

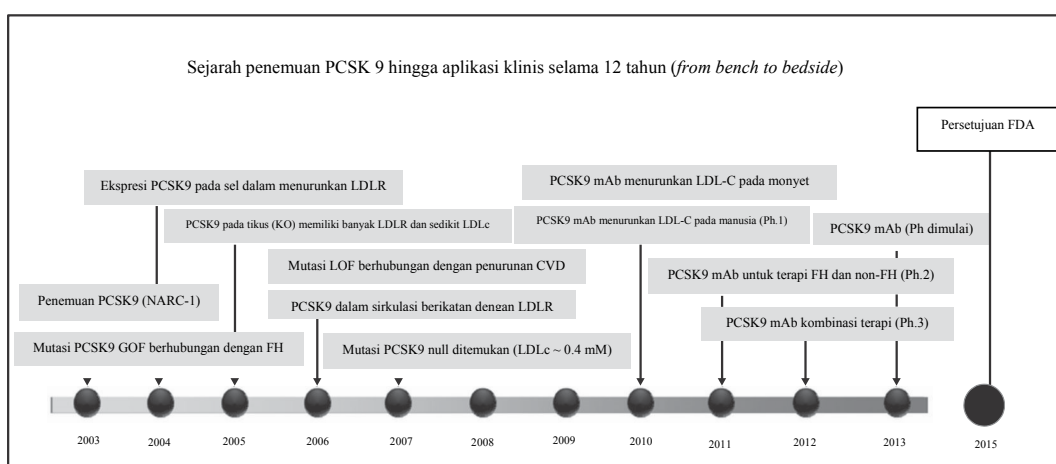
Perkembangan Implikasi Biologi dan Klinis Proprotein Convertase Subtilisin-Kexin 9

Djangan Sargowo

Pada tahun 2003 *Proprotein Convertase Subtilisin-Kexin 9* (PCSK9) berhasil diidentifikasi.¹ PCSK9 berfungsi meningkatkan kadar *LDL Cholesterol* (LDL-C) melalui degradasi *LDL Receptor* (LDLR).² Penemuan PCSK9 telah merevolusi serta merupakan perkembangan terpenting pada bidang riset kardiovaskular satu dekade terakhir, terutama dalam regulasi LDL-C.¹

PCSK9, LDL Receptor, dan Regulasi LDL Cholesterol

Potensi terapi inhibisi PCSK9 dapat melalui penggunaan *monoclonal antibodies* (mAbs) yang mengubah struktur subunit katalitik PCSK9 secara alosterik sehingga mencegahnya untuk berinteraksi dengan domain *Epidermal Growth Factor* dari LDLR, dengan



Gambar 1. Sejarah penemuan PCSK 9 hingga aplikasi klinis. CVD: *cardiovascular disease*; FH: *familial hypercholesterolemia*; GO: *gain-of-function*; KO: *knockout*; LDL-C: *LDL cholesterol*; LDLR: *LDL receptor*; LOF: *loss-of-function*.

Alamat Korespondensi

Prof. Dr. dr. Djangan Sargowo, SpPD, SpJP(K)
Departemen Kardiologi dan Kedokteran Vaskular Fakultas
Kedokteran Universitas Brawijaya – RSUD dr. Saiful Anwar Malang.
E-mail: djangan@yahoo.com

demikian dapat meningkatkan konsentrasi LDLR dan menurunkan kadar LDL-C plasma.³ Perkembangan pesat pengetahuan dan aplikasi mengenai PCSK9 terjadi kurang dari 12 tahun dan telah menghasilkan lebih dari 1600 publikasi. Injeksi subkutan mAbs

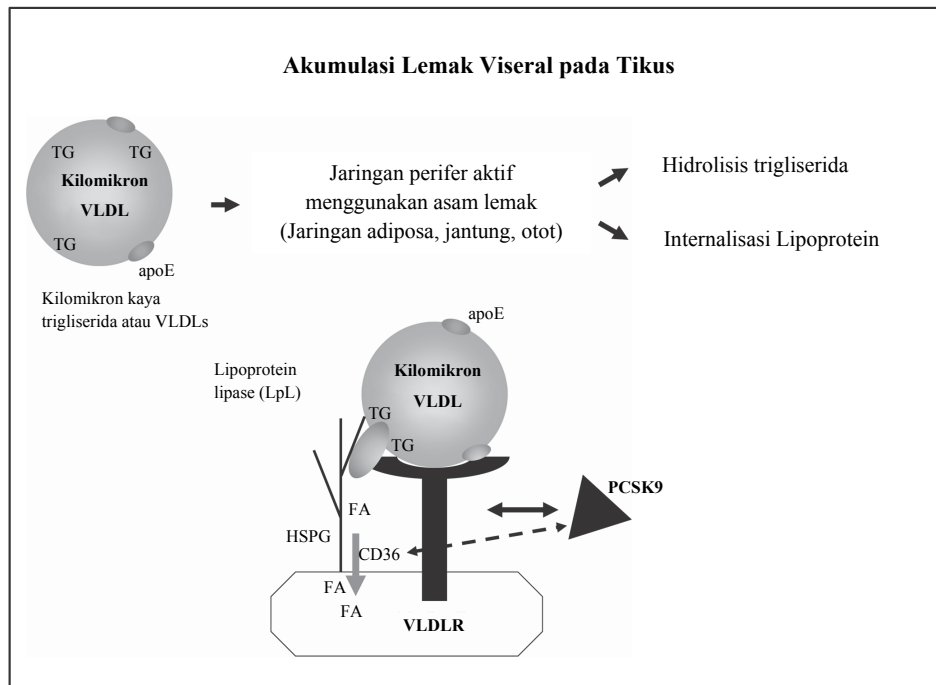
setiap 2 atau 4 minggu adalah terapi yang paling efektif dalam menurunkan LDL-C.⁴ Evolocumab dan Alirocumab telah ada di pasaran sejak bulan Agustus/September 2015. Berbagai ulasan telah menunjukkan hasil trial fase II/III mengenai efek injeksi PCSK9 mAbs pada berbagai pasien hiperkolesterolemia. Secara garis besar, injeksi mAbs tersebut menurunkan 50-60% LDL-C dan 30-35% partikel lipoprotein(a) yang sangat aterogenik.⁵ Penurunan lipoprotein(a) tersebut disebabkan karena LDLR menjadi reseptor fungsional komponen ApoB dari lipoprotein(a).¹

Hasil *clinical trial* telah menunjukkan terapi PCSK9-mAbs mampu menurunkan ~50% kejadian kardiovaskular dalam satu tahun terapi, meskipun berbagai *clinical trial* fase III yang masih berlangsung dan hasilnya tidak diketahui hingga tahun 2016/2017.¹¹ Fakta bahwa PCSK9 diinaktivasi oleh protease lain seperti Proprotein Convertase Furin dapat membuka strategi baru dalam menurunkan kadar PCSK9.¹

Laporan terbaru mengusulkan penggunaan vaksin anti-PCSK9 yang fungsional hingga satu tahun. Vaksin tersebut dilaporkan dapat menurunkan ~50% LDL-C dan ~30% kolesterol total pada tikus.³ Laporan tersebut mengusulkan bahwa tipe vaksin ini dapat ditoleransi dengan baik untuk tatalaksana penurunan LDL-C jangka panjang, dan dapat menjadi pendekatan terapi terbaru dalam pencegahan dan/atau terapi hiperkolesterolemia pada manusia. Namun, potensi negatif jangka panjang pendekatan tersebut tidak boleh diremehkan. Kekurangan PCSK9 dalam jangka panjang dapat meningkatkan kerentanan infeksi virus.¹

Target Degradasi Reseptor oleh PCSK9, Metabolisme Triglicerida, dan Efek Bergantung Jenis Kelamin

Meskipun mekanisme degradasi LDLR yang dipicu



Gambar 2. Akumulasi lemak visceral pada tikus tanpa PCSK9. Ikatan VLDL atau kilomikron kaya trigliserida pada VLDLR membentuk kompleks dengan HSPG dan Lipoprotein Lipase, yang menghidrolisa trigliserida menjadi asam lemak bebas yang masuk *adiposity* dengan perantara CD36. Pada kondisi penurunan PCSK9, peningkatan VLDLR menyebabkan akumulasi lemak visceral dan *hipertrophy adiposity*. HSPG: *heparan sulfate proteoglycans*; VLDLR: *VLDL receptor*.¹

oleh PCSK9 masih belum diketahui, PCSK9 juga mendegradasi anggota lain dari kelompok LDLR dan juga menurunkan kadar protein jaringan selain hepar, seperti usus kecil, pankreas, dan jaringan adiposa. Target PCSK9 lain di antaranya adalah *VLDL Receptor* (VLDLR), ApoER2, LRP-1, dan transporter asam lemak CD36. Berbeda dari kelompok LDLR dengan PCSK9 mengenai lisosom melalui *clathrin-coated vesicles*, kompleks PCSK9-CD36 mengenai lisosom melalui proteasome. Jalur yang terakhir tersebut belum diketahui apakah interaksinya terjadi secara langsung atau memerlukan protein tambahan lainnya.⁸

Akumulasi lemak pada jaringan adiposa dan hipertrofi adiposit yang diobservasi pada tikus tanpa PCSK9 disebabkan karena rendahnya PCSK9 dapat meningkatkan VLDLR dan CD36. Namun, tikus tanpa PCSK9 menunjukkan peningkatan ambilan asam lemak bebas oleh hepar serta akumulasi trigliserida dan lipid droplets. Data tersebut menunjukkan metabolisme trigliserida terpengaruh dalam kondisi tidak adanya PCSK9.¹ Mega-analisis dari trial PCSK9 mAbs fase II menunjukkan bahwa trigliserida menurun secara signifikan sebesar 16-26% pada kondisi penurunan aktivitas PCSK9, terutama pada pasien yang memiliki kadar trigliserida tinggi.⁹ Penurunan PCSK9 plasma relatif dibanding apolipoprotein B (ApoB) berkaitan dengan risiko metabolik dan disfungsi jaringan adiposa putih pada pasien obesitas yang normoglikemik. Hal ini menunjukkan bahwa rasio ApoB/PCSK9 merupakan indeks klinis yang lebih baik dibandingkan dengan kadar PCSK9 saja pada deteksi gangguan metabolik tahap awal yang dipicu oleh penurunan PCSK9 plasma.¹

Jumlah LDLR yang dipresentasikan pada permukaan sel hepatosit dipengaruhi oleh jenis kelamin. Distribusi LDLR di permukaan sel meningkat drastis pada tikus jantan, namun tidak pada tikus betina. Distribusi LDLR pada pankreas juga lebih tinggi pada tikus jantan dibanding betina. Estrogen merupakan faktor yang memengaruhi perbedaan distribusi subselular LDLR dan VLDLR berdasarkan jenis kelamin tersebut. Hal ini didasarkan pada fakta bahwa tikus betina dengan kadar PCSK9 rendah yang dilakukan ovariektomi dan diberikan plasebo menunjukkan pola distribusi LDLR yang mirip tikus jantan. Namun, pemberian 17[beta]-estradiol menunjukkan pola yang sama dengan tikus betina.¹⁰ Apakah terapi ini memiliki efikasi yang lebih rendah pada wanita pramenopause (dengan tingkat estradiol

tinggi) dibandingkan pada laki-laki? Analisis data klinis yang terkumpul dari fase II dan III mengenai kemungkinan pengaruh jenis kelamin terhadap PCSK9 mAbs mungkin akan dapat menjawab pertanyaan tersebut.¹

PCSK9 pada Usus Kecil dan Ginjal

Selain pada hepatosit, PCSK9 juga dieksresikan pada usus kecil, ginjal, dan dalam jumlah kecil pada cerebellum. Hepar merupakan sumber PCSK9 sirkulasi. Tikus tanpa PCSK9 spesifik hepar menunjukkan bahwa hepar berperan pada dua pertiga fenotip hipokolesterolemia pada total tikus. Hal tersebut menyimpulkan bahwa organ lain juga berperan pada aktivitas fisiologis PCSK9.¹

Cara ekskresi kolesterol dari tubuh adalah melalui feses, baik itu setelah dikonversi menjadi asam empedu atau dengan ekskresi kolesterol langsung melalui enterosit dengan cara Transintestinal Cholesterol Excretion (TICE). TICE mencakup ~30% total sekresi kolesterol pada tikus, terdiri atas partikel yang mengandung ApoB, termasuk LDL-C. Data menunjukkan bahwa injeksi PCSK9 intravena tidak berpengaruh secara signifikan pada aktivitas TICE pada tikus tanpa LDLR.¹

Meskipun ginjal bersifat sensitif terhadap PCSK9 sirkulasi, PCSK9 tidak disekresi melalui urine. PCSK9 tidak berperan dalam regulasi tekanan darah meskipun pada kondisi hipertensi yang diinduksi. Meskipun fungsi PCSK9 endogen pada ginjal masih belum diketahui, pasien dengan penyakit ginjal kronis menunjukkan peningkatan ekspresi PCSK9 hepar dan sirkulasi.¹¹

PCSK 9 dan Sepsis

Sepsis merupakan penyakit yang kompleks dengan karakteristik inflamasi dan koagulasi sistemik, paling banyak disebabkan infeksi bakterial. *Severe sepsis*, ketika sepsis disertai disfungsi setidaknya satu organ, diderita ~0,3-1% individu per tahun di Amerika Serikat dengan angka mortalitas ~30%.¹² Telah menjadi kesepakatan bahwa perbaikan klirens mikrobial dan penurunan persebaran infeksi dapat meminimalkan severitas sepsis. Tikus tanpa LDLR menunjukkan peningkatan mortalitas terhadap sepsis. Hal ini menunjukkan bahwa LDLR memiliki peran penting

pada sepsis. Inhibisi PCSK9 dapat menurunkan ikatan endotoksin bakteri terhadap *Toll-like Receptor* dengan cara menurunkan availabilitas endotoksin melalui peningkatan klirens hepatik. Administrasi mAbs terhadap PCSK9 diharapkan dapat memberikan efek protektif terhadap sepsis. Berdasarkan hal tersebut, pasien dengan familial hiperkolesterolemia lebih rentan terhadap syok sepsis.¹

PCSK9 dan Infeksi Virus

Virus hepatitis C (HCV) berkaitan dengan lipoprotein untuk membentuk partikel lipoviral yang dapat memfasilitasi masuknya virus ke hepatosit. Proses perlekatan tersebut melalui HSPG dan LDLR, kemudian dimediasi oleh CD81. Seperti disebutkan sebelumnya, CD81 dan LDLR merupakan target dari PCSK9, dengan peningkatan PCSK9 dapat menurunkan kemampuan virus, contohnya HCV, untuk melakukan penetrasi ke dalam hepatosit. Hal ini mendukung hipotesis bahwa PCSK9 memiliki peran protektif pada infeksi HCV. Studi terbaru menunjukkan kadar PCSK9 dan LDL-C plasma yang tinggi berkaitan dengan penurunan titer pada individu dengan infeksi kronis HCV genotip 3, namun tidak pada individu HCV genotip 1 atau 2. Kemungkinan peran protektif PCSK9 pada infeksi virus manusia lainnya seperti *rhinovirus*, *norovirus*, *vesicular stomatitis virus*, dan virus lain yang melalui LDLR atau reseptor lain yang berkaitan, merupakan suatu hal penting untuk segera diketahui.¹

Kesimpulan

Ulasan ini mempresentasikan berbagai sisi dari PCSK9, terutama pada kemampuan untuk memicu degradasi LDLR dan VLDLR di hepar, usus kecil, pankreas, dan jaringan adiposa. Penemuan terbaru mengenai regulasi LDLR/VLDLR dependen terhadap estrogen mungkin dapat memiliki implikasi terapi. Saat ini merupakan periode yang sangat menarik bagi bidang dislipidemia. Ditemukannya terapi berbasis PCSK9 dalam menurunkan LDL-C merupakan kabar baik bagi pasien hiperkolesterolemia yang tidak mencapai target kadar LDL-C menggunakan terapi yang tersedia saat ini. Namun, pemahaman mengenai fungsi PCSK9 di jaringan selain hepar masih kurang dan membutuhkan investigasi lebih lanjut di masa depan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Seidah, dkk. atas rubrik dan tulisannya.

Daftar Singkatan

ApoB: apolipoprotein B
 CVD: *cardiovascular disease*
 FH: *familial hypercholesterolemia*
 GO: *gain-of-function*
 HCV: virus hepatitis C
 HSPG: *heparan sulfate proteoglycans*
 KO: *knockout*
 LDL-C: *LDL Cholesterol*
 LDLR: *LDL Receptor*
 LOF: *loss-of-function*
 mAbs: *monoclonal antibodies*
 PCSK9: *Proprotein Convertase Subtilisin-Kexin 9*
 TICE: *transintestinal cholesterol excretion*
 VLDLR: *VLDL Receptor*

Daftar Pustaka

1. Seidah, Nabil G. New Developments in proprotein convertase subtilisin-kexin 9's biology and clinical implications. *Curr Opin Lipidol*. 2016;27:274-81.
2. Benjannet S, Rhainds D, Essalmani R, et al. NARC-1/PCSK9 and its natural mutants: zymogen cleavage and effects on the low density lipoprotein (LDL) receptor and LDL cholesterol. *J Biol Chem*. 2004;279:48865-75.
3. Chan JC, Piper DE, Cao Q, et al. A proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 neutralizing antibody reduces serum cholesterol in mice and nonhuman primates. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106:9820-5.
4. Stein EA, Raal F. Reduction of low-density lipoprotein cholesterol by monoclonal antibody inhibition of PCSK9. *Annu Rev Med*. 2014;65:417-31.
5. Seidah NG, Awan Z, Chretien M, Mbikay M. PCSK9: A key modulator of cardiovascular health. *Circ Res*. 2014;114:1022-36.
6. Sabatine MS, Giugliano RP, Wiviott SD, et al. Efficacy and safety of evolocumab in reducing lipids and cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2015;372:1500-9.
7. Galabova G, Brunner S, Winsauer G, et al. Peptide-based anti-PCSK9 vaccines—An approach for long-term LDLc management. *PLoS One*. 2014;9:e114469.
8. Demers A, Samani S, Lauzier B, et al. PCSK9 induces CD36 degradation and affects long-chain fatty acid uptake and triglyc-

- eride metabolism in adipocytes and in mouse liver. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015;35:2517–25
9. Stein EA, Giugliano RP, Koren MJ, et al. Efficacy and safety of evolocumab (AMG 145), a fully human monoclonal antibody to PCSK9, in hyperlipidaemic patients on various background lipid therapies: pooled analysis of 1359 patients in four phase 2 trials. *Eur Heart J.* 2014;35:2249–59.
 10. Roubtsova A, Chamberland A, Marcinkiewicz J, et al. PCSK9 deficiency unmasks a sex/tissue-specific subcellular distribution of the LDL and VLDL receptors in mice. *J Lipid Res.* 2015;56:2133–42.
 11. Konarzewski M, Szolkiewicz M, Sucajtys-Szulc E, et al. Elevated circulating PCSK-9 concentration in renal failure patients is corrected by renal replacement therapy. *Am J Nephrol.* 2014;40:157–63.
 12. Gaieski DF, Edwards JM, Kallan MJ, Carr BG. Benchmarking the incidence and mortality of severe sepsis in the United States. *Crit Care Med.* 2013;41:1167–74.