

## Review Article

### IL-4: PREDIKTOR ANTI INFLAMASI PADA STROKE ISKEMIK ?

Lucia Herminawati<sup>1</sup>, Julius July<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Prodia Clinical Laboratory - Kramat Raya 150 Jakarta, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Bedah Saraf, Fakultas Kedokteran, Universitas Pelita Harapan, Siloam Hospital Lippo Village – Siloam Lippo Village Tangerang, Indonesia

#### ABSTRACT

Brain ischemia due to vascular occlusion, especially in the main cerebral artery, could trigger the microglia as a natural immune cell in the brain. These activated microglia will turn up the inflammation cascade in the ischemic area. Interleukin-4 (IL-4) has a vital role in the microglial alteration to become an anti-inflammatory phenotype, which wind up the expression of MHC II and CD11c. Moreover, previous studies has supported that the stimulation of IL-4 in the culture of microglia/macrophage will produce this kind of “alternative” phenotype or neuroprotective phenotype, through the fall of TNF and rise of IGF-1. However, only a few have discussed the role and profile of IL-4 in ischemic stroke. This review article will cover the possibility of IL-4 role as an anti-inflammatory predictor in ischemic stroke.

**Keywords: Interleukin-4, microglia, ischemic stroke, inflammation**

#### ABSTRAK

Iskemia otak akibat adanya oklusi vaskular terutama pada arteri di otak dapat mengaktifkan mikroglia sebagai sel imun alamiah di otak. Mikroglia yang teraktivasi akan memicu kondisi inflamasi pada daerah iskemia. Interleukin-4 (IL-4) memiliki peran penting dalam mempengaruhi perubahan mikroglia menjadi fenotip anti-inflamasi dengan meningkatkan ekspresi MHC II dan CD11c. Selain itu, beberapa penelitian mendukung bahwa stimulasi IL-4 pada kultur mikroglia/makrofag akan menghasilkan fenotip ‘*alternative*’ atau fenotip neuroprotektif, melalui penurunan TNF dan peningkatan IGF-1. Namun, bagaimana peran dan profil IL-4 pada stroke iskemik belum banyak dibahas. Ulasan ini bertujuan untuk membahas kemungkinan peran IL-4 sebagai prediktor anti-inflamasi pada stroke iskemik.

**Kata Kunci: interleukin-4, mikroglia, stroke iskemik, inflamasi**

pISSN: 1978-3094 • Medicinus.2016;5(1):16-21

#### PENDAHULUAN

Stroke termasuk salah satu *Non-Communicable Diseases* (NCDs), suatu kelompok penyakit yang menyebabkan kematian peringkat ke-2 di dunia setelah penyakit jantung koroner (Di Carlo, 2009). Data profil kesehatan Indonesia tahun 2013 menunjukkan peningkatan prevalensi stroke dari 8,3 (2007) menjadi 12,1 per 1000 orang (Riskesdas, 2013). Secara ekonomi, dampak dari peningkatan jumlah penderita stroke dan akibat kecacatan karena -----

#### Corresponding Author:

Lucia Herminawati (✉)

Prodia Clinical Laboratory

Kramat Raya 150 Jakarta, Indonesia

Email: [lucia.herminawati@yahoo.com](mailto:lucia.herminawati@yahoo.com)

stroke akan memberikan pengaruh terhadap menurunnya produktivitas dan kemampuan ekonomi, mulai dari ekonomi tingkat keluarga sampai pengaruhnya terhadap beban ekonomi masyarakat dan bangsa (Yayasan Stroke Indonesia, 2008). Secara umum, stroke iskemik lebih sering terjadi (85%) daripada stroke hemoragik (15%). Stroke iskemik terjadi karena adanya oklusi vaskular terutama pada arteri di otak, sehingga menyebabkan iskemia pada otak.

Mekanisme penyebab terjadinya iskemia terbagi menjadi 3, yaitu trombosis, embolik, dan penurunan perfusi sistemik (Caplan, 2009). Kejadian iskemia dimulai dengan hipoperfusi tiba-tiba atau bertahap, dilanjutkan dengan kegagalan bioenergetik selular, eksitotoksitas, stres oksidatif, disfungsi sawar

darah otak, cedera mikrovaskular, aktivasi hemostatik, inflamasi, dan akhirnya dapat terjadi nekrosis sel neuron, glia, dan endotel (Saenger, 2010).

Otak termasuk salah satu organ tubuh yang memiliki *immune privileged* karena terjadinya inflamasi di otak dapat menyebabkan gangguan fungsi dan kematian neuron (Abbas, 2012).

Sel-sel otak terdiri dari astrosit, oligodendrosit, dan microglia, selain itu juga terdapat sel endotel dan perisit pada dinding pembuluh darah otak. Semua sel tersebut membentuk sebuah jaringan neurovaskular yang penting untuk kebutuhan metabolik neuron. Namun, sel-sel otak ini juga berkontribusi pada kejadian inflamasi pasca iskemia dengan memproduksi mediator-mediator inflamasi (Shichita, 2012).

Inflamasi pasca iskemia memiliki 2 fungsi yang berlawanan. Pertama, inflamasi menyebabkan pembengkakan otak (edema) yang mengarah pada penekanan jaringan otak normal di sekitar daerah inti iskemia dan menambah kematian neuron. Kedua, inflamasi diperlukan untuk perbaikan jaringan pada masa pemulihan (Shichita, 2012). Cara yang paling efektif untuk menghentikan fase pro-inflamasi dan mengembalikan homeostasis jaringan setelah iskemia adalah dengan mengubah aktivasi mikroglia /makrofag dari profil gen pro-inflamasi menjadi profil gen yang mendukung perbaikan dan rekonstruksi jaringan (Chhor, 2013).

Interleukin-4 (IL-4) memiliki peran penting dalam mempengaruhi perubahan makrofag/mikroglia menjadi fenotip anti-inflamasi. Beberapa penelitian mendukung bahwa stimulasi IL-4 pada kultur mikroglia/makrofag bisa menghasilkan fenotip 'alternative' atau fenotip neuroprotektif atau secara umum disebut fenotip M2 (Hu, 2012). Namun, bagaimana peran dan profil IL-4 pada stroke iskemik belum banyak dibahas. Ulasan ini bertujuan untuk membahas kemungkinan peran IL-4 sebagai prediktor anti-inflamasi pada stroke iskemik.

#### INTERLEUKIN-4

IL-4 adalah salah satu anggota keluarga sitokin dengan 4 alfa helik yang berfungsi sebagai regulator potensial dari kekebalan tubuh, disekresi terutama oleh sel mast yang teraktivasi, limfosit T CD4<sup>+</sup> dari kelompok sel Th2, eosinofil, dan basofil (Abbas, 2012; Gadani, 2012). Pertama kali diidentifikasi oleh Howard dan Paul (1982), IL-4 dikenal sebagai *comitogen* dari sel B. Selanjutnya, IL-4 diketahui memiliki peran penting pada kelangsungan hidup leukosit baik pada kondisi

fisiologis maupun patologis, imunitas yang diperantarai sel Th2, perubahan (*switching*) kelas IgE pada sel B, serta perbaikan jaringan dan homeostasis melalui aktivasi makrofag 'alternative' (Gadani, 2012).

Efek dari sinyal IL-4 dimediasi oleh rantai  $\alpha$  IL-4R (IL-4R $\alpha$ ). Setelah berikatan dengan ligan-nya, IL-4R $\alpha$  membentuk dimer dengan rantai  $\gamma$  yang berlokasi pada sel-sel hematopoetik untuk memproduksi kompleks sinyal tipe 1, atau dengan IL-13R $\alpha$ 1 yang tereksresi pada sel-sel non hematopoetik untuk memproduksi kompleks sinyal tipe 2 (Gadani, 2012). Kompleks sinyal tipe 1 sangat penting untuk

polarisasi sel Th2 dari sel T *naïve* dan perkembangan ke arah aktivasi makrofag 'alternative' (AAMΦs), sedangkan kompleks sinyal tipe 2 memiliki peran pada respon non-hematopoetik dari IL-4 dan IL-13, contohnya hiperaktifitas saluran nafas dan produksi mukus (Ramalingam, 2008). IL-4 dan IL-13 mengaktifasi protein STAT6 yang menginduksi transkripsi gen yang terlibat pada berbagai aksi dari kedua sitokin ini. IL-4 bersama dengan IL-13 berkontribusi pada aktivasi makrofag 'alternative' dengan menekan efek interferon gamma (IFN $\gamma$ ) (Abbas, 2012).

IL-4 memiliki peran penting pada berbagai peristiwa selular, sehingga cukup sulit untuk meneliti efeknya pada percobaan *in vivo*. Sebagian besar pengetahuan mengenai IL-4 didapatkan dari penelitian sel imun perifer, seperti makrofag dan limfosit (Gadani, 2012). Studi awal mengenai IL-4 pada makrofag menunjukkan bahwa IL-4 berperan sebagai agen anti-inflamasi bila diberikan segera setelah adanya stimulus inflamasi, serta mampu menurunkan produksi sitokin inflamasi seperti TNF (Hart, 1989). Namun, kemudian diketahui bahwa ternyata IL-4 tidak murni sebagai agen anti-inflamasi, karena induksi makrofag dengan IL-4 yang diikuti oleh stimulasi pro-inflamasi dapat mengakibatkan peningkatan respon inflamasi (Major, 2002). Studi *in vivo* menunjukkan bahwa dosis tinggi kronik atau kelebihan produksi IL-4 transgenik menghasilkan akumulasi AAMΦs, peningkatan ekspresi IFN $\gamma$ , penurunan produksi sitokin pro-inflamasi, histiositosis, eritrofagositosis, hematopoiesis ekstramedulari, dan penurunan berat badan (Milner, 2010).

Data di atas menunjukkan bahwa efek *in vivo* dari IL-4 sangat kompleks, terkoordinasi dengan baik, tergantung pada lingkungan sekitar, dan mungkin memediasi berbagai proses secara bersamaan pada jaringan tubuh

yang berbeda. Situasi ini akan menjadi lebih kompleks di otak oleh pengaruh IL-4, namun sedikit yang diketahui mengenai kemampuan sitokin ini dapat masuk ke parenkim otak atau efek alamiahnya pada sel target. Peran IL-4 terhadap mikroglia dan astrosit pada sistem saraf pusat telah banyak diteliti, namun peran IL-4 secara langsung dalam stimulasi neuron dan oligodendrit masih belum dimengerti dengan baik (Gadani, 2012).

**MIKROGLIA DAN IL-4**

Jaringan otak bersifat heterogen, terdiri atas sel neuron dan berbagai tipe sel glia yang terdistribusi bervariasi dalam otak. Setiap jenis sel mempunyai derajat sensitivitas yang berbeda terhadap cedera atau iskemia, bahkan neuron di satu area berbeda kerentanannya terhadap iskemia dibandingkan neuron di area lain (Jauch, 2005). Mikroglia, sebagai sel imun alamiah di otak, mewakili garis pertahanan awal terhadap cedera otak seperti stroke iskemik. Mikroglia residen dan makrofag perifer bergerak secara cepat menuju lokasi cedera, menginisiasi pelepasan molekul efektor dan perekrutan sel-sel imun lainnya. Namun sebaliknya, mikroglia juga berperan dalam perbaikan dan proses resolusi setelah infeksi atau cedera untuk mengembalikan homeostasis jaringan yang normal (Colton, 2009).

Pada stroke iskemik, sel otak atau sel neuron yang mati akan melepaskan ‘*danger signals*’ yang mengaktifkan sistem imun alamiah. Pelepasan nukleotida (ATP, UTP) dari sel neuron akan mengaktifasi reseptor purinergik (P2X7) pada mikroglia sehingga menyebabkan produksi sitokin proinflamasi IL-1 $\beta$  dan IL-18 dari bentuk propeptidanya. Selain pelepasan nukleotida, kerusakan sel juga menyebabkan pembentukan DAMPs (*danger-associated molecular pattern molecules*) yang akan mengaktifkan *Toll-like Receptors* (TLRs) sehingga meningkatkan ekspresi gen pro-inflamasi melalui faktor transkripsi NF- $\kappa$ B (*nuclear factor- $\kappa$ B*). Produksi sitokin dan aktivasi komplemen akan menyebabkan peningkatan infiltrasi leukosit menuju jaringan iskemik dan memperluas kerusakan jaringan (Iadecola and Anrather, 2011).

Perubahan mikroglia menjadi fenotip ‘*alternative*’ (M2) diinduksi oleh banyak faktor, termasuk agen sitoaktif yang dilepaskan selama fase ‘*classic*’ (M1) dan/atau sel regulator Th2 yang direkrut menuju lokasi cedera. Sitokin anti-inflamasi adalah sinyal induksi yang utama (Colton, 2009). Beberapa bukti menyatakan bahwa kultur mikroglia dapat berubah menjadi

pola aktivasi klasik (M1) bila diaktivasi dengan LPS dan IFN $\gamma$ , sementara stimulasi IL-4 pada kultur mikroglia meningkatkan ekspresi MHC II dan CD11c, yang dikenal sebagai fenotip mikroglia neuroprotektif (Hu, 2012). Pada studi yang lain, stimulasi IL-4 dan IL-10 pada hewan coba dapat menginduksi ekspresi berbagai mRNA seperti arginase I (ARG1), reseptor manose, dan *chitinase-like protein 3* (YM1), yang juga mengindikasikan sitokin-sitokin yang diproduksi oleh mikroglia pola aktivasi ‘*alternative*’ atau neuroprotektif (Colton, 2009).

Mikroglia memberikan respon terhadap *priming* dan stimulasi dengan IFN $\gamma$  dengan meningkatkan produksi NO melalui induksi *inducible NO synthase* (iNOs) (Chao, 1995). Inkubasi dengan IL-4 sebelum *priming* dengan IFN $\gamma$  atau TNF, dilanjutkan stimulasi dengan PMA, menyebabkan penurunan produksi NO, sehingga dapat dikatakan bahwa IL-4 memberikan efek neuroprotektif melalui penurunan TNF dan peningkatan IGF-1. Interleukin-4 juga merupakan antagonis terhadap ekspresi MHC II yang dikendalikan oleh IFN $\gamma$ . Namun, IL-4 secara tunggal, setelah paparan dalam jangka panjang, juga dapat menginduksi ekspresi MHCII (Gadani, 2012). CD200, sebuah protein regulator mikroglial, diekspresikan pada neuron tergantung dengan adanya IL-4. Hal ini memberikan mekanisme yang mungkin untuk regulasi IL-4 terhadap aktivasi mikroglia (Lyons, 2007). Neuron tikus tanpa IL-4 (IL-4<sup>-/-</sup>) ditemukan kurang efektif terhadap respon inflamasi dibandingkan neuron tikus kontrol. Hasil ini berkaitan dengan ekspresi CD200 yang rendah pada neuron IL-4<sup>-/-</sup> (Lyons, 2009).

Data lain menyebutkan IL-4 ditemukan menginduksi CD11c pada mikroglia in vitro, sebuah marker yang terkait dengan sel dendritik (Butovsky, 2007). Sehingga dapat disimpulkan bahwa mikroglia dan makrofag sama-sama memberikan respon terhadap sinyal IL-4, dan tidak adanya IL-4 menyebabkan terjadinya neuroinflamasi (Gadani SP, 2012).

**STROKE ISKEMIK DAN IL-4**

Stroke iskemik menyebabkan infark pada jaringan otak dan aktivasi respon inflamasi. Mikroglia yang teraktivasi akan mengekspresikan MHC kelas II dan molekul adhesi sebagai respon terhadap kerusakan neuron. Hal ini juga akan mengaktifasi sel T sehingga infiltrasi dan akumulasi sel T pada area inti iskemik terjadi dalam waktu 24 jam setelah stroke (Liesz, 2009; Brait, 2010). Kadar

serum IL-4 dari sel Th2 meningkat signifikan pada pasien dengan infark serebral (Kim, 2000). Secara *in vitro*, astrosit mengekspresikan reseptor IL-4, dimana ikatan dengan IL-4 dapat menginduksi aktivasi astrosit untuk mensekresikan faktor pertumbuhan neuron (Brodie, 1998).

Polimorfisme gen terkait inflamasi, trombosis, dan metabolisme lemak dapat mempengaruhi perkembangan stroke iskemik. Sebuah penelitian prospektif pada 319 pasien stroke iskemik menunjukkan bahwa adanya polimorfisme C582T pada gen IL-4 (OR = 1,63, 95% CI 1,22 – 2,17,  $P = 0,001$ ) dapat digunakan sebagai prediktor independen untuk kejadian stroke trombo-embolik (Zee, 2004).

Penelitian lain pada 23 pasien dengan riwayat stroke iskemik pada fase kronik yang stabil (median waktu pasca stroke 34,5 bulan) terhadap persentase sitokin Th1 (IL-2, IFN $\gamma$ ) dan Th2 (IL-4, IL-10), menunjukkan adanya peningkatan yang signifikan pada persentase IL-4 yang diproduksi oleh sel T pada kelompok stroke iskemik dibandingkan dengan kelompok kontrol, sehingga menghasilkan rasio IFN $\gamma$ /IL-4 hasil produksi sel T yang rendah (Theodorou, 2008).

Xiong dkk (2011) melakukan penelitian pada tikus tanpa IL-4 (IL-4 KO) untuk melihat peran IL-4 pada volume infark, keluaran neurologik, dan aktivasi glial dalam 24 jam setelah MCAO (*middle cerebral artery occlusion*). Secara signifikan, volume infark pada 24 jam lebih besar pada tikus tanpa IL-4, fungsi neurologis lebih jelek, dan aktivitas spontan berkurang jika dibandingkan dengan tikus kontrol. Peningkatan infiltrasi makrofag, peningkatan

jumlah sel positif mieloperoxidase, dan peningkatan rasio Th1/Th2 terlihat pada inti infark tikus tanpa IL-4 (IL-4 KO). IL-4 rekombinan yang disuntikkan intraserebralventrikular sebelum MCAO secara signifikan mengurangi volume infark, memperbaiki fungsi neurologis, mengurangi mikroglia/makrofag, dan menurunkan rasio Th1/Th2 pada tikus IL-4 KO, namun tidak terjadi pada tikus kontrol. Hilangnya sinyal IL-4 pada tikus KO berkaitan dengan jeleknya keluaran (*outcome*) dan peningkatan inflamasi pada area inti, namun hal ini dapat dikembalikan oleh pemberian IL-4 eksogen. Hal ini membuktikan bahwa sinyal IL-4 dapat mengurangi inflamasi pada area inti dan peran menguntungkan yang mungkin dari astrosit yang teraktivasi pada daerah penumbra (Xiong, 2011).

#### KESIMPULAN

IL-4 berperan dalam perubahan mikroglia menjadi fenotip neuroprotektif sehingga kadar IL-4 yang tinggi dalam darah diharapkan dapat menjadi prediktor anti-inflamasi yang baik pada stroke iskemik. Namun IL-4 tidak dapat berdiri sendiri, rasio IFN $\gamma$ /IL-4 mungkin menjadi alternatif untuk memprediksi *outcome* pasien stroke iskemik.

#### Acknowledgement

-

#### Conflict of interest

None

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Abbas A.K., Lichtman A.H., Pillai S., 2012. Cellular and Molecular Immunology. 7<sup>th</sup> ed. Elsevier Saunders.
2. Brait V.H., Arumugam T.V., Drummond G.R., Sobey C.G., 2012. Importance of T lymphocytes in brain injury, immunodeficiency, and recovery after cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 32: 598 – 611.
3. Brodie, C., N. Goldreich, T. Haiman, and G. Kazimirsky. 1998. Functional IL-4 receptors on mouse astrocytes: IL-4 inhibits astrocyte activation and induces NGF secretion. *J. Neuroimmunol.* 81: 20–30.
4. Butovsky, O., Bukshpan S., Kunis G., Jung S., and Schwartz M., 2007. Microglia can be induced by IFN-gamma or IL-4 to express neural or dendritic-like markers. *Mol. Cell. Neurosci.* 35: 490–500.
5. Caplan, L.R., 2009. Caplan's Stroke: A Clinical Approach. 4<sup>rd</sup> ed. Saunders, Philadelphia.

6. Chao, C. C., Hu S., and Peterson P.K., 1995. Modulation of human microglial cell superoxide production by cytokines. *J. Leukoc. Biol.* 58: 65–70.
7. Chhor V., Charpentier T.L., Lebon S., et al, 2013. Characterization of phenotype markers and neuronotoxic potential of polarised primary microglia in vitro. *Brain Behav Immun.* 32: 70 – 85.
8. Colton C.A., 2009. Heterogeneity of microglial activation in the innate immune response in the brain. *J Neuroimmune Pharmacol.* 4: 399-418.
9. Di Carlo A., 2009. Human and Economic Burden of Stroke. *Age Ageing.* 38:4-5.
10. Garden, G.A and Moller, T., 2006. Microglia Biology in Health and Disease. *J Neuroimmune Pharmacol.* 1:127-137.
11. Hu X., Li P., Guo Y., Wang H., et al, 2012. Microglia/Macrophage Polarization Dynamics Reveal Novel Mechanism of Injury Expansion After Focal Cerebral Ischemia. *Stroke.* 43:3063-3070.
12. Hart, P. H., Vitti G.F., Burgess D.R., Whitty G.A., Piccoli D.S., and Hamilton J.A., 1989. Potential antiinflammatory effects of interleukin 4: suppression of human monocyte tumor necrosis factor alpha, interleukin 1, and prostaglandin E2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 3803–3807.
13. Howard, M., et al, 1982. Identification of a T cell-derived b cell growth factor distinct from interleukin 2. *J. Exp. Med.* 155: 914–923.
14. Iadecola C and Anrather J., 2011. The Immunology of Stroke: from Mechanism to Translation. *Nat Med.* 17: 796-808.
15. Jauch, E.C.J. 2005. Biomarker Advances in Acute Ischemic Stroke. In: *Advancing the Standard of Care: Cardiovascular and Neurovascular Emergencies.* Division of Emergency Medicine, Washington University School of Medicine, Cincinnati.
16. Jin R., Yang G., and Li G., 2010. Inflammatory Mechanisms in Ischemic Stroke: Role of Inflammatory Cells. 2010. *J. Leukoc. Biol.* 87: 000-000.
17. Kim H.M., Shin H.Y., Jeong H.J., An H.J., et al, 2000. Reduced IL-2 but elevated IL-4, IL-6, and IgE serum levels in patients with cerebral infarction during the acute stage. *J. Mol. Neurosci.* 14: 191-196.
18. Liesz A, Hagmann S, Zschoche C, et al, 2009. The spectrum of systemic immune alterations after murine focal ischemia: Immunodepression versus immunomodulation. *Stroke.* 40:2849–2858.
19. Lyons, A., Downer E.J., Crotty S., Nolan Y.M., Mills K.H., and Lynch M.A., 2007. CD200 ligand receptor interaction modulates microglial activation in vivo and in vitro: a role for IL-4. *J Neurosci.* 27: 8309–8313.
20. Major J., Fletcher J.E., and Hamilton T.A., 2002. IL-4 pretreatment selectively enhances cytokine and chemokine production in lipopolysaccharide-stimulated mouse peritoneal macrophages. *J. Immunol.* 168: 2456–2463.
21. Milner J. D., et al, 2010. Sustained IL-4 exposure leads to a novel pathway for hemophagocytosis, inflammation, and tissue macrophage accumulation. *Blood* 116: 2476–2483.
22. Ramalingam T. R., Pesce J.T., Sheikh F., et al, 2008. Unique functions of the type II interleukin 4 receptor identified in mice lacking the interleukin 13 receptor alpha1 chain. *Nat Immunol.* 9: 25–33.

23. Riset Kesehatan Dasar, 2013. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
24. Saenger A.K. and Christenson R.H., 2010. Stroke Biomarkers: Progress and Challenges for Diagnosis, Prognosis, Differentiation, and Treatment. *Clin Chem.* 56:21-33.
25. Shichita T, Sakaguchi R, Suzuki M, Yoshimura A., 2012. Post-ischemic inflammation in the brain. *Frontiers in Immunology*. Volume 3. Article 132.
26. Theodorou G.L., Marousi S., Ellul J., et al, 2008. T helper 1 (Th1) / Th2 cytokine expression shift of peripheral blood CD4+ and CD8+ T cells in patients at the post-acute phase of stroke. *Clin Exp Immunol.* 152: 456 – 463.
27. Xiong X., Barreto G., Xu L., Ouyang Y., Xie X., Giffard R.G., 2011. Increased brain injury and worsened neurological outcome in IL-4 Knockout Mice Following Transient Focal Cerebral Ischemia. *Stroke.* 42: 2026 – 2032.
28. Yayasan Stroke Indonesia. 24 Juni Hari Stroke Sedunia 2008, (<http://www.yastroki.or.id/read.php?id=232>, diakses 23 Mei 2008).
29. Zee R.Y.L., Cook N.R., Cheng S., et al, 2004. Polymorphism in the P-selectin and interleukin-4 genes as determinants of stroke: a population-based, prospective genetic analysis. *Hum Mol Genet.* 13: 389 – 396.