, LDL, obesitas, dan penanda inflamasi.

Adanya hubungan antara kadar PCSK9 dengan aterosklerosis juga dilaporkan oleh Cheng, dkk.<sup>47</sup>, Ma, dkk.<sup>44</sup>, Guo, dkk.<sup>18</sup>, dan Xie, dkk.<sup>46</sup> Berdasarkan hasil telusur pustaka, keempat studi tersebut *eligibel* sehingga diikutsertakan oleh peneliti dalam telaah sistematis. Berdasarkan penilaian dengan perangkat NOS yang telah ditinjau oleh dua peninjau, tiga dari studi memiliki kualitas tinggi sementara satu studi memiliki kualitas sedang.

Cheng, dkk.<sup>47</sup> meneliti 581 pasien yang terdiagnosis sindrom koroner akut dan menjalani *coronary angiography*. Di saat yang sama dengan tindakan *coronary angiography*, pada subjek dilakukan pemeriksaan ultrasonografi intravaskular atau *intravascular ultrasonography visual histology* (IVUS-VH). Dari hasil pemeriksaan tersebut didapatkan kadar PCSK9 berhubungan secara linear dengan fraksi plak yang berisi inti jaringan nekrotik dengan  $\beta$ : 1,24% pada setiap peningkatan 100  $\mu\text{g/L}$  dari kadar

**Tabel 1. Penilaian risiko bias pada studi potong lintang**

Proses	Poin penilaian	Guo, dkk. <sup>18</sup>	Cheng, dkk. <sup>47</sup>	Ma, dkk. <sup>44</sup>
Seleksi	Keterwakilan sampel	*	*	*
	Jumlah sampel	*	*	*
	Jumlah non-responden	*	*	*
	Pemaparan pajanan	*	**	
Keterbandingan	Keterbandingan kelompok luaran berdasarkan desain penelitian atau analisis. Faktor-faktor perancu terkontrol.	**	**	**
Luaran	Penilaian luaran	*	*	*
	Uji statisti	*	*	
Kategori kualitas		Tinggi	Tinggi	Sedang

**Tabel 2. Penilaian risiko bias pada studi kohort**

Proses	Poin penilaian	Xie, dkk. <sup>46</sup>
Seleksi	Keterwakilan dari subjek yang terpajan kohort	*
	Pemilihan subjek yang tidak terpajan kohort	*
	Pemaparan pajanan	*
	Menjelaskan bahwa luaran belum didapatkan pada awal studi	*
Keterbandingan	Keterbandingan kelompok berdasarkan desain atau analisis	*
Luaran	Penilaian luaran	*
	Apakah subjek diikuti dalam waktu yang cukup panjang hingga luaran terjadi	*
	Kecukupan masa penilaian kohort	*
Kategori kualitas		Tinggi

**Tabel 3. Hasil ekstraksi data**

Nomor studi/ penulis/negara/ tahun	Populasi penelitian/rerata lama DM/besar sampel	PCSK9 (ng/mL)	Rerata kadar glukosa darah	Cara penyajian data kadar PCSK9	Luaran
1/Guo, dkk. <sup>18</sup> / Cina/2019	Pasien DM tipe 2/kurang dari 1 tahun/100	133,09 (SB 33,2)	Glukosa darah puasa: 7,83 (SB 1,79) mmol/L	Dalam tertil (ng/mL): Tertil 1: 25,93-83,32 Tertil 2: 83,32-119,17 Tertil 3: 119,17-214,55	Regresi logistik binari β: 0,113 OR: 1,12 (IK 95%: 1,041-1,204), P: 0,002  Kadar PCSK9 berkaitan secara signifikan dengan penebalan karotid intima dan ba-PWV 002
2/Cheng, dkk. <sup>47</sup> / Belanda/2016	Pasien yang masuk dengan gejala penyakit jantung koroner/tidak dijelaskan/99	270	Tidak disebutkan	Dalam kuintil (ng/mL): Kuintil 1: 91-203 Kuintil 2: 203-246 Kuintil 3: 246-296 Kuintil 4: 296-351 Kuartil 5: 351-804	β: 1,08 (IK 95% -0,59 - 2,75) OR: 1,01 (IK 95% 0,99 - 1,02)  Pada subanalisis, pada pasien dengan DM tipe 2, hubungan antara kadar PCSK9 dengan peningkatan jumlah inti nekrosis tidak bermakna
3/Ma, dkk. <sup>44</sup> / Cina/2016	Pasien DM tipe 2/tidak dijelaskan/203	DM dengan aterosklerosis: 126 (SB 16,68) DM tanpa aterosklerosis: 74,88 (SB 9,34) Non-DM, non aterosklerotik: 38,24 (SB 5,14)	Tidak disebutkan	Numerik	P < 0,05  Kadar PCSK9 berhubungan dengan aterosklerosis pada pasien DM tipe 2
4/Xie dkk. <sup>46</sup> / Cina/2016	Pasien yang tidak memiliki riwayat penyakit jantung koroner/> 10 tahun/28	Laki-laki: 174,2 (SB 138) Perempuan: 198,4 (SB...)	Glukosa darah puasa: 4,89 (SB 0,97) mmol/L	Dalam kuartil	P: 0,334 (IK 95% -18 - 10)  Subanalisis pada pasien DM tipe 2 menunjukkan setiap peningkatan 100 ng/dL dari kadar PCSK9 berkaitan dengan penurunan plak sebesar 1 mm <sup>2</sup> , menandakan pada pasien DM tipe 2 peningkatan kadar PCSK9 tidak berhubungan dengan progresi aterosklerosis

DM = diabetes melitus

**Tabel 4. Metode pemeriksaan**

	Guo, dkk. <sup>18</sup>	Cheng, dkk. <sup>47</sup>	Ma, dkk. <sup>44</sup>	Xie, dkk. <sup>46</sup>
Teknik pemeriksaan PCSK9	ELISA	ELISA	Tidak disebutkan	ELISA
Teknik penilaian aterosklerosis	CIMT dengan ultrasonografi dopler berwarna dilakukan oleh ultrasonografer yang berpengalaman. Aterosklerosis dikarakteristikan sebagai penebalan tunika intima karotid $\geq 1,0$ mm pada arteri karotid baik kanan maupun kiri.  ba-PWV dinilai dengan menganalisis PWV/ABI dengan VP-1000, pemeriksaan dilakukan pada arteri brakial kanan dibandingkan pada pergelangan kaki .	IVUS-VH dilakukan oleh operator berpengalaman. Aterosklerosis digambarkan dengan adanya nekrosis inti jaringan pada koroner. Lesi koroner digambarkan sebagai adanya plak koroner $>40\%$ setidaknya dalam 3 bingkai berturut-turut.	CIMT dengan ultrasonografi. Aterosklerosis didefinisikan sebagai penebalan karotid intima-media lebih dari 1,5 mm atau terdapat peningkatan dan protrusi karotid intima ke lumen sebesar $>0,5$ mm atau penebalan tunika intima-media $>50\%$ pada daerah sekitar tunika.	CIMT dengan ultrasonografi. Progresi aterosklerosis didefinisikan sebagai penambahan area penebalan tunika intima karotid setidaknya 50% atau penebalan CIMT $>1,5$ mm.

PCSK9 (IK 95% 0,55-1,94; p = 0,001).

Rerata kadar PCSK9 pada penelitian oleh Cheng, dkk.<sup>47</sup> adalah 270  $\mu\text{g/L}$ , temuan ini cukup tinggi dibandingkan dengan rerata PCSK9 pada penelitian-penelitian sebelumnya. Hal ini dapat terjadi karena subjek penelitian yang dilibatkan adalah pasien dengan sindrom koroner akut. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, Cheng dkk.<sup>47</sup> memberikan rekomendasi bahwa PCSK9 merupakan target terapeutik untuk tata laksana aterosklerosis yang baik.

Analisis subgrup dilakukan pada penelitian Cheng, dkk.<sup>47</sup> dan didapatkan dari total 99 pasien yang menderita DM tipe 2 yang datang dengan diagnosis sindrom koroner akut diperoleh nilai  $\beta$ : 1,08 (IK 95% -0,59 – 2,75). Interval kepercayaan yang melewati nilai nol menunjukkan bahwa secara statistik hubungan antara kadar PCSK9 tinggi dengan peningkatan jumlah inti jaringan nekrosis pada pasien DM tipe 2 tidak bermakna. Hasil tersebut dapat disebabkan oleh beberapa hal, yaitu jumlah sampel yang sedikit sehingga interval kepercayaan menjadi lebar dan juga karena subjek yang terpilih pada penelitian ini adalah pasien dengan sindrom koroner akut sehingga pemakaian statin tidak dapat dihindarkan.<sup>47</sup>

Penelitian kohort yang dilakukan oleh Xie, dkk.<sup>46</sup> menunjukkan bahwa dalam pemantauan 10 tahun pada pasien yang tidak memiliki riwayat penyakit kardiovaskular, didapatkan hasil kadar PCSK9 yang tinggi berhubungan dengan penambahan plak yang bermakna berdasarkan pemeriksaan CIMT dengan RR 1,09 (IK 95% 1,03 - 1,15). Adanya hubungan tersebut bersifat independen terhadap kadar LDL, namun tidak independen terhadap kadar VLDL. Diketahui bahwa VLDL sendiri bersifat pro-aterogenik. Penelitian ini melibatkan 643 subjek penelitian, sekitar 27% dari jumlah subjek pada awal penelitian kohort mengalami *drop out* dan rerata subjek yang *drop out* tersebut berusia lanjut. Pada penelitian ini, 16,3% pasien

dalam terapi statin, telah dilakukan analisis multivariat yang kemudian menunjukkan hasil bahwa statin tidak berhubungan dengan kadar PCSK9.

Xie, dkk.<sup>46</sup> juga melakukan analisis subgrup pada 28 pasien dengan DM tipe 2. Berdasarkan analisis tersebut didapatkan nilai p = 0,334 (IK 95% -18 – 10), interval kepercayaan melewati nilai: 0 menunjukkan bahwa secara statistik hubungan antara kadar PCSK9 tinggi dengan penambahan plak tidak bermakna. Berdasarkan plot yang disajikan oleh Xie, dkk.<sup>46</sup>, setiap peningkatan 100 ng/dL dari PCSK9 berkaitan dengan penurunan 1 mm<sup>2</sup> plak pada arteri, sehingga DM tipe 2 dianggap sebagai faktor protektif. Senada dengan yang terjadi pada penelitian oleh Cheng, dkk.<sup>47</sup> jumlah sampel yang diteliti pada penelitian ini juga dianggap terlalu sedikit. Pemakaian statin meskipun tidak berhubungan dengan kadar PCSK9 berdasarkan analisis multivariat juga dianggap masih mungkin menjadi faktor perancu, meskipun belum diketahui apakah pada subjek DM tipe 2 yang diikutsertakan dalam pemeriksaan tersebut masuk ke dalam 16,3% pasien yang mengonsumsi statin.<sup>46</sup>

Kedua studi yang memberikan hasil tidak bermakna baik dari Xie, dkk.<sup>46</sup> maupun Cheng, dkk.<sup>47</sup> tidak menilai hubungan kadar PCSK9 dengan aterosklerosis pada DM tipe 2 sebagai luaran utama, melainkan merupakan analisis subgrup. Sehingga, jumlah sampel yang digunakan dalam analisis tidak melalui proses perhitungan kebutuhan jumlah besar sampel yang dianggap cukup representatif untuk sebuah studi.

Bertolak belakang dengan hasil studi oleh Xie, dkk.<sup>46</sup> dan Cheng dkk.<sup>47</sup>, dua studi lain oleh Ma, dkk.<sup>44</sup> dan Guo, dkk.<sup>18</sup> melaporkan bahwa terdapat hubungan antara kadar PCSK9 dengan aterosklerosis pada penyandang DM tipe 2. Penelitian dari Guo, dkk.<sup>18</sup> dinilai paling mendekati pertanyaan penelitian dari telaah sistematis ini. Dalam studi oleh Guo, dkk.<sup>18</sup> tersebut dilakukan penilaian hubungan

kadar PCSK9 dengan aterosklerosis pada penyandang DM tipe 2 yang baru didiagnosis. Tidak ada subjek yang menggunakan statin karena merupakan kriteria eksklusi. Studi bersifat potong lintang ini melibatkan 100 subjek dengan DM tipe 2. Penilaian aterosklerosis dilakukan dengan pemeriksaan CIMT dan penebalan tunika intima media dianggap representatif bila didapatkan hasil > 1 mm. Hasil analisis statistik pada penelitian ini menunjukkan adanya hubungan antara kadar PCSK9 yang tinggi dengan aterosklerosis pada pasien DM tipe 2 ( $\beta$ : 0,113; OR: 1,12, (IK 95% 1,041 - 1,204);  $p < 0,002$ ). Penyesuaian dilakukan terhadap usia, indeks massa tubuh, leukosit, tekanan darah sistol maupun diastol, kolesterol total, kolesterol HDL, asam urat, dan hs-CRP.<sup>18</sup>

Untuk mempertegas hubungan antara kadar PCSK9 dengan aterosklerosis pada pasien DM tipe 2, Guo, dkk.<sup>18</sup> melakukan analisis kadar PCSK9 yang distratifikasi secara tertil (Tabel 3) yang dibandingkan dengan penebalan tunika intima-media. Ketebalan tunika-intima berbanding lurus dengan kadar PCSK9 berdasarkan tertil yang telah dibuat ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dalam kesimpulannya Guo, dkk.<sup>18</sup> menyatakan bahwa terdapat hubungan bermakna antara kadar PCSK9 dengan aterosklerosis pada pasien DM tipe 2 dan merekomendasikan pertimbangan pemeriksaan PCSK9 sebagai *biomarker* aterosklerosis dini pada pasien yang baru terdiagnosis DM tipe 2. Namun demikian, studi oleh Guo, dkk.<sup>18</sup> ini memiliki desain penelitian potong lintang sehingga hubungan kausatif tidak dapat ditentukan.

Studi lainnya yang memberikan hasil adanya hubungan antara kadar PCSK9 dengan aterosklerosis pada pasien DM tipe 2 adalah studi dari Ma, dkk.<sup>44</sup> yang dilakukan untuk menilai kemampuan kadar PCSK9 pada serum guna evaluasi keparahan DM tipe 2. Studi tersebut juga menilai hubungan antara kadar PCSK9 dengan aterosklerosis. Bentuk studi ini adalah potong lintang. Berdasarkan penilaian NOS, studi ini mendapatkan kategori kualitas studi sedang. Studi oleh Ma, dkk.<sup>44</sup> melibatkan 148 subjek DM tipe 2, terdiri atas 69 subjek DM tipe 2 dengan aterosklerosis (dianggap sebagai kelompok A) dan 79 subjek DM tipe 2 tanpa aterosklerosis (dianggap sebagai kelompok B), serta 55 subek non-DM tipe 2 (dianggap sebagai kelompok C). Pemilihan sampel untuk subjek DM tipe 2 tidak dilakukan secara acak.<sup>44</sup>

Dalam studi tersebut, dilakukan analisis faktor perancu antara lain analisis profil lipid dan indeks oksidatif stres. Didapatkan rerata kadar PCSK9 pada kelompok A lebih tinggi dibandingkan pada kelompok B dan kelompok C, yaitu 126,52 (SB 16,68) pg/mL, 74,88 (SB 9,34) pg/mL, dan 38,42 (SB 5,14) pg/mL secara berturut-turut. Pada

pasien DM tipe 2 yang dirawat dilakukan penilaian adanya aterosklerosis dengan modalitas CIMT. Aterosklerosis didefinisikan sebagai penebalan *carotid intima-media* >1,5 mm atau terdapat peningkatan dan protrusi intima karotid ke lumen sebesar >0,5 mm, atau penebalan tunika intima-media >50% pada daerah sekitar tunika. Meskipun menunjukkan adanya hubungan antara PCSK9 dengan aterosklerosis pada penderita DM tipe 2, namun desain penelitian bersifat potong lintang sehingga hubungan kausatif tidak dapat ditentukan.<sup>44</sup>

Seperti yang telah disampaikan sebelumnya, studi yang terlibat dalam telaah sistematis ini memiliki perbedaan modalitas penilaian aterosklerosis. Secara umum, beberapa modalitas pencitraan dilakukan untuk memperkirakan adanya aterosklerosis pada pasien dengan risiko rendah maupun sedang. Pengukuran ketebalan tunika intima melalui ultrasonografi (CIMT), baik dengan ultrasonografi maupun dengan *magnetic resonance imaging* (MRI) adalah salah satu modalitas yang paling sering digunakan. Modalitas lainnya adalah dengan penilaian inti jaringan yang nekrosis pada pemeriksaan *intravascular ultrasound virtual histology* (IVUS-VH), dan penilaian *coronary artery calcification* (CAC) yang dinilai secara *computerized tomography* (CT), serta modalitas arteriografi koroner.<sup>42,49</sup>

Dalam panduan oleh European Society of Cardiology, ultrasonografi sangat berperan dalam penilaian aterosklerosis dini maupun progresi aterosklerosis dan dianggap sebagai penanda pengganti terhadap aterosklerosis. Penebalan tunika intima karotid melalui penilaian CIMT maupun IVUS dalam 20 – 30 tahun terakhir dianggap sebagai pengganti penanda penyakit kardiovaskular yang memiliki akurasi tinggi, meskipun layaknya pemeriksaan ultrasonografi lainnya, penilaian CIMT maupun IVUS sangat bergantung pada operator. Dalam pemindaian aterosklerosis, kedua modalitas ini tidak lebih superior dari satu sama lain, namun karena bersifat lebih invasif, pada pelaksanaan IVUS risiko minimal lebih mungkin terjadi dibandingkan pemeriksaan CIMT.<sup>49</sup>

Xie, dkk.<sup>46</sup>, Ma, dkk.<sup>44</sup>, dan Guo, dkk.<sup>18</sup> menggunakan modalitas CIMT dalam penilaian aterosklerosis meskipun luaran yang dicari tidak sama. Sementara itu, Cheng, dkk.<sup>47</sup> menggunakan modalitas IVUS-VH. Meskipun modalitas yang digunakan berbeda, akan tetapi mengacu pada panduan dari ESC. Penggunaan modalitas baik CIMT maupun IVUS akan memberikan hasil yang tidak jauh berbeda asalkan dilakukan oleh operator yang berpengalaman tinggi, seperti yang dilakukan pada keempat penelitian tersebut.

Sepengetahuan peneliti, studi ini merupakan telaah sistematik pertama mengenai hubungan kadar PCSK9

dengan aterosklerosis pada pasien DM tipe 2. Namun demikian, studi ini masih memiliki beberapa kekurangan di antaranya populasi subjek, desain studi, karakteristik studi serta luaran yang digunakan tidak seragam. Selain itu, terdapat ketidaklengkapan data yang diperlukan dari beberapa penelitian yang disertakan dalam telaah sistematis ini.

## SIMPULAN

Belum ada bukti yang cukup untuk menjelaskan hubungan antara PCSK9 dengan aterosklerosis pada pasien DM tipe 2. Berdasarkan *grading of recommendations, assessment, development, and evaluations*, nilai dari telaah sistematis ini bersifat sedang. Untuk itu, penelitian primer mengenai hubungan kadar PCSK9 dengan aterosklerosis pada pasien DM tipe 2 diperlukan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Baynest HW. Classification, pathophysiology, diagnosis and management of diabetes. *J Diabetes Metab*. 2015;6(5): 1-9.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Balitbangkes) Kementerian Kesehatan RI. Riset kesehatan dasar 2018. Jakarta: Balitbangkes Kemenkes RI; 2018.
- International Diabetes Federation. IDF diabetes atlas. Brussels, Belgium: IDF; 2019.
- World Health Organization. Cardiovascular disease [Internet]. Geneva: WHO; 2017 [accessed July 2020]. Available from: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
- Warraich HJ, Rana JS. Dyslipidemia in diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Cardiovasc Endocrinol*. 2017;6(1):27–32.
- Poznyak A, Grechko A V, Poggio P, Myasoedova VA, Alfieri V, Orekhov AN. The Diabetes mellitus – atherosclerosis connection: the role of lipid and glucose metabolism and chronic inflammation. *Int J Mol Sci*. 2020;21(5):1–13.
- Katakami N. Mechanism of development of atherosclerosis and cardiovascular disease in diabetes mellitus. *J Atheroscler Thromb*. 2018;25(1):27–39.
- Saraswati MR, Gotera W, Agung A, Budhiarta G, Matsumoto K, Kajiwara N, et al. Dyslipidemia in diabetes: a population-based study in Bali. *Int J Gen Med*. 2019;12:313–21.
- Mihardja L, Soetrisno U, Soegondo S. Prevalence and clinical profile of diabetes mellitus in productive aged urban Indonesians. *J Diabetes Investig*. 2014;5(5):507–12.
- Ikezaki H, Lim E, Cupples A, Liu C, Asztalos B, Schaefer EJ. Small dense low-density lipoprotein cholesterol is the most atherogenic lipoprotein parameter in the prospective Framingham offspring study. *J Am Heart Assoc*. 2021;10(5):1-12.
- Jialal I, Singh G. Management of diabetic dyslipidemia: An update. *World J Diabetes*. 2019;10(5):280–90.
- Li Y, Zhao L, Yu D, Ding G. The prevalence and risk factors of dyslipidemia in different diabetic progression stages among middle-aged and elderly populations in China. *PLoS One*. 2018;13(10):1–12.
- Silbernagel G, Scharnagl H, Kleber ME, Delgado G, Stojakovic T, Laaksonen R, et al. LDL triglycerides, hepatic lipase activity, and coronary artery disease: An epidemiologic and Mendelian randomization study. *Atherosclerosis*. 2019;282:37–44.
- Spolito S, Dai W, Zadroga JA, Ozcan L. PCSK9 and lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2019;30(3):186-91.
- Burnett JR, Hooper AJ. PCSK9 — a journey to cardiovascular outcomes. *N Engl J Med*. 2018;379(22):2161–2.
- Paneni F, Costantino S. PCSK9 in diabetes: sweet, bitter or sour? *Eur Heart J*. 2019;40(4):369–71.
- Caselli C, Turco S Del, Ragusa R, Lorenzoni V, Graaf M De, Basta G, et al. Association of PCSK9 plasma levels with metabolic patterns and coronary atherosclerosis in patients with stable angina. *Cardiovasc Diabetol*. 2019;18:1–12.
- Guo W, Gong Y, Li J, Qin P, Lu J, Li X, et al. Nutrition, metabolism & cardiovascular diseases association of serum proprotein convertase subtilisin / kexin type 9 with early atherosclerosis in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2019;29(8):815–21.
- Shapiro MD, Tavori H, Fazio S. PCSK9: from basic science discoveries to clinical trials. *Circ Res*. 2018;122(10):1420–38.
- Lakoski SG, Lagace TA, Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. Genetic and metabolic determinants of plasma PCSK9 levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(7):2537–43.
- Raedler BLA, Writer M. Praluent (alirocumab): first PCSK9 inhibitor approved by the FDA for hypercholesterolemia. *Am Health Drug Benefits*. 2016;3(9):123-6.
- Chaudhary R, Garg J, Shah N, Sumner A. PCSK9 inhibitors: A new era of lipid lowering therapy. *World J Cardiol*. 2017;9(2):76.
- Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, Beam C, Birtcher KK, Blumenthal RS, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APHA/ASPC/NLA/PCNA guideline on the management of blood cholesterol. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73(24):e285–350.
- De Carvalho LSF, Campos AM, Sposito AC. Proprotein convertase subtilisin/ kexin type 9 (PCSK9) inhibitors and incident type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis with over 96,000 patient-years. *Diabetes Care*. 2018;41(2):364–7.
- Chan DC, Pang J, Mcquillan BM, Hung J, Mbbs TDIF, Beilby JP, et al. Plasma proprotein convertase subtilisin / kexin type 9 as a predictor of carotid atherosclerosis in asymptomatic adults. *Hear Lung Circ*. 2015;25(5):520–5.
- Bergheanu SC. Pathophysiology and treatment of atherosclerosis Current view and future perspective on lipoprotein modification treatment. *Neth Heart J*. 2017;25(4)231–42.
- Lin CF, Chang YH, Chien SC, Lin YH, Yeh HY. Epidemiology of dyslipidemia in the Asia Pacific region. *Int J Gerontol*. 2018;12(1):2–6.
- Wu L, Parhofer KG. Diabetic dyslipidemia. *Metabolism*. 2014;63(12):1469–79.
- Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI). Panduan pengelolaan dislipidemia di Indonesia – 2015. Jakarta: PB PERKENI; 2015.
- Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI). Konsensus pengelolaan dan pencegahan diabetes melitus tipe 2 di Indonesia. Jakarta: PB PERKENI; 2015. hal.20.
- Nozue T. Lipid lowering therapy and circulating PCSK9 concentration. *J Atheroscler Thromb*. 2017;24(9):895–907.
- Handelsman Y, Lopor NE. PCSK9 inhibitors in lipid management of patients with diabetes mellitus and high cardiovascular risk: A review. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(13):1-36.
- Tang ZH, Liu LS, Peng J. PCSK9: a novel inflammation modulator in atherosclerosis? *J Cell Physiol*. 2018;234(3):1–11.
- Jim EL. Metabolisme lipoprotein. *J Biomed*. 2013(5):149-56.
- Xu W. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): a promising therapeutic target for cardiovascular diseases. *Enzym Eng*. 2016;05(03):1-2.
- Lin X. Biomedicine & pharmacotherapy role of PCSK9 in lipid metabolism and atherosclerosis. *Biomed Pharmacother*. 2018;104:36–44
- Camille B. Analysis of the association between PCSK9 levels plasma lipid levels cameroonians with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2018;67(1):1
- Schlegel V, Treuner-kaueroff T, Seehofer D, Berg T, Becker S, Ceglarek U, et al. Low PCSK9 levels are correlated with mortality in patients with end-stage liver disease. *PLoS ONE*. 2017;12(7):1–10.
- Brouwers MCGJ, Troutt JS, van Greevenbroek MMJ, Ferreira I, Feskens EJ, van der Kallen CJH, et al. Plasma proprotein convertase subtilisin kexin type 9 is not altered in subjects with impaired glucose metabolism and type 2 diabetes mellitus, but its relationship with non-HDL cholesterol and apolipoprotein B may be modified by type 2 diabetes mellitus: the CODAM study.



Atherosclerosis. 2011;217(1):263–7.

40. Levenson A. Obesity and Type 2 Diabetes are Associated with Elevated PCSK9 Levels in Young Women. HHS public access. *Pediatr Diabetes*. 2017;18(8):755–60.
41. Filippatos TD, Filippas-ntekouan S, Pappa E, Panagiotopoulou T, Tsimihodimos V, Elisaf MS, et al. PCSK9 and carbohydrate metabolism: A double-edged sword. *World J Diabetes*. 2017;8(7):311–6.
42. Lee CJ, Lee Y, Park SW, Kim KJ, Park S, Youn J, et al. Association of serum proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 with carotid intima media thickness in hypertensive subjects. *Metabolism*. 2013;62(6):845–50.
43. Shapiro MD, Fazio S. PCSK9 and Atherosclerosis - Lipids and Beyond. *J Atheroscler Thromb*. 2017;24(5):462–72.
44. Ma J, Shuai H, Xiao J. Value of serum PCSK9 for evaluating the severity in patients with type 2 diabetes mellitus and atherosclerosis. *JHMC*. 2017;23(3):40–3.
45. Leander K, Mälarstig A, Hooft FM Van, Öhrvik J, Hamsten A, Faire UD. Circulating PCSK9 predicts future risk of cardiovascular events independently of established risk factors. *Circulation*. 2016;133(13):1230–9.
46. Xie W, Liu J, Wang W, Wang M, Qi Y, Zhao F, et al. Association between plasma PCSK9 levels and 10-year progression of carotid atherosclerosis beyond LDL-C: A cohort study. *Int J Cardiol*. 2016;215:293–8.
47. Cheng JM, Oemrawsingh RM, Garcia-garcia HM, Boersma E, Geuns R Van, Serruys PW, et al. PCSK9 in relation to coronary plaque inflammation: results of the ATHEROREMO-IVUS study. *Atherosclerosis*. 2016;248:117–22.
48. Papageorgiou N, Briasoulis A, Androulakis E. Imaging Subclinical Atherosclerosis: Where Do We Stand? *Curr Cardiol Rev*. 2017;13(1):47–55.
49. Kastelein JJP, Groot E De. Ultrasound imaging techniques for the evaluation of cardiovascular therapies. *Eur Heart J*. 2008;29(7):849–58