

## PERAN SISTEM FIBRINOLISIS PADA BERBAGAI PROSES FISILOGIS DAN PATOLOGIS

Anak Agung Gde Budhiarta

Divisi Endokrinologi dan Metabolisme  
Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK Unud/RS Sanglah Denpasar

### SUMMARY

#### ROLE OF FIBRINOLYTIC SYSTEM IN MANY PHYSIOLOGICAL AND PATHOLOGICAL PROCESS

Plasminogen can be converted to plasmin either by t-PA or u-PA. A dual role for these pathways is now well established where t-PA is involved in fibrin homeostasis and u-PA is primarily involved in cell migration and tissue remodelling. Using this mechanism thrombolytic therapy of myocardial infarction and some other thromboembolic diseases have been introduced. Thrombolytic therapy could be improved by earlier and accelerated treatment, the used of plasminogen activator with increased thrombolytic potency such as reteplase, tenecteplase and staphylokinase and the use of more specific and potent anticoagulant and antiplatelet agents. Increased activity of matrix metalloproteinases (MMPs) has been implicated in numerous disease processes, including tumor growth and metastases, arthritis, and periodontal disease. It is now becoming increasingly clear that extracellular matrix degradation by MMPs is also involved in the pathogenesis of cardiovascular disease, including atherosclerosis, restenosis, dilated cardiomyopathy, and myocardial infarction. Administration of synthetic MMP inhibitor in experimental animal models of these cardiovascular disease significantly inhibits the progression of respectively atherosclerotic lesion formation, neointima formation, left ventricular remodeling, pump dysfunction, and infarct healing.

Keywords: Plasminogen, t-PA, u-PA, PAI-1, matrix metalloproteinase

### PENDAHULUAN

Sistem fibrinolisis terdiri dari proenzim inaktif, Plasminogen yang dapat berubah menjadi enzim aktif, plasmin oleh dua jenis aktivator plasminogen (PA); *tissue-type PA* (t-PA) dan *urokinase-type PA* (u-PA). Di dalam ruang ekstrasvaskuler u-PA merupakan aktivator Plasminogen yang dominan sedangkan t-PA lebih berperan di dalam sirkulasi.<sup>1</sup> Selanjutnya plasmin dapat memecah fibrin dan mengaktifasi

*matrix metalloproteinase (MMP)*, yang dapat memecah matrik ekstraseluler.<sup>2</sup> Inhibitor terhadap sistem plasminogen/ MMP terjadi pada tingkat PA oleh *plasminogen activator inhibitor type-1* (PAI-1) dan *plasminogen activator inhibitor type-2* (PAI-2). PAI-2 merupakan inhibitor utama dari u-PA di dalam ruang ekstrasvaskuler. di tingkat plasmin oleh *&2-antiplasmin* di tingkat MMP oleh *tissue inhibitors of MMP* (TIMP).<sup>12</sup> Oleh karena spesifitasnya terhadap fibrin, t-PA terutama berperan terhadap homeostasis fibrin

dengan menimbulkan lisis dari klot. Sedangkan u-PA berikatan dengan reseptor urokinase (u-PAR) dan berperan terhadap proteolisis periseluler melalui degradasi komponen matrik. Proses ini memegang peran penting dalam keadaan tertentu seperti migrasi sel dan remodeling jaringan di dalam berbagai proses fisiologis maupun patologis termasuk angiogenesis, aterosklerosis dan restenosis.<sup>34</sup> Akibat peran ganda dari sistem fibrinolisis ini sebagai konsekuensinya terminologi sistem fibrinolisis menjadi tidak sesuai lagi dan sebaiknya diganti dengan sistem plasminogen. Pemaparan secara biokimia, patofisiologi dan penerapan terapeutik dari sistem plasminogen didasari oleh produk dari berbagai teknik biologi molekuler yang sangat kuat termasuk teknik DNA rekombinan untuk ekspresi berbagai protein dan manipulasi gen target secara *in vivo* untuk menerangkan peranan patofisiologi dari produk translasi.<sup>2</sup>

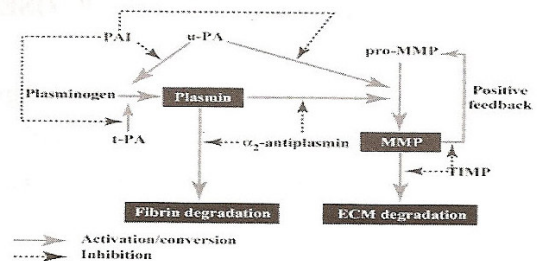
## KOMPONEN SISTEM PLASMINOGEN

Semua enzim dari sistem plasminogen adalah protease serin, dengan bagian yang aktif terdiri dari *catalytic triad* tersusun dari asam amino serin, asam aspartik dan histidin. Bagian yang aktif ini terletak pada *carboxyl-terminal region* dan molekul, sedangkan *NH<sub>2</sub>-terminal region* mengandung satu atau lebih domain struktural atau fungsional. Inhibitor dari sistem plasminogen adalah *superfamily* dan serpin (*serine protease inhibitor*). Pada *carboxyl-terminal region* memiliki tempat spesifik yang reaktif untuk mengikat peptida (Arg-X atau Lys-X), yang akan dipecah oleh enzim targetnya dan menghasilkan ikatan antara enzim inaktif dengan inhibitorynya.<sup>2-5</sup>

### Plasminogen

Merupakan glikoprotein mengandung 791 asam amino yang ditentukan secara *cDNA sequencing*. Tersusun dari tujuh struktur domain, terdiri dari *preactivation peptide*. 5 urutan

*kringle domains homolog* (ikatan disulfida struktur *triple loop*) dan domain protease. *Kringle domain* mengandung *lysine-binding site* yang memegang peran penting dalam ikatan spesifik dengan fibrin, permukaan sel dan  $\alpha_2$ -antiplasmin. Plasminogen dirubah menjadi plasmin dengan memecah ikatan peptida tunggal Arg<sup>561</sup>-Val<sup>562</sup> oleh aktifator plasminogen.<sup>2</sup>



Gambar 1. Skema dari interaksi antara sistem fibrinolisis (plasminogen/plasmin) dengan sistem *matrix metalloproteinase*. Sistem fibrinolisis terdiri dari pro plasminogen yang dirubah menjadi enzim aktif plasmin oleh t-PA. Plasmin memecah fibrin dan dapat merubah *latent matrix metalloproteinases* (pro MMPs) menjadi MMPs aktif selanjutnya memecah matrik ekstraseluler (ECM). Aktifasi MMP diregulasi oleh mekanisme umpan balik positif. MMP aktif dapat mengaktifkan pro-MMPs lainnya. t-PA dihambat oleh  $\alpha_2$ -AP dan MMP dihambat oleh inhibitor jaringan (TIMP). Hambatan juga dapat terjadi pada t-PA oleh plasminogen activator inhibitor (PAI-1 dan PAI-2)<sup>6</sup>

### Tissue-type plasminogen activator (t-PA)

Merupakan glikoprotein yang dihasilkan oleh sel endotel dan kadar dalam plasma sekitar 500 ng/mL. Mengandung 530 asam amino dan terdiri dari beberapa domain dengan kesamaan dengan protein lainnya: sebuah *finger domain*, sebuah *growth factor domain*, dua *kringles domain* dan *protease domain*, terdiri dari *catalytic domain*. Ikatan t-PA dengan plasminogen kemungkinan besar melibatkan *finger domain* dan *kringle domain I* kedua.<sup>2-5</sup>

### ***Urokinase-type plasminogen activator (u-PA)***

Merupakan glikoprotein yang terdiri dari *epidermal growth factor domain*, satu *kringle domain* dan *protease domain* mengandung *catalytic triad*. Radar didalam plasma sekitar 150 pmol/L. *Epidermal growth factor domain* berperan pada ikatan antara u-PA dengan reseptornya yang berada pada permukaan berbagai sel. Bentuk rantai tunggal u-PA hanya sedikit mengekspresikan aktifitas plasminogen aktifator dan & PA rantai tunggal akan diaktifasi dengan pemotongan proteolitik pada ikatan peptida Lys<sup>155</sup>-Ile<sup>159</sup> untuk membentuk rantai ganda yang merupakan target untuk dihambat oleh *plasminogen activator inhibitor type-1*

### ***α2-Antiplasmin (α2-AP)***

Pada mulanya diisolasi sebagai glikoprotein mengandung 452 asam amino tetapi ternyata menunjukkan bahwa α2-AP mengandung 464 asam amino. Diantara golongan serpin, (X2-AP memiliki struktur unik karena memiliki *carbonyl-terminal* sebagai perpanjangan dari 51 asam amino residu, yang mengandung *binding site* yang bereaksi dengan *lysine binding site* dari plasminogen maupun plasmin.

### ***Plasminogen activator inhibitor (PAI)***

PAI-1 adalah inhibitor protease yang merupakan regulator terpenting dari sistem fibrinolisis yang memberikan perlindungan terhadap trombosis.<sup>7</sup> Didalam plasma ditemukan berbagai macam *plasminogen activator inhibitor* termasuk PAI-1, PAI-2 (*placental plasminogen activator inhibitor*), PAI-3, (*protein C inhibitor*) dan *protease nexin*. Diantaranya PAI-1 adalah inhibitor yang paling penting dari aktifator Plasminogen.<sup>5</sup> PAI-1 adalah glikoprotein yang terdiri dari 379 asam amino dengan berat molekul 48.000. PAI-1 akan cepat berikatan dengan t-PA dan u-PA membentuk kompleks

yang stabil dengan rasio 1:1. Komplek ini akan cepat dibersihkan dari sirkulasi oleh sel hepar.<sup>8</sup>

Dikenal 3 bentuk dari PAI-1: bentuk aktif, laten dan subatrat. Apabila PAI-1 diantesa oleh sel endotel dan dilepaskan kedalam sirkulasi darah akan berbentuk aktif dan dapat menghambat aktifator plasminogen. Pada percobaan *in vitro* dalam kondisi fisiologis PAI-1 aktif secara spontan akan menjadi bentuk laten dengan waktu paruh 2 jam. Dalam keadaan normal didalam plasma PAI-1 akan terikat dengan *vitronectin* sehingga bentuk aktifnya stabil dan waktu paruhnya menjadi 4 jam.<sup>5</sup>

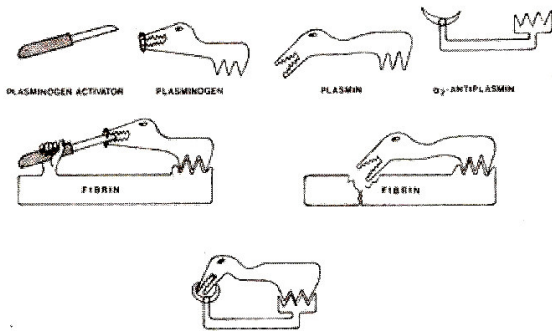
Sumber utama dari PAI-1 plasma belum diketahui dengan jelas, dari bukti penelitian yang telah dikerjakan PAI-1 disintesa oleh berbagai sel seperti sel endotel, sel otot polos pembuluh darah, trombosit, liepatosrt, fibroblast dan adiposit<sup>7</sup> Sintesis dan sekresi dari PAI-1 dirangsang oleh berbagai macam agen seperti deksametasone, endotoksin, lipopolisakarida, *growth factor*, thrombin, interleukin-1, *necrosis factor a*, insulin, *very low-density lipoprotein* (VLDL), *low density lipoprotein* (LDL) dan lipoprotein a. PAI-1 tidak hanya sebagai regulator dari sistem fibrinolisis tetapi PAI-1 juga berhubungan dengan inflamasi, infasi tumor dan obesitas.<sup>5</sup>

## SISTEM PLASMINOGEN DAN HOMEOSTASIS FIBRIN

### **Fisiologi fibrinolisis**

Fibrinolisis yang fisiologis tampaknya diatur oleh interaksi molekuler yang spesifik diantara komponen dari sistem plasminogen. Tanpa adanya fibrin, t-PA memiliki afinitas yang sangat lemah terhadap plasminogen, tetapi afinitasnya akan menjadi sangat tinggi apabila terdapat fibrin. Meningkatnya afinitas t-PA tampaknya disebabkan terjadinya pemaparan (*surface assembly*) dari aktifator plasminogen dan plasminogen pada permukaan fibrin. Pada reaksi ini t-PA akan berikatan melalui *finger domain* dan *kringle 2* dari fibrin dan dengan plasminogen

berikatan melalui *lysine-binding site* pada *kringle 1* Sehingga pengaturan fibrinolisis adalah pada tingkat aktivasi plasminogen yang terletak pada permukaan fibrin. Plasmin sangat cepat mengalami inaktivasi oleh  $\alpha 2$ -AP, sehingga waktu paruh dari plasmin bebas di dalam darah adalah 0,1 detik. Plasmin melalui *lysine binding site* mengalami inaktivasi oleh  $\alpha 2$ -AP 50 kali lebih lambat. Hambatan secara reversibel bagian aktif dari plasmin oleh substrat juga sangat menurunkan kecepatan aktivasi oleh  $\alpha 2$ - A P. Dari penemuan ini dapat disimpulkan bahwa molekul plasmin yang dihasikan pada permukaan fibrin dan terikat dengan fibrin melalui *lysine binding site* dan berperan terhadap degradasi fibrin, akan terlindungi dari inaktivasi oleh  $\alpha 2$ -AP. Sebaliknya plasmin yang terlepas dari permukaan fibrin akan cepat mengalami inaktivasi.?



Gambar 2. Visualisasi skematik interaksi molekuler yang mengatur fisiologi fibrinolisis Plasminogen dirubah menjadi enzim proteolitik plasmin oleh t-PA, tetapi konversi ini terjadi efisien hanya pada permukaan fibrin. Plasmin bebas di dalam darah akan cepat di inaktivasi oleh  $\alpha 2$ -AP, tetapi plasmin yang terbentuk pada permukaan fibrin akan terlindungi dari inaktivasi. *Lysine binding site* di dalam plasminogen (kaki dari binatang) sangat penting untuk interaksi antara plasminogen dan fibrin dan antara plasmin dan  $\alpha 2$ -AP<sup>9</sup>

### Kontrol terhadap aktivasi plasminogen

Pembersihan yang cepat t-PA dari darah oleh hepar melalui 2 sistem yang berbeda. Hepatosit mengikat t-PA melalui *low density*

*lipoprotein receptor-related protein* (LR-P) dan sel endotel melalui *mannose-dependent receptor*. Sedangkan kecepatan PAI bereaksi dengan t-PA merupakan urutan kedua dan ko sedangkan PAI akan cepat dibersihkan dari sirkulasi u hepar.

Sintesa dan sekresi dari t-PA dan PAI-1 oleh sel endotel merupakan sesuatu yang sangat diatur. Histamin dan trombin berikatan dengan reseptor spesifik dan mengaktifasi fosfolipase C yang bekerja pada *phosphatidyl-inositol bisphosphate* untuk menghasilkan diasilgliserol, yang mengaktifasi protein kinase C yang terikat pada membran yang mengatur sintesa t-PA. Sintesis dan sekresi dari PAI-1 dapat dipengaruhi oleh berbagai macam rangsangan. Kebanyakan sel mengikat plasminogen melalui *lysine binding site* dengan kapasitas yang tinggi ( $> 10^7$  tempat per sel) tetapi dengan afinitas yang relatif rendah. Ganglioside seperti halnya dengan protein membran dengan *carboxyl-terminal lysine residu* seperti *a-enolase*, juga mengikat plasminogen. Sel endotel mengikat t-PA dan plasminogen melalui *annexin II* sehingga memegang peran penting untuk mempertahankan fluiditas darah. Lp(a) berkompetisi dengan plasminogen untuk berikatan dan memegang peran penting dalam pengaturan fibrinolisis pada permukaan sel endotel.

*Thrombin activable fibrinolysis inhibitor* (TAFI) mungkin memiliki efek anti fibrinolisis dengan cara menghilangkan *carbonyl-terminal lysine residu* dari permukaan fibrin.<sup>2</sup> TAFI di dalam sirkulasi sebagai *procarboxypeptidase B zymogen* yang kemudian berubah menjadi bentuk aktif *carboxypeptidase U* atau TAFIa selama proses koagulasi setelah pemecahan trombin. Terbentuknya TAFIa tergantung kuantitas dari trombin yang dihasilkan selama proses koagulasi dan diperkuat oleh trombomodulin. Terbentuknya TAFIa selama proses pembekuan menyebabkan terhambatnya lisis dari bekuan darah yang disebabkan oleh eliminasi cepat dari *carboxyl-terminal lysine residue*, sehingga mengurangi

ikatan plasminogen pada fibrin yang mengalami degradasi partial.

## PATOFISIOLOGI FIBRINOLISIS

### Penurunan fibrinolisis dan trombosis

Berkurangnya respon fibrinolisis dapat disebabkan oleh gangguan pelepasan t-PA dari dinding pembuluh darah atau karena meningkatnya netralisasi. Hubungan antara menurunnya sintesis atau lepasnya t-PA dan meningkatnya trombosis belum pernah dijumpai pada manusia. Pada tikus transgenik dimana fungsi t-PA tidak ada, kecepatan untuk melakukan lisis pada emboli paru secara eksperimental sangat menurun, tetapi tikus tetap sehat dalam kondisi basal.<sup>2</sup>

Kadar PAI-1 di dalam plasma meningkat pada beberapa penyakit termasuk tromboemboli vena, obesitas, sepsis dan penyakit arteri koronaria. Peningkatan kadar PAI-1 juga dijumpai berhubungan dengan sindroma resistensi insulin dimana terjadi hubungan yang bermakna antara kadar PAI-1 plasma, indeks masa tubuh (IMT), kadar trigliserida, kadar insulin dan tekanan darah sistolik. Menurunkan resistensi insulin dengan diet, latihan jasmani, atau obat antidiabetik oral seperti metformin menimbulkan pengaruh yang menguntungkan pada resistensi insulin dengan penurunan kadar PAI-1.<sup>11</sup> Bagaimana pada obesitas terutama obesitas sentral meningkatkan kadar PAI-1 plasma belum diketahui dengan jelas. Pada obesitas sentral atau visceral terjadi ekspresi dan sekresi berlebih dari berbagai sitokin seperti *tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )*, *transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )* dan *angiotensin II (Ang II)*.<sup>12,13</sup> Pada penelitian *in vitro* dengan kultur jaringan lemak sitokin ini meningkatkan ekspresi dan sekresi PAI-1. Pada obesitas, sel lemak akan mengeluarkan berbagai sitokin sebagai protein signal yang dapat merangsang sintesis PAI-1 baik secara autokrin maupun parakrin. seperti *tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )*.<sup>12-14</sup>

Penelitian pada *Atherosclerosis Risk in*

*Communities (ARIC)* membuktikan bahwa penurunan fungsi<sup>15</sup> fibrinolisis memegang peran di dalam progresi dini dari lesi aterosklerotik.<sup>15</sup> Analisa selanjutnya dari penelitian ini menunjukkan bahwa t-PA dan PAI-1 berhubungan positif dengan insiden penyakit jantung koroner di dalam analisa disesuaikan dengan umur, ras dan jenis kelamin tetapi penyesuaian dengan faktor risiko lainnya ternyata tidak ada hubungannya. Demikian juga dengan plasminogen dan D-dimer berhubungan secara independen dengan insiden penyakit jantung koroner.<sup>16</sup>

### Peningkatan Fibrinolisis dan perdarahan

Meningkatnya kadar t-PA atau defisiensi  $\alpha$ 2-AP atau PAI-1 dapat meningkatkan risiko perdarahan. Defisiensi  $\alpha$ 2-AP homozigot akan menimbulkan diatese hemoragis yang berat sedangkan defisiensi heterozigot akan menimbulkan diatese hemoragis yang ringan atau tidak sama sekali.

- a) Kelainan kongenital. Fibrinolisis yang berlebihan karena peningkatan kadar t-PA, defisiensi PAI-1 dan  $\alpha$ 2-AP dapat menimbulkan diatese haemoragis. tetapi kasusnya jarang.
- b) Kelainan didapat. Pada beberapa kasus terbentuknya aktivator plasminogen yang berlebihan terjadi setelah pembentukan fibrin yang berlebihan. Fenomena ini sering dijumpai pada *disseminated intravascular coagulation (DIC)*. dimana percobaan dengan DIC septik, respon awal adalah prokoagulan, dan segera diikuti oleh profibrinolisis dan selanjutnya akan lebih meningkatkan kadar antifibrinolisis di dalam plasma. Meskipun terjadi peningkatan PAI-1 di dalam sirkulasi, t-PA memegang peran kunci untuk menimbulkan aktifitas fibrinolisis secara lokal.<sup>11</sup> Pada penderita sirosis hepatitis dan beberapa penyakit hepar lainnya kadar dari  $\alpha$ 2-AP mengalami penurunan. Keadaan ini menyebabkan meningkatnya aktifitas

fibrinolisis pada penderita dengan sirosis hepatis. (X2-AP juga kadarnya menurun pada penderita dengan pengobatan trombolitik, sebagai akibat dari aktivasi sistemik dari sistem fibrinolisis.<sup>11</sup>

#### FENOTIPE TIKUS TRANSGENIK DENGAN DEFISIENSI KOMPONEN SISTEM FIBRINOLITIK

Dengan metode rekombinan homolog pada stem sel embrional memungkinkan kita dapat menciptakan tikus transgenik dengan defisiensi dari gen tertentu yang spesifik. Tikus dengan defisiensi u-PA akan mengalami sedikit endapan fibrin di hepar dan intestinal dan akan mengalami endapan fibrin yang berlebihan pada ulserasi kulit yang kronis, sedangkan pada tikus defisiensi t-PA tidak akan mengalami endapan fibrin secara spontan. Sebaliknya tikus dengan defisiensi plasminogen atau defisiensi kombinasi t-PA dan u-PA akan mengalami endapan fibrin secara ekstensif intra maupun ekstra vaskuler pada berbagai organ. Yang menarik tikus dengan defisiensi t-PA dan u-PA tidak menunjukkan endapan fibrin yang berlebihan, sehingga diperkirakan bahwa proteolisis plasmin yang cukup dapat terjadi meski tidak terjadi ikatan u-PA dengan u-PA.<sup>2,17</sup>

Setelah trauma atau mengalami peradangan tikus defisiensi t-PA atau u-PA akan lebih rentan mengalami trombosis vena. Endapan fibrin dan matriks yang nyata dijumpai pada tikus defisiensi plasminogen setelah mengalami perlukaan kulit. Pada tikus ini juga akan mengalami peningkatan trombosis arterial tetapi hanya setelah mengalami perlukaan.<sup>17</sup>

#### TERAPI TROMBOLISIS

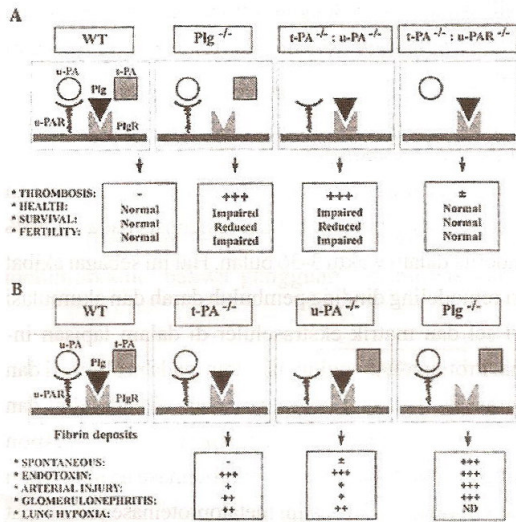
Infark miokard akuta (IMA) disebabkan oleh trombosis, yang dicetuskan oleh ruptur dari plak ateromatosa pada dinding arteri koronaria. Hipotesa yang mendasari terapi trombolitik pada

penyakit tromboemboli adalah rekanalisasi secara dini dan menetap akan mencegah kematian sel, mengurangi luasnya infark, mempertahankan fungsi organ dan menurunkan angka kematian. Dengan berhasilnya diungkap mekanisme biokimia yang mengatur fisiologi dari fibrinolisis konsep trombolisis selektif fibrin dengan t-PA diharapkan dapat dikembangkan obat trombolisis yang lebih spesifik dan efektif.<sup>2</sup>

Streptokinase adalah protein bakteri apabila ditambahkan pada plasma akan membentuk ikatan dengan plasminogen. Ikatan ini akan mengaktifasi molekul plasminogen lainnya menjadi plasmin. Ikatan streptokinase-plasminogen ini resisten terhadap inhibitor proteinase di dalam sirkulasi dan mengaktifasi plasminogen di dalam sirkulasi dan berikatan dengan fibrin dan menimbulkan keadaan *systemic lytic state* yang ditandai dengan penurunan degradasi fibrinogen dan  $\alpha$ 2-AP di dalam sirkulasi. Streptokinase menyebabkan hipotensi transien pada beberapa kasus dan reaksi alergi. Pemberian streptokinase menyebabkan kenaikan yang cepat titer antibodi anti-streptokinase setelah 4-7 hari, sehingga cukup untuk menetralkan dosis standar dari streptokinase sehingga pada pemberian ulangan tidak akan bermanfaat<sup>2</sup>

t-PA yang dihasilkan dengan teknologi DNA rekombinan (rt-PA atau alteplase), merupakan enzim yang lemah, tetapi dengan adanya fibrin kekuatan aktivasi plasminogennya menjadi 100 x lipat. Aktivasi sistem fibrinolitik tampaknya dipicu dan ditimbulkan dengan adanya fibrin. Berbagai penelitian membuktikan bahwa rt-PA fibrin selektif ternyata lebih poten menimbulkan rekanalisasi arteri koronaria dibandingkan dengan pemakaian streptokinase non fibrin selektif, tetapi pada penelitian yang lebih luas ternyata perbedaan ini tidak memberikan keuntungan yang berarti terhadap penurunan mortalitas.<sup>18</sup> Disamping mempunyai sifat fibrin selektif rt-PA tidak akan menimbulkan reaksi alergi.<sup>19</sup> Penggunaan rt-PA pada IMA dikatakan lebih unggul dibandingkan dengan

streptokinase tetapi menimbulkan risiko yang lebih tinggi terjadinya perdarahan intra kranial terutama pada penderita usia tua<sup>19,20</sup> *Global Utilization of Streptokinase and Tissue Plasminogen Activator for Occluded Coronary Arteries* (GUSTO)<sup>21</sup> membuktikan bahwa t-PA dengan heparin intravena menghasilkan 81% rekanalisasi dibandingkan dengan 54% ( $p < 0,001$ ) pada streptokinase dengan heparin subkutan, kelompok dengan streptokinase dan heparin intra vena 60% ( $p < 0,001$ ).



Gambar 3. Peran sistem plasminogen didalam *fibrin surveillance*. A. Deposit fibrin didalam sistem Plasminogen (Pig) dan tikus *knockout* sebelum dan sesudah diberikan tantangan experimental. Deposit fibrin sebelum mendapat tantangan diobservasi pada tikus defisiensi u-PA dan pada tikus defisiensi plg atau kombinasi defisiensi t-PA + u-PA, tetapi tidak pada tikus dengan defisiensi kombinasi t-PA dan u-PAR, roenunjukkan bahwa kedua PA bekerja sama untuk mencegah endapan fibrin dan terjadi proteolisis plasmin periseluler yang cukup meski tidak ada ikatan antara u-PA dengan reseptornya W-PAR). B. Tantangan inflamasi atau traumatik termasuk suntikan endotoksin, perlukaan kulit, glomerulonefritis, Perlukaan arteri. Merangsang endapan fibrin ekstrasvaskuler juga trombotosis intravaskuler pada vena, kapiler dan arteri. Defisiensi kombinasi t-PA dan u-PA tetapi tidak t-PA dan u-PAR menyebabkan endapan fibrin meluas, menurunkan fertilitas, disfungsi multiorgan dengan dispneu, letargi dan kaeksia, sehingga menyebabkan kematian daini<sup>17</sup>

## Penyempurnaan terapi trombolisis

Terapi trombolisis dapat disempurnakan dengan berbagai cara seperti (1) pengobatan dilakukan lebih dim' untuk memperpendek periode iskemi (2) pemakaian aktivator plasminogen dengan potensi fibrinolisis yang lebih kuat dengan suntikan bolus dan (3) pemakaian obat anti koagulan dan anti trombosit yang lebih kuat dan spesifik untuk mempercepat rekanalisasi dan mencegah reoklusi.<sup>2</sup> Saat ini telah dapat dikonstruksi varian dari rt-PA dengan sifat menurunnya clearance, ikatan dengan fibrin lebih kuat, dan resisten terhadap inhibitor protease di dalam plasma. Dua varian telah dapat dikembangkan yaitu reteplase dan tenecteplase untuk keperluan klinis. Reteplase adalah deletion mutant terdiri dari kringel 2 dan domain protease dari rt-PA disuntikkan dengan bolus ganda pada penderita dengan IMA .dan mempunyai potensi sama dengan alteplase seperti yang ditunjukkan pada percobaan GUSTO III. Tenecteplase jugamutan dari rt-PAdimana Thr<sup>103</sup> diganti dengan Asn, Asn<sup>117</sup> oleh Gin, dan urutan Lys<sup>296</sup>-His-Arg-Arg diganti dengan Ala-Ala-Ala-Ala dengan clearance 8 kali lipat lebih lambat dan 200 kali lebih resisten terhadap PAI-1 bila dibandingkan dengan alteplase.<sup>2</sup>

Stafilokinase merupakan fibrinolisis fibrin yang selektif dan sangat kuat. Stafilokinase merupakan rantai tunggal polipeptida dari 136 asam amino tanpa jembatan disulfida, yang dihasilkan oleh strain tertentu dari *Staphylococcus aureus*. Seperti halnya streptokinase, stafilokinase bukan merupakan enzim tetapi membentuk 1:1 ikatan *stoichiometric* dengan plasminogen yang mengaktifasi molekul plasminogen lainnya. Stafilokinase ditambahkan pada plasma yang mengandung klot fibrin akan bereaksi lemah dengan plasminogen, tetapi akan bereaksi dengan afinitas yang kuat dengan plasmin pada permukaan klot, dimana ikatan plasmin-stafilokinase mengaktifasi plasminogen menjadi plasmin. Keduanya baik plasmin-stafilokinase dan plasmin-fibrin akan dilindungi dari hambatan oleh

$\alpha$ -AP, sedangkan yang tidak terikat dengan fibrin seperti yang terlepas dari klot atau terbentuk didalam plasma akan cepat dihambat oleh  $\alpha$ -AP. Dengan demikian proses aktivasi plasminogen melalui terbentuknya trombus, mencegah terbentuknya plasmin yang berlebihan, menurunkan  $\alpha$ -AP dan degradasi fibrin didalam plasma.<sup>2</sup>

## SISTEM PLASMINOGEN DAN REMODELING JARINGAN

Proteinase memegang peran penting pada migrasi sel dan remodeling jaringan, melalui berbagai proses biologis. Mereka memecah komponen matrik ekstraseluler sebagai syarat agar sel endotelial, sel otot polos, sel inflamasi atau sel kanker dapat bermigrasi ketempat yang jauh dan mengaktifasi sitokin atau melepaskan *growth factor*. Penelitian dengan target gen dan transfer gen pada tikus membuktikan adanya berbagai peran dari sistim plasminogen dan MMP di dalam pembentukan neointima arteri, pada aterosklerosis, pembentukan aneurisma dan iskemi miokardial, angiogenesis, pertumbuhan dan metastase tumor, dan pada infeksi.<sup>2</sup>

MMP adalah famili dari *zinc-containing endoproteinase* yang memiliki struktur domain yang sama tetapi berbeda di dalam spesifitas substrat, sumber seluler dan aktifasinya. Sampai saat ini lebih dari 20 MMP telah dapat diklon dan diidentifikasi pada mamalia. Semua MMP memiliki kesamaan fungsi seperti (1) mereka memecah komponen matrik ekstra seluler (ECM) (2) disekresikan dalam bentuk laten dan memerlukan aktivasi secara proteolisis (3) bagian aktifnya mengandung  $Zn^{2+}$  (4) untuk stabilitasnya memerlukan kalsium (5) berfungsi pada pH netral dan (6) dihambat oleh *specific tissue inhibitor of metalloproteinase* (TIMP). Berbagai macam sitokin, hormon, dan *growth factor* dapat meningkatkan transkripsi dari MMP. MMP laten mengalami aktivasi melalui berbagai mekanisme, tetapi secara

fisiologis yang paling kuat adalah plasmin.

MMP yang telah mengalami aktivasi dihambat oleh inhibitor spesifik TIMP. TIMP diekspresikan oleh berbagai jenis sel dan dapat dijumpai pada hampir semua jaringan dan cairan tubuh. Saat ini dikenal 4 jenis TIMP yang memiliki kesamaan struktur, TIMP-1,-2,-3 dan -4. TIMP berikatan secara nonkovalen dengan MMP aktif di dalam 1:1 molar rasio. Kemampuan menghambat MMP ditunjukkan dengan kemampuannya berikatan dengan *zinc-binding site* di dalam *catalytic domain* dari MMP aktif.<sup>22</sup>

### Pembentukan neointima

Intervensi vaskuler untuk pengobatan aterotrombosis mengakibatkan restenosis pada 30-50% penderita dalam waktu 3-36 bulan. Hal ini sebagai akibat dari remodeling dinding pembuluh darah dan akumulasi dari sel dan matrik ekstraseluler di dalam lapisan intima. Proteinase mungkin berperan pada proliferasi dan migrasi dari sel otot polos dan atau sel endotelial dan remodeling matrik yang ekstensif selama respon penyembuhan luka. Dua sistim proteinase terlibat yaitu sistim fibrinolisis dan sistim metaloproteinase yang dapat memecah protein matrik ekstraseluler. Berbeda dengan keadaan normal, aktifitas u-PA dan t-PA pada dinding pembuluh darah sangat meningkat setelah terjadinya perlukaan bersamaan pula pada saat terjadinya proliferasi dan migrasi sel otot polos. Peningkatan proteolisis plasmin diirnbangi dengan peningkatan ekspresi PAI-1 pada sel otot polos dan endotel yang mengalami perlukaan dan peningkatan pelepasan PAI-1 dari trombosit.

Pembentukan neointima dan akumulasi sel neointima setelah perlukaan menurun secara bermakna I pada tikus dengan defisiensi u-PA, plasminogen atau I kombinasi t-PA:u-PA. Keadaan ini disebabkan karena gangguan migrasi tetapi bukan oleh karena gangguan proliferasi sel otot polos dan neointima. Pada arten dengan defisiensi u-PAR akan terjadi pembentukan neointima seperti pada arteri *dari wild type*, dan

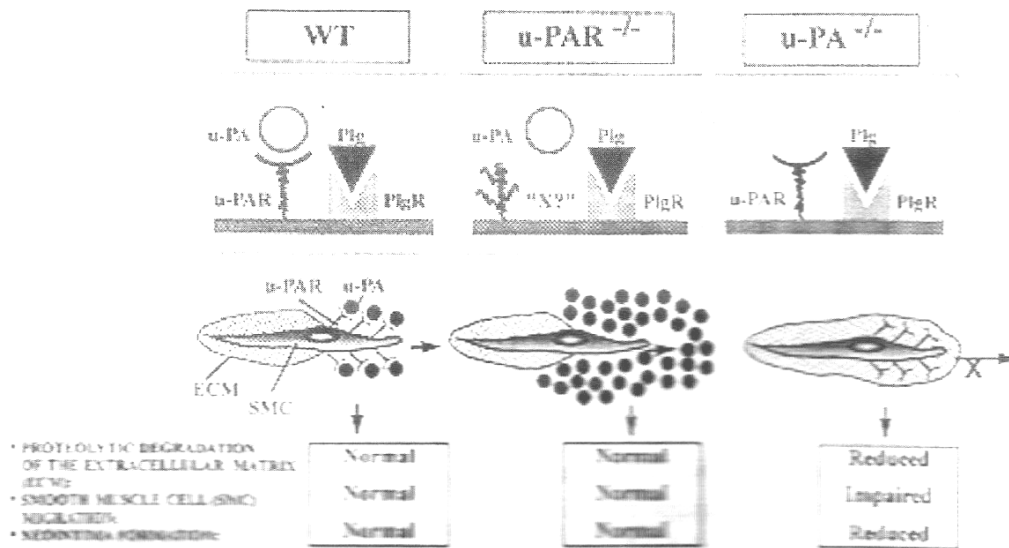


keadaan ini dimungkinkan karena terjadi proteolisis plasmin periseluler yang cukup meski tidak terjadi ikatan antara u-PA dengan u-PAR.<sup>2</sup> Gangguan migrasi sel otot polos dari tepi daerah non lesi ke pusat terjadinya lesi merupakan penyebab menurunnya pembentukan neointima pada tikus akibat gangguan proteolisis plasmin karena defisiensi u-PA. Pada ateri dengan defisiensi u-PAR akan mengalami pembentukan neointima dalam tingkatan yang sama dan keadaan ini menunjukkan terjadinya proteolisis plasmin periseluler meskipun tidak terjadi ikatan antara u-PA dengan reseptor selulernya.<sup>17</sup>

### ATEROSKLEROSIS

Bukti epidemiologi, genetik dan molekuler menunjukkan bahwa gangguan fibrinolisis karena peningkatan PAI-1, penurunan ekspresi t-PA, atau hambatan aktivasi plasminogen ikut berperan

terhadap terjadi dan berkembangnya aterosklerosis, terutama karena mempermudah trombosis atau timbunan matrik. Kadar PAI-1 plasma meningkat pada penderita dengan penyakit jantung iskemi, angina pectoris, dan infark miokard berulang. Analisa genetik menunjukkan adanya hubungan antara polimorfisme pada promoter PAI-1 dan kecenderungan terjadinya aterotrombosis yang kemungkinan disebabkan oleh interaksi yang berbeda dari *peroxysome proliferasi reseptor family*. Kemungkinan peran dari peningkatan proteolisis plasmin pada terjadinya aterosklerosis karena dijumpai adanya peningkatan ekspresi dari t-PA dan u-PA pada plak aterosklerosis. Proteolisis plasmin mungkin berperan pada neovaskularisasi dari plak, ruptur dari plak atau ulserasi dan terbentuknya aneurisma.



Gambar 4. Receptor-independent u-PA merangsang aktivasi plasminogen didalam pembentukan neointima. Sel otot polos (MMC) dikelilingi oleh matrik ekstra seluler (ECM) yang harus dipecah secara proteolisis untuk memudahkan migrasi sel. Pada *wild type (WT)* SMC, u-PA akan berikatan dengan u-PAR, sebagai mediator aktivasi Plg dan degradasi matrik ekstra seluler oleh plasmin sehingga memudahkan sel melakukan migrasi. Pada defisiensi u-PAR (u-PAR<sup>-/-</sup>) SMC, u-PA akan terlokalisasi pada permukaan sel kemungkinan melalui interaksi dengan molekul matrik lainnya (X),memungkinkan terjadinya proteolisis periseluler oleh plasmin sehingga memungkinkan migrasi sel. u-PA juga akan mengalami peningkatan karena terganggunya kliren yang dimediasi oleh u-PAR. Senaliknya bila kekurangan u-PA (u-PA<sup>-/-</sup>) akan mengalami penurunan proteolisis periseluler oleh plasmin dan menyebabkan SMC tidak dapat mengadakan migrasi sehingga menurunkan pembentukan neointima<sup>17</sup>

Meskipun terjadi peningkatan ekspresi t-PA, u-PA dan berbagai MMP pada plak, tetapi peran sistim plasminogen dan alau MMP pada aterosklerosis belum dapat disimpulkan. Tidak terdapat perbedaan mengenai ukuran dan tempat predileksi dari plak pada tikus dengan defisiensi alipoprotein E (apoE) atau kombinasi defisiensi apoE dan t-PA atau defisiensi apoE dan u-PA, membuktikan bahwa plasmin tidak diperlukan oleh makrofag untuk infiltrasi ke subendotelial. Meskipun demikian kerusakan media dengan akibat terjadinya aneurisma dan ruptur dari dinding pembuluh darah lebih sering terjadi pada tikus kekurangan apoE atau apoE dan t-PA dibandingkan dengan kurang apoE dan u-PA. Tidak dijumpai makrofag pada media dari arteri yang tidak terlibat dan hanya mampu menginfiltrasi kedalam dan merusak media dari arteri yang mengalami aterosklerotik setelah memecah serat elastin. Peningkatan u-PA ditimbulkan oleh makrofag yang menginfiltrasi plak yang selanjutnya mengekspresikan MMP-3, MMP-9, MMP-12 dan MMP-13 berlokasi sama dengan u-PA pada makrofag didalam plak dan membuktikan bahwa plasmin merupakan aktifator dari proMMP *in vivo*?

### ISKEMI MIOKARD

Pada tikus dengan infark miokard kronik telah diteiti mengenai peran sistim plasminogen pada penyembuhan otot jantung. Pada tikus *wild type* atau dengan defisiensi t-PA, penyembuhan miokard yang mengalami iskemi terjadi dalam waktu 2 minggu melalui pembentukan jaringan parut, dimana miokard yang mengalami iskemia diinfiltrasi oleh leukosit, sel endotel, dan fibroblast dengan akibat terhnbunnya jaringan kolagen. Pada sebagian tikus akan mengalami ruptur miokard yang disebabkan karena sangat meningkatnya proteolisis plasmin yang dihasilkan oleh u-PA. Tikus dengan defisiensi u-PA atau plasminogen akan terhindar dari ruptur dinding

ventrikel.<sup>2</sup>

Peranan dari MMP selama proses penyembuhan dan remodeling dari ventrikel kiri pasca IMA banyak diteiti dengan mempergunakan inhibitor MMP pada tikus-Inhibitor MMP dapat menghambat terjadinya dilatasi ventrikel kiri pada tikus yang mengalami infark miokard akuta. Berkurangnya dilatasi ventrikel kiri setelah pengobatan dengan inhibitor MMP pada IMA tergantung dari perlindungan terhadap matrik ekstraseluler didaerah yang mengalami infark<sup>22</sup>

### ANGIOGENESIS

Untuk migrasi sel endotel diperlukan proteolisis dari matrik ekstraseluler. Migrasi sel endotel memerlukan peningkatan produksi u-PA, u-PAR dan yang lebih sedikit t-PA. Meskipun PAI-1 juga akan meningkat tetapi ekspresinya dalam lokasi dan waktu berbeda akan menyebabkan meningkatnya aktifitas fibrinolisis. Yang mengherankan tikus dengan defisiensi u-PA dan /atau t-PA, PAI-1, u-PAR, plasminogen atau a2-AP akan berkembang normal tanpa kelainan vaskuler yang berarti.

Migrasi sel endotel sepanjang *denuded vessel* tidak memerlukan plasmin yang dihasilkan dan u-PA, sedangkan invasi sel endotel melalui barter anatonrik dari matrik ekstraseluler memerlukan proteolisis plasmin.<sup>2</sup>

### PERTUMBUHAN DAN PENYEBARAN TUMOR

Proteolisis plasmin periseluler memegang peran penting pada invasi dan metastase dari tumor dengan mempermudah migrasi dari sel maligna menembus barier anatomis melalui degradasi dari komponen matrik ekstraseluler. Sehingga peran u-PA menjadi penting karena memiliki pengaruh positif terhadap pertumbuhan tumor. PAI-1 karena memiliki kemampuan untuk menghambat proteolisis yang diperantarai oleh u-PA diharapkan PAI-1 dapat menghambat

pertumbuhan tumor. Tetapi peran PAI-1 pada pertumbuhan dan metastase dari tumor masih dipertentangkan karena pada penelitian epidemiologis menunjukkan bahwa PAI-1 merupakan marker dari jeleknya prognose survival pasien dengan berbagai jenis keganasan. Penelitian terakhir membuktikan bahwa angiogenesis tumor sangat menurun atau tidak terjadi sama sekali pada host dengan defisiensi PAI-1, dengan transfer gen melalui adenovirus akan memulihkan sifat invasif dari sel tumor.<sup>2</sup>

### KESIMPULAN

Sistem fibrinolisis menghasilkan plasmin yang selanjutnya memecah fibrin dan dapat mengaktifasi *matrix metalloproteinase* yang dapat memecah matrik ekstraseluler. Akibat peran ganda dari sistem fibrinolisis ini sebagai konsekuensinya terminologi sistem fibrinolisis menjadi tidak sesuai lagi dan sebaiknya diganti dengan sistem plasminogen. Dengan perkembangannya yang sangat pesat dibidang teknik biologi molekuler termasuk teknik DNA rekombinan untuk ekspresi berbagai protein dan manipulasi gen target secara *in vivo*, mekanisme fibrinolisis dapat dijelaskan lebih mendalam. Disamping itu dengan teknik DNA rekombinan mulai dapat dihasilkan rt-PA dengan berbagai varian dengan potensi fibrinolisis yang lebih toat, waktu paruh yang lebih panjang dan resisten terhadap inhibitor protease. Penemuan ini akan roenyempurnakan terapi trombolisis pada kasus-kasus infark miokard akuta dan penyakit tromboemboli lainnya. Plasmin yang terbentuk karena dapat mengaktifasi *matrix metalloproteinase* yang memecah matrik ekstraseluler seperti kolagen juga berperan dalam berbagai proses fisiologis maupun patologis seperti pembentukan neointima, proses aterosklerosis, angiogenesis, remodeling jaringan, pertumbuhan dan penyebaran tumor.

### DAFTAR RUJUKAN

1. Maurer F, Tierney M and Medcalf. An AU-rich sequence in the 3'-UTR of plasminogen activator inhibitor type 2 (PAI-2) mRNA promotes PAI-2 mRNA decay and provides a binding site for nuclear HuR. *Nucleic Acid Research* 1999; 27:1664-73.
2. Collen D. Ham-Wasserman Lecture. Role of the plasminogen system in fibrin-homeostasis and tissue remodelling. *Hematology* 2001;1:1-9.
3. Carmeliet P and Collen D. Molecular genetics of the fibrinolytic and coagulation system in haemostasis, thrombogenesis, restenosis and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1997;8:118-25
4. Lijnen HR, Collen D. Mechanism of physiological fibrinolysis. *International Practice and Research* 1995;8:277-90.
5. Sui GC. Structure-function studies of plasminogen activator inhibitor-1. Stockholm. Sweden: Department of Laboratory Medicine, Division of Clinical Chemistry and Blood Coagulation, Karolinska Hospital, Karolinska Institute; 1998. p. S-17176.
6. Collen D. Fibrinolysis and extracellular proteolysis. Research projects of the Center for Molecular and Vascular Biology K.U. Leuven. 2000. Available from: [http://www.kuleuven.ac.be/mcm/proj\\_1\\_1.php](http://www.kuleuven.ac.be/mcm/proj_1_1.php). Diakses tanggal 29 November 2002.
7. Cecari M, Rossi GP. Plasminogen activator inhibitor type-11 in ischemic cardiomyopathy. *Arteriscler Thromb Vase Biol.* 1999; 19:1378-86.
8. Kohler HP and Grant PJ. Plasminogen activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *New Engl J Med* 2000;342:1729-801.

9. Collen D. Fibrin-selective thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. *Circulation* 1996;93:857-65.
10. Juhan-Vague I, Renucci JF, Grimaux M, Morange PE, Gouvernet J, Gourmelin Y and Alesi MC. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor antigen levels and cardiovascular risk factors. *Arterioscler Thromb Vase Biol* 2000;20:2156-61.
11. Juhan-Vague I, Alesi MC, Declerck PJ. Pathophysiology of fibrinolysis. In: Lijnen HR, Collen D, editors. *Fibrinolysis Bailliere's Clinical Haematology. International Practice and Research* 1995;8:329-43.
12. Brown NJ, Agirbasli MA, Williams GH, Litchfield WR and Vaughan DE. Effect of activation and inhibition of the renin-angiotensin system on plasma PAI-I. *Hypertension* 1998;32:965-71.
13. Mutch NJ, Wilson HM and Booth NA. Plasminogen activator inhibitor-1 and haemostasis in obesity. *Proc Nutr Soc* 2001;60:341-47.
14. Skurk T, Lee YM, Hauer H. Angiotensin II and its metabolites stimulate PAI-1 protein release from human adipocyte in primary culture. *Hypertension* 2001 ;37:1336-46.
15. Salomaa V, Stinson D, Kark JD, Folsom AR, Davis CE and Wu KK. Association of fibrinolytic parameters with early atherosclerosis. The ARIC Study. *Circulation* 1995;91:284-90.
16. Folsom AR, Aleksic N, Park E, Salomaa V, Juneja H, Wu KK. Prospective study of fibrinolytic factors and incident coronary heart disease. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb Vase Biol* 2001;21:611-7.
17. Carmeliet P and Collen D. Molecular analysis of blood vessel formation and disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1997;273:H2091-H2104.
18. Klement P, Liao P and Bajzar L. A novel Approach to arterial thrombolysis. *Blood* 1999;94:2735-43.
19. Blann AD, Landray MJ, Lip GYH. ABC of antithrombotic therapy,,An overview of antithrombotic therapy. *BMJ* 2002;325:762-5.
20. Armstrong PW, Granger C, Van de Werf F. Bolus fibrinolysis. Risk, benefit and opportunities. *Circulation* 2001;103:1171-3.
21. GUSTO angiographic investigator. The effects of tissue plasminogen activator, streptokinase, or both on coronary-artery patency, ventricular function and survival after acute myocardial infarction. *New Engl J Med* 1993;329:1615-22.
22. Creemers EEJM, Cleutjens JPM, Smith JFM, Daemen MJAP. Matrix metalloproteinase inhibition after myocardial infarction. A new approach to Prevent heart failure? *Circ Res* 2001;89:201-10.