

KORELASI KADAR *TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA 1* PLASMA, *PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR 1* DAN MANIFESTASI PERDARAHAN PADA DEMAM BERDARAH DENGUE

(*CORRELATION BETWEEN PLASMA TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA 1, PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR-1 AND HEMORRHAGIC MANIFESTATION IN DENGUE HEMORRHAGIC FEVER*)



Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat S-2 dan memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Kesehatan Anak

Yusrina Istanti

**PROGRAM PASCASARJANA
MAGISTER ILMU BIOMEDIK
DAN
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
ILMU KESEHATAN ANAK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG
2009**

TESIS

KORELASI KADAR *TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA 1* PLASMA DENGAN *PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR - 1* DAN MANIFESTASI PERDARAHAN PADA DEMAM BERDARAH DENGUE

disusun oleh:

**Yusrina Istanti
G3C004027 / G4A004048**

**Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 7 Mei 2009
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima**

**Menyetujui,
Komisi Pembimbing**

Pembimbing Utama

Dr. dr. Tatty Ermin Setiati, SpAK, PhD
NIP. 140061237

Mengetahui,
Ketua Program Studi
PPDS Ilmu Kesehatan Anak

dr. Alifiani Hikmah P, SpA(K)
NIP. 140214483

Pembimbing Kedua

dr. Kisdjamiatun RMD., MSc
NIP. 131916041

Mengetahui,
Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik

Dr.dr. Winarto, SpMK, SpM(K)
NIP. 130675157

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Hasil penelitian ini selanjutnya menjadi milik Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RSUP Dr. Kariadi Semarang dan karenanya untuk kepentingan publikasi keluar harus seijin Ketua Bagian tersebut di atas.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Semarang, Maret 2009

Yusrina Istanti

RIWAYAT HIDUP

Data Pribadi

- Nama : Yusrina Istanti
- Jenis Kelamin : Perempuan
- Tempat dan Tanggal Lahir : Semarang, 7 Desember 1971
- Agama : Islam
- Status : Menikah
- Alamat : Karang Asem Kaligawe 383 Semarang

Riwayat Pendidikan

- Sekolah Dasar Islam Badan Wakaf Sultan Agung 4 Semarang, Lulus tahun 1984
- Sekolah Menengah Pertama Negeri 3 Semarang, lulus tahun 1987
- Sekolah Menengah Atas Muhammadiyah 1 Semarang, lulus tahun 1990
- Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, lulus 1998
- PPDS-I Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro - Semarang, Januari 2005 - sekarang
- Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro – Semarang, Januari 2005 – sekarang

Riwayat Pekerjaan

- ♦ Agustus 2000 – Agustus 2001, sebagai Dokter PTT di Puskesmas Karanganyar I, Kecamatan Karanganyar, Kabupaten Demak, Jawa Tengah.
- ♦ Agustus 2001 – Agustus 2003, sebagai Dokter PTT di Puskesmas Demak II, Kecamatan Mulyorejo, Kabupaten Demak, Jawa Tengah.
- ♦ September 2003 – Desember 2004, sebagai dokter poliklinik IKIP PGRI Semarang.

Riwayat Keluarga

1. Nama orang tua : Bapak : M. Suhud (Alm) Ibu : Asiah Nuri
2. Nama suami : Teguh Trianggono, SPd
3. Nama anak : Hanifah Fairuza Prabarini
Afifah Luthfiana Prabarini
4. Nama kakak : Nur Cholis Andi Syahri
5. Nama adik : Nur Hakim Andi Helmi, SS
dr. Evi Indriani
Nur Halim Andi Fahri, SH
dr. Dian Ayu Zahraini
Nur Rizka Andi Fathoni
Najmi Rizki Khairani, SSos

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena berkat karunia-Nya, Laporan Penelitian yang berjudul **“Korelasi Kadar *Transforming Growth Factor - β 1* Plasma, *Plasminogen Activator Inhibitor 1* dan Manifestasi Perdarahan pada Demam Berdarah Dengue“** dapat saya selesaikan, guna memenuhi sebagian persyaratan dalam mencapai derajat S-2 dan memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Kesehatan Anak (IKA) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro (FK UNDIP).

Saya menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna karena keterbatasan yang saya miliki. Namun karena dorongan keluarga, bimbingan guru-guru dan teman-teman, maka tulisan ini dapat terwujud.

Banyak sekali pihak yang telah berkenan membantu saya dalam menyelesaikan penulisan ini, jadi kiranya tidaklah berlebihan apabila pada kesempatan ini saya menghaturkan rasa terima kasih dan penghormatan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Rektor Universitas Diponegoro Semarang, Prof. DR. dr. Susilo Wibowo, MS. Med, Sp.And dan mantan Rektor Prof. Ir. Eko Budiardjo, M.Sc dan beserta jajarannya yang telah memberikan ijin bagi saya untuk menempuh PPDS-1 IKA FK UNDIP Semarang.
2. Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro, Prof. Drs. Y. Warella, MPA, Ph.D yang telah memberikan ijin kepada saya untuk menempuh Program Pasca Sarjana UNDIP Semarang.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana UNDIP Semarang DR. dr. Winarto, Sp.MK, SpM, Prof. dr. Edi Dharmana, PhD, SpPar(K), dan dr. Kusmiyati DK, yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberi pengarahan dan dukungan moril selama pendidikan.
4. Dekan FK UNDIP dr. Soejoto, PAK, Sp.KK(K) beserta jajarannya yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti PPDS-1 IKA FK UNDIP.

5. Direktur Utama Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang dr. Budi Riyanto, Sp.PD, M.Sc, beserta jajaran Direksi yang telah memberikan ijin kepada saya untuk menempuh PPDS-1 IKA di Bagian IKA / SMF Kesehatan Anak di RSUP Dr. Kariadi Semarang.
6. Ketua Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UNDIP / SMF Kesehatan Anak RSUP Dr. Kariadi Semarang, dr. Dwi Wastoro SpA(K) serta dr. Kamilah Budhi R, SpA(K) dan dr. Budi Santosa, Sp.A(K) selaku mantan Ketua Bagian Ilmu Kesehatan Anak RSUP Dr. Kariadi Semarang yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti PPDS-1.
7. Yang terhormat, DR. dr. Tatty Ermin Setiati, SpA(K), PhD, sebagai Pembimbing Utama dalam penelitian ini, secara khusus saya sampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya atas segala ketulusannya dalam memberikan bimbingan, wawasan, arahan dan meluangkan waktu sehingga saya dapat penyelesaian penelitian ini.
8. Saya sampaikan juga ucapan terima kasih kepada dr. Kisdjmitun RMD., MSc sebagai Pembimbing Kedua dalam penelitian ini atas segala ketulusannya, dalam memberikan bimbingan, motivasi, wawasan, arahan sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian ini.
9. Ketua Program Studi PPDS-1 IKA FK UNDIP, dr. Alifiani Hikmah P, SpA(K) dan Direktur Keuangan Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang / mantan Ketua Program Studi PPDS-1 IKA FK UNDIP, dr. Hendriani Selina, MARS, Sp.A(K) saya sampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya atas pengertian dalam memberikan arahan, dorongan dan motivasi terus-menerus dalam menyelesaikan penelitian ini.
10. Dosen wali saya, Prof. DR. dr. Harsoyo N, Sp.A(K), DTM&H, saya ucapkan terima kasih atas bimbingan dan dorongan yang terus-menerus kepada saya dalam penyusunan penelitian ini.
11. Prof. DR. dr. Tjahyono, Sp.PA(K), FIAC, Prof. DR. dr. Ag. Soemantri SpA(K), PhD, Prof. dr. Lisyani Suromo SpPK(K), DR. dr. Tatty Ermin Setiati, SpA(K), PhD, dr. Niken Puruhita SpGK, saya ucapkan terima kasih

yang sebesar-besarnya atas kesediaannya sebagai tim penguji Proposal serta segala bimbingannya untuk perbaikan dan penyelesaian Tesis ini.

12. Para guru besar dan guru-guru saya, staf pengajar di Bagian IKA Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RS. Dr. Kariadi Semarang : Prof. dr. Moeljono S. Trastotenojo, Sp.A(K), Prof. DR. dr. Ag. Soemantri, Sp.A(K), Ssi (Stat), Prof. DR. dr. I. Sudigbia, Sp.A(K), Prof. DR. dr. Lydia Kristanti K, Sp.A(K), Prof. DR. dr. Harsoyo N, Sp.A(K), DTM&H, DR. dr. Tatty Ermin S, Sp.A(K), P.hD, dr. R. Rochmanadji Widajat, Sp.A(K), MARS, DR. dr. Tjipta Bachtera, Sp.A(K), dr. Moedrik Tamam, Sp.A(K), dr. H.M. Sholeh Kosim, Sp.A(K), dr. Rudy Susanto, Sp.A(K), dr. I. Hartantyo, Sp.A(K), dr. Herawati Juslam, Sp.A(K), dr. JC Susanto, Sp.A(K), dr. Agus Priyatno, Sp.A(K), dr. Asri Purwanti, Sp.A(K), MPd, dr. Bambang Sudarmanto, Sp.A(K), dr. MM DEAH Hapsari, Sp.A(K), dr. Mexitalia Setiawati, Sp.A(K), dr. M. Herumuryawan, Sp.A, dr. Gatot Irawan Sarosa, Sp.A, dr. Anindita S, Sp.A, dr. Wistiani, Sp.A, dr. M. Supriatna, SpA, dr. Fitri Hartanto Sp.A, dr. Omega Mellyana, SpA, dr. Ninung Rose Diana, SpA, dr. Yetty Moevieta, SpA, dr. Nahwa Arkhaesi, SpA yang telah berperan besar dalam proses pendidikan saya.
13. dr. Hardian, MSc dan dr. M. Sakundarno, MSc yang telah dengan tulus hati membantu peneliti dalam pengolahan data, membimbing dan memberi arahan dalam penyusunan laporan penelitian kami.
14. Seluruh teman sejawat peserta PPDS-I, khususnya kepada anggota Tim DHF 2005-2006, dr. Liku Satriani, dr. Ni Putu Aniek Mahayani, dr. Haryson Tondy W, dr. Abdul Hakam, dr. Zuhrawardi dan dr. Novita Wijayanti, SpA, atas kerjasama yang baik, saling membantu dan memotivasi.
15. Rekan-rekan dari Lab. Bioteknologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Sdr. Taufik dan Sdri. Wiwik Lestari dan dari Lab. Patologi Klinik RSUP Dr. Kariadi Semarang, Sdr. Agus Kismono dan Sdr. Supriyanto, serta rekan-rekan perawat RSUP Dr. Kariadi Semarang atas kerjasama dan bantuannya selama ini.

16. Orang tua tercinta Bapak M. Suhud (alm), Ibunda Asiah Nuri dan kakak serta adik tersayang, Mas Alis, Hakim, Epi, Ari, Ayu, Oon, Rani, atas bantuan, perhatian, dukungan, nasihat dan doa tulus sejak saya memulai pendidikan hingga sekarang. Suami terkasih, Teguh Trianggono, SPd, tak ada yang sepadan untuk membalas besarnya cinta dan kesabaran dalam membantu dalam segala hal, serta buah hati kami, Fafa dan Fifi, yang selalu menjadi penyejuk hati dan penyemangat saat suka dan duka.
17. Kepada semua pasien dan keluarganya yang telah turut berpartisipasi secara ikhlas dalam penelitian ini, saya sampaikan terima kasih serta penghargaan setinggi-tingginya. Kepada anak-anak yang telah berpulang, semoga Allah memberi tempat terbaik disisinya dan memberi ketabahan pada keluarga yang ditinggalkan, sementara bagi anak-anak yang berhasil sembuh, semoga senantiasa dianugerahkan kesehatan serta usia panjang. Untuk mereka semua penelitian ini saya persembahkan.

Saya juga sampaikan terima kasih tak terhingga kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah mendukung dan membantu dalam menyelesaikan penelitian ini. Allah kiranya membalas segala kebaikan dan dukungannya.

Akhirnya dari lubuk hati yang paling dalam, penulis juga menyampaikan permintaan maaf kepada semua pihak yang mungkin telah mengalami hal yang kurang berkenan dalam berinteraksi dengan penulis selama kegiatan penelitian ini. Semoga Allah Maha Kasih senantiasa melimpahkan berkat dan karunia-NYA kepada kita sekalian, Amin.

Semarang, Maret 2009

Yusrina Istanti

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBARAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
RIWAYAT PEKERJAAN / RIWAYAT KELUARGA	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
ABSTRACT	xvii
I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	5
1.5. Originalitas Penelitian	5
II TINJAUAN PUSTAKA	7

2.1. Demam berdarah dengue	7
2.1.1. Sejarah dan epidemiologi DBD	7
2.1.2. Etiologi	8
2.1.3. Patogenesis DBD	9
2.1.3.1. Peran TGF- β 1 pada patogenesis DBD	10
2.1.3.2. Patogenesis perdarahan pada DBD	13
2.1.3.3. PAI-1 pada DBD	17
2.1.3.4. Hubungan TGF- β 1 dengan PA-1	17
2.1.4. Manifestasi Klinis Infeksi Dengue	18
2.1.4.1. Manifestasi Klinis Demam Dengue	18
2.1.4.2. Manifestasi Klinis DBD	19
2.1.4.3. Manifestasi Klinis Sindrom Syok Dengue (SSD)	20
2.1.5. Pemeriksaan Laboratorium	21
2.1.6. Kriteria diagnosis dan derajat berat infeksi dengue	22
2.1.7. Hubungan sepsis dan DBD	23
2.1.8. Hubungan status gizi dan DBD	24
2.2. Kerangka Teori	25
2.3. Kerangka Konsep	26
III METODE PENELITIAN	27
3.1. Ruang Lingkup Pelitian	27
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	27
3.3. Rancangan Penelitian	27

3.4. Populasi dan Sampel	27
3.5. Besar Sampel	28
3.6. Identifikasi Variabel	29
3.7. Alur penelitian	31
3.8. Manajemen dan Analisis Data	32
3.9. Etika Penelitian	32
IV HASIL PENELITIAN	33
4.1. Karakteristik subyek penelitian	33
4.2. Karakteristik DBD dan manifestasi perdarahan	34
4.3. Kadar TGF- β 1 dan PAI-1 pada penderita DBD	36
4.4. Korelasi antara kadar TGF- β 1 dengan PAI-1	37
V PEMBAHASAN	39
VI SIMPULAN DAN SARAN	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN-LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 1	Karakteristik subyek penelitian	33
Tabel 2	Karakteristik penyakit DBD yang diderita	34
Tabel 3	Jenis manifestasi perdarahan pada subyek penelitian	35
Tabel 4	Pengelompokan manifestasi perdarahan pada hari ke-0 dan ke-2 subyek penelitian	36
Tabel 5	Perbedaan kadar TGF- β 1 dan PAI-1 hari ke-0 dan ke-2 .	37
Tabel 6	Korelasi antara kadar TGF- β 1 dan PAI-1 dan manifestasi perdarahan pada hari ke-0 dan ke-2 pada subyek penelitian	37

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 Endotel teraktivasi	16

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Sampel penelitian
- Lampiran 2 Cara pemeriksaan kadar TGF- β_1
- Lampiran 3 Cara pemeriksaan PAI-1
- Lampiran 4 Hasil-hasil pengolahan data dengan SPSS 15.0
- Lampiran 5 Ethical Clearance
- Lampiran 6 Lembar *Informed Consent*
- Lampiran 7 Case Record Form

DAFTAR SINGKATAN

DBD	: Demam Berdarah Dengue
DD	: Demam Dengue
ER	: <i>Extracellular signal Regulated</i>
ICAM	: <i>Intercellular Adhesion Molecule</i>
IFN	: interferon
IL-	: interleukin
IMT	: indeks massa tubuh
MAP	: <i>Mitogen Activated Protein</i>
MEK	: MAP/ER kinase
MHC	: <i>major histocompatibility complex</i>
NO	: nitric oxide
PAI-1	: <i>Plasminogen Activator Inhibitor-1</i>
PAF	: <i>Platelet Activating Factor</i>
RANTES	: <i>Regulated And Activation T cell Excretion And Secretion</i>
Sel NK	: <i>Sel Natural Killer</i>
SSD	: Sindroma Syok Dengue
TGF β 1	: <i>Transforming Growth Factor Beta 1</i>
TNF α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alfa</i>
tPA	: <i>tissue Plasminogen Activator</i>
uPA	: <i>urokinase Plasminogen Activator</i>
VCAM	: <i>Vascular Cell Adhesion Molecule</i>

ABSTRACT

Background. Immunity responses play a role in the clinical severity of dengue viral infections, and both antiinflammatory and proinflammatory cytokines are responsible for it. *Transforming growth factor beta 1 (TGF-β1)* is one of cytokines that suggested taking apart in pathogenesis of dengue hemorrhagic fever (DHF), and *Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1)* especially affects the hemorrhagic manifestation.

Aims. To determine the correlation between TGF-β1, PAI-1 and hemorrhagic manifestation in DHF.

Methods. This is an observational analytic study with cross sectional design. Subjects were DHF patients that hospitalized in Dr. Kariadi Hospital during July 2005 – July 2006, 3-14 years old and had written informed consent. TGF-β1 and PAI-1 were measured by ELISA. The correlation test was used to determine the correlation between TGF-β1, PAI-1 levels and hemorrhagic manifestation at day-0 and day-2.

Results. Only 51 (61,4%) of 83 participated subjects could be analyzed. Mostly females, with means of age $7,4 \pm 2,5$ years, fever onset $4,1 \pm 1,5$ days, length of stay $5,4 \pm 4,2$ days. Means of TGF-β1 levels on day-2 (46360 ± 29766 pg/ml) were higher than day-0 ($36457,8 \pm 19234$ pg/ml); $p=0,09$, whereas PAI-1 levels on day-2 ($58,5 \pm 5,7$ ng/ml) were lower than day-0 ($102,2 \pm 5,9$ ng/ml); $p=0,003$. Correlation test between TGF-β1 to PAI-1 levels and hemorrhagic manifestation on day-0 ($r=-0,36$, $p=0,009$ and $r=-0,24$, $p=0,09$); on day-2 ($r=-0,12$, $p=0,4$ and $r=-0,0057$, $p=0,7$). Correlation test between PAI-1 levels and hemorrhagic manifestation on day 0 and day 2 ($r=0,28$; $p=0,04$ and $r=0,13$; $p=0,3$)

Conclusions. Significant correlation of TGF-β1 to PAI-1 levels is showed on day-0, but is not on day-2, whereas correlation of TGF-β1 to hemorrhagic manifestation is not significant. Significant correlation between PAI-1 levels and hemorrhagic manifestation is showed on day 0 but not on day 2.

Keywords. *DHF, TGF-β1, PAI-1, hemorrhagic manifestation*

ABSTRAK

Latar Belakang. Respons kekebalan tubuh berperan pada klinis beratnya infeksi virus dengue, dan baik sitokin antiinflamasi maupun proinflamasi bertanggung jawab terhadap hal tersebut. *Transforming growth factor* beta 1 (TGF- β 1) merupakan salah satu sitokin yang diperkirakan berperan dalam patogenesis demam berdarah dengue (DBD) sedangkan *plasminogen activator inhibitor 1* (PAI-1) terutama berperan pada manifestasi perdarahan.

Tujuan. Untuk mengetahui korelasi antara kadar TGF- β 1 terhadap PAI-1 dan manifestasi perdarahan pada DBD.

Metode. Penelitian ini merupakan observasional analitik dengan desain belah lintang. Subjek yang diteliti adalah anak-anak yang dirawat dengan DBD di bangsal anak RSUP. Dr. Kariadi selama bulan Juli 2005 – Juli 2006, berusia 3-14 tahun yang bersedia berpartisipasi secara tertulis. Digunakan uji korelasi untuk mengetahui hubungan TGF- β 1 dengan PAI-1 dan manifestasi perdarahan pada pemeriksaan hari ke-0 dan ke-2.

Hasil. Dari 83 penderita yang berpartisipasi, hanya 51 (61,9%) yang dapat dilakukan analisa. Sebagian besar berjenis kelamin perempuan dengan rerata umur $7,4 \pm 2,5$ tahun, onset demam $4,1 \pm 1,5$ hari dan lama perawatan $5,4 \pm 4,2$ hari. Rerata kadar TGF- β 1 hari ke-2 ($4648,7 \pm 29766$ pg/ml) lebih tinggi daripada hari ke-0 ($36457,8 \pm 19234$ pg/ml); $p=0,09$. Sedangkan rerata kadar PAI-1 hari ke-2 ($58,5 \pm 5,7$ ng/ml) lebih rendah daripada hari ke-0 ($102,2 \pm 5,9$ ng/ml). Uji korelasi kadar TGF- β 1 dengan PAI-1 dan manifestasi perdarahan hari ke-0 $r=-0,36$, $p=0,009$ dan $r=-0,24$, $p=0,09$, hari ke-2 $r=-0,12$, $p=0,4$ dan $r=-0,0057$, $p=0,7$. Uji korelasi antara kadar PAI-1 dengan manifestasi perdarahan hari ke-0 $r=0,28$; $p=0,04$ dan hari ke-2 $r=0,13$; $p=0,3$.

Simpulan. Terdapat korelasi bermakna derajat rendah antara kadar TGF- β 1 dengan PAI-1 pada hari ke-0 tetapi tidak pada hari ke-2. Tidak terdapat korelasi antara kadar TGF- β 1 dengan manifestasi perdarahan pada hari ke-0 dan ke-2. Terdapat korelasi bermakna derajat rendah antara kadar PAI-1 dengan manifestasi perdarahan pada hari ke-0 tetapi tidak pada hari ke-2.

Kata kunci. DBD, TGF- β 1, PAI-1, manifestasi perdarahan

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Demam berdarah dengue (DBD) dan sindroma syok dengue (SSD) adalah salah satu penyebab utama perawatan di rumah sakit pada pasien anak. WHO melaporkan, bahwa ada sekitar 500.000 kasus demam berdarah dengue tiap tahunnya. Saat ini angka kematian DBD di Indonesia secara umum (*case fatality rate* = CFR) sudah rendah, yaitu 2,5% (tahun 1997) dan sampai sekarang tetap di bawah 3%, tetapi untuk SSD angka kematian di rumah sakit masih tinggi. Pada tahun 2002, angka kematian DBD berat (SSD syok berkepanjangan, syok berulang, perdarahan masif) yang dirawat di *Pediatric Intensive Care Unit* (PICU) RSUP Dr. Kariadi adalah 12% dan menurun menjadi 10,8% pada tahun 2004.¹

Patogenesis DBD dan SSD masih merupakan masalah yang kontroversi, di mana saat ini terdapat dua teori yang umum dipakai yaitu teori virulensi virus dan teori imunopatologi. Meski banyak teori yang dikemukakan, pada dasarnya terdapat 2 keadaan penting pada DBD, yaitu meningkatnya permeabilitas vaskuler yang mengakibatkan terjadinya kebocoran vaskuler dan abnormalitas sistem hemostasis akibat vaskulopati, trombositopeni dan koagulopati.^{2,3}

Gangguan hemostasis yang terjadi pada infeksi dengue mempunyai karakteristik tertentu, dengan manifestasi klinis beragam dari yang paling ringan berupa petekie pada kulit sampai yang berat berupa hematemesis dan melena. Banyak penelitian telah dilakukan untuk menerangkan koagulopati, gangguan fungsi trombosit dan masa hidup trombosit yang pendek serta vaskulopati yang terjadi dalam tingkatan yang bervariasi.² Pada fase awal demam, perdarahan yang terjadi disebabkan vaskulopati dan trombositopeni, dan pada fase syok disebabkan oleh trombositopeni diikuti oleh koagulopati, terutama pembekuan intravaskuler menyeluruh dan fibrinolisis. Pada DBD juga terbukti terjadi pemanjangan PT dan APTT, menurunnya kadar fibrinogen selama fase akut yang berkorelasi dengan beratnya penyakit.⁴ Penelitian lain membuktikan, bahwa defek pada fungsi vaskuler dan gangguan hemostasis dapat terjadi pada setiap derajat DBD, dan akan menyebabkan perubahan pada sel endotel yang kehilangan fungsi proteksi nontrombotik serta akan menjadi status prokoagulan yang akan menyebabkan terbentuknya trombus.⁵ Adanya disfungsi endotel yang ditunjukkan dengan meningkatnya kadar *plasminogen activator inhibitor type 1* (PAI-1) sirkulasi merupakan petanda dini dari disfungsi endotel yang telah lama diketahui.⁶ Aktivasi endotel pada DBD ini, secara tidak langsung melalui mekanisme yang sebagian diperantarai oleh peningkatan produksi TGF- β_1 .⁷

Suharti (2001) menemukan kadar PAI-1 meningkat pada penderita SSD yang meninggal, dibanding pada penderita SSD yang hidup.⁸ Pada SSD kadar PAI-1 plasma yang tinggi terbukti berhubungan dengan perburukan daya hidup.⁹ Faktor apa saja yang berhubungan dengan tingginya kadar PAI-1 plasma pada penderita SSD belum diketahui dengan jelas. Salah satu faktor yang

berhubungan dengan kadar PAI-1 plasma pada penderita SSD adalah kadar sitokin antiinflamasi seperti TGF- β_1 . Pada penelitian yang melibatkan 79 pasien dengan berbagai derajat manifestasi klinis infeksi dengue didapatkan, bahwa TGF- β_1 terdeteksi pada hampir semua penderita (96%) dan sebaliknya tidak ditemukan pada kelompok kontrol. Kadar terendah dijumpai pada penderita Demam Dengue dan kadar tertinggi ditemukan pada penderita DBD derajat IV dengan $p < 0.001$. Pada penelitian tersebut juga diketahui, bahwa TGF- β_1 sudah terdeteksi sejak hari 1-4 demam dan kadarnya meningkat secara bermakna pada hari ke-5-8 demam. Hubungan kedua variabel ini sudah pernah diteliti pada syok hemoragik dan penyakit oklusi vena, tetapi belum pernah diteliti pada demam berdarah dengue.^{10,11}

Pemeriksaan kadar TGF- β_1 plasma dan PAI-1 dilakukan pada hari pengamatan ke-0 (hari pertama saat penderita DBD dirawat atau pada saat diagnosis DBD pertama kali ditegakkan berdasarkan kriteria WHO tahun 1999, yaitu demam hari ke-4) dan hari pengamatan ke-2 (hari ke-3 perawatan terhitung sejak penderita DBD dirawat atau sejak diagnosis DBD pertama kali ditegakkan, yaitu demam hari ke-6). Pertimbangan memilih hari pengamatan ke-0 dan ke-2, dikarenakan rata-rata penderita masuk pada saat demam hari ke-4,¹ yang merupakan masa kritis yaitu saat kebocoran vaskuler biasanya terjadi dan sudah terjadi peningkatan kadar TGF- β_1 plasma. Sampel dipilih berusia 3-14 tahun. Usia 14 tahun dipilih karena penelitian ini terbatas pada kasus DBD pada anak saja, sementara usia termuda 3 tahun dipilih semata-mata karena alasan teknis, karena dari pengalaman pengambilan sampel darah pada anak umur 3 tahun ke atas lebih mudah dibanding anak yang lebih kecil.

1.2. Perumusan Masalah

- 1) Apakah terdapat korelasi antara kadar TGF- β_1 plasma dengan kadar PAI-1 pada DBD ?
- 2) Apakah terdapat korelasi antara kadar TGF- β_1 plasma dengan manifestasi perdarahan pada DBD ?
- 3) Apakah terdapat korelasi antara kadar PAI-1 dengan manifestasi perdarahan pada DBD ?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Membuktikan adanya korelasi antara kadar TGF- β_1 plasma, PAI-1 dan manifestasi perdarahan pada DBD.

1.3.2. Tujuan Khusus

- 1) Mendeskripsikan kadar TGF- β_1 plasma penderita DBD pada hari pengamatan ke-0 dan ke-2.
- 2) Mendeskripsikan kadar PAI-1 penderita DBD pada hari pengamatan ke-0 dan ke-2.
- 3) Mendeskripsikan manifestasi perdarahan penderita DBD pada hari pengamatan hari ke-0 dan ke-2.

- 4) Menganalisis korelasi antara kadar TGF- β_1 plasma dengan kadar PAI-1 penderita DBD pada hari pengamatan ke-0 dan ke-2.
- 5) Menganalisis korelasi antara kadar TGF- β_1 plasma dengan manifestasi perdarahan pada penderita DBD pada hari pengamatan ke-0 dan ke-2.
- 6) Menganalisis korelasi antara kadar PAI-1 dengan manifestasi perdarahan penderita DBD pada hari pengamatan ke-0 dan ke-2.

1.4. Manfaat Penelitian

- 1) Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi masukan dalam pengelolaan DBD yang lebih baik di masa yang akan datang.
- 2) Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi masukan bagi penelitian selanjutnya untuk mengetahui mekanisme kerja TGF- β_1 dan PAI-1 dalam menyebabkan manifestasi perdarahan, sehingga dapat dipertimbangkan pemberian terapi yang menghambat atau memodulasi keduanya.

1.5. Originalitas Penelitian

Belum ada penelitian yang membuktikan adanya korelasi antara kadar TGF- β_1 plasma, PAI-1 dan manifestasi klinis perdarahan pada penderita DBD.

Beberapa penelitian tentang TGF β -1 dan PAI-1 yang sudah dilakukan :

Tahun	Peneliti/Jurnal	Variabel	Hasil penelitian
1998	Agarwal R, Elbishbishi EA, Chaturvedi UC, Nagar R, Mustafa AS (Immunology and medical microbio- logy) ¹²	Transforming Growth Factor Beta 1 pada 79 penderita DBD berbagai derajat. Desain : cross sectional times series	TGF beta-1 terdeteksi pada hampir 96% penderita DBD. Kadar TGF Beta-1 terendah ditemukan pada DD. Kadar TGF beta-1 tertinggi pada DBD derajat IV
2002	Wills BA, Oragui EE, Stephens AC, Daramola EA (Clinical Infec- tious Disease) ¹³	Plasminogen Activator Inhibitor 1 pada 167 penderita SSD anak di Vietnam. Desain : cross sectional times series	Kadar PAI-1 berkorelasi dengan beratnya perdarahan
2005	Mairuhu A, Setiati T, Koraka P, Hack C, Leyte A (Thrombosis J) ⁹	Plasminogen Activator Inhibitor 1 pada 194 penderita DBD berat di PICU RSDK	Tingginya kadar PAI-1 berhubungan dengan perburukan daya hidup penderita
2005	Lagoa CE, Vodovotz Y, Stolz DB, Lhuillier F (Hepatology) ¹⁰	Plasminogen Activator Inhibitor 1 dan Trans- forming Growth Factor Beta 1 pada tikus yang mengalami syok hemo- ragik	Kadar PAI-1 yang rendah dapat mening- katkan kadar TGF Beta 1 pada syok hemoragik
2005	Pihusch V, Pihusch M, Penovici M, Kolb HJ, Hiller E (Thromb J) ¹¹	Plasminogen Activator Inhibitor dan Trans- forming Growth Factor Beta 1 pada penderita VOD	TGF Beta 1 yang dilepaskan oleh trom- bosit aktif terlibat dalam ketidakseim- bangan hemostasis dengan cara mening- katkan sekresi PAI 1 pada penderita VOD

BAB 3

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Demam Berdarah Dengue

2.1.1. Sejarah dan Epidemiologi DBD

Penyakit Demam Berdarah dengue (DBD) masih merupakan masalah kesehatan di seluruh dunia terutama di negara tropis. Lebih dari 100 negara tropis dan subtropis pernah mengalami letusan demam dengue dan demam berdarah dengue, lebih kurang 500.000 kasus setiap tahun dirawat di rumah sakit dengan ribuan diantaranya meninggal dunia.¹⁴

Kasus infeksi demam dengue pertama kali dilaporkan dalam ensiklopedi China oleh dinasti Chin yang secara formal diedit oleh Dinasti Sung pada 610 SM. Penyakit ini disebut keracunan air dan diduga berhubungan dengan serangga terbang. Wabah penyakit dengue pertama kali terjadi di Perancis pada tahun 1635 dan Panama pada tahun 1699. Di Indonesia infeksi virus dengue pertama kali dilaporkan terjadi pada abad 18 di Batavia oleh David Bylon, seorang dokter berkebangsaan Belanda. Pada waktu itu, infeksi dengue masih merupakan penyakit yang ringan dan tidak menyebabkan kematian. Baru pada tahun 1952 infeksi virus dengue menimbulkan penyakit dengan manifestasi berat, yaitu demam berdarah dengue yang terjadi di Manila yang kemudian menyebar ke negara sekitar seperti Thailand dan Vietnam. Di Indonesia DBD

pertama kali dicurigai terjadi di Surabaya pada tahun 1968, tetapi konfirmasi serologis baru didapat pada tahun 1970. Di Jakarta kasus pertama dilaporkan pada tahun 1969, kemudian berturut-turut di Bandung dan Jogjakarta (1972).¹⁵

Berdasarkan jumlah kasus DBD, Indonesia menempati urutan kedua setelah Thailand. Sejak tahun 1968 angka kesakitan rata-rata DBD di Indonesia terus meningkat dari 0,05 (1968) menjadi 8,14 (1973) dan mencapai angka tertinggi pada tahun 1988 yaitu 27,09 per 100.000 penduduk dengan jumlah penderita 57.573 orang, 1527 dilaporkan meninggal dari 201 daerah tingkat II. Walaupun angka kesakitan rata-rata DBD di Indonesia cenderung meningkat, satu hal yang menggembirakan adalah angka kematian (case fatality rate) secara drastis menurun dan sejak 1991 terlihat stabil di bawah 3%.¹⁶

Angka kematian DBD berat (SSD syok berkepanjangan, syok berulang, perdarahan masif) yang dirawat di PICU RSDK masih cukup tinggi. Dengan deteksi dini syok, peningkatan kualitas pemantauan, dan perubahan pengelolaan terapi cairan, angka kematian SSD menurun menjadi 12% pada tahun 2002 dan menjadi 10,8% pada tahun 2004. Penyebab kematian tersering pada SSD adalah perdarahan hebat dengan disfungsi organ ganda dan kebocoran pembuluh darah berat yang disebabkan oleh deteksi syok yang terlambat.¹⁶

2.1.2. Etiologi

Demam berdarah dengue adalah penyakit yang disebabkan oleh virus dengue yang termasuk kelompok B Arthropoda Borne Virus (Arboviruses),

genus Flavivirus, famili flaviviridae dan mempunyai 4 jenis serotype yaitu : DEN-1, DEN-2, DEN-3 dan DEN-4. Infeksi oleh salah satu serotype akan menimbulkan antibodi terhadap serotype yang bersangkutan, sedangkan antibodi yang terbentuk terhadap seotype lain kurang, sehingga tidak dapat menimbulkan perlindungan yang memadai terhadap serotype-serotype yang lain tersebut. Seseorang yang tinggal di daerah endemis dengue dapat terinfeksi oleh keempat serotype tersebut selama hidupnya. Serotype DEN-3 merupakan serotype yang dominan dan menyebabkan manifestasi klinis berat.^{14,15}

2.1.3. Patogenesis DBD

Berbagai teori telah dikemukakan oleh para ahli untuk menjelaskan patogenesis DBD. Secara garis besar teori-teori tersebut dibedakan dalam 2 kelompok besar yaitu : (1) teori virulensi virus dan (2) teori imunopatologi. Pada penganut teori virulensi virus didasarkan pada pemikiran, bahwa seseorang akan terkena infeksi virus dengue dan menjadi sakit, bila virulensi virus cukup kuat untuk mengalahkan daya tahan tubuh penderita. Sedangkan teori imunopatologi didasarkan pada pemikiran tentang reaksi tubuh dalam menghadapi infeksi virus dengue. Yang bisa dimasukkan dalam teori ini, misalnya teori antigen-antibodi dan aktivasi komplemen, teori apoptosis, teori induksi kemokin, dan teori mediator.

Meski banyak teori yang dikemukakan oleh para peneliti, pada dasarnya terdapat 2 kondisi penting yang dijumpai pada DBD, yaitu meningkatnya

permeabilitas vaskuler dan abnormalitas hemostasis akibat adanya trombositopeni, vaskulopati dan koagulopati yang menimbulkan berbagai manifestasi perdarahan.¹⁷

2.1. 3.1. Peran TGF- β 1 pada Patogenesis DBD

Transforming growth factor beta 1 (TGF- β ₁) adalah salah satu sitokin yang diduga mempunyai peran pada patogenesis DBD. Seperti yang telah dibuktikan pada beberapa penelitian, didapat bukti bahwa respons kekebalan sangat berpengaruh pada derajat berat infeksi dengue. Berbagai sitokin, baik proinflamasi maupun antiinflamasi terlibat pada respons kekebalan tersebut. Sitokin yang merupakan protein pembawa sinyal berperan sebagai alat komunikasi yang memungkinkan sel berhubungan satu dengan yang lain.

TGF- β ₁ yang merupakan polipeptida multifungsi, disekresikan oleh berbagai sel, yaitu makrofag, sel *Natural Killer* (sel NK), *lymphokine activated killer cells*, sel B, sel CD4 dan sel CD8. Sitokin ini mempunyai efek immunomodulator multipel pada berbagai sel target, menghambat proliferasi sel T dan sel B, menjadi antagonis sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IFN- γ , memblokir aktivitas CTL, dan menghambat induksi terhadap reseptor IL-1 dan IL-2, sehingga sel-sel tidak responsif terhadap sitokin ini. TGF- β ₁ dapat berperan sebagai sitokin proinflamasi maupun sebagai sitokin antiinflamasi tergantung konsentrasinya. Pada fase akut suatu penyakit, TGF- β ₁ menginduksi sekresi IL- α dan TNF- α yang akan mengontrol perjalanan penyakit tersebut. Namun

TGF- β_1 juga menurunkan produksi radikal bebas, menghambat ekspresi reseptor dan fungsi IFN- γ , IL-1 α , IL-2, dan TNF- α , menghambat sitokin Th1 dan meningkatkan produksi sitokin Th2 seperti IL-10.¹⁸

In vivo TGF- β_1 menghambat adhesi sel T dan neutrofil pada sel-sel endotelial, menghambat aktivasi makrofag dan mengatur ekspresi MHC kelas II pada makrofag. TGF- β_1 dapat mengatur ekspresi molekul adhesi, menjadi kemotaktik yang kuat bagi sel lain yang terlibat dalam respon imun, dan sebaliknya bisa menghambat bila mereka sudah diaktifkan.¹⁸ Kadar TGF- β_1 plasma pada populasi sehat menggunakan metode immunoassay adalah : 32-1000 pg/ml.¹⁹

Virus dengue yang menginfeksi sel-sel endotel memicu produksi berbagai sitokin dan kemokin seperti *interleukin-6* (IL-6), *interleukin-8* (IL-8) dan *regulated and activation T cell excretion and secretion* (RANTES). Disamping itu juga mampu mengaktifkan sistem komplemen dan menginduksi ekspresi molekul adhesi, seperti *Intracellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1). ICAM-1 bersama RANTES dan IL-8 akan meningkatkan adhesi sel-sel polimorfonuklear dan sel-sel mononuklear, yang selanjutnya akan menyebabkan meningkatnya permeabilitas pembuluh darah dan pelepasan trombomodulin yang merupakan salah satu petanda dari kerusakan endotel. Ekspresi ICAM-1 pada endotel akibat induksi IL-6 ternyata dihambat oleh TGF- β_1 . IL-6 yang dihasilkan oleh makrofag dan sel-sel endotel tersebut kadarnya ditemukan lebih tinggi pada penderita DBD dan DSS, dan berperan dalam meningkatkan permeabilitas sel endotel.²⁰⁻²² Kadar sVCAM-1 (soluble vascular cell adhesion molecule-1)

plasma secara bermakna ditemukan lebih tinggi pada DBD derajat berat, terutama fase akut dibanding fase penyembuhan. Peningkatan kadar sVCAM-1 ini merefleksikan adanya aktivasi endotel yang terlibat dalam terjadinya peningkatan permeabilitas vaskuler. Aktivasi endotel pada DBD ini secara tidak langsung melalui mekanisme yang sebagian diperantarai oleh peningkatan produksi TGF- β_1 .²³

Dalam kaskade sitokin pada DBD yang diajukan oleh Chaturvedi dkk dikatakan adanya pergeseran respon sel T, dimana respons Th₁ terjadi pada kasus-kasus DBD ringan, sementara respons Th₂ dianggap bertanggungjawab terhadap kasus-kasus DBD berat. Pergeseran respon ini diatur oleh perubahan kadar relatif IFN- γ dan IL-10 dan antara TGF- β_1 dan dengan IL-12. TGF- β_1 merupakan regulator negatif sel-sel Th₁ yang menghambat aktivasi antigen spesifik dan sekresi sitokin oleh sel-sel Th₁. Sel-sel Th₂ bukan merupakan subyek supresi TGF- β_1 . Sekresi sitokin sel-sel Th₂ menyebabkan peningkatan permeabilitas vaskuler. Hal ini menjelaskan bahwa respon Th₂ dominan pada DBD/SSD, sementara respon Th₁ mencegah terjadinya kasus infeksi berat.^{18,22}

Virus dengue juga membentuk kompleks antigen antibodi yang akan meng-aktivasi komplemen, yakni C3 dan C5 dan melepaskan C3a dan C5a yang merupakan anafilatoksin kuat dalam meningkatkan permeabilitas vaskuler. Aktivasi komplemen, induksi sitokin dan apoptosis mungkin merupakan penyebab utama terjadinya kebocoran vaskuler fulminan yang terjadi dalam waktu singkat pada SSD.^{17,24}

2.1. 3.2. Patogenesis Perdarahan pada DBD

Perdarahan pada DBD disebabkan oleh 3 kelainan hemostasis utama yaitu vaskulopati, kelainan trombosit dan kelainan faktor pembekuan. Pada fase awal demam, perdarahan disebabkan oleh vaskulopati dan trombositopeni, sedangkan pada fase syok dan syok yang lama, perdarahan disebabkan oleh trombositopeni yang diikuti oleh koagulopati.²⁵⁻²⁹

1) Vaskulopati

Secara klinis vaskulopati bermanifestasi sebagai uji bendung yang positif, ptekie dan perembesan plasma ke dalam ekstrasvaskuler. Penyebab utama vaskulopati adalah dikeluarkannya zat anafilatoksin C3a dan C5a.²⁷

2) Trombositopeni

Penurunan produksi trombosit pada fase awal penyakit merupakan penyebab trombositopeni, sedangkan pada hari ke-5 sampai hari ke-8 lebih disebabkan oleh penghancuran trombosit di sirkulasi. Adanya kompleks imun yang melekat pada permukaan trombosit, mempermudah penghancuran trombosit oleh sistem retikuloendotelial. Penghancuran trombosit dapat pula disebabkan oleh kerusakan endotel, antibodi trombosit spesifik maupun akibat DIC.²⁷⁻²⁹

3) Gangguan koagulasi dan fibrinolisis

Mekanisme utama dalam proses koagulasi adalah konversi fibrinogen menjadi fibrin oleh trombin yang merupakan suatu proteinase serin. Trombin dibentuk dari protrombin oleh proteinase serin lain dan faktor X aktif yang memerlukan faktor V aktif, fosfolipid dan ion kalsium untuk bisa bekerja optimal. Aktivasi faktor X aktif dapat terjadi melalui jalur ekstrinsik maupun jalur intrinsik. Pada infeksi oleh virus dengue, terjadi perubahan fungsional dari endotel dimana terjadi pelepasan sitokin dan mediator lain, reaksi antigen antibodi serta diekspresikannya *tissue factor (tF)* dari sel-sel endotel. *Tissue factor* melalui jalur ekstrinsik akan mengaktifkan faktor VII dan keduanya akan membentuk kompleks tF-FVIIa. Kompleks tersebut bersama ion kalsium pada membran fosfolipid trombosit yang teraktivasi dan pada sel endotel akan mengaktifkan faktor X. Faktor X dan faktor V yang sudah aktif bersama dengan ion Ca akan mengaktifkan protrombin menjadi trombin. Trombin yang terbentuk akan mengaktifkan faktor koagulasi lainnya secara berurutan melalui suatu kaskade yang hasil akhirnya adalah pembentukan fibrin.^{29,30}

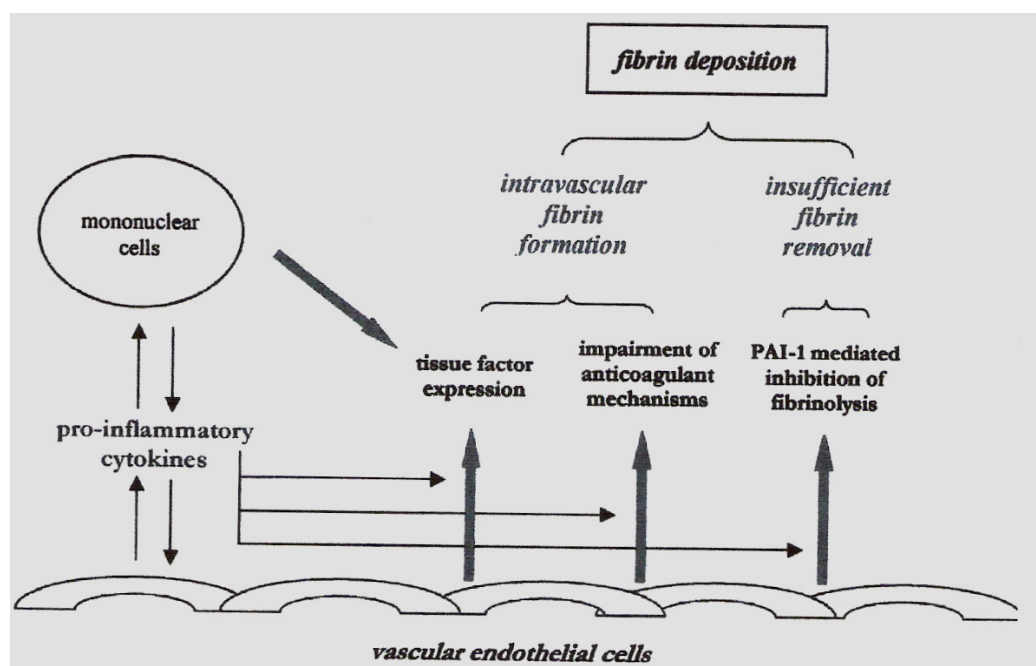
Fibrinolisis adalah suatu proses pemecahan bekuan fibrin yang sudah terbentuk dari proses koagulasi. Enzim utama dalam proses ini yaitu plasmin, berfungsi memotong benang-benang fibrin menjadi fragmen kecil yang beredar di sirkulasi. Plasmin dibentuk di hati dari prekursor tidak aktif yang disebut plasminogen. Untuk bisa dikonversi menjadi bentuk yang aktif, plasminogen membutuhkan *tissue plasminogen activator (tPA)*. tPA dilepaskan pelan-pelan ke sirkulasi oleh endotelium yang mengalami kerusakan sampai beberapa waktu

setelah perdarahan berhenti. Plasminogen terjebak dalam benang-benang fibrin saat sedang terbentuk sehingga ketika dikonversi menjadi plasmin akan segera bekerja memotong benang-benang fibrin. Setelah plasmin memotong benang-benang fibrin, berbagai produk degradasinya akan beredar di dalam darah disebut *fibrin degradation product (FDP)*. FDP bersama trombin akan memperlambat konversi fibrinogen menjadi fibrin, sehingga pembentukan bekuan fibrin akan melambat. Efek ini bisa dilihat dari waktu pembekuan trombin yang memanjang yang biasa terjadi pada proses fibrinolisis akut. D-Dimer sebagai salah satu FDP spesifik yang bisa diukur dengan menggunakan teknologi antigen-antibodi, bisa untuk konfirmasi adanya reaksi fibrinolisis.^{29,30}

Proses fibrinolisis dapat dihambat oleh inhibitor yang bekerja terhadap aktivator plasminogen, disebut *plasminogen activator inhibitor (PAI)*, yang diberi nomer urut oleh International Committee on Thrombosis and Haemostasis. PAI-1 adalah glikoprotein yang disintesis oleh berbagai sel seperti endotel, monosit, hepatosit dan trombosit. Dari berbagai sel yang diketahui menghasilkan PAI-1, sel endotel dilaporkan merupakan tempat sintesis yang utama. Setelah disintesis PAI akan disekresikan ke dalam plasma. Mekanisme yang mengatur sekresi PAI-1 masih belum jelas. Diduga berbagai stimuli dapat menginduksi sekresi PAI-1 seperti adanya trombin, berbagai sitokin proinflamasi, dan *very low density lipoprotein (VLDL)*. PAI-1 berfungsi sebagai regulator utama dalam proses fibrinolisis dimana sebagian besar aktivator plasminogen seperti tPA dan uPA diikat oleh PAI-1 sehingga fibrinolisis terhambat.^{13,31}

Dasar patofisiologi perdarahan pada infeksi dengue belum banyak diketahui. Dari sebuah penelitian kohort dengan 167 sampel penderita SSD di

Vietnam, hanya didapati sedikit pemanjangan waktu protrombin (*Prothrombin times*) dan *partial thromboplastin times* dengan penurunan kadar fibrinogen yang sedang sampai berat. Pada penelitian yang lebih mendalam dengan 48 sampel dijumpai peningkatan kadar trombomodulin, tF, dan (PAI-1), sebagai tanda diproduksi protein-protein tersebut secara berlebihan. Kadar trombomodulin yang tinggi menandakan adanya aktivasi endotel yang berhubungan dengan beratnya syok, sedangkan tingginya kadar PAI-1 menandakan beratnya perdarahan.¹³ Virus dengue *in vitro* secara primer dapat mengaktivasi fibrinolisis, secara langsung memecah fibrinogen dan secara sekunder mengaktivasi mekanisme prokoagulan.³¹



Gambar 1. Endotel yang teraktivasi

Dikutip dari Levi M, Keller TT, van Gorp. Infection and inflammation and the coagulation system. *Cardiovascular Research* 2003 (60):26-39.

2.1. 3.3. PAI-1 pada DBD

Pada penderita SSD yang meninggal ditemukan aktivitas koagulasi yang mencolok, dimana aktivitas fibrinolisis lebih lemah dibanding aktivitas koagulasi. Kadar PAI-1 yang tinggi secara menetap ditemukan pada penderita SSD yang meninggal akibat bertahannya aktivitas prokoagulasi. Tingginya kadar PAI-1 menghalangi perubahan dari proses koagulasi menjadi proses profibrinolisis pada penderita SSD yang meninggal. Ketidakseimbangan antara koagulasi dan fibrinolisis ini disamping sebagai petanda, juga bisa sebagai target terapi pada SSD.³¹ Penelitian lain pada SSD menemukan adanya hubungan antara sitokin proinflamasi dengan aktivitas fibrinolisis, sementara mediator antiinflamasi berhubungan dengan aktivitas koagulasi.³² Penelitian di Vietnam pada anak yang terinfeksi virus dengue menunjukkan, bahwa ada peningkatan kadar PAI-1 yang ternyata berkorelasi dengan beratnya perdarahan.¹² Penelitian yang dilakukan di RSDK menunjukkan, bahwa kadar PAI-1 anak yang terinfeksi dengue pada saat datang lebih tinggi dibanding pada anak yang sehat. Bahkan ditemukan bahwa kadar PAI-1 yang tinggi berhubungan dengan perburukan daya tahan hidup. Sampai saat ini belum diketahui faktor-faktor yang mempengaruhi peningkatan produksi PAI-1 pada SSD. Kadar normal PAI-1 : 7 - 43 ng/ml.³³

2.1. 3.4. Hubungan TGF- β_1 dan PAI-1

TGF- β_1 yang dibebaskan oleh trombosit teraktivasi terlibat dalam ketidakseimbangan hemostasis endotel sinusoid pada penyakit *Hepatic*

Venoocclusive Disease (VOD) dengan cara meningkatkan sekresi PAI-1 dan ekspresi TF pada permukaan sel endotel.¹¹ Sementara penelitian pada syok hemoragik menunjukkan bahwa kadar PAI-1 yang rendah dapat meningkatkan unprocessed TGF- β_1 .¹⁰

2.1.4. Manifestasi Klinis Infeksi Dengue

Seperti halnya infeksi virus yang lain, infeksi virus dengue yang ringan bisa bersifat *self limited*, sementara bentuk yang lebih berat tergantung dari banyak faktor yang mempengaruhi seperti umur dan kondisi imunologi penderita.^{15,34}

2.1.4.1. Manifestasi Klinis Demam Dengue

Demam Dengue (DD) adalah penyakit infeksi virus dengue yang ditandai demam akut disertai nyeri kepala bagian frontal, nyeri retroorbita, nyeri otot dan nyeri sendi, mual, muntah dan timbulnya ruam. Masa inkubasi 4-6 hari dengan gejala prodromal yang tidak khas seperti mudah lelah dan nyeri daerah tulang punggung. Tanda khas dari DD adalah peningkatan suhu mendadak kadang sampai menggigil, sakit kepala dan *flushed face* (muka kemerahan). Ruam berbentuk makulopapuler bisa timbul di awal masa sakit (hari 1-2) kemudian menghilang tanpa bekas. Pada hari ke-6 atau ke-7 timbul ruam merah halus terutama di daerah kaki dan tangan. Hasil pemeriksaan darah menunjukkan lekopeni yang bisa disertai trombositopeni. Pada DD tidak dijumpai kebocoran plasma.^{15,34}

2.1.4.2. Manifestasi Klinis Demam Berdarah Dengue (DBD)

Pada DBD terdapat 4 gejala yang bisa dijumpai yaitu demam tinggi, fenomena perdarahan, hepatomegali dan kegagalan sirkulasi. Gejala klinis diawali dengan demam tinggi, mendadak, 2-7 hari disertai muka kemerahan. Keluhan seperti anoreksia, sakit kepala, nyeri otot, tulang dan sendi serta mual sering ditemukan. Beberapa penderita mengeluh nyeri saat menelan dengan faring hiperemis tapi jarang yang disertai batuk dan pilek. Biasanya ditemukan juga nyeri perut yang dirasakan di epigastrium dan bawah tulang iga.¹⁵

Bentuk perdarahan yang sering ditemui adalah uji tourniquet yang positif, kulit mudah memar, perdarahan pada bekas suntikan dan ptekie yang tersebar di daerah ekstremitas yang biasanya ditemukan pada fase awal demam. Epistaksis dan perdarahan gusi jarang ditemukan, perdarahan ringan pada saluran cerna dapat ditemukan pada fase demam. Hepatomegali pada umumnya terjadi pada permulaan sakit, bervariasi dari just palpable sampai 2-4 cm di bawah arkus kosta kanan.¹⁴

Patofisiologi penting yang membedakan DD dengan DBD adalah gangguan hemostasis dan peningkatan permeabilitas vaskuler yang menyebabkan perembesan plasma dengan akibat hilangnya volume plasma keluar dari kompartemen vaskuler ke dalam interstitial, sehingga terjadi peningkatan hematokrit, hipoproteinemi dan efusi serosa di dalam ruang pleura, perikardium serta peritoneum (asites).¹⁴

2.1.4.3. Manifestasi Klinis Sindrom Syok Dengue (SSD)

Sindrom syok dengue (SSD) adalah DBD dengan tanda-tanda kegagalan sirkulasi yaitu tekanan nadi menyempit ≤ 20 mmHg, hipotensi dan syok (kulit dingin, lembab dan anak tampak gelisah).^{27,28} Pada kasus berat keadaan umum pasien mendadak menjadi buruk setelah beberapa hari demam. Terdapat tanda kegagalan sirkulasi diantaranya : kulit teraba dingin dan lembab terutama pada ujung jari dan kaki, sianosis di sekitar mulut, pasien menjadi gelisah, nadi cepat dan lemah, kecil sampai tak teraba. Tekanan nadi menurun < 20 mmHg dan hipotensi. Hal ini terjadi biasanya pada saat atau setelah demam menurun, yaitu antara hari ke-3 sampai hari ke-7 sakit.^{14,15}

Syok pada DBD disebabkan oleh peningkatan permeabilitas vaskuler sehingga terjadi *plasma leakage*, efusi cairan serosa ke rongga pleura dan peritoneum, hipoproteinemia, hemokonsentrasi dan hipovolemia yang mengakibatkan berkurangnya venous return, preload miokard, volume sekuncup dan curah jantung, sehingga terjadi disfungsi sirkulasi dan penurunan perfusi organ. Gangguan perfusi ginjal ditandai oleh oliguri atau anuria dan gangguan perfusi susunan saraf pusat yang ditandai dengan penurunan kesadaran.^{14,15}

SSD dapat berlanjut menjadi kegagalan mekanisme homeostasis. Efektivitas dan integritas sistem kardiovaskuler rusak, perfusi miokard dan curah jantung menurun, sirkulasi makro dan mikro terganggu, terjadi iskemi jaringan dan terjadi kerusakan fungsi sel secara progresif dan irreversibel, terjadi kerusakan organ kemudian penderita meninggal dalam 12-24 jam. Prognosis kegawatan pada DBD tergantung pada pengenalan dini, pengobatan tepat

dan segera serta pemantauan syok secara ketat. Prognosis menjadi baik apabila terdapat perbaikan dalam tanda-tanda syok seperti kesadaran membaik, tekanan darah normal, diuresis membaik serta kembalinya nafsu makan.^{14,15}

2.1.5. Pemeriksaan Laboratorium

Diagnosis definitif infeksi virus dengue hanya dapat dilakukan di laboratorium dengan cara isolasi virus, deteksi antigen virus atau RNA dalam serum, dan deteksi antibodi spesifik dalam serum penderita.

Untuk melakukan isolasi virus dibutuhkan spesimen pada saat stadium viremia yang berlangsung 5 hari. Spesimen disimpan dalam suhu -70°C , kemudian ditanam pada jaringan mamalia atau biakan jaringan nyamuk. Adanya pertumbuhan virus dengue dapat diketahui dengan melakukan *fluorence antibody technique test* secara langsung atau tidak langsung dengan menggunakan *conjugate*.^{15,22}

Pemeriksaan serologi dilakukan berdasar pembentukan antibodi terhadap virus dengue. Pada infeksi primer antibodi terbentuk saat demam reda, sedangkan pada infeksi sekunder antibodi yang sudah ada meningkat. IgM berada dalam darah pada hari sakit ke-3, meningkat pada minggu pertama sampai ke-3. Kadar IgM tertinggi dicapai pada hari sakit ke-5 dan menghilang setelah 60-90 hari. Pada infeksi primer IgG meningkat sejak hari sakit ke-5 dan mencapai kadar tertinggi pada hari sakit ke-14, sedangkan pada infeksi sekunder IgG meningkat sejak hari ke-2 sakit. Dengan memahami hal ini, maka untuk mendiagnosis infeksi primer dapat ditegakkan dengan mendeteksi IgM setelah

hari sakit ke-5, sedangkan infeksi sekunder dapat ditegakkan lebih dini dengan mendeteksi peningkatan IgG yang cepat.^{15,22}

2.1.6. Kriteria Diagnosis dan Derajat Berat Infeksi Dengue

Diagnosis DBD ditegakkan berdasarkan kriteria diagnosis menurut WHO tahun 1999 yang terdiri dari kriteria klinis dan laboratoris.¹⁴

Kriteria klinis :

- a. Demam tinggi mendadak tanpa sebab yang jelas, berlangsung terus-menerus selama 2-7 hari.
- b. Terdapat manifestasi perdarahan ditandai dengan : uji torniquet positif, ptekie, ekimosis, purpura, perdarahan mukos, epistaksis, perdarahan gusi, hematemesis dan atau melena.
- c. Pembesaran hati.
- d. Syok, ditandai nadi cepat dan lemah serta penurunan tekanan nadi, hipotensi, kaki dan tangan dingin, kulit lembab dan pasien tampak gelisah.

Kriteria laboratoris :

- a. Trombositopeni ($\leq 100.000/mm^3$)
- b. Hemokonsentrasi, dapat dilihat dari peningkatan hematokrit 20% atau lebih.

Dua kriteria klinis ditambah trombositopeni dan hemokonsentrasi atau peningkatan hematokrit cukup untuk menegakkan diagnosis klinis DBD.^{14,15}

Derajat penyakit DBD diklasifikasikan dalam 4 derajat (WHO 1999) :

Derajat I : demam disertai gejala tidak khas, satu-satunya manifestasi perdarahan adalah uji torniquet yang positif.

Derajat II : seperti derajat I disertai perdarahan spontan di kulit atau perdarahan spontan yang lain.

Derajat III : didapatkan kegagalan sirkulasi, yaitu nadi cepat dan lemah, tekanan nadi menurun (20 mmHg atau kurang) atau hipotensi, sianosis sekitar mulut, kulit dingin atau lembab serta anak tampak gelisah.

Derajat IV : syok berat, nadi tak teraba, tekanan darah tak terukur.

2.1.7. Hubungan sepsis dan DBD

Pada penelitian ini sepsis dianggap sebagai faktor pengganggu yang harus dikeluarkan dari penelitian, karena memiliki kesamaan dengan DBD dalam respon imunologi, yang ditandai oleh kerusakan dan disfungsi endotel akibat stimulasi berlebihan dari sitokin dan mediator kimiawi, menyebabkan kebocoran vaskuler, aktivasi koagulasi dan perubahan pada kontrol relaksasi vaskuler, dengan akibat perdarahan, hipovolemia, syok dan disfungsi organ multipel.³⁵

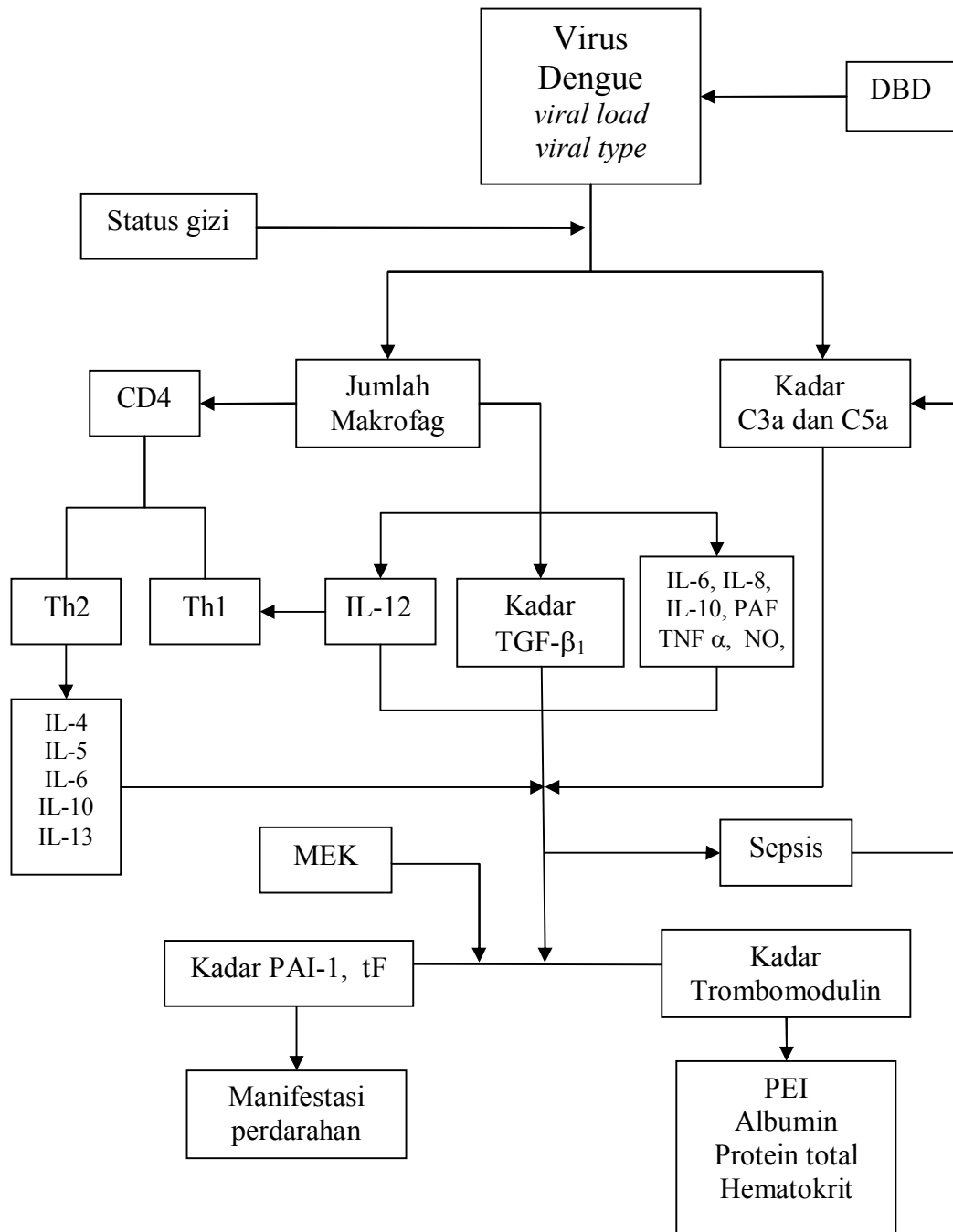
2.1.8. Hubungan status gizi dan DBD

Perjalanan alamiah penyakit DBD sangat dipengaruhi respon imun penderita, sehingga anak dengan gizi kurang, yang memiliki respon imun seluler rendah, jarang mengalami DBD berat.

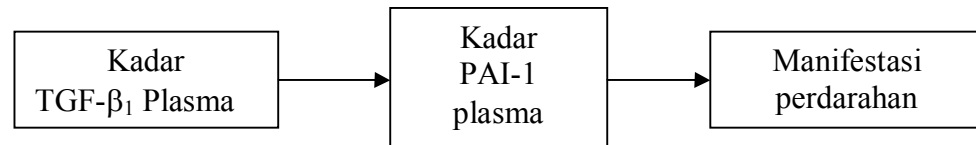
Beberapa penelitian tentang hubungan status gizi dan derajat DBD masih sedikit dengan hasil yang bervariasi. Pada sebuah penelitian ditemukan, bahwa penderita DBD dengan status gizi kurang memiliki risiko mengalami syok 37,8%, sedangkan yang memiliki status gizi normal 29,9% dan obesitas 30,2%. CFR penderita DBD dengan gizi kurang 0,5, lebih besar dibanding dengan gizi normal (0,07). Pada penelitian lain didapat hasil yang berbeda, yaitu bahwa anak dengan gizi lebih memiliki risiko 3 kali lebih besar (OR=3.00, 95% CI = 1.20-7.48) menderita DBD berat dibanding anak normal.^{36,37}

Pada penderita dengan gizi buruk, seluruh aspek kekebalan akan menurun, dimana kelenjar limfe, timus dan tonsil mengalami atrofi sehingga sistem kekebalan yang diperantarai sel T akan tersupresi, sistem fagosit tidak efisien, respon fase akut terganggu, akibatnya kerusakan jaringan tidak diikuti oleh respon inflamasi yang adekuat. Keadaan ini dapat menjadi faktor pengganggu sehingga harus dikeluarkan dari penelitian.

2.2. KERANGKA TEORI



2.3. Kerangka Konsep



2.4. Hipotesis

- 1) Kadar TGF-β₁ plasma berkorelasi dengan kadar PAI-1 penderita DBD pada pengamatan hari ke-0 dan hari ke-2.
- 2) Kadar TGF-β₁ plasma berkorelasi dengan manifestasi klinis perdarahan pada penderita DBD pada pengamatan hari ke-0 dan ke-2.
- 3) Kadar PAI-1 berkorelasi dengan manifestasi perdarahan pada penderita DBD pada pengamatan hari ke-0 dan ke-2.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3. 1. Ruang lingkup Penelitian

Bagian Ilmu Kesehatan Anak RSUP Dr. Kariadi / FK UNDIP Semarang.

3. 2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di ruang perawatan IRNA C, HND dan PICU RSUP Dr. Kariadi, Semarang. Pengumpulan data sudah dilakukan pada bulan Juli 2005 – Juli 2006.

3. 3. Rancangan Penelitian

Penelitian analitik observasional dengan pendekatan *cross sectional* yang dilakukan pada hari pengamatan ke-0 dan ke-2 (*timed series*).

3. 4. Populasi dan Sampel

1. Populasi Target

Semua pasien anak yang menderita DBD.

2. Populasi Terjangkau

Semua pasien DBD berumur 3 – 14 tahun yang dirawat di Bagian Ilmu Kesehatan Anak RS. Dr. Kariadi Semarang selama kurun waktu penelitian.

3. Sampel Penelitian

Populasi terjangkau yang memenuhi kriteria penelitian.

Kriteria Inklusi :

1. Pasien yang didiagnosis DBD berdasarkan kriteria WHO 1999 yang dikonfirmasi dengan pemeriksaan serologis ELISA
2. Berumur 3 – 14 tahun
3. Orang tua bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani informed consent.
4. BB/TB (% dari persentil ke-50) >70%

Kriteria Eksklusi :

1. Mengalami sepsis
2. Tidak mengikuti sampai selesai atau pemeriksaan darah tidak lengkap.

3. 5. Besar Sampel

Besar sampel dihitung sesuai dengan hipotesis penelitian, yaitu dengan rumus besar sampel untuk uji korelasi. Apabila diperkirakan korelasi antara kadar TGF- β_1 dengan PAI-1 adalah berderajat sedang, dengan koefisien korelasi sebesar $(r) = 0,5$. Nilai $Z\alpha = 1,96$ ($\alpha = 0,05$). Nilai $Z\beta = 0,842$ ($\beta = 0,2$ untuk power penelitian sebesar 80%). Besar sampel adalah:

$$n = \left[\frac{Z\alpha + Z\beta}{0,5 \ln \left(\frac{1+r}{1-r} \right)} \right]^2 + 3n = \left[\frac{1,96 + 0,842}{0,5 \ln \left(\frac{1+0,5}{1-0,5} \right)} \right]^2 + 3 \approx 38$$

Besar sampel yang dibutuhkan minimal 38

3.6. Identifikasi Variabel

1. Nama Variabel

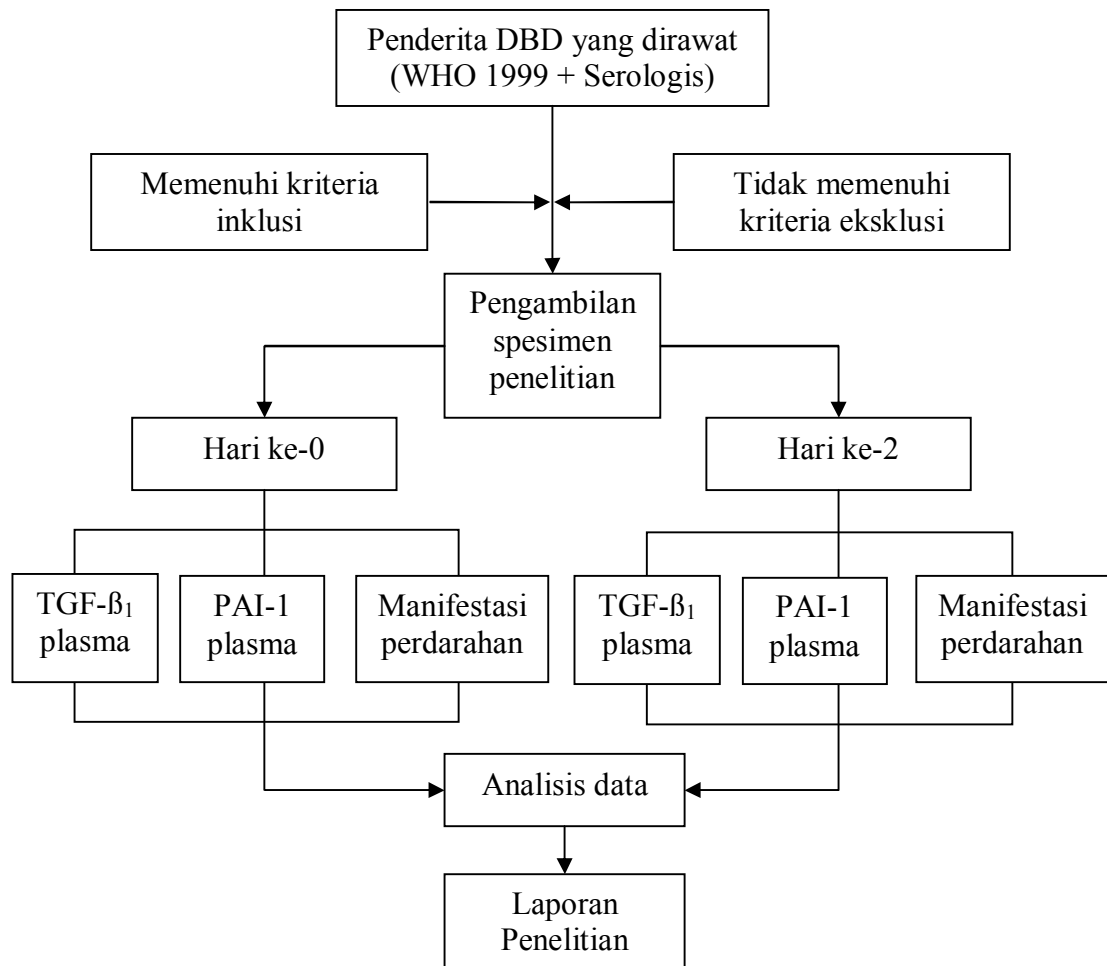
- a. Variabel bebas : Kadar TGF- β_1 plasma hari ke-0 dan 2
- b. Variabel tergantung : Kadar PAI-1 hari ke-0 dan 2
Manifestasi perdarahan hari ke-0 dan 2

2. Definisi operasional variabel

Variabel	Definisi operasional	Skala pengukuran
TGF- β_1	adalah salah satu sitokin yang dapat dihasilkan selama respons imun infeksi virus dengue. Kadar TGF- β_1 plasma diperiksa pada hari ke-0 (hari pertama saat penderita DBD dirawat atau hari saat diagnosis DBD pertama kali ditegakkan berdasarkan kriteria WHO tahun 1999, sesuai demam hari ke-4), dan ke-2 (hari ke-3 perawatan terhitung sejak	rasio

	<p>penderita DBD dirawat atau sejak diagnosis DBD pertama kali ditegakkan, sesuai demam hari ke-6), dengan metode ELISA kemudian dibaca dengan alat <i>microplate reader</i> kemudian didapatkan hasil <i>optical density</i> yang atas dasar kurva standart dari TGF-β_1 dapat diketahui kadar TGF-β_1. (Cara pemeriksaan tertera pada lampiran 2)</p> <p>Satuan : pg/ml</p>	
PAI-1	<p>Kadar PAI-1 plasma diperiksa pada hari ke-0 dan ke-2, dengan metode ELISA, dibaca dengan alat <i>microplate reader</i> kemudian didapatkan hasil <i>optical density</i> yang atas dasar kurva standart dari PAI-1 dapat diketahui kadarnya.</p> <p>Satuan : ng/ml</p>	rasio
Manifestasi perdarahan	<p>Terdapatnya tanda-tanda perdarahan yang dikelompokkan berdasar lokasi perdarahan sebagai berikut :</p> <p>0 : bila tidak ada perdarahan spontan</p> <p>1 : bila terdapat perdarahan kulit (ptekie, ekimosis)</p> <p>2 : bila terdapat epistaksis dan atau perdarahan gusi</p> <p>3 : bila terdapat perdarahan saluran cerna</p>	ordinal

3.7. Alur Penelitian



3.8. Manajemen dan analisis data

Pada data yang terkumpul dilakukan pemeriksaan kelengkapan dan keakuratan data. Data diberi kode dan ditabulasi, selanjutnya dimasukkan ke dalam komputer. Pada analisis deskriptif, data yang berskala kategorial seperti jenis kelamin penderita, derajat klinis dengue dan sebagainya, dinyatakan sebagai distribusi frekuensi dan persentase. Data yang berskala kontinyu, seperti

umur penderita, kadar TGF- β_1 , kadar PAI-1 dan sebagainya, dinyatakan sebagai rerata dan simpang baku (SB). Normalitas data TGF- β_1 dan PAI-1 diuji dengan uji Kolmogorov-Smirnov. Korelasi antara kadar TGF- β_1 dengan PAI-1 dan manifestasi perdarahan diuji dengan uji korelasi Spearman karena data berdistribusi tidak normal.

Nilai p dianggap bermakna apabila $p < 0,05$. Rentang interval kepercayaan yang digunakan adalah 95 % interval kepercayaan. Analisis data menggunakan program *Statistics Program for Social Science* v. 15,0 (SPSS Inc, USA).

3.9. Etika penelitian

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian utama yang berjudul "Hubungan Disfungsi Endotel Dengan Gangguan Hemostasis Pada SSD" yang telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etika Penelitian Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RS. Dr. Kariadi Semarang dengan nomer kode etik 06/EC/FK/RSDK/2001.

Persetujuan untuk diikutsertakan dalam penelitian dimintakan dari orang tua penderita secara tertulis dengan menggunakan *informed consent*. Orang tua penderita sebelumnya telah diberikan penjelasan tentang tujuan dan prosedur penelitian. Seluruh biaya untuk penelitian ditanggung oleh peneliti. Responden tidak dibebani biaya tambahan apapun untuk penelitian. Data pribadi penderita akan dijamin kerahasiaannya.

BAB 4

HASIL PENELITIAN

4.1. Karakteristik subyek penelitian

Pada periode penelitian dijumpai 83 penderita suspek DBD yang dirawat di RS Dr. Kariadi. Berdasarkan kelengkapan data hanya 51 subyek yang digunakan untuk analisis. Karakteristik subyek penelitian ditampilkan pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik subyek penelitian

Karakteristik subyek	Rerata (SB)	n (%)
Umur (tahun)	7,4 (2,45)	-
Jenis kelamin	-	-
- Laki-laki	-	17 (33,3%)
- Perempuan	-	34 (66,7%)
Hari demam saat masuk rumah sakit (hari)	4,1 (1,52)	-
Lama perawatan (hari)	5,4 (4,19)	-
Status gizi	-	-
- Gizi kurang	-	19 (37,3%)
- Gizi baik	-	28 (54,9%)
- Overweight	-	3 (5,9%)
- Obesitas	-	1 (2,0%)

SB = simpang baku

Data pada tabel 1 menunjukkan bahwa rerata umur penderita adalah 7,4 tahun. Umur termuda subyek penelitian adalah 3 tahun dan tertua adalah 13

tahun. Jenis kelamin subyek penelitian sebagian besar adalah perempuan yaitu 66,7%, sedangkan laki-laki hanya 33,3%. Rerata hari demam saat masuk rumah sakit adalah 4,1 dengan rerata lama perawatan adalah 5,4 hari. Lama perawatan tersingkat adalah 3 hari dan terlama adalah 23 hari. Berdasarkan status gizi subyek penelitian, sebagian besar adalah status gizi baik (54,9%) dan dijumpai 1 anak dengan obesitas.

4.2. Karakteristik DBD dan manifestasi perdarahan

Karakteristik DBD yang diderita ditampilkan pada tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik penyakit DBD yang diderita

Karakteristik DBD	n (%)
Kategori infeksi:	
- Primer	2 (3,9%)
- Sekunder	49 (96,1%)
Derajat DBD	
- Derajat I	24 (47,1%)
- Derajat II	14 (27,5%)
- Derajat III	9 (17,6%)
- Derajat IV	4 (7,8%)

Berdasarkan hasil pemeriksaan IgM dan IgG, hanya dijumpai 2 (3,9%) pasien termasuk kategori infeksi primer dan 49 (96,1%) termasuk kategori infeksi sekunder. Berdasarkan derajat DBD sebagian besar subyek penelitian menderita DBD derajat I (47,1%), selain itu dijumpai 4 kasus DBD derajat 4 (7,8%).

Jenis manifestasi klinis perdarahan yang dijumpai pada subyek penelitian pada hari ke-0 dan hari ke-2 ditampilkan pada tabel 3.

Tabel 3. Jenis manifestasi perdarahan pada subyek penelitian

Manifestasi perdarahan	Hari ke-			
	0		2	
	n	(%)	n	(%)
Ptekie	18	35,3 %	19	37,2 %
Eksantema	0	0 %	0	0 %
Ekimosis	1	1,9 %	1	1,9 %
Purpura	1	1,9 %	1	1,9 %
Epistaksis	4	8,4 %	4	8,4 %
Perdarahan ginggiva	2	3,9 %	1	1,9%
Hemoptoe	0	0 %	0	0 %
Hematemesis	2	3,9 %	2	3,9 %
Melena	2	3,9 %	0	0 %
Hematuria	0	0 %	0	0 %
Metrorrhagia	0	0 %	0	0 %
<i>Vein puncture bleeding</i>	4	8,4 %	3	5,9 %

Data pada tabel 3 menunjukkan manifestasi perdarahan terbanyak yang dijumpai pada subyek penelitian pada pengamatan hari ke-0 maupun hari ke-2 adalah ptekie (35,3% pada hari ke-0 dan 37,2% pada hari ke-2). Sedangkan manifestasi klinis epistaksis dijumpai pada 4 orang subyek penelitian (8,4%) pada hari ke-0 dan ke-2, perdarahan ginggiva dijumpai pada 2 orang subyek penelitian (3,9%) dan pada hari ke-2 hanya dijumpai pada 1 orang subyek penelitian (1,9%). Adanya manifestasi perdarahan saluran cerna berupa hematemesis dijumpai pada 2 orang subyek penelitian (3,9%), baik pada hari ke-

0 maupun hari ke-2. Melena dijumpai pada hari ke-0 pada 2 orang subyek penelitian (3,9%) dan tidak dijumpai pada hari ke-2 perawatan.

Pengelompokan manifestasi klinis perdarahan pada hari ke-0 dan ke-2 subyek penelitian ditampilkan pada tabel 4.

Tabel 4. Pengelompokan manifestasi perdarahan pada hari ke-0 dan ke-2 subyek penelitian

Kelompok manifestasi perdarahan	Hari ke-			
	0		2	
	n	(%)	n	(%)
Tidak perdarahan spontan	29	(56,9%)	32	(62,7%)
Perdarahan kulit	14	(27,5%)	16	(31,4%)
Perdarahan gusi/epistaksis	5	(9,8%)	1	(2,0%)
Perdarahan saluran cerna	3	(5,9%)	2	(3,9%)

Tabel 4 menunjukkan sebagian besar penderita pada hari ke-0 maupun ke-2 tidak ada perdarahan spontan. Manifestasi klinis perdarahan yang terbanyak dijumpai adalah adanya perdarahan kulit yaitu 27,5% pada hari ke-0 dan 31,4% pada hari ke-2. Sedangkan yang paling sedikit adalah perdarahan saluran cerna yaitu 5,9% pada hari ke-0 dan 3,9% pada hari ke-2.

4.3. Kadar TGF- β_1 dan PAI-1 pada penderita DBD

Perbedaan kadar TGF- β_1 plasma dan PAI-1 hari pengamatan ke-0 dan ke-2 ditampilkan pada tabel 5.

Tabel 5. Perbedaan Kadar TGF- β_1 dan PAI-1 hari ke-0 dan ke-2

Kadar TGF- β_1 dan PAI-1	Hari ke-		Δ^{\S}	p*
	0	2		
TGF- β_1 (pg/ml)				
Rerata	36457,8	46360,1	9902,3	0,09
Standar deviasi	(19234,94)	(29766,72)	(34307,30)	
PAI-1 (ng/ml)				
Rerata	102,2	58,5	-43,7	0,003
Standar deviasi	(143,48)	(32,74)	(139,85)	

^{\S} Kadar hari ke-2 – hari ke-1

* Uji Wilcoxon

Tabel 5 menunjukkan, bahwa pada hari pengamatan ke-2 dijumpai peningkatan kadar TGF- β_1 . Peningkatan tersebut juga tampak pada nilai Δ (delta) yang positif walaupun tidak bermakna ($p=0,09$). Berbeda dengan kadar TGF- β_1 , pada pengamatan hari ke-2 terjadi penurunan kadar PAI-1 yang bermakna ($p=0,003$) yang juga ditunjukkan dengan Δ PAI-1 yang negatif.

4.4. Korelasi antara kadar TGF- β_1 dengan PAI-1

Tabel 6. Korelasi antara kadar TGF- β_1 , PAI-1 dan manifestasi perdarahan pada hari ke-0 dan ke-2 pada subyek penelitian (n=51).

Korelasi	TGF- β_1 dengan PAI-1	TGF- β_1 dengan manifestasi perdarahan	PAI-1 dengan manifestasi perdarahan
Hari ke-0			
r (p)	0,36 (0,009)	0,24 (0,09)	0,28 (0,04)
Hari ke-2			
r (p)	0,12 (0,4)	-0,057 (0,7)	0,13 (0,3)

r = koefisien korelasi Spearman

p = bermakna bila $< 0,05$

Pada tabel 6 menunjukkan terdapatnya korelasi positif derajat rendah yang bermakna, antara kadar TGF- β_1 plasma dengan PAI-1 pada hari pengamatan ke-0 ($r = 0,36$; $p = 0,009$), sedangkan pada hari pengamatan ke-2 tidak terdapat korelasi yang bermakna ($p = 0,4$).

Pada hari pengamatan ke-0 dan ke-2 tidak dijumpai korelasi antara kadar TGF- β_1 plasma dengan manifestasi perdarahan ($p = 0,09$ dan $p = 0,7$). Pada tabel 6 juga dijumpai korelasi positif derajat rendah yang bermakna, antara kadar PAI-1 dengan manifestasi perdarahan pada hari pengamatan ke-0 ($r = 0,28$; $p = 0,04$), sedangkan pada hari pengamatan ke-2 tidak terdapat korelasi yang bermakna ($p = 0,3$).

BAB 5

PEMBAHASAN

Perdarahan merupakan salah satu manifestasi klinik pada DBD. Berbagai manifestasi perdarahan pada DBD berhubungan dengan terjadinya vaskulopati, trombositopati dan koagulopati.³⁸ Koagulopati pada DBD berhubungan dengan peningkatan sitokin proinflamasi. Mediator sekunder yang diaktifkan oleh sitokin tersebut, akan menyebabkan aktivasi kaskade koagulasi.¹⁷ Selain sitokin proinflamasi pada DBD juga terjadi peningkatan sintesis TGF- β_1 yang mempunyai sifat imunomodulator pada berbagai sel target, tetapi juga dapat berperan menghambat sistem imun apabila telah diaktifkan.¹²

Pada penelitian ini dijumpai adanya peningkatan kadar TGF- β_1 pada hari pengamatan ke-2. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang mendapatkan adanya peningkatan TGF- β_1 pada anak dengan DBD.^{15,39} Agarwal melaporkan bahwa TGF- β_1 sudah terdeteksi sejak hari 1-4 demam dan kadarnya meningkat secara bermakna pada hari ke-5-8 demam.¹² Laur juga melaporkan adanya peningkatan kadar TGF- β_1 pada hari ke-1-3 demam dan mencapai puncak pada hari ke-9.³⁹ Pada penelitian ini pemeriksaan TGF- β_1 dilakukan pada hari pengamatan ke-0 (hari ke-4 demam) dan hari ke-2 (hari ke-6 demam), sehingga peningkatan TGF- β_1 pada penelitian ini masih dalam rentang yang sama dengan penelitian oleh Agarwal dan Laur. Peningkatan TGF- β_1 pada hari

ke-2 diduga berhubungan dengan peningkatan sitokin proinflamasi yang terjadi pada fase akut penyakit. Pada hari ke-2 kadar terus meningkat, berhubungan dengan fase konvalensan DBD dimana TGF- β_1 dalam konsentrasi yang lebih tinggi mempunyai peran untuk perbaikan jaringan yang mengalami kerusakan akibat infeksi virus dengue.⁴⁰ Peran TGF- β_1 juga ditunjukkan dengan terjadinya penurunan suhu tubuh setelah fase akut, dimana TGF- β_1 juga berperan sebagai penghambat terjadinya demam.⁴¹

Pada penelitian ini juga dijumpai adanya peningkatan PAI-1 pada hari ke-0 dan turun secara bermakna pada hari ke-2, walaupun masih lebih tinggi dari nilai normal. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menjumpai adanya peningkatan PAI-1 pada anak dengan DBD.^{12,20,34} Hasil penelitian Wills pada anak dengan DBD di Vietnam juga mendapatkan penurunan PAI-1 pada hari ke-2 perawatan, walaupun masih di atas nilai normal dan terus menurun kadarnya mencapai nilai normal pada 1 bulan setelah masuk rumah sakit.

PAI-1 dihasilkan oleh endotel, trombosit, dan hepatosit. PAI-1 berperan sebagai inhibitor utama tPA. Pada dengue akibat teraktifkannya proses koagulasi, maka terjadi peningkatan produksi fibrin. Dalam keadaan normal timbunan fibrin akan mengalami proses fibrinolisis oleh plasmin yang diaktifkan tPA. Pada DBD proses fibrinolisis terhambat akibat inhibisi aktivitas tPA oleh PAI-1, menyebabkan trombosis intravaskuler, perdarahan ataupun keduanya.^{38,42}

Berbeda dengan hasil penelitian ini dan penelitian Wills, penelitian oleh Huang justru mendapatkan peningkatan kadar PAI-1 sampai dengan periode konvalesens (14-27 hari onset demam).³⁸ Pada penelitian Huang diduga peningkatan kadar PAI-1 berhubungan dengan jumlah trombosit yang terus meningkat sampai dengan fase konvalesens. Pada penelitian ini pemeriksaan kadar PAI-1 dilakukan pada fase akut/toksik, dimana terjadi depresi sumsum tulang akibat infeksi virus dengue yang menyebabkan penurunan jumlah trombosit. Penurunan jumlah trombosit ini yang diduga menyebabkan penurunan produksi PAI-1. Faktor lain yang diduga juga turut berperan dalam penurunan PAI-1 pada hari ke-2 adalah kerusakan jaringan hati akibat infeksi virus dengue. Namun demikian hal ini masih perlu dibuktikan dengan penelitian lebih lanjut.

Pada penelitian ini dijumpai korelasi positif derajat rendah yang bermakna, antara kadar TGF- β_1 dengan PAI-1 pada pengamatan hari ke-0 ($r = 0,36$; $p = 0,009$). Dilaporkan oleh Vaughan bahwa TGF- β_1 merupakan promotor yang kuat untuk menginduksi pembentukan PAI-1.⁴³ Kutz menyebutkan, bahwa TGF- β_1 dapat meningkatkan produksi PAI-1 dan ekspresi gen PAI-1 melalui MAP/ERK kinase (MEK).⁴⁴ Huerta-Zepeda melaporkan, bahwa virus dengue meningkatkan ekspresi reseptor Protease Activated Receptor tipe-1 / PAR tipe 1 yang memacu proses inflamasi dan reseptor tF yang berperan dalam koagulasi melalui fosforilasi p38 dan MEK. Akibat diekspresikannya reseptor – reseptor tersebut, akan terjadi peningkatan produksi sitokin proinflamasi dan molekul adhesi yang selanjutnya meningkatkan aktivitas sel endotel pembuluh darah.⁴¹

Berbeda dengan hari ke-0, pada hari ke-2 tidak dijumpai adanya perubahan kadar PAI-1 seiring dengan peningkatan kadar TGF- β_1 . Diduga hal ini berhubungan dengan adanya penurunan kadar PAI-1 pada hari ke-2. Vaughan melaporkan bahwa pada kondisi overekspresi TGF- β_1 hanya menyebabkan perubahan ringan pada sel endotel pembuluh darah yang diduga hanya sedikit menginduksi produksi PAI-1 oleh sel endotel. Hal ini yang diduga merupakan penyebab rendahnya korelasi antara TGF- β_1 dengan PAI-1 pada hari ke-2

Pada penelitian ini tidak dijumpai korelasi yang bermakna, antara kadar TGF- β_1 plasma dengan manifestasi perdarahan baik pada hari pengamatan ke-0 maupun ke-2, tetapi dijumpai korelasi positif derajat lemah yang bermakna antara kadar PAI-1 dengan manifestasi perdarahan pada hari pengamatan ke-0 ($r = 0,28$; $p = 0,04$). Hal ini berhubungan dengan tingginya kadar PAI-1 yang akan menghambat proses fibrinolisis, sehingga meningkatkan kejadian perdarahan. Dari hasil penelitian ini, maka diduga PAI-1 merupakan variabel perantara, antara TGF- β_1 dengan manifestasi perdarahan.

Keterbatasan penelitian ini adalah pemeriksaan kadar TGF- β_1 dan PAI-1 hanya dilakukan sampai hari ke-2 yang masih masuk dalam fase akut, sehingga belum dapat diketahui perubahan kadar TGF- β_1 dan PAI-1 sampai dengan fase konvalesen. Selain itu, penilaian pengaruh faktor lain seperti *viral load*, *viral strain*, kadar tF, aktivitas MEK, IL-6, IL-8, IL-10, PAF dan NO belum dilakukan dalam penelitian.

BAB 6

SIMPULAN DAN SARAN

6.1. Simpulan

- a. Terdapat korelasi positif derajat rendah yang bermakna antara kadar TGF- β_1 plasma dengan PAI-1 pada hari pengamatan ke-0, sedangkan pada hari ke-2 tidak dijumpai korelasi yang bermakna.
- b. Tidak terdapat korelasi yang bermakna antara kadar TGF- β_1 plasma dengan manifestasi perdarahan, baik pada hari pengamatan ke-0 maupun ke-2.
- c. Terdapat korelasi positif derajat rendah yang bermakna antara kadar PAI-1 dengan manifestasi perdarahan pada hari pengamatan ke-0, sedangkan pada hari ke-2 tidak dijumpai korelasi yang bermakna.

6.2. Saran

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang korelasi TGF- β_1 dengan PAI-1 sampai dengan fase konvalesen, sehingga korelasi antara TGF- β_1 dengan PAI-1 dapat diketahui lebih jelas pada seluruh fase DBD.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui korelasi antara TGF- β_1 dengan PAI-1, dengan memperhatikan faktor lain yang mungkin turut berpengaruh antara lain tF, MEK, IL-10, IL-6, IL-8 dan *viral load* maupun *viral strain*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Setiati TE. Faktor hemostasis dan faktor kebocoran vaskuler sebagai faktor diskriminan untuk memprediksi syok pada demam berdarah dengue. (Disertasi). Semarang: Universitas Diponegoro; 2004.
2. Sutaryo. Perkembangan patogenesis demam berdarah dengue. Dalam: Demam berdarah dengue. Jakarta : BP FKUI; 1999:65-96.
3. Leangpibul P, Thongcharoen P. Clinical laboratory investigation. In: Thongcharoen P.editor. monograph dengue/dengue haemorrhagic fever. New Delhi: WHO, SEARO 1993:62-70.
4. Krishnamurti C, Kalayanaraj S, Cutting MA. Mechanisms of haemorrhage in dengue without circulatory collaps. *Am J Trop Med Hyg* 2001;65(6):840-47.
5. Mairuhu ATA, Gillavry MR, Setiati TE, Soemantri Ag, ten Cate H, Brandjes DPM, Van Gorp ECM. Is clinical outcome of dengue virus infections influenced by coagulation and fibrinolysis? A critical review of the evidence. *The Lancet Inf Dis* 2003;3:33-41.
6. Brodsky SV, Malinowsky K, Golightly M, Yesti J, Goligorsky MS. PAI-1 promotes formation of endothelial microparticles with procoagulant potential. *Circulation* 2002;106:2372-78.
7. Laur F, Murge B, Deparis X, Roche C, Cassar O, Chungue E. Plasma levels of tumor necrosis factor alpha and transforming growth factor beta-1 in children with dengue virus infection in french polynesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1998; 92:654-6.
8. Suharti C, Gorp ECM, Setiati TE, Dolmans WM, Djokomoeljanto R, Hack CE, et al. Suharti C. Editor. Dengue haemorrhagic fever in Indonesia : The role of cytokines in plasma leakage, coagulation and fibrinolysis. Nijmegen University 2001;108-119.
9. Mairuhu A, Setiati TE, Koraka P, Hack C, Leyte A, Faradz S, Ten Kate H, Brandjes D, Osterhaus A, Reitsma P, van Gorp E. Increased PAI-1 plasma levels and risk of death from dengue : no association with the 4G/5G promoter polymorphysm. *Thromb J* 2005; 73:17.
10. Lagoa CE, Vodovostz Y, stolz DB, Lhuillier F, McCloskey C, Gallo D, Yang R, Ustinova E, Fink MP, Billiar TR, Mars WM. The role of hepatic type 1 plasminogen activator inhibitor (PAI-1) during murine hemorrhagic shock. *Hepatology* 2005; 42(2):390-9.
11. Pihusch V, Pihuch M, Penovici M, Kolb HJ, Hiller E, Pihusch R. Transforming growth factor beta 1 released from platelets contributes to hypercoagulability in venoocclusive disease following hematopoietic stem cell transplantation . *Thromb Res* 2005;116(3):233-40.

12. Agarwal R, Elbishbishi EA, Chaturvedi UC, Nagar R, Mustafa AS. Profile of Transforming Growth Factor Beta 1 in patients with dengue haemorrhagic fever. *International Journal of Experimental Pathology* 1999; 80: 303-34.
13. Wills BA, Oragui EE, Stephens AC, Daramola OA, Nguyen Minh Dung, Ha Thi Loan, Nguyen Vinh C, Mary Chambers, Kasia Stepniewska, Farrar JJ, and Levin M. Coagulation abnormalities in dengue haemorrhagic fever : serial investigation in 167 vietnamese children with dengue shock syndrome. *Clinical Infectious Disease* 2002;35:277-285.
14. World Health Organization (WHO). Dengue haemorrhagic fever. In: *Diagnosis, treatment, prevention control*. 2nd ed. Geneva: WHO; 1997.
15. Hadinegoro SRH, Soegiyanto S, Wuryadi S, Suroso T. *Tatalaksana demam dengue/demam berdarah dengue*. Jakarta : Departemen Kesehatan.
16. Setiati TE, Soemantri Ag, Anggoro DBS, Bukit P. Severe dengue haemorrhagic fever in Dr. Kariadi Hospital – Semarang, Central Java. *KONIKA X*, Bukittinggi: 1996. (unpublished)
17. Avirutnan P, Malasit P, Seliger B, Bakdi S. Dengue virus infection of human endothelial cells lead to chemocin production, complement activation, and apoptosis. *J of Immunol* 1998;161:6338-6346.
18. Caturvedi UC, agarwal R, Elbishbishi EA, Mustafa AS. Cytokine cascade in dengue hemorrhagic fever : implications for pathogenesis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2000; 28(3):183-8.
19. TGF- β_1 Emax ® immunoassay system. Technical bulletin 196. p. 4. Available from URL:<http://www.promega.com>, diakses pada 12-10-2008.
20. Walia B. TGF Beta down regulates IL- signaling in intestinal epithelial cells : Critical role of SMAD-2. *FASEB J* 2003;17:2130-2.
21. Sri Rejeki. *Tatalaksana demam berdarah dengue di Indonesia*. Dirjen P2M dan Penyehatan Lingkungan. Depkes RI; 2001.
22. Sukorini U. Aktivasi sel endotel dan pemeriksaan laboratorium pada demam berdarah dengue. Dalam : Sutaryo,Pujo HG, Mulatsih S, editor. *Tatalaksana syok dan perdarahan : DBD*. Jogjakarta : Medika Fakultas Kedokteran UGM; 2004.
23. Koraka P, Murge B, Deparis X, van Gorp ECM, Setiati TE, Osterhaus ADME. Elevation of soluble VCAM-1 plasma levels in children with acute dengue virus infection of varying severity. *J Med Virol* 2004;72: 445-50.
24. Setiati TE. Pengelolaan syok pada demam berdarah dengue anak. Dalam : Sutaryo, Hagung P, Mulatsih S, editor. *Tatalaksana syok dan perdarahan pada demam berdarah dengue*. Yogyakarta: Medika Fakultas Kedokteran UGM; 2004.75-86.

25. Soegiyanto S. Penyakit infeksi virus dengue di era 2000 dan permasalahan. Dalam : Samsi TK, Ruspandji T, Setiawan J, Susanto J, Gunawan K. Naskah lengkap simposium tiga dekade demam berdarah dengue di Indonesia. Jakarta: BP RS Sumber Waras; 1997:15-36.
26. Guzman MG, Kouri G. Dengue : an update. *The Lancet Inf* 2002;2:33-42.
27. Darwis D. Kegawatan demam berdarah dengue pada anak. Dalam: Hadinegoro SR, Satari HI (penyunting). Demam berdarah dengue. Jakarta: BP FKUI; 1999:136-48.
28. Permono B. Aktivasi koagulasi, inhibisi koagulasi dan fibrinolisis. Dalam : Priyatno A, Setiati TE, Soemantri Ag. Kegawatan sistem hematologi pada anak. Simposium nasional PGD. Semarang: BP UNDIP; 2001:7-24.
29. Akib AP. Inflamasi dan koagulasi. Dalam: Priyatno A, Setiati TE, Soemantri Ag. Kegawatan sistem hematologi pada anak. Simposium Nasional PGD. Semarang: BP FK UNDIP; 2001:1-5.
30. Sutaryo, Wijayanto PJ. Patogenesis koagulopati pada demam berdarah dengue. Dalam : Tatalaksana syok dan perdarahan pada DBD. Yogyakarta: Medika FK UGM; 2004:30-33.
31. van Gorp E, Setiati TE, Mairuhu AT, Brandjes DP, ten Cate H. Impaired fibrinolysis in the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *J Med Virol* 2002; 67(4):549-54.
32. Suharti C, van Gorp EC, Dolmans WM, Setiati TE, Hack CE, Djokomoeljanto R, van der Meer JW. Cytokine patterns during dengue shock syndrome. *Eur Cytokine Netw* 2003;14(3):172-7.
33. Technozym. Human plasminogen activator inhibitor type 1. Catalog Number EP1100-1. available from URL <http://www.technoclone.com> diakses pada 12-10-2008.
34. Soegiyanto S. Penyakit infeksi virus dengue di era 2000 dan permasalahan. Dalam : Samsi TK, Ruspandji T, Setiawan J, Susanto J, Gunawan K. Editor. Naskah lengkap simposium tiga dekade demam berdarah dengue di Indonesia. Jakarta: BP RS Sumber Waras; 1997:15-36.
35. Wesley E, Ruth M, and Richert E. Advances in understanding of clinical manifestation and therapy of severe sepsis: an update for critical care nurses. *American Journal of Critical Care* 2003;12(2):120-33.
36. Kalayanarooj S, Nimmannitya S. Is dengue related to nutritional status ? *J Med Assoc Thai* 2003;86 Suppl 3:673-80.
37. Natchaporn P, Noparat M, Siripen K and Wisit. Relationship between body size and severity of dengue hemorrhagic fever amongs children aged 1-14 years. *Southeast Asian journal trop med public* 2006; 37(2):283-288.

38. Huang YH, Liu CC, Wang ST, Lei HY, Liu HL, Lin YS, et al. Activation of coagulation and fibrinolysis during dengue virus infection. *J Med Virol* 2001;63(3):247-51.
39. Laur F, Murge B, Deparis X, Roche C, Cassar O, Chungue E. Plasma levels of tumor necrosis factor alpha and transforming growth factor beta-1 in children with dengue virus infection in French Polynesia. *Trans R Soc Trop Med Hygiene* 1998; 92:654-6.
40. Barcellos-Hoff MH. How tissues respond to damage at the cellular level: orchestration by transforming growth factor-b ($TGF-\beta_1$). *British Ins Radiol* 2005:123-7.
41. Noisakran S, Perng CG. alternate hypothesis on the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever (DHF)/ dengue shock syndrome (DSS) in dengue virus infection. *Exp Biol Med* 2008;233:401-8.
42. Lei HY, Yeh TM, Liu HS, Lin YS, Chen SH, Liu CC. Immunopathogenesis of dengue virus infection. *J Biomed Sci* 2001;8:377-88.
43. Vaughn DE. PAI-1 and $TGF-\beta_1$: Unmasking the real driver of $TGF-\beta_1$ induced vascular pathology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:679-80.
44. Kutz SM, Hordines J, McKeown-Longo PJ, Higgins PJ. TGF -beta1-induced PAI-1 gene expression requires MEK activity and cell-to-substrate adhesion. *J Cell Sci* 2001;114(Pt 21):3905-14.
45. Huerta-ZA, Cabello-GC, Cime C J, Monroy V, Manjarrez ME, Gutiérrez M. Crosstalk between coagulation and inflammation during dengue virus infection. *Thromb Haemost* 2008;99(5):93-43.
46. Levi M, Keller TT, van Gorp. Infection and inflammation and the coagulation system. *Cardiovascular Research* 2003 (60):26-39.