

1. CEREBROVASCULAR DISORDERS.

2. CYTOKINES IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

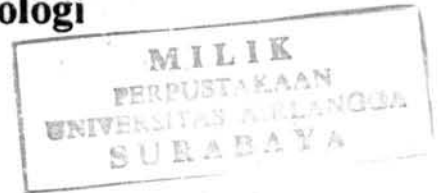
KK
Ds. K/02/02.

Sur
P.

DISERTASI

PERAN SITOKIN IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4 DAN TGF beta 1 PADA STROKE ISKEMIK

Suatu Pendekatan Immunopatobiologi



SUROTO

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

2001

PERAN SITOKIN IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4 DAN TGF beta 1 PADA STROKE ISKEMIK

Suatu Pendekatan Immunopatobiologi

DISERTASI

Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Ilmu Kedokteran
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga
dan telah dipertahankan di hadapan
Panitia Ujian Doktor Terbuka
Pada hari Kamis
Tanggal 20 September 2001
Pukul 10.00 WIB.

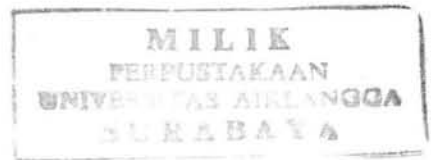
Oleh :

SUROTO
NIM. 099712391 D

Lembar Pengesahan

DISERTASI INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 8 OKTOBER 2001

Oleh



Promotor

A handwritten signature in black ink, appearing to be "PG Konthen".

Prof Dr PG Konthen, dr, SpPD(K.I)
NIP. 130 189 825

Ko-Promotor

A handwritten signature in black ink, appearing to be "H Aboe Amar Joesoef".

Prof Dr H Aboe Amar Joesoef, dr, SpS(K)
NIP. 130 531 772

Telah diuji pada Ujian Doktor Tahap I (Tertutup)

Tanggal 26 Juli 2001

PANITIA PENGUJI DISERTASI

Ketua : Prof Dr Benjamin Chandra, dr SpS(K)

- Anggota :
1. Prof.Dr.P.G.Konthen, dr SpPD(K.I)
 2. Prof Dr H Aboe Amar Joesoef, dr SpS(K)
 3. Prof Dr H Samekto Wibowo, dr P Far K, SpFK, SpS(K)
 4. Kuntoro, dr MPH Dr PH
 5. Dr Suhartono Taat Putra, dr MS
 6. Dr FM Judajana, dr SpPK(K)

Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Rektor Universitas Airlangga
Nomor: 6731/J03/PP/2001
Tanggal: 1 Agustus 2001

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan taufik dan hidayah sehingga saya mendapat kekuatan dan petunjuk untuk menyelesaikan penelitian dan penulisan disertasi ini.

Pada kesempatan ini perkenankan saya menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang setulusnya kepada yang terhormat:

Prof Dr PG Konthen, dr, SpPD(KI), serta Prof Dr Noor Rachman, dr (Alm), atas kesediaan beliau menjadi Promotor, di tengah kesibukan beliau yang begitu padat masih berkenan meluangkan waktu untuk membimbing serta memberi petunjuk dengan sabar.

Dr H Aboe Amar Joesoef, dr, SpS(K), atas kesediaan beliau menjadi Ko Promotor. Beliau pernah pula membimbing saya sewaktu mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis Saraf di Universitas Airlangga antara tahun 1984-1987, dengan Prof Dr B Chandra SpS(K) sebagai Kepala Laboratorium I. Penyakit Saraf.

Pemerintah Republik Indonesia, khususnya Menteri Pendidikan Nasional serta Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti program pendidikan doktor.

Rektor Universitas Airlangga, Prof H Soedarto, dr, DTM&H, PhD dan mantan Rektor Universitas Airlangga Prof H Bambang Rahino Setokoesoemo, dr, yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan program doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof Dr H Muhammad Amin, dr, SpP(K) dan mantan Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof Dr H Soedijono Tirtowidardjo, dr, SpTHT(K) yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan program doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Prof Dr Juliati Hood Alsagaff, dr, MS, SpPA, FIAC selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran S3 Pascasarjana Universitas Airlangga, dan Prof Dr Pitono Soeparto, dr, SpPA selaku mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran S3 Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah membantu dalam kelancaran proses pelaksanaan ujian proposal dan disertasi.

Para pembimbing serta penguji mulai dari ujian kualifikasi, ujian proposal, ujian penilaian naskah disertasi dan ujian tahap I: Prof Dr Noor Rachman, dr (Alm), Prof Dr PG Konthen, dr, SpPD(KI), Dr H Aboe Amar Yoesoef, dr, SpS(K), Prof Dr B Chandra, dr, SpS(K), Prof Dr H Samekto Wibowo dr, P Far, SpFarK, SpS(K), Kuntoro, dr, MPH, DrPH, Dr Suhartono Taat Putra, dr, MS, Dr FM Judajana, dr, SpPK dan Dr Watadianto, dr, MS, Sp(PA), atas segala asupan dan perbaikan untuk penyempurnaan disertasi ini.

Staf pengajar Program Pascasarjana Universitas Airlangga disemester I, II dan III angkatan tahun 1997/1998, Prof H Bambang Rahino Setokoesoemo, dr; Prof Dr Noor Rachman, dr (Alm); Prof Poernomo Suryohusodo, dr; Prof Eddy Pranowo Soedibyo, dr, MPH; Prof Dr Pitono Soeparto, dr, SpA(K); Prof Josep Glinka SVD; Prof Koento Wibisono; Dr. Widodo JP, dr, MS, MPH; Prof Dr M Zainuddin Apt; Kuntoro, dr, MPH, DrPH, Prof Dr Sarmanu, drh, MS; Fuad Amsyari, dr, MPH, PhD; Dr Suhartono Taat Putra, dr, MS; Siti Pariani, dr, MS, PhD; Prof Soetandyo Wignyosoebroto, MPA; Dr L Dyson, Drs, MA; Prof Rachmat Santoso, dr, SpPA; Prof Dr PG Konthen, dr, SpPD(KI); Prof Dr Yoes Priatna Dachlan, dr, MSc, Prof H Santoso, dr; Dr I Ketut Sudiana, Drs, Mkes; Prof Dr Thomas Kardjito, dr, SpP(K); Dr FM Judajana, dr, SpPK(K); Dr Eddy Bagus Wasito, dr MS, yang telah memberikan bekal berbagai ilmu pengetahuan yang sangat berguna bagi pelaksanaan penelitian dan penulisan disertasi ini.

Para penderita yang dengan sukarela telah menyatakan persetujuannya untuk diikuti sertakan pada penelitian ini. Tanpa kesediaan mereka tentu penelitian ini tidak terlaksana.

Perkenankan pada kesempatan ini saya juga menyampaikan rasa terima kasih kepada:

Rektor Universitas Sebelas Maret Prof Haris Mudjiman, Drs, MA, PhD yang telah berkenan mengijinkan dan membantu saya untuk mengikuti program pendidikan doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Admadi Soeroso, dr, SpM, MARS, mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Suroto, dr, SpS, Direktur RSUD 'dr Moewardi' Surakarta Moch Sudjoko, dr, MMR dan mantan Direktur RSUD 'dr Moewardi' Surakarta H Abdul Roshim, dr, MM, MARS, yang telah memberikan izin untuk mengikuti program doktor.

Kepala Laboratorium/SMF I.Penyakit Saraf FK UNS/ RSUD 'dr Moewardi' Surakarta Dr. Budi Tjahjono SB SpS dan para teman sejawat di Laboratorium/SMF Ilmu Penyakit Saraf FK UNS/ RS 'dr Moewardi' Surakarta, serta Kepala Laboratorium SMF I.Penyakit Saraf FK UNAIR/ RSUD 'dr Soetomo' Surabaya Dr H Aboe Amar Joesoef, dr, SpS(K) beserta para teman sejawat di Laboratorium SMF I.Penyakit Saraf FK UNAIR/ RSUD 'dr Soetomo' Surabaya atas dorongan serta bantuannya.

Kepala Laboratorium/SMF Patologi Klinik FK UNS/ RSUD 'dr Moewardi' Surakarta, Prof Dr Suparjatmo, dr, SpPK, dan Tahono, dr, SpPK beserta segenap karyawan di Laboratorium/SMF Patologi Klinik FK UNS/ RSUD 'dr Moewardi' Surakarta atas segala saran dan bantuannya.

Kepala PMI cabang Surakarta Syarif Soedirman, dr, SpAn beserta staf dan karyawannya yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian.

Teman sejawat sesama mahasiswa S3 Program Pascasarjana Universitas Airlangga angkatan 1997/1978, Achmad Guntur Hermawan, dr, SpPD, Ambar Mudigdo, dr, SpPA,

Bambang Subagyo, dr, SpA, Edy Suryanto, dr, SpP(K), Haryono Kariosentono, dr, SpKK, JB Dalono, dr, SpOG, JB Prasodjo, dr, SpR, Joko Hardiman, dr, SpPD, Mochammad Fanani, dr, SpKJ, Mochammad Fathoni, dr, SpJP, Muhardjo, dr, DHA, SpTHT, Noer Rochma, dr, SpRM, Oemar Sri Hartanto, dr, SpS, Satimin Hadiwidjaja, dr, MARS, St Muljata, dr, SpAn, Sumarno, dr, Suradi, dr, SpP(K), MARS, Tedjo Danudjo Oepomo, dr, SpOG dan Y Nining Sri Wuryaningsih, dr, SpPK, atas kerja sama yang sangat baik dalam mengikuti perkuliahan dan saling mendorong memberi semangat.

Semua pihak yang belum disebutkan diatas, yang telah membantu saya sehingga dimungkinkan disertasi ini dapat diselesaikan.

Semoga Allah SWT membalas semua budi baik yang telah diberikan kepada saya dalam penyelesaian disertasi ini.

Akhirnya pada kesempatan ini saya sampaikan rasa hormat dan kasih sayang kepada:

Kedua orang tua saya, Ayah Setijorumekso (Alm) dan Ibu Siti Aisah yang telah menempe dan mendidik saya, serta doa yang tulus, sehingga saya dapat mengikuti pendidikan sampai kejenjang program doktor ini. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan kasih sayang kepada orang tua saya sebagaimana beliau telah memberikan kasih sayang dalam membesarkan saya dan mendidik saya. Khususnya kepada almarhum ayah Setijorumekso, saya selalu mendoakan semoga Allah SWT mengampuni semua dosa, serta menerima semua amal ibadah dan arwah beliau di sisi Nya.

Kedua mertua saya, Bapak Mochammad Noor Mughni (Alm) dan Ibu Dahira atas segala dukungan dan doa restu sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan program doktor ini. Semoga almarhum Bapak Mochammad Noor Mughni diampuni segala dosa, serta diterima semua amal ibadah dan arwah beliau di sisi Nya.

Semua saudara kandung saya tercinta yang berjumlah sembilan orang beserta keluarga, atas dorongan dan doa restunya sehingga pendidikan S3 ini dapat saya selesaikan.

Kepada keempat anak saya tercinta, Nur Setiawan Suroto, Nur Setianto Suroto, Nurjayanti Setyorini dan Nursanti Setianadewi saya menyampaikan terima kasih yang tak terhingga atas pengertiannya bahkan atas dorongan serta doanya. Saya selalu berdoa semoga anak saya bercita-cita mulia, tangguh dan mempunyai daya juang yang tinggi dalam menjalani hidup ini, serta dapat mencapai apa yang dicitakan. Semoga pula anak saya selalu mendapat petunjuk di jalan yang benar oleh Allah SWT, dan kelak dapat banyak berguna dimasyarakat.

Terakhir saya sampaikan terima kasih kepada isteri tercinta, Umi Kalsum, dr, atas pengertian dan dorongan yang diberikan selama saya mengikuti program pendidikan S3. Saya senantiasa mengharapkan kesetiiaannya dalam bersama-sama berusaha memberi makna tentang suatu keluarga, dan semoga segala jerih payah serta pengorbanan kita ada manfaatnya bagi semua anak kita dan masyarakat.

Kepada semua pihak saya juga mohon maaf sebesar-besarnya atas segala kekeliruan saya baik yang saya sengaja maupun tidak, selama saya mengikuti pendidikan, melaksanakan penelitian, dan menyusun laporan ini.

Semoga Allah SWT selalu memberikan semangat, kesabaran, petunjuk dan kemudahan bagi kita semua yang ikut berusaha mengembangkan ilmu kedokteran dinegeri tercinta, Indonesia.

RINGKASAN

Stroke semakin penting sebagai salah satu masalah kesehatan di Indonesia. Menurut data di Amerika Serikat, insidens stroke adalah sekitar 500.000 orang setiap tahun, dan prevalensinya adalah sekitar 800 per10.000 penduduk. Meskipun banyak penderita stroke iskemik tertolong, namun banyak yang mengalami kecacatan sehingga mengganggu kualitas hidup. Secara umum hal ini akan mempengaruhi produktivitas tenaga kerja, dan memerlukan biaya perawatan yang sangat tinggi.

Berbagai usaha untuk pencegahan maupun penyembuhan stroke iskemik sudah diusahakan. Tetapi sampai saat ini hasilnya masih belum memuaskan. Karena itu masih banyak penelitian diperlukan bagi usaha pencegahan maupun penanganan stroke iskemik.

Penanganan stroke pada beberapa hari pertama serangan stroke iskemik adalah sangat penting, karena masih ada kemungkinan bagi jaringan otak yang iskemik didaerah penumbra untuk kembali berfungsi normal, sehingga perluasan infark dapat dicegah. Beberapa peneliti melaporkan berbagai penemuan yang berhubungan dengan terjadinya mekanisme kerusakan serebral setelah terjadi iskemia jaringan. Adanya penemuan tentang peranan dan mekanisme inflamasi pada kerusakan saraf iskemik, memberikan peluang adanya target baru bagi intervensi terapi terhadap stroke iskemik.

Respons inflamatorik pada stroke iskemik merupakan suatu proses penting yang mempengaruhi perjalanan stroke pada fase akut. Unsur inflamasi berupa unsur seluler seperti netrofil dan unsur molekuler seperti sitokin. Masalah yang belum jelas adalah peran sitokin pada stroke iskemik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengungkap peran sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4 dan TGF beta 1 pada stroke iskemik.

Peran sitokin diteliti dengan menganalisis perbedaan kadar sitokin tersebut pada kelompok kasus stroke iskemik dan kelompok kontrol non stroke dengan faktor resiko, serta perbedaan kadar sitokin tersebut pada kelompok kasus stroke iskemik dan kelompok kontrol non stroke tanpa faktor resiko.

Kelompok kasus stroke yang terdiri dari 23 orang penderita 50-70 tahun dibandingkan dengan 23 orang kelompok kontrol dengan faktor risiko dan 23 orang kelompok kontrol tanpa faktor risiko. Dilakukan *matching* dari ketiga kelompok dalam hal umur, jenis kelamin dan ras. Disamping dengan *matching*, homogenitas faktor risiko antara

kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko diuji dengan *Fisher's exact test*, yang ternyata homogen. Sedang pada kelompok kontrol tanpa faktor risiko memang dipilih subyek yang tidak mempunyai faktor risiko.

Kadar sitokin diukur dengan tehnik ELISA pada darah vena perifer dari masing-masing subyek. Pada kelompok kasus stroke, pengambilan darah dilakukan pada hari ketiga serangan. CT scan kepala tanpa kontras dilakukan pada hari keempat untuk konfirmasi adanya infark serebri.

Pada uji perbedaan kadar lima sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4 dan TGF beta 1 pada stroke iskemik dan kontrol non stroke dengan faktor risiko maupun kontrol non stroke tanpa faktor risiko, dilakukan analisis multivariat untuk melihat peran sitokin secara bersama antar kelompok. Analisis diskriminan dilakukan untuk melihat sitokin yang merupakan diskriminator. Kontribusi fungsi sitokin diskriminator tersebut didapat dari perkalian kadar sitokin dengan koefisien diskriminan Fisher.

Hasil menunjukkan bahwa terdapat peran perbedaan yang bermakna dari kadar lima sitokin secara bersama antara kelompok stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko. Tiga diskriminator yang muncul pada analisis diskriminan adalah IL-1 beta, TNF alfa serta IL-8. Diskriminator yang paling kuat adalah IL-8, karena yang muncul pertama kali pada analisis (*step 1 included in the analysis*).

Hasil juga menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dari kadar lima sitokin secara bersama antara kelompok stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko. Ada empat diskriminator yang muncul pada analisis diskriminan yaitu IL-1 beta, TNF alfa, IL-8 serta TGF beta 1. Diskriminator yang paling kuat juga IL-8.

Pada grafik pola kontribusi fungsi kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko, didapati peran protektif dari TGF beta 1.

Penemuan ini menyokong adanya peran dari inflamasi pada patogenesis stroke iskemik, dan menunjukkan adanya peningkatan sitokin pro-inflamatorik (IL-1 beta dan TNF alfa) serta penekanan sitokin anti-inflamatorik (IL-4 dan TGF beta 1). Ini kemungkinan juga berarti aktivasi Th1 dan supresi Th2 serta Th3.

Sitokin IL-8 didapati sebagai diskriminator paling kuat. Disamping itu, pada kelompok kasus stroke didapat hubungan yang bermakna antara kadar IL-8 dengan luas

infark. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa IL-8 dapat dipakai sebagai indikator bagi beratnya stroke iskemik pada awal serangan.

Masih perlu dikembangkan lagi penelitian tentang pemanfaatan dari sistem sitokin pada stroke iskemik akut seperti *agonist IL-8*, *IL-8 receptor antagonist (IL-8ra)*, atau antibodi monoklonal terhadap IL-8; Penelitian lain yang perlu adalah tentang peran protektif dari TGF beta 1. Juga penelitian mengenai penanganan proses inflamasi cara lain, termasuk pemanfaatan antibodi antinetrofil pada stroke iskemik.

Kata kunci: stroke iskemik – peran sitokin – faktor risiko

ABSTRACT

Stroke is increasingly important as one of the health problems in Indonesia. Data from the United States showed that incidence of stroke is about 500.000 per year, where as the prevalence is about 800 per 10.000 people. Although many patients can be saved from fatality, many of them have inability and consequently a low quality of life. Generally this event may affect the work opportunity and need the high cost care.

Some efforts both to prevent and cure the ischemic stroke patients have been done. But until nowadays the result was not satisfied. More studies and investigations are needed to prevent and manage the ischemic stroke patients better.

Intervention on ischemic stroke patients in the first few days of stroke attack is very important, because there is an opportunity for ischemic brain tissue in the penumbra area to get the normal function recovery, so that the development of infarct could be prevented. Some researchers reported various finding in the field of cerebral damage mechanism following ischemia of the tissue. The finding on the inflammatory role and mechanism in the ischemic nerve injury, give the opportunity of a new target for the therapeutic intervention on ischemic stroke.

Inflammatory respon in ischemic stroke is thought to be the important process that affects the progression of stroke during the acute phase. Components of inflammation are cellular components such as neutrophil and molecular components such as cytokines. The problem is that the role of cytokines in ischemic stroke is still unclear. The aim of this study is to explain the role of cytokines, especially Il-1, TNF alpha, IL-8, IL-4, and TGF beta 1 in ischemic stroke.

In this study the role of cytokines was investigated by analyzing the difference of the cytokines level between the ischemic stroke group and non stroke control group with risk factor, and also the difference of the cytokines level between the ischemic stroke group and non stroke control group without risk factor.

A group of 23 patients suffering from ischemic stroke age 50 – 70 is compared to the control groups of 23 non stroke subjects with risk factor and 23 non stroke subjects without risk factor. Matching were done in the 3 groups for age, sex and ras. Homogeneity of the risk factor in the stroke group and control group with risk factor were analized with

Fisher's exact test, and the result were homogen. Where as in the non stroke control group without risk factor, the subject collected were those without risk factor.

Level of cytokines were measured with Elisa technique on peripheral venous blood of the subjects. In stroke patients group, specimen were obtained on the third day of the stroke attack. Head CT scan without contrast media were done on the 4th day to confirm the cerebral infarction.

Multivariate analysis was used to see the difference of cytokine level between ischemic stroke group and control groups. Discriminant analysis was used to find the discriminator cytokines. Functional contribution of the discriminator cytokines were calculated by multiply the cytokine level with Fisher discriminant coefficient.

The result showed that there was a significant difference among the level of cytokines between stroke group and non stroke group with risk factor. In discriminant analysis, IL-8, IL-1 beta and TNF alpha are the 3 discriminators, where as IL-8 is the most prominent discriminator, because IL-8 is the cytokine which step 1 included in the analysis.

The result also showed a significant difference among the level of cytokines between stroke group and non stroke group without risk factor. In discriminant analysis, the discriminators are: IL-8, IL-1 beta, TNF alfa, and TGF beta. IL-8 is also the most prominent discriminator.

In functional contribution pattern graphic of ischemic stroke group and non stroke control group without risk factor, the protective role of TGF beta 1 was found.

This finding support the role of inflammation in the pathogenesis of ischemic stroke, and conclude that there is an activation of pro-inflammatory cytokines (IL-1 beta and TNF alpha) and suppression of anti-inflammatory cytokines (IL-4 and TGF beta 1). This might also means an activation of Th1 and suppression of Th2 and Th3.

IL-8 was found as a strongest discriminator cytokine. In ischemic stroke group, there was a significant correlation between IL-8 level in infarct sice. This concludes that IL-8 is useful as a prognostic indicator for ischemic stroke in the early phase of attack.

It is important to develop more research on the effect of cytokine system on acute ischemic stroke, such as agonist IL-8, IL-8 receptor antagonist (IL-8ra) or monoclonal antibody against IL-8. Other important research must be done is protective role of TGF

beta 1. Other study on inflammatory process management during acute phase of ischemic stroke include antineutrophil antibody, is also important.

Keywords: ischemic stroke – role of cytokines – risk factor

DAFTAR ISI

	halaman:
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam.....	ii
Lembar Prasyarat.....	iii
Lembar Pengesahan.....	iv
Panitia Penguji Disertasi.....	v
Ucapan terima kasih.....	vi
Ringkasan.....	x
Abstract.....	xiii
Daftar Isi.....	xvi
Daftar Tabel.....	xx
Daftar Grafik.....	xxi
Daftar Singkatan.....	xxii
 BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Stroke Iskemik	
2.1.1 Batasan stroke iskemik.....	5
2.1.2 Epidemiologi stroke.....	5

2.1.3	Etiologi.....	6
2.1.4	Faktor risiko stroke iskemik.....	6
2.1.5	Skala beratnya stroke	8
2.2	Gambaran Histologik dan Histopatologik	
2.2.1	Gambaran histologik susunan saraf pusat.....	9
2.2.2	Gambaran histopatologik jaringan otak pada infark serebri.....	9
2.3	Patogenesis Stroke Iskemik	
2.3.1	Gangguan aliran darah serebral regional.....	12
2.3.2	Pengaruh iskemia terhadap neuron.....	14
2.3.3	Hipoksia versus iskemia	18
2.3.4	Nekrosis, apoptosis dan onkosis.....	20
2.4	Respons Inflamatorik pada Stroke Iskemik Akut	
2.4.1	Kerusakan serebral dan inflamasi.....	23
2.4.2	Reperfusi pada stroke iskemik akut.....	28
2.4.3	Invasi dan peran leukosit pada stroke iskemik akut.....	31
2.4.4	Aktivasi glia.....	34
2.5	Sitokin	
2.5.1	Sitokin, hormon, neurotransmitter, enzim dan faktor neurotropik.....	38
2.5.2	Sitokin dan fungsinya.....	39
2.5.3	Kerja sitokin.....	42
2.5.4	Sitokin anti-inflamatorik dan pro-inflamatorik.....	44
2.5.5	Interleukin 1 beta.....	45
2.5.6	<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>	47

2.5.7	Interleukin 8.....	48
2.5.8	Interleukin 4.....	49
2.5.9	<i>Transforming Growth Factors beta 1</i>	50
2.6	Sitokin dan Stroke Iskemik	
2.6.1	Dinamika sitokin pada stroke iskemik akut.....	50
2.6.2	Ekspresi mRNA sitokin pada stroke iskemik.....	53
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS		
3.1	Kerangka Konseptual.....	56
3.2	Hipotesis.....	60
BAB 4 METODE PENELITIAN		
4.1	Jenis Penelitian.....	61
4.2	Rancangan Penelitian.....	61
4.3	Bagan Rencana Penelitian.....	62
4.4	Kerangka Operasional Penelitian.....	63
4.5	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	64
4.6	Populasi Penelitian.....	64
4.7	Besar Sampel.....	65
4.8	Variabel Penelitian.....	65
4.9	Batasan Operasional	66
4.10	Kriteria Sampel, Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi	67
4.11	Cara Kerja.....	69
4.12	Analisis Data.....	71
4.13	Etik Penelitian.....	71

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS

5.1 Homogenitas Sampel.....72

5.2 Data Umum Darah Tepi.....73

5.3 Analisis Peran Sitokin.....77

BAB 6 PEMBAHASAN88

BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan.....102

7.2 Saran bagi Penanganan Stroke Iskemik Akut.....102

7.3 Saran bagi Penelitian Lebih Lanjut.....103

DAFTAR PUSTAKA.....104

LAMPIRAN

1. Surat Izin Direktur112

2. Surat Keterangan Kelaikan Etik Penelitian113

3. Formulir Persetujuan (*Informed Consent*)114

4. Persetujuan Tindakan Medis115

5. Prosedur Pemeriksaan Sitokin116

6. Data: Subyek Penelitian dan Faktor Risiko118

7. Data: Subyek Penelitian dan Hasil Pemeriksaan Darah Tepi120

8. Data: Subyek Penelitian dan Kimia Darah122

9. Data: Subyek Penelitian dan Kadar Sitokin124

10. Uji Homogenitas Faktor Risiko.....126

11. Pengolahan Data dengan SPSS126

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Tebaran faktor risiko pada kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko	72
Tabel 5.2 Homogenitas faktor risiko pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko (<i>Levene test for homogeneity of variance</i>)	73
Tabel 5.3 Rerata dari jumlah sel darah tepi pada kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko	73
Tabel 5.4 Kemaknaan perbedaan sel darah tepi pada kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko	74
Tabel 5.5 Rerata dari kimia darah pada kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko	75
Tabel 5.6 Kemaknaan perbedaan hasil pemeriksaan kimia darah pada kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko	76
Tabel 5.7 Perbedaan sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko	78
Tabel 5.8 Peran sitokin IL-1 beta, TNF alf dan IL-8 pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko	80
Tabel 5.9 Perbedaan sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko	82
Tabel 5.10 Peran sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL-4 serta TGF beta 1 pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko	84
Tabel 5.11 Perbedaan sitokin pada kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko	86

DAFTAR GRAFIK

	Halaman
Grafik 5.1 Rerata sitokin pada kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko (pg/mm ³)	77
Grafik 5.2 Rerata sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko (pg/mm ³)	79
Grafik 5.3 Pola peran sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko	81
Grafik 5.4 Rerata sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko (pg/mm ³)	83
Grafik 5.5 Pola peran sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko	85
Grafik 5.6 Rerata sitokin pada kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko	87

DAFTAR SINGKATAN

ADP	: <i>adenosine di phosphate</i>
ATP	: <i>adenosine tri phosphate</i>
BBB	: <i>blood brain barrier</i>
CAMP	: <i>cyclic adenosine mono phosphate</i>
CBF	: <i>cerebral blood flow</i>
CINC	: <i>cytokine-induced neutrophil chemoattractant</i>
CO	: <i>carbon oxide</i>
CRP	: <i>C-reactive protein</i>
CT	: <i>computerized tomography</i>
DNA	: <i>desoxyribo nucleic acid</i>
EGF	: <i>epidermal growth factor</i>
ELISA	: <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FGF	: <i>fibroblast growth factor</i>
GCP	: <i>granulocyt chemotactic protein</i>
GM-CSF	: <i>granulocyte-macrophage coloni stimulating factor</i>
Hb	: <i>hemoglobin</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HILP	: <i>hyperthermochemohypoxic isolated liver perfusion</i>
HSP	: <i>heat shock protein</i>
ICAM	: <i>intercellular adhesion molecule</i>
IFN	: <i>interferon</i>
IGF	: <i>insulin-like growth factor</i>
IL	: <i>interleukin</i>
IL-1R	: <i>interleukin-1 receptor</i>
IL-1ra	: <i>interleukin-1 receptor antagonist</i>
IR	: <i>immuno-reactivity</i>
KDa	: <i>kilo dalton</i>
LAI	: <i>leukocyte adhesion inhibitor</i>
LED	: <i>laju endap darah</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>

LFA	: <i>lymphocyte function-associated antigen</i>
Lps	: <i>lipopolysaccharide</i>
LT alfa	: <i>limfotoksin alfa</i>
LT beta	: <i>limfotoksin beta</i>
Mac-1	: <i>macrophage-1 antigen</i>
MAP	: <i>microtubule associated protein</i>
MDNCF	: <i>monocyte-derived neutrophil chemotactic factor</i>
MHC	: <i>major histo compatibility</i>
MIP-alpha	: <i>macrophage inflammatory protein-1 alpha</i>
MRNA	: <i>messenger ribo nucleic acid</i>
NAP	: <i>neutrophil activating protein</i>
NCF	: <i>neutrophil chemotactic factor</i>
NGF	: <i>neutrophil growth factor</i>
NIH	: <i>National Institute of Health</i>
NO	: <i>nitric-oxide</i>
PAF	: <i>platelet-activating factor</i>
PDGF	: <i>platelet-derive growth factor</i>
pg/ml	: <i>pikogram mili liter</i>
PGI 2	: <i>prostaglandin I 2</i>
PMN	: <i>polimorphonuclear</i>
RIND	: <i>reversible ischemic neurologic deficit</i>
RRNA	: <i>ribosomal-ribo nucleic acid</i>
RT-PCR	: <i>reverse transcription and polymerase chain reaction</i>
SPECT	: <i>single photon emission computerized tomography</i>
TCF	: <i>T-lymphocyte chemotactic factor</i>
TGF	: <i>transforming growth factor</i>
Th	: <i>T-helper</i>
TIA	: <i>transient ischemic attack</i>
TNF	: <i>tumor necrosing factor</i>
t-PA	: <i>tissue-plasminogen activator</i>
tRNA	: <i>transfer ribo nucleic acid</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Stroke (gangguan pembuluh darah otak) semakin penting sebagai salah satu masalah kesehatan di Indonesia. Di Amerika Serikat, insidens stroke adalah sekitar 500.000 orang setiap tahun, dan prevalensinya adalah sekitar 800 per 10.000 penduduk (Love, 1999). Diperkirakan insidens dan prevalens di Indonesia tidak jauh berbeda dari angka tersebut. Beberapa peneliti melaporkan berbagai penemuan yang berhubungan dengan terjadinya mekanisme kerusakan serebral setelah terjadi iskemia jaringan. Kohutnicka *et al.*(1998) mengemukakan bahwa adanya penemuan tentang peranan dan mekanisme inflamasi pada kerusakan saraf iskemik, memberikan peluang adanya target baru bagi intervensi terapi terhadap stroke iskemik. Beberapa sitokin diketahui berpengaruh pada proses inflamasi. Masalah yang mendasar adalah bahwa peran berbagai sitokin, khususnya IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4 dan TGF beta 1 pada penderita stroke iskemik belum jelas.

Penanganan penderita stroke iskemik pada beberapa hari pertama serangan stroke adalah sangat penting, karena ada kemungkinan masih merupakan suatu stroke yang sedang berkembang (*stroke in evolution*). Keadaan tersebut merupakan kesempatan yang harus dimanfaatkan, karena masih ada kemungkinan bagi jaringan otak yang iskemik di daerah *penumbra* (daerah disekeliling diluar daerah *core* /pusat infark, yang secara fungsional terganggu tetapi secara struktural masih intak sehingga masih *reversible*) untuk kembali berfungsi normal sehingga perluasan infark dapat dicegah (Lees, 1998; Fisher, 1999). Usaha untuk menyelamatkan daerah *penumbra* tersebut telah banyak

dilakukan, antara lain adalah perbaikan aliran darah regional, pemberian anti platelet agregasi, anti koagulan, pemberian trombolitik, neuroprotektan (Kasner 1999, Love 1999). Namun sampai saat ini belum ada hasil yang memuaskan untuk menghambat perkembangan infark serebri dalam masa jendela terapi (*therapeutic window*) itu, sehingga masih diperlukan berbagai penelitian yang menjelaskan mekanisme perluasan kerusakan serebral yang luas dan *irreversible* (Asia Pacific Consensus, 1998). Beberapa tahun terakhir mulai berkembang pemahaman bahwa keadaan inflamasi yang menyertai suatu iskemia jaringan serebral dapat memperberat kerusakan jaringan otak (Kohutnicka 1998, del Zoppo 2000).

Apabila peran sitokin dalam respons inflamasi pada stroke iskemik tidak diperjelas, maka pemahaman tentang peran sitokin tersebut tidak bisa dimanfaatkan bagi kepentingan penanggulangan perkembangan infark serebri, sehingga kecacatan akibat stroke iskemik akan tetap besar. Hal ini secara umum tentu akan mempengaruhi kemampuan sumber daya manusia dan produktivitas. Sebaliknya bila peran berbagai sitokin tersebut jelas, dapat dimanfaatkan bagi usaha penanganan dan pencegahan stroke iskemik. Ada harapan bahwa pencegahan perluasan infark pada penderita stroke iskemik akut akan dapat didekati melalui bahan yang bersifat antagonis terhadap sitokin tersebut.

Beberapa peneliti menyebutkan bahwa pada penderita stroke iskemik akut ada aktivasi netrofil yang memperberat kerusakan jaringan otak. Netrofil membawa superoksida yang termasuk radikal bebas dan dapat mempengaruhi oksigenasi mitokondria. Lisosim dan superoksida ini akan menyebabkan kerusakan sel neuron yang menetap (Fuerstein 1977, Yamasaki 1977, Fisher, 1999). Sedangkan Ehrlich *et al.* (1998) mengemukakan adanya sitokin pro-inflamatorik serta sitokin anti-inflamatorik yang berpengaruh terhadap

pengeluaran netrofil. Dari berbagai penelitian tersebut, diduga ada pengaruh beberapa sitokin terhadap perluasan infark serebri pada penderita stroke iskemik akut, yang perlu diperjelas bagaimana perannya. Penelitian ini berusaha menjelaskan peran sitokin tersebut dengan paradigma imunopatobiologik.

1.2 Rumusan Masalah

Pada penelitian ini, rumusan masalah yang dikemukakan adalah:

1. Apakah ada perbedaan kadar sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL8, IL-4, dan TGF beta 1 pada penderita stroke iskemik dibanding kontrol non stroke dengan faktor risiko.
2. Apakah ada perbedaan kadar sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4, dan TGF beta 1 pada penderita stroke iskemik dibanding kontrol non stroke tanpa faktor risiko.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini terbagi dua, yaitu tujuan umum dan tujuan khusus.

1.3.1 Tujuan umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk menjelaskan peran sitokin pada stroke iskemik.

1.3.2 Tujuan khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah:

1. Membuktikan bahwa ada perbedaan kadar sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL8, IL-4 dan TGF beta 1 pada penderita stroke iskemik dibanding kontrol non stroke dengan faktor risiko

2. Membuktikan bahwa ada perbedaan kadar sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4 dan TGF beta 1 pada penderita stroke iskemik dibanding kontrol non stroke tanpa faktor risiko.
3. Mendapatkan pola diskriminan sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4, TGF beta 1 pada penderita stroke iskemik dan kontrol non stroke dengan faktor risiko
4. Mendapatkan pola diskriminan sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4, TGF beta 1 pada penderita stroke iskemik dibanding kontrol non stroke tanpa faktor risiko

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat akademik

Manfaat akademik yang diharapkan dari penelitian ini adalah mendapatkan pengertian yang lebih baik tentang peran sitokin pada stroke iskemik.

1.4.2 Manfaat klinik

Manfaat klinik yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan petanda baru yang kemungkinan mempunyai nilai prognostik bagi penderita stroke iskemik.
2. Mengembangkan cara penanganan penderita stroke iskemik berdasarkan petanda baru tersebut.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Stroke Iskemik

2.1.1 Batasan stroke iskemik

Stroke dapat dibedakan menjadi stroke hemoragik dan stroke iskemik. Penderita dengan stroke iskemik adalah penderita dengan tanda gangguan neurologik fokal yang mendadak, yang disebabkan karena obstruksi atau penyempitan pembuluh darah arteri otak dan menunjukkan gambaran infark pada *CT-scan* kepala (Love, 1999).

Pada stroke iskemik, terjadi kekurangan suplai darah kesuatu area di jaringan otak. Iskemia adalah keadaan dimana vaskularisasi ke suatu organ atau jaringan menjadi berkurang atau tidak ada. Keadaan ini dapat disebabkan karena bekuan darah, plak aterosklerosis, atau vasokonstriksi. Sedangkan infark adalah kematian suatu daerah atau jaringan sebagai akibat iskemia (Outlines, 1997).

Meskipun secara praktis ada penulis yang menyebutkan bahwa stroke iskemik merupakan sinonim dari infark serebri (Love, 1999), namun sebenarnya iskemi serebri adalah penyebab dari infark serebri. Infark serebri kemudian akan memberikan gejala klinis stroke sesuai dengan lokasi daerah yang terkena. Secara klinis, manifestasi stroke iskemik dapat berupa TIA (*Transient Ischemic Attack*), RIND (*Reversible Ischemic Neurologic Deficit*), *Stroke in Evolution* atau *Completed Stroke*.

2.1.2 Epidemiologi stroke

Di Amerika Serikat, stroke merupakan penyebab kematian ketiga. Setiap tahun terjadi sekitar 500.000 penderita stroke baru disana, dan sekitar 150.000 meninggal. Sedangkan

prevalensi stroke adalah 720 per 100.000 pada orang kulit putih, dan 910 per 100.000 pada orang bukan kulit putih (Love, 1999).

2.1.3 Etiologi

Stroke iskemik dapat disebabkan oleh oklusi vaskuler intrinsik (trombus) atau oklusi dari material intravaskuler yang berasal dari tempat lain (emboli). Pada infark aterosklerotik arteri besar, mungkin ada emboli arteri kearteri, atau pembentukan trombus ditempat yang sebelumnya ada stenosis yang mendahului. Jantung, aorta, atau sistim vena dalam dengan *shunt* intrakardial dapat merupakan sumber yang potensial bagi emboli (Love, 1999).

2.1.4 Faktor risiko stroke iskemik

Beberapa faktor risiko stroke iskemik menurut Love (1999) adalah umur, jenis kelamin, ras, heriditas, hipertensi, diabetes melitus, merokok, obesitas, lipid serum abnormal, fibrilasi atrial, dan beberapa penyakit jantung lain.

1. Umur merupakan determinan stroke yang paling kuat. Insidens dari stroke menjadi berlipat dua setiap satu dekade setelah grup umur 35-44 tahun sampai umur 75-84 tahun, dengan lompatan terbesar dari risiko terjadi antara 35 dan 54 tahun. Sebagian besar stroke terjadi pada orang umur lebih dari 65 tahun.
2. Jenis kelamin berperan pada kejadian stroke. Stroke iskemik lebih sering terjadi pada pria dari pada wanita sampai dekade kedelapan, Diatas dekade tersebut, stroke lebih banyak terjadi pada wanita.

3. Orang Amerika yang berasal dari Afrika mempunyai insidens dan prevalens stroke lebih banyak dari pada kulit putih, meskipun telah dilakukan kontrol terhadap hipertensi, diabetes melitus dan umur. Suatu studi menunjukkan bahwa insidens stroke pada *Hispanics* sama dengan pada kulit putih.
4. Beberapa penelitian akhir ini menunjukkan terdapat pengaruh genetik pada risiko stroke. Peningkatan risiko nampak pada orang-orang dengan riwayat keluarga stroke pada relasi derajat pertama, dengan riwayat ibu meninggal karena stroke, dan pada ayah atau ibu kena stroke.
5. Hipertensi meningkatkan risiko stroke sekitar dua sampai empat kali.
6. Diabetes melitus meningkatkan risiko stroke sekitar tiga sampai empat kali.
7. Risiko dari stroke pada perokok dua sampai tiga kali lebih besar dari pada bukan perokok. Orang dewasa muda yang merokok mempunyai risiko stroke dua kali lipat dibanding yang bukan perokok.
8. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa obesitas merupakan prediktor bagi terjadinya stroke dikemudian hari
9. Lipid serum yang tidak normal merupakan faktor risiko yang lebih besar bagi terjadinya penyakit arteri koroner dari pada stroke. Tetapi derajat dan progresi dari aterosklerosis arteri karotis berhubungan langsung dengan kolesterol dan *High Density Lipoprotein* (LDL), dan berbanding terbalik dengan *Low Density Lipoprotein* (HDL).
10. Fibrilasi atrial non rematik meningkatkan risiko stroke tiga sampai lima kali. Fibrilasi atrial rematik juga meningkatkan risiko stroke.

11. Penyakit seperti penyakit klep jantung, penyakit arteri koroner, penyakit jantung kongestif dan hipertropi ventrikel kiri meningkatkan risiko stroke (Love, 1999).

Umur, jenis kelamin ras dan heriditas termasuk *unmodifiable risk factor*, sedangkan hipertensi, diabetes melitus, merokok, obesitas, lipid serum abnormal, dan penyakit jantung termasuk *modifiable risk factor* (Love, 1999).

2.1.5 Skala beratnya stroke

1. Skala stroke NIH (*National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS*). Skala stroke NIH dibuat pada tahun 1980. Skala stroke NIH merupakan cara klinis untuk menilai secara kuantitatif gangguan fungsi serebral fokal karena stroke iskemik. Reliabilitas serta validitasnya cukup tinggi. Skala ini mempunyai *track record* yang baik untuk reliabilitas *intrarater* dan *interrater*, artinya, untuk penderita tertentu skor yang didapat dengan memakai skala stroke NIH akan konsisten bila skala di ulang oleh pemeriksa yang sama atau oleh pemeriksa yang berbeda. Reliabilitas ini tidak berbeda secara bermakna diantara para spesialis saraf, perawat di bagian saraf, perawat di ruang darurat, ataupun pembantu perawat (Schwamm, 1999).
2. Skala stroke Skandinavia (*Scandinavian Stroke Scale, SSS*). SSS dibuat pada tahun 1985, juga merupakan skala yang banyak dipakai untuk penelitian. Sherman (2000) menggunakannya untuk pembuktian bahwa kualitas stroke berhubungan dengan waktu antara serangan pertama dengan saat tiba dirumah sakit. Sementara itu, *An International Study of Early/Progressing Stroke*

Stroke dalam penyusunan *European Stroke Database Collaboration* (2000) juga menggunakan untuk penentuan ‘progressing stroke’; penurunan 2 *point* SSS untuk kesadaran, lengan atau tungkai untuk gerakan mata, ataupun 4 *point* SSS atau lebih dalam pembicaraan, diantara dua kali penilaian, dianggap sebagai progresif.

2.2 Gambaran Histologik dan Histopatologik

2.2.1 Gambaran histologik susunan saraf pusat

Parenhim otak terdiri dari neuron yang disokong oleh anyaman sel glia (astrofit, oligodendrosit dan ependim), pembuluh darah, dan mikroglia. Sel tersebut bersama-sama membentuk neuropil (Burns, 1997).

Mikroglia lebih mungkin berasal dari monosit di sirkulasi darah daripada dari *neural tube*. Sebagai fagosit utama dalam sistem saraf pusat, mikroglia dapat mengakumulasi lipid intraseluler untuk membentuk *foamy macrophage*, yang sering disebut juga *gitter cells*. Pada keadaan lain, inti mikroglia dapat memanjang, untuk membentuk *rod cells*. Mikroglia juga dapat beragregasi sebagai respons terhadap beberapa keadaan (misalnya infeksi virus) untuk membentuk nodul mikroglia (Burns, 1997).

2.2.2 Gambaran histopatologik jaringan otak pada infark serebri

Gambaran histologik jaringan otak pada infark serebri tergantung dari mekanisme oklusi yang terjadi, ukuran dari arteri yang tersumbat, dan aliran darah kolateral yang ada (Love, 1999). Permukaan dari otak di daerah infark tampak pucat. Pada iskemia karena hipotensi atau perubahan hemodinamik, daerah batas kawasan arteri dapat terkena.

Daerah infark berbentuk baji di pusat dari kawasan arteriil dapat terjadi bila ada oklusi dari arteri utama dan disertai dengan aliran darah kolateral. Bila tidak ada aliran darah kolateral, seluruh kawasan yang mendapat vaskularisasi oleh suatu arteri akan menjadi infark. Pada oklusi arteri utama, seperti arteri karotis interna dapat terjadi infark multilobar dengan edema disekitarnya. Dijumpai pendataran girus dan obliterasi sulki akibat edema. Infark lakuner di daerah subkortek atau batang otak mungkin pula nampak, dengan ukuran 1.5 cm atau kurang. Emboli serebri cenderung terjadi pada hubungan antara kortek serebri dengan substansia alba. Terjadi *early reperfusion* dari pada infark bila terjadi lisis dari bekuan, sehingga bisa terjadi transformasi hemoragik.

Dikenal 2 jenis infark, yaitu infark pucat (iskemik, anemik) dan infark hemoragik (merah). Pada medula anastomosis pembuluh darah kurang baik, maka biasanya terjadi infark pucat. Pada oklusi yang terjadinya lambat terdapat infark pucat. Pada oklusi yang cepat (emboli) terjadi infark hemoragik. Hal ini dapat diterangkan karena oklusi yang cepat biasanya disertai dengan vasospasme dan bila vasospasme ini hilang lagi, dapat terjadi perdarahan pada daerah nekrotik itu. Daerah nekrotik itu biasanya mencair (*liquefaction necrosis*) karena jaringan otak mengandung banyak lemak dan enzim sedangkan jaringan ikat relatif sedikit; berbeda dengan infark pada alat tubuh lain (paru-paru, jantung) yang berupa *coagulation necrosis*. Pada infark pucat yang baru terjadi, secara makroskopik tampak daerah yang pucat, pada perabaan lunak, batas kortek dan medula kabur, dan terdapat edema. Infark hemoragik lebih mudah dilihat karena biasanya berwarna merah cerah. Perbedaan antara infark hemoragik dan perdarahan otak dapat dilihat baik secara makroskopik maupun mikroskopik. Pada infark hemoragik ditemukan

jaringan nekrotik yang diserbu oleh eritrosit. Pada perdarahan otak maka seluruh jaringan diganti oleh darah (Himawan Sutisno, 1973).

Secara mikroskopik dapat dilihat perubahan: sel saraf mengalami degenerasi asidofilik (eosinofilik) yang biasanya baru dapat dilihat setelah lebih kurang 6 jam. Sel ini merupakan sel yang telah mati dan berinti piknotik dan juga terdapat kromatolisis. Pembuluh darah tampak terbenjeng, dan juga tampak proliferasi sel endotel. Dapat ditemukan sel radang polimorfonuklear yang biasanya lenyap lagi setelah 24-48 jam. Mikroglia berubah menjadi makrofag dan memfagositosis jaringan nekrotik itu, dan sel itu biasa disebut *gitter cells* (*foam cells*). Reaksi mikroglia baru tampak lebih kurang hari ketiga hingga kelima. Waktu yang diperlukan untuk membersihkan daerah nekrotik ialah 1 cm³ /bulan. Pada infark hemoragik, sel *gitter* mengandung pigmen darah (hemosiderin). Astrosit juga mengadakan reaksi dan menjadi lebih besar dengan sitoplasma yang banyak dan disebut *reactive astrocytes*. Sel inilah yang membentuk *glial scar*, dan timbul lebih kurang pada hari ketiga hingga kelima. Akhirnya daerah nekrosis menjadi sebuah kista dengan gliosis disekitarnya. Oligodendroglia biasanya berkurang dan sel ini dianggap mempunyai kepekaan terhadap suatu kerusakan yang sama dengan sel saraf (Himawan Sutisno, 1973).

Berdasarkan perubahan yang terjadi pada proses infark, maka infark dapat dibagi tiga, yaitu pertama infark baru (*recent infarct*) dengan perubahan minimal dan mengandung sel saraf eosinofilik; kedua infark yang diorganisasi dengan proliferasi mikroglia, astrosit reaktif serta proliferasi pembuluh darah; sedangkan ketiga infark lama, yang berkavitasi (*cavitating, old, remote*), mengandung kista dan gliosis /*glial scar* (Himawan Sutisno, 1973).

Menurut Love (1999), perubahan mikroskopis setelah infark serebri yang dapat dilihat tergantung umur dari infark. Perubahan tidak terjadi segera dan dapat tertunda sampai 6 jam setelah infark. Mula-mula ada pembengkakan neuronal, yang diikuti dengan pengurangan, hiperkromasia dan piknosis. Kromatolisis nampak dan inti menjadi eksentris. Ada pembengkakan dan fragmentasi dari astrosit dan pembengkakan endotel. Neutropil menginfiltrasi sejak 4 jam setelah iskhemi dan menjadi melimpah setelah 36 jam. Didalam 48 jam, mikroglia berproliferasi dan menelan produk dari kerusakan mielin dan membentuk makrofag. Terjadi neovaskularisasi dengan proliferasi dari kapiler. Elemen di daerah nekrosis sedikit demi sedikit diabsorpsi sehingga terbentuk rongga yang terdiri dari glia dan elemen fibrovaskuler. Pada infark yang besar, terdapat 3 zona: yang paling dalam adalah zona nekrosis koagulasi; kemudian zona sentral dari *vacuolated neutrophil*, infiltrasi leukosit, akson yang bengkak, dan kapiler yang menebal; dan yang paling luar daerah astrosit yang hiperplasi, dan berbagai perubahan pada pengecatan inti.

2.3 Patogenesis Stroke Iskemik

2.3.1 Gangguan aliran darah serebral regional

Stroke timbul bila ada gangguan aliran darah serebral kesuatu bagian otak. Iskemia menimbulkan metabolisme energi otak dengan akumulasi ion kalsium dalam ruang intraseluler, peningkatan kadar laktat, asidosis, dan produksi radikal bebas, sehingga terjadi gangguan homeostasis seluler. Bila gangguan cukup berat, akan terjadi kematian sel. Gangguan total aliran darah serebral menyebabkan penekanan aktivitas elektrik dalam waktu 12-15 detik, hambatan eksitabilitas sinaptik dari neuron kortikal setelah 2-4 menit, dan hambatan eksitabilitas elektrik setelah 4-6 menit (Love, 1999).

Stroke iskemik mempunyai beberapa penyebab, tetapi yang khas disebabkan oleh karena aterotrombosis atau emboli, yang mengganggu aliran darah otak (*cerebral blood flow*, CBF). Dalam keadaan normal, CBF adalah 50-60 ml/100 g jaringan permenit. Iskemia terjadi bilamana CBF kurang dari 30 ml/100 g jaringan permenit. Bilamana CBF drop dibawah 10 ml/100 g jaringan permenit, akan terjadi kegagalan homeostasis, yang disusul influks kalsium yang cepat, aktivasi protease, keadaan eksitotoksik dan kematian neuronal (Schneck, 1998). Jejas akibat reperfusi (*reperfusion injury*) yang terjadi kemudian dapat menyebabkan radikal bebas dilepaskan, yang menyebabkan kematian sel. Reperfusi juga dapat menyebabkan transformasi hemoragik dari infark jaringan yang *bland*.

Bila CBF terganggu tetapi masih diantara 15 dan 10 ml/100 g jaringan permenit, keadaan iskemia dapat pulih kembali asalkan pengobatan dimulai cukup cepat. Love (1999) menyebutkan bahwa penumbra iskemik atau daerah *misery perfusion* adalah kondisi otak iskemik antara dua batas tadi beberapa neuron yang secara fungsional diam tetapi secara struktural masih intak dan potensiil dapat ditolong.

Berbagai *stressor* yang menyerang sel dapat menimbulkan jejas sub-letal atau letal. Jejas sub-letal tidak mematikan sel. Sel bertahan dengan mengubah struktur dan fungsi untuk mengakomodasi atau menetralkan stres yang dialaminya. Kerusakan atau penyimpangan struktur dan fungsi yang disebabkan oleh jejas sub-letal menjadi membaik kembali setelah *stressor* yang menyebabkan dihilangkan (Constantinides, 1993). Jejas letal menghilangkan kemampuan sel untuk bertahan hidup dengan mengubah struktur dan fungsi, dan karenanya merusak sel. Kerusakan tidak dapat membaik kembali meskipun penyebab stres telah dihilangkan; terjadi keadaan *irreversible*. Suatu stres sub-letal dapat

menjadi letal apabila intensitas dinaikkan sampai kelevel yang cukup tinggi; sebaliknya suatu stres letal dapat menjadi kurang berbahaya bila intensitas dan durasi kerjanya diturunkan. *Stressor* yang menyebabkan jejas sel amat bervariasi. Hipoksia merupakan salah satu penyebab yang sering dan penting (Constantinides, 1993).

2.3.2 Pengaruh iskemia terhadap neuron

Suatu *stressor* dapat mempengaruhi beberapa organela suatu sel secara bersamaan pada satu waktu atau secara berurutan, sementara *stressor* lain mungkin hanya dapat menyerang secara spesifik terhadap satu organela tertentu saja (Constantinides, 1993). Diantara berbagai *stressor* yang menyebabkan jejas yang mematikan (*lethal injury*), anoksia merupakan *stressor* yang paling sering dan karenanya paling penting: yaitu hilangnya oksigen dalam suatu sel. Ini merupakan penyebab tersering kematian pada manusia, karena oklusi dan ruptur vaskuler merupakan penyerang tersering pada jantung dan otak. Berbagai struktur dari sel pada umumnya, dapat menjadi target kerusakan akibat hipoksia: dinding sel, membran plasma, *endoplasmic reticulum*, ribosom, mitokondria, lisosom, *microbodies*, *microtubules*, *microfilaments*, bahan sitoplasmik, nukleus dan nukleolus. Hipoksia, suatu keadaan dimana suplai oksigen tidak mencukupi, dapat menimbulkan kerusakan *sub-lethal* dari sel; namun bila cukup berat, dapat juga menjadi *lethal*. Hipoksia ini sering disebabkan karena iskemia, yaitu keadaan dimana terjadi kekurangan suplai darah (Constantinides, 1993).

Kerusakan sel pada iskemia dapat berupa kerusakan yang *reversible* atau *irreversible* (Cotran, 1999). Akibat pertama dari hipoksia adalah respirasi aerob dari sel, yaitu fosforilasi oksidatif oleh mitokondria. Karena oksigen dalam sel yang menurun,



fosforilasi oksidatif akan menghilang dan pembentukan ATP menurun. Pengurangan ATP dalam sel akan mengakibatkan berbagai gangguan dalam sel, seperti gangguan pompa ion natrium yang tergantung pada energi membran plasma (*ouabain-sensitive Na, K, ATP ase*), gangguan metabolisme energi sel.

Apabila iskemia berlanjut, akan terjadi keadaan yang *irreversible*. Terjadi gangguan fungsi *mitokondria*, *menghilangnya fosfolipid membran*, *gangguan cytoskeletal*, *lipid breakdown product*, asam amino intraseluler berkurang, yang kesemuanya akan mengakibatkan kerusakan membran sel (Cotran, 1999).

Berbagai penelitian mencoba menjelaskan berbagai proses biokimiawi yang terjadi pada neuron yang mengalami iskemia. Sweeney (1997) mengemukakan bahwa penurunan sintesis ATP selama iskemia menghasilkan adenosin yang mengalir keluar neuron. Adenosin merupakan suatu neuromodulator inhibitorik yang mempunyai kerja neuroprotektif terhadap kerusakan yang disebabkan iskemia serebral. Efek vasodilator adenosin memungkinkan sebagai bahan anti stroke, namun juga bertanggung jawab terhadap efek samping yang tidak dikehendaki setelah pemberian *adenosine receptor agonists*. Dari sisi yang menguntungkan, penulis tersebut mengemukakan bahwa efek terapeutik mungkin dapat diperoleh dengan mempertahankan konsentrasi dari adenosin endogen dengan pemberian propentofilin, suatu *adenosine uptake inhibitor*. Diduga bahwa ada peran adenosin endogen dalam mencegah *delayed cell death*, menyusul hipoksia. Jadi ada suatu *therapeutic window* bagi kesempatan dimana *adenosine A1 receptor* bermanfaat untuk neuron iskemik.

Perez Velazquez *et al.* (1997) membuktikan keterlibatan langsung dari glutamat, yaitu bahwa neuron yang mengalami iskemia akan mengeluarkan glutamat, yang kemudian

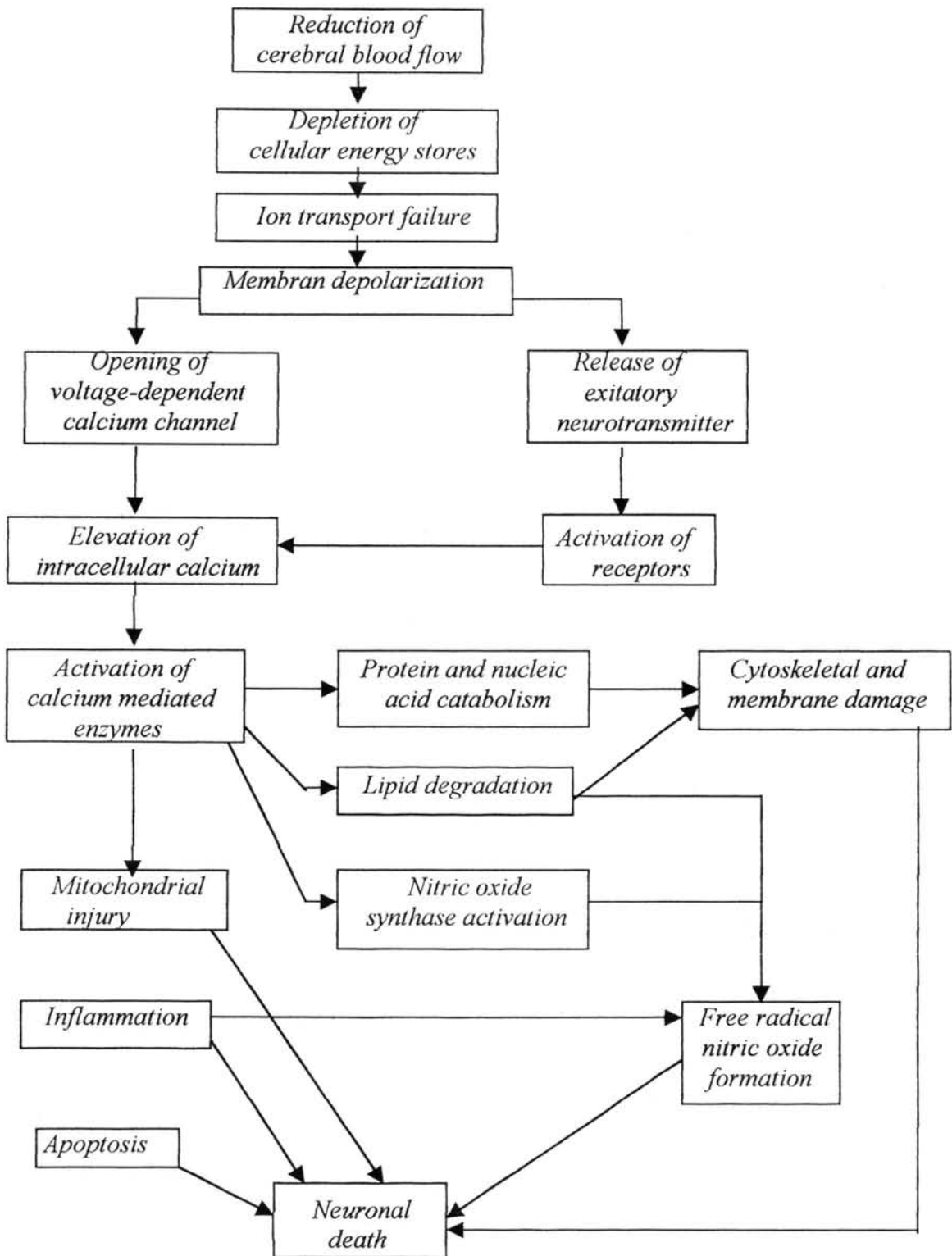
akan menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas dan pompa kalsium keluar dari dalam sel.

Mengenai hubungan antara glutamat serta ion kalsium dalam neuron yang mengalami iskemia ini, Budd (1998) mengemukakan bahwa menyusul suatu iskemia, ion yang terganggu mengakibatkan neurotransmitter eksitatorik keluar. Meskipun asam amino eksitatorik seperti glutamat merupakan mediator ekstraseluler bagi kerusakan neuron, namun kejadian intraseluler bagi pengaturan aktivasi reseptor glutamat belum jelas. Diduga bahwa berlebihan ion kalsium setelah hipoksia terutama pada mitokondria adalah keadaan yang neurotoksik.

Sementara itu Love (1999) mengemukakan bahwa peningkatan kalsium intraseluler mengaktifkan protease, fosfolipase, dan endonuklease, yang menyebabkan kematian sel. Sewaktu fosfolipid membran sel rusak, radikal bebas (superoksida, hidroksil) terbentuk.

Tentang peran HSP, Kogure *et al.* (1997) mengemukakan bahwa keadaan iskemik dapat mengganggu kerja genomik dari pada sel otak, dan dapat meningkatkan produksi *heat shock protein* (HSP). HSP ini penting bagi perbaikan integritas sel, dan diduga dipicu sebagai program penyelamatan. Induksi pre-iskemik dari protein ini dikenal dapat menimbulkan toleransi iskemik, dan metoda untuk memanipulasi gen agar memicu HSP diduga akan efektif mengurangi kematian neuron yang mengalami hipoksia.

Perubahan seluler akibat iskemia, kemungkinan bukan hanya merupakan jalur tunggal. Perubahan seluler yang kompleks memungkinkan bagi beberapa strategi yang bermanfaat bagi neuroproteksi. Keberhasilan intervensi mungkin tergantung kepada kerja obat pada lebih dari satu target sasaran (Nieber, 1999). Kasner *et al.* (1999) menggambarkan kaskade iskemik pada neuron serebral yang mengalami iskemia seperti skema dibawah.



Kaskade iskemik menurut Kasner *et al.* (1999)

Dari skema diatas, dapat dilihat bahwa kematian neuron dapat disebabkan juga oleh karena proses inflamasi. Tentang peran dari inflamasi pada stroke iskemik dapat dilihat pada sub bab 2.4.

2.3.3 Hipoksia versus iskemia

Istilah *stroke* dan sinonimnya *cerebrovascular accident* (gangguan pembuluh darah otak) mengacu pada kerusakan otak *irreversible* akibat iskemia serebri. Iskemia serebri terjadi bila aliran darah otak menurun sampai kesuatu titik dimana substans metabolik yang dibawa gagal untuk memenuhi kebutuhan metabolik dari jaringan (Sharp, 1998).

Hipoksia diartikan sebagai penurunan tekanan partial oksigen, sedangkan anoksia diartikan tidak adanya oksigen di udara atau di jaringan. Hipoksia terjadi misalnya pada *cardiac arrest*, sedangkan iskemia misalnya pada penyempitan arteri karotis (Sharp, 1998)

Hipoksia harus dibedakan dari iskemia. Pada iskemia terjadi penurunan aliran arteriil atau pengurangan *drainage* vena didalam jaringan. Iskemia merupakan penyebab tersering dari pada hipoksia. Defisiensi oksigen dapat juga timbul akibat oksigenasi darah tidak cukup seperti pada kegagalan kardiorespirasi, atau pada gangguan kemampuan darah membawa oksigen seperti pada anemia atau keracunan CO (Mitchell, 1997).

Pada binatang percobaan, hipoksia dan iskemia menghasilkan respons fisiologik yang jelas berbeda. Iskemia mengakibatkan peningkatan konsentrasi glutamat ekstraseluler; sedang antagonis glutamat akan mengurangi *neuropathologic injury*. Hipoksia, tanpa iskemia, tidak berhubungan dengan peningkatan konsentrasi glutamat ekstraseluler dan tidak menyebabkan perubahan neuropatologik meskipun pO₂ dibawah 20 terjadi sampai

lebih dari 30 menit, pada binatang percobaan. Ekspresi genetik juga sangat *injury specific*. Iskemia akan menyebabkan ekspresi yang kuat dari *stress proteins* HSP72 dan HSP32, sedang hipoksia tersendiri saja tidak akan mempengaruhi kedua produk gen tersebut (Simon, 1999).

Gangguan yang tidak disertai skuele patologik akibat hipoksia tanpa iskemia juga pernah ditunjukkan pada manusia. Sebanyak 22 penderita yang dilaporkan dari Yale New Haven Hospital dengan hipoksia (pO₂ kurang dari 20 mm Hg) tanpa hipotensi dalam keadaan koma, dan pada beberapa kasus mengalami *decerebrate*; dengan mengobati penyakit yang menyebabkan koma hipoksik tadi, ternyata *recovery* seperti keadaan premorbid terjadi pada 13 dari 22 penderita, termasuk yang mengalami *decerebrate*, dengan pulihnya juga tanda-tanda kelainan neurologik.

Pada seri yang lain, hipoksia respiratoir (pO₂ kurang dari 45 mm Hg) selama 1 sampai 8 hari terjadi pada 3 penderita yang kemudian meninggal cepat karena kegagalan jantung; selama periode hipoksia tekanan darah normal. Pada pemeriksaan neuropatologik tidak didapati gambaran perubahan sel iskemik.

Meskipun istilah hipoksia dan iskemia sering dipertukarkan, skuele patofisiologik dari dua keadaan tersebut sangat berbeda (Simon, 1999).

Infark serebri didefinisikan sebagai kematian baik sel glia maupun sel neuron pada daerah tertentu, atau kematian dari seluruh elemen seluler termasuk neuron, glia dan sel endotel yang disebut sebagai *pan-necrosis*. Bentuk *selective neuronal necrosis*, dapat dilihat pada waktu yang singkat setelah iskemia serebri dan pada tepi dari infark serebri (Sharp, 1998).

2.3.4 Nekrosis, apoptosis dan onkosis

Sel tubuh termasuk sel saraf merupakan partisipan yang aktif dilingkungannya, yang mempertahankan struktur dan fungsinya untuk mengadaptasi kebutuhan yang berubah serta stresor ekstraseluler (Mitchell, 1997). Respons adaptif yang penting adalah atrofi, hipertrofi, hiperplasi, dan metaplasia. Bila kemampuan sel untuk adaptasi terlampaui, maka akan terjadi *injury* (kerusakan/jejas) sel. Sampai pada batas tertentu, sel adalah *reversible*; namun apabila *stressor* cukup berat atau menetap, sel akan menderita kerusakan yang *irreversible* dan kemudian dapat mati.

Mitchell *et al.* (1997) menyebutkan ada 2 pola kematian sel: nekrosis, paling sering nekrosis koagulatif, terjadi setelah menghilangnya suplai darah atau karena racun, yang ditandai dengan adanya pembengkakan sel, denaturasi protein serta kerusakan organela dan apoptosis, kejadian yang lebih teratur, terjadi pada keadaan normal, atau kematian terprogram dari pada populasi spesifik dalam keadaan normal seperti pada embriogenesis, atau juga pada beberapa keadaan patologis. Kadang-kadang dua pola tersebut terjadi secara tumpang tindih.

Mattson *et al.* (1997), dan juga Leist *et al.* (1997) menyebutkan ada perbedaan morfologis yang dapat dilihat pada degenerasi neuron dengan proses nekrosis dan apoptosis. Pada nekrosis, terjadi pembengkakan akut dan *vacuolation* dari sel bodi dan neurit, dengan lisis sel, sehingga isi sel terdorong ke cairan ekstraseluler. Pada apoptosis, terjadi *compaction* dari sel bodi, fragmentasi inti dan pembentukan *cell surface blebs* yang mencegah terbukanya hubungan antara sekitar sel dengan isi dari sel yang mati.

Apoptosis dapat diidentifikasi dengan adanya fragmentasi DNA yang khas yang dilihat seperti tangga pada gel elektroforesis.

Stoll *et al.* (1998) mengatakan bahwa pada iskhemia fokal neuron mati pada fase akut dengan nekrosis, dan pada bentuk lambat dengan *programmed cell death* / apoptosis.

Pengertian atau istilah nekrosis dan apoptosis ini perlu dikaji kembali sehubungan adanya istilah baru yaitu onkosis. Trump *et al.* (1997) mengemukakan 2 pola kematian sel, yaitu onkosis dan apoptosis. Onkosis, berasal dari kata Yunani *pembengkakan*, merupakan pola perubahan yang umum pada infark. Perubahan yang paling awal mengenai *blebbing* sitoplasma, dilatasi *endoplasmic reticulum*, pembengkakan sitosol, mitokondria normal atau mengalami pepadatan, dan kromatin menggerombol dalam nukleus. Pada apoptosis, perubahan yang dini meliputi pengkerutan sel, pengkerutan sitosol, penggerombolan kromatin lebih jelas, *blebbing* sitoplasma, kadang-kadang ada pembengkakan *endoplasmic reticulum*, dan mitokondria bisa normal atau mengalami pepadatan. Mengikuti kematian sel, keduanya kemudian mengalami perubahan post-mortem yang disebut sebagai nekrosis. Pada onkosis, perubahan mengenai daerah dari sel yang luas, sedang pada apoptosis, sel atau fragmentnya sering difagositosis sebelum kematiannya oleh makrofag atau sel parensim didekatnya. Pada masing-masing kejadian tersebut, perubahan meliputi pola yang mengenai pembengkakan mitokondria, pepadatan atau kalsifikasi mitokondria, kariolisis, dan kerusakan kontinuitas plasmolema.

Mekanisme biokimiawi dari kematian sel masih banyak diteliti, terutama mengenai gen yang mempengaruhi proses ini. Trump *et al.* (1996, 1997) menyebutkan adanya *pro-death genes* dan *anti-death genes* yang berpengaruh pada proses kematian sel. Dereglulasi ion, utamanya Ca^{2+} juga berperan penting pada kematian sel baik setelah apoptosis

maupun onkosis. Onkosis serta apoptosis sering disebut sebagai *pre-lethal events* sedang necrosis disebut sebagai *lethal events* (Trump, 1996, 1997).

Nekrosis anoksik yang ditimbulkan oleh kebanyakan organ menjadi material nekrotik yang padat (*coagulation necrosis*), tampaknya disebabkan karena koagulasi protein sel oleh asam laktat dan asam fosfat; sementara bila terjadi di otak akan timbul material nekrotik cair (*liquefaction necrosis*); ini mungkin karena hampir semua komponen produk mielin, yang merupakan komponen utama, adalah larut air dan juga karena organisasi dari area yang nekrotik oleh fibroblast dan kolagen di otak mengalami rudimenter atau bahkan tidak ada (Constantinides, 1993).

Sitokin dapat memodulasi pengaruh neurotransmitter dan polipeptida; untuk memahami pengaruh sitokin di serebral terhadap apoptosis serta toksisitas, masih diperlukan berbagai penelitian mengenai ekspresi temporal dan spatial dari *network* sitokin, faktor pertumbuhan, neuropeptida dan neurotransmitter yang kompleks (Licinio, 1997).

Penumbra adalah bagian diotak yang terletak di antara daerah yang dianggap mati dengan daerah masih mendapat cukup suplai darah. Jadi penumbra merupakan jaringan otak yang mengalami iskemik sedemikian rupa sehingga hanya mampu untuk hidup sebentar, tetapi tidak mampu untuk berkomunikasi dan berfungsi. Harapan hidup dari penumbra adalah pendek. Meskipun konsep tentang penumbra sudah jelas, namun didalam prakteknya adalah sulit untuk mengambil manfaat dari konsep itu. Yang pertama hal ini antara lain disebabkan karena bervariasinya waktu dan ruangan. Bergantung pada berat dan lamanya iskemia, penumbra dapat terjadi disetiap tempat diotak yang

mengalami iskemia. Yang kedua, sel dalam penumbra mungkin mengalami kematian tidak hanya secara nekrosis, tetapi juga apoptosis. Apabila hal ini benar, maka konsep mengenai gangguan otak sepiintas (*Transient Ischemic Attack*) mungkin memerlukan revisi. Yang ketiga, mungkin saja penumbra memperoleh kembali kemampuannya untuk hidup tidak hanya karena reperfusi, tetapi juga dengan mengganggu proses yang berhubungan dengan apoptosis (Hakim, 1998).

2.4. Respons inflamatorik pada stroke iskemik akut

2.4.1. Kerusakan serebral dan inflamasi

Trauma dan stroke dapat menyebabkan hilangnya fungsi secara permanen dari sistem saraf pusat. Penelitian belum lama ini menunjukkan bahwa reaksi jaringan terhadap dua macam kerusakan tersebut ternyata juga melibatkan respons inflamasi akut. Ternyata pula respon inflamatorik tersebut melibatkan aktivasi leukosit, kemotaksis, adhesi interseluler dan sekresi mediator terlarut pro-inflamatorik. Proses seluler ini diatur oleh set kompleks pada permukaan sel, matriks yang berhubungan, dan mediator terlarut.

Beberapa peneliti belum lama ini mengemukakan pentingnya peran inflamasi pada kerusakan neuron akibat hipoksia. Inflamasi ini melibatkan peran sel inflamasi, dan juga modulator beberapa sitokin. Kohutnicka *et al.* (1998) mendapati bahwa aktivasi sel inflamasi seperti netrofil dan makrofag pada daerah iskemik dapat menyebabkan kerusakan pasca iskemik lebih lanjut. Penelitian tentang peran dan mekanisme inflamasi pada kerusakan neuronal iskemik menunjukkan adanya target baru bagi intervensi terapi terhadap stroke.

Berbagai penelitian sedang dilakukan untuk meneliti obat yang mencegah pengikatan netrofil ke endotel pembuluh darah yang mengalami perlukaan, sehingga mengurangi reaksi inflamasi yang terjadi (Schneck, 1998).

Pada stadium awal dari proses iskemia, angiogenesis endogen terlihat menggantikan aliran darah ke area yang iskemik dengan pembentukan pembuluh darah kolateral (Yamasaki Kogure, 1997). Pertumbuhan pembuluh darah kolateral hampir selalu dapat terlihat pada iskemia serebral. Pertumbuhan ini menyebabkan ukuran serta beratnya fokus iskemik yang mengancam, berkembang dengan bertambahnya waktu. Pada umumnya, daerah perifer dari fokus yang iskemik tampak menerima aliran darah yang cukup pada stadium awal dari iskemia. Sedangkan gangguan sirkulasi yang menetap dipusat fokus menyebabkan maturasi yang cepat dari infark. Diantara dua daerah ini terdapat area dimana mikrosirkulasi tidak cukup bagi neuron untuk mempertahankan hidupnya, tetapi masih cukup bagi sel glia untuk menghasilkan faktor neurotropik untuk melakukan resusitasi bagi neuron yang rusak.

Lima bukti menunjukkan bahwa *delayed neuronal and functional losses* setelah kerusakan iskemik adalah merupakan hasil kerja dari sel inflamatorik yang neurotoksik (Guilian, 1997):

1. keracunan neuronal, termasuk neurotoksin, hanya dijumpai pada jaringan yang banyak diinfiltrasi dengan mikroglia atau makrofag yang reaktif. Derajat aktivitas neurotoksik yang dijumpai pada susunan saraf pusat yang mengalami kerusakan iskemik berhubungan dengan jumlah fagosit mononuklear pada daerah lesi. Sedangkan pada daerah sekitarnya, juga pada hewan coba normal, tidak dijumpai adanya aktivitas toksik tersebut.

2. obat yang mengurangi jumlah sel inflamatorik juga akan mengurangi jumlah neurotoksin yang dilepaskan oleh jaringan yang rusak
3. fagosit mononuklear yang aktif tampak pada waktu *delayed loss of neuron* dan gangguan fungsi neurologis.
4. penekanan inflamasi susunan saraf pusat dapat memperbaiki baik kehidupan motor neuron maupun fungsi motorik yang ada.
5. Isolasi dari populasi sel yang spesifik mengkonfirmasi bahwa *reactive mononuclear phagocytes* merupakan sumber utama dari *neuron-killing factors* pada kerusakan susunan saraf pusat.

Yamasaki Kogure *et al.* (1997) mengemukakan adanya *laminar ischemic structure* sebagai berikut:

1. Daerah *postischemic high energy*, yang dapat mentolerir iskemia yang terjadi kemudian, karena produksi *molecular chaperons* dan stres protein yang lain. Ini merupakan daerah yang dapat sembuh.
2. Daerah *postishemic low energy*, yang rentan terhadap iskemia kedua yang mengancam. Ini merupakan daerah dimana dapat dihasilkan faktor neurotropik dan merupakan daerah yang merupakan target dari terapi medisinal.
3. Daerah *ischemic core* (daerah infark). Ini merupakan daerah yang tidak dapat diobati.

Fuerstein *et al.* (1997) dan Yamasaki *et al.* (1997) menyebutkan bahwa iskemia akan menimbulkan kondisi inflamasi pada daerah otak yang terganggu. Kondisi inflamatorik terdiri dari sel (neutropil pada waktu onset serangan dan kemudian monosit) dan mediator (sitokin, kemokin dan sebagainya). Jelas ada peningkatan sitokin inflamatorik, kemokin dan molekul adesi leukosit-endotel pada otak segera setelah ada iskemik, dan pada waktu

yang bersamaan dengan timbulnya komponen seluler. Mekanisme yang pasti dari respon inflamasi ini belum diketahui. Namun bukti yang ada mendukung kemungkinan bahwa reaksi inflamatorik akut terhadap iskemia otak berhubungan secara kausal dengan kerusakan otak. Bukti tersebut meliputi:

1. kemampuan sitokin untuk memperberat kerusakan otak
2. kemampuan antagonis sitokin tertentu seperti IL-1ra untuk mengurangi kerusakan otak iskemik
3. penurunan netrofil yang beredar di sirkulasi mengurangi kerusakan otak iskemik
4. antagonis interaksi adesi endotel-lekosit (misalnya anti ICAM-I) mengurangi kerusakan otak iskemik

Namun harus pula diingat bahwa ada bukti bahwa sitokin juga mempunyai efek yang menguntungkan terhadap kerusakan otak, seperti misalnya bahwa reseptor TNF meningkatkan sensitivitas terhadap iskemia, dan juga kemampuan IL-1 untuk menimbulkan keadaan toleransi iskemik pada pemberian yang berulang.

Tetapi bagaimanapun, kemampuan iskemia untuk menimbulkan inflamasi akut pada otak merupakan dasar yang baru untuk penanganan kerusakan neuron setelah iskemia serebri. Banyaknya gen yang meningkat karena iskemia, meningkatkan kemungkinan bahwa produk gen demikian mungkin bermanfaat dalam menangani kerusakan otak dengan mengusahakan perbaikan kembali dan mengusahakan mekanisme kompensasi yang memungkinkan pemulihan histologis dan fungsional (Fuerstein, 1997).

Vila *et al.* (1999) mengemukakan bahwa reaksi inflamasi berperan pada patogenesis iskemi serebral. Sitokin memperberat kerusakan iskemik serebral dengan beberapa mekanisme antara lain dengan mengaktifkan sintesis *acute-phase reactants*. Vila juga

meneliti inflamasi yang dipicu oleh sitokin dengan *functional outcome* pada 41 penderita dengan stroke iskemik akut. Sampel darah untuk *IL-1 receptor antagonist* (IL-1 ra), laju endap darah, *c-reactive protein* (CRP) dan lekosit polimorfonuklear diambil dalam waktu 48 jam dari onset stroke. *Functional outcome* dinilai setelah 6 bulan dengan menggunakan *Modified Rankin Scale*. Penderita dengan skor Rankin $>$ atau $=$ 3 diklasifikasikan sebagai *dependent outcome*. Pengaruh dari variabel inflamatorik terhadap *outcome* dianalisis dengan regresi logistik. Ternyata *Mathew score* pada waktu masuk <75 , fibrilasi atrial, ukuran infark non-lakuner, LED >13 mm/jam untuk pria dan >20 mm/jam untuk wanita, jumlah lekosit polimorfonuklear $>8 \times 10^9/l$, CRP >0.8 mg/dl dan IL-1 ra > 500 pg/ml ada hubungannya dengan *dependent outcome*. Pada *multiple logistic regression*, stroke yang berat pada waktu datang, ukuran infark non-lakuner dan LED merupakan prediktif untuk *outcome* dengan sensitivitas dan spesifisitas masing-masing 76 dan 90%. Disimpulkan bahwa di samping pemeriksaan radiologik, pemeriksaan LED akan berguna bagi deteksi dini penderita stroke dengan *poor longterm functional outcome* (Vila, 1999).

De Graba (1998) menyebutkan bahwa semakin banyak bukti, utamanya model binatang percobaan dengan iskemia serebral dan penelitian pendahuluan, yang menunjukkan bahwa mekanisme inflamatorik berperan pada kerusakan neuronal sekunder setelah iskemia serebral akut. Iskemia yang diikuti dengan reperfusi dengan cepat menimbulkan ekspresi sitokin inflamatorik, utamanya TNF alfa dan IL-1 beta., yang kemudian menstimulir kaskade kompleks dari kejadian yang melibatkan sel endotel, neuron, astrosit dan sel perivaskuler. Respons sekunder meliputi pelepasan sitokin lain, peningkatan komponen dari sistim koagulasi, peningkatan ekspresi dari molekul adesi

sel, dan perubahan dari ekspresi komponen respon imun. Efek dari kejadian ini adalah transformasi dari endotel lokal menjadi keadaan protrombotik/proinflamatorik dan induksi dari migrasi leukosit ke daerah yang mengalami kerusakan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa migrasi leukosit terjadi didalam beberapa jam dari reperfusi. Leukosit yang terkumpul di daerah yang mengalami gangguan tadi kemudian akan menyebabkan kerusakan lebih lanjut melalui beberapa mekanisme, termasuk oklusi mikrovaskuler, pembentukan radikal bebas oksigen, pelepasan enzim sitotoksik, gangguan pada reaktivitas vasomotor, dan peningkatan pelepasan sitokin serta *chemoattractant*. Antibodi monoklonal terhadap molekul adhesi leukosit pernah ditunjukkan dapat mengurangi volume infark pada model binatang yang dibuat reperfusi-iskemik. Tapi pengobatan ini gagal memberi manfaat pada *Enlimomab Acute Stroke Trial*. Sejumlah faktor penyebab mungkin mengganggu blokade molekul adhesi yang dikendalikan oleh antibodi pada stroke akut.

2.4.2 Reperfusi pada stroke iskemik akut

Akhir-akhir ini sedang diteliti kontributor bagi kerusakan jaringan yang terjadi sewaktu reperfusi, dan kontribusinya bagi perkembangan infark serta kerusakan neurologik. Interest yang baru difokuskan pada peran dari leukosit darah pada kerusakan mikrovaskuler dan jaringan otak segera setelah oklusi arteri dan reperfusi. Kerusakan serebral fokal yang lebih bermakna adalah proses seluler dan molekuler yang mendasari transisi dari iskemia menjadi inflamasi. Ini meliputi reaktivitas mikrovaskuler, aktivasi dan kemotaksis leukosit polimorfonuklear (PMN), biologi reseptor sel endotel, sintesis dan pelepasan sitokin, transmigrasi dan invasi jaringan oleh leukosit, dan trombosis

mikrovaskuler. Adalah jelas bahwa bagi lekosit PMN untuk menembus endotel BBB dan lamina basalis, diperlukan partisipasi endotel mikrovaskuler, astrosit dan sel lain.

Lekosit PMN berperan sebagian bagi obstruksi mikrovaskuler, kerusakan jaringan inflamatorik, penyembuhan luka, dan transformasi hemoragik. Ada bukti bahwa lekosit, terutama lekosit PMN, bekerja didalam mikrovaskuler, dan menembus dinding mikrovaskuler sewaktu transmigrasi untuk memulai disolusi jaringan. Dipihak lain, endotel mikrovaskuler memainkan peran protektif untuk mencegah kerusakan dinding mikrovaskuler, meneruskan makanan dan sinyal yang penting dari lumen pembuluh darah ke jaringan perivaskuler, memelihara barier permeabilitas primer dan memainkan peran penentu dalam mencegah trombosis mikrovaskuler. Interaksi yang sesuai dari lekosit PMN dan endotel selama reperfusi segera setelah iskemia serebral fokal tergantung pada *discrete molecular events* yang dimulai oleh iskemia. Berarti pada *ligand-reseptor* spesifik dan kerusakan toksik lokal pada vaskuler dan jaringan perivaskuler (Del Zoppo *et al.*, 2000)

Proses dimana iskemia serebral fokal menimbulkan perubahan inflamatorik pada vaskuler serebral meliputi *hypoxic injury*, pelepasan sitokin, pembentukan trombin dan respon seluler; kesemuanya dimodulasi oleh reperfusi. Pada keadaan istirahat, sel endotel mikrovaskuler serebral mengeluarkan bahan (glutathion peroksidase, katalase, dan superoksid dismutase) untuk menginaktifkan radikal bebas yang terbentuk disekitarnya. Lebih dari itu, sifat antitrombotiknya dipelihara dengan sekresi PGI₂, *tissue plasminogen activator* (t-PA), *single-chain urokinase plasminogen activator* (scu-PA), dan kerja dari heparin-antitrombin sel endotel, trombomodulin-protein C, dan kompleks ADPase.

Lekosit PMN, eritrosit dan platelet melewati barrier sel endotel dalam *unactivated state*. Hubungan ini secara meyakinkan menjadi terganggu bila terjadi *upstream flow ceases and return*. Iskemia, inflamasi dan trombosis pada keadaan ini adalah berkaitan. Lekosit PMN pada aktivasi memainkan beberapa peran langsung pada proses ini, termasuk oklusi mekanik dari pembuluh darah, pembentukan radikal bebas, pelepasan protease yang kuat dan invasi jaringan.

Kesimpulan yang diambil adalah lekosit PMN memainkan beberapa peran dalam maturasi dari kerusakan reperfusi segera setelah iskemia serebral fokal. Ia berperan untuk *no-reflow* lokal, pembentukan edema, peningkatan *postcapillary venule endothelial permeability*, pembentukan radikal bebas superoksida, gangguan integritas jaringan, dan akhirnya infark berkembang (Del Zoppo, 1997).

Penanganan terhadap reperfusi ini merupakan hal yang semakin dirasa penting dalam pengobatan stroke iskemik akut. Memang, trombolisis telah diterima merupakan terapi yang efektif. Pada *trial* klinik, trombolisis memberikan risiko 6% terjadi perdarahan, sementara perbaikan fungsional yang dicapai adalah 30%. Sebenarnya destruksi dari mikrovaskuler dan bertambahnya infark merupakan akibat dari reperfusi. Dari data yang didapat ternyata bahwa respon inflamatorik yang terjadi segera setelah pemulihan sirkulasi, merupakan akibat dari *reperfusion injury* tadi. Rekrutmen netrofil ke daerah iskemia yang merupakan tahap pertama dari inflamasi, melibatkan gambaran yang terkoordinasi dari berbagai protein. *Intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) dan integrin, merupakan molekul adesi yang meningkat pada sel endotel dan leukosit pada reperfusi. TNF alfa, IL-1 dan *platelet-activating factor* (PAF) juga berperan pada akumulasi leukosit dan aktivasi selanjutnya. Pada binatang percobaan, terapi yang

mempengaruhi fungsi dari faktor tersebut tampaknya cukup menjanjikan dalam mengurangi kerusakan akibat reperfusi dan mengurangi perluasan infark. Kemungkinan akan sangat berguna bila digabung dengan terapi trombolitik dalam pengobatan stroke iskemik akut (Jean, 1998).

2.4.3 Invasi dan peran leukosit pada stroke iskemik akut

Migrasi leukosit dari aliran darah ke dalam jaringan otak merupakan proses yang kompleks yang merupakan integrasi dari *chemoattraction*, adhesi endotel dan migrasi transendotelial. Adhesi leukosit pada endotel merupakan prasyarat terjadinya migrasi. Neutrofil pada dasarnya mengekspresikan molekul adhesi pada permukaan di atas membran plasma dan dapat secara cepat mengubah jumlah atau keadaan fungsionalnya sebagai respons terhadap stimuli spesifik. Sebagai molekul yang diekspresikan oleh sel endotel, telah diidentifikasi *P-selectin*, *E-selectin* dan ICAM-1. *P-selectin* ditransformasikan dari *endothelial cell secretory granules* ke membran plasma setelah stimulasi sel oleh trombin atau histamin. *E-selectin* dan ICAM-1 disintesis setelah stimulasi dengan sitokin seperti IL-1 dan TNF. Kenaikan ekspresi ICAM-1 adalah lebih lambat dari pada untuk *E-selectin* (del Zoppo, 1997).

ICAM-1 dari sel endotel telah didapati sebagai *ligand* bagi molekul adhesi leukosit yang disebut sebagai *lymphocyte function-associated antigen* (LFA-1); seperti misalnya, ICAM-1 dapat terlibat pada adhesi sel T dan makrofag kepada *IL-1 stimulated endothelial cells*

Meskipun TNF menyerupai semua kerja IL-1 pada sel endotel, tetapi berlainan dengan IL-1, TNF dapat mengaktifkan neutropil dan karenanya dapat menyebabkan adesi neutropil kepada sel endotel dengan *endothelial-directed action*.

Adanya ICAM-1 immunoreactivity (IR) pada endotel dan CD18IR pada lekosit yang harus melekat pada endotel, dapat ditunjukkan pada iskemia transien fokal pada binatang model tikus (*rat*). Ekspresi dari ICAM-1 IR pada kapiler dari kortek yang iskemik dan daerah penumbra ini meningkat dari jam ke 3 sampai 24 setelah reperfusi. Adanya infiltrasi lekosit yang terlihat pada daerah iskemik dari jam ke 12 sampai 24 setelah reperfusi, menunjukkan bahwa ekspresi molekul adesi pada sel endotel mendahului infiltrasi leukosit.

Migrasi dari lekosit diduga diarahkan oleh *transendothelial gradient of soluble attractants*. Produk dari aktivasi komponen dan metabolit arakidonat merupakan kemoatraktan yang telah banyak dikenal. Akhir-akhir ini diidentifikasi suatu faktor kemotaktik lekosit yang kuat yaitu sitokin kemotaktik atau kemokin. Kemokin, dimana salah satu anggotanya yang terkenal adalah IL-8, utamanya aktif terhadap netrofil. Lebih lanjut ditemukan *cytokine-induced neutrophil chemoattractant* (CINC) yang juga suatu kemokin C-X-C, mungkin merupakan kemoatraktan utama yang bertanggung jawab terhadap rekrutmen netrofil. IL-8 dan CINC dihasilkan oleh sel endotel dan/atau lekosit, sebagai respon terhadap sitokin TNF dan IL-1.

Pernah dilaporkan bahwa mRNA CINC diekspresikan pada suatu model oklusi permanen a. serebri media, dan bahwa protein CINC diproduksi setelah reperfusi. Produksinya meningkat dari 3 – 12 jam setelah reperfusi dimulai, kemudian menurun bertahap dalam 24 – 48 jam setelah reperfusi (Yamasaki Kogure, 1997).

Peningkatan produksi CINC akan memicu ekspresi molekul adesi untuk membantu *tethering activity*. Sementara itu, Yamasaki Matsuo *et al.* (1997) juga mendapatkan bahwa pemberian anti-CINC akan mengurangi pembentukan edema iskemik 24 jam setelah reperfusi dan mengurangi luas daerah infark 7 hari setelah reperfusi.

Beberapa tahun terakhir ini menjadi lebih jelas bahwa leukosit berperan tidak hanya pada stadium perbaikan dari infark serebri, tetapi juga pada fase awal, dimana dipostulasikan bahwa leukosit mempunyai efek yang buruk terutama dengan adanya reperfusi. Hal tersebut berdasarkan pada analisis kritis terhadap lebih dari 150 publikasi mengenai peran leukosit dan beberapa mediator inflamatorik (sitokin, kemokin dan molekul adesi) pada iskemia serebri. Penelitian pada binatang menunjukkan bahwa keterlibatan leukosit didorong oleh beberapa molekul inflamatorik yang dihasilkan oleh iskemia serebri. Berbagai bukti menunjukkan bahwa mediator ini memainkan peran kunci pada progresi dari iskemia menjadi kerusakan *irreversible* (yaitu kematian sel dan nekrosis). Namun peran yang tepat dari masing-masing molekul secara tersendiri masih perlu diteliti lebih lanjut seperti misalnya hubungan yang kompleks diantara mediator yang berbeda. Kemajuan tentang pengertian mengenai mekanisme inflamatorik yang bekerja pada iskemia serebri memungkinkan pemeriksaan senyawa baru yang menjanjikan hasil pada binatang; sebaliknya penelitian percobaan pemberian molekul anti-leukosit pada penderita stroke akut menunjukkan hasil yang negatif. Ketidaksesuaian ini mungkin sebagian disebabkan karena pengertian yang kurang lengkap tentang kompleksitas mekanisme inflamatorik yang terjadi pada iskemia serebri (Pantoni, 1998).

Sementara itu Soriano *et al.* (1999) mengemukakan bahwa antigen makrofag-1 Mac-1 (CD11b/CD18), suatu integrin leukosit beta2, memfasilitasi adesi netrofil, migrasi transendotelial, fagositosis, dan *burst* respiratorik, yang kesemuanya dapat mengantari *injuri* yang dipicu oleh reperfusi pada jaringan otak iskemik dalam kondisi seperti pada stroke. Untuk melihat peran Mac-1 selama iskemia dan reperfusi serebral, Soriano meneliti pengaruh dari iskemia serebral fokal transien dalam tikus yang dilakukan rekayasa genetik dengan defisiensi Mac-1. Ternyata didapatkan bahwa defisiensi Mac-1 mengurangi infiltrasi netrofil dan kematian sel serebral setelah iskemia serebral fokal. Hal ini diduga berhubungan dengan penurunan ekstravasasi netrofil pada tikus yang mengalami defisiensi Mac-1.

Efek dari leukosit dalam patogenesis kerusakan iskemik serebral dipostulasikan sebagai berikut (Yamasaki Kogure, 1997):

1. penurunan aliran darah serebral dengan *plugging* atau pelepasan mediator vasokonstriktif seperti endothelin
2. eksaserbasi kerusakan *blood brain barrier* (BBB) atau parenkim, melalui pelepasan enzim hidrolitik, produksi oksigen radikal dan lipid peroksidase.

Diduga bahwa pengobatan dengan antibodi antinetrofil dan irradiasi akan dapat mengurangi perluasan dari edema serebri karena iskemik dan mengurangi luasnya infark.

2.4.4 Aktivasi glia

Astrosit dan mikroglia merupakan sel *immune surveillant* dari sistim saraf. Mereka dihadapkan untuk bertahan bagi gangguan keseimbangan dan untuk melindungi integritas dari sistim saraf pusat. Stres lokal maupun dari jauh yang ditimbulkan oleh iskemia dapat

mengubah *microenvironment* dalam daerah penumbra, yang berakibat aktivasi mikroglia, astrositosis, disfungsi neuronal dan disfungsi *trophic factors*.

Astrosit dapat menyediakan *trophic and survival factors* bagi neuron, termasuk *fibroblast growth factor* (FGF), *glial-derived growth factor*, dan neurotropin, untuk berperan pada perbaikan luka.

Mikroglia menghasilkan faktor seperti IL-1, yang memicu neurotropin, yang penting bagi *neuronal survival and sprouting*, sehingga dengan demikian ikut berperan pada *remodelling* dan *neuroplasticity*.

Setelah serangan iskemia, astrosit dan mikroglia menghasilkan sitokin seperti IL-1, TNF dan IL-6, dan berespon terhadapnya melalui reseptor yang sesuai.

Mikroglia juga mempunyai kemampuan penting yaitu mengeluarkan mediator yang mempunyai potensi neurotoksik, seperti radikal bebas, enzim proteolitik yang aktif, dan asam amino eksitotoksik. Disamping meningkatkan faktor neurotoksik ini, sitokin diatas juga meningkatkan kadar neuropeptida.

Selanjutnya mikroglia menghasilkan faktor kemotaktik, sehingga meningkatkan inflamasi karena sel darah yang menginfiltrasi, termasuk makrofag dari darah. Untuk usaha perbaikan jaringan yang rusak, fagosit ini melakukan berbagai tingkah laku seluler termasuk kemotaksis kearah kerusakan pengenalan jaringan yang tak terpakai lagi fagositosis dan penyingkiran sisa jaringan.

Berlawanan dengan efek sitotoksik terhadap neuron, sel glia juga menghasilkan *trophic factors* dan growth factors seperti IL-6, NGF dan bFGF, dalam perjuangan untuk menyelamatkan neuron yang terganggu.

Neuron yang terganggu sendiri juga melepaskan sejumlah *trophic factors* termasuk TGF kedaerah luka.

Interaksi sub-akut diantara glia, sel inflamatorik, sitokin, faktor neurotropik dan neuropeptida dapat menimbulkan lingkungan neuropatologis dan dirusak sistim saraf, disamping dapat membantu usaha perbaikan.

Riset dalam bidang neurobiologi dan imunologi telah meningkatkan pemahaman tentang mekanisme neuroimun dan telah mengesampingkan dogma bahwa sistim saraf pusat merupakan organ yang *immunologically privileged*. Lebih jauh, setelah destruksi BBB, sel imuno-reaktif perifer dapat migrasi kedalam pangsang otak dan mempengaruhi produksi sitokin. Kaskade yang kompleks yang terjadi setelah *brain damaged* ternyata dikontrol oleh sitokin. IL-1 dan TNF merupakan mediator utama yang bekerja sama dengan IL-6, IL-8 dan *trophic factors* untuk memulai dan mengatur imunitas lokal di otak. Perubahan neural-imun, yang mengatur antara efek neurotoksik dan efek tropik positif, dapat memberikan pemulihan fungsi neuronal dan sirkuit neuronal (Yamasaki Kogure *et.al*, 1997)

Mikroglia merupakan suatu kelas dari *intrinsic mononuclear phagocytes* pada susunan saraf pusat. Sel ini merupakan elemen efektor imun yang utama dari otak dan sering dihubungkan dengan berbagai masalah klinis termasuk gangguan pembuluh darah otak. Penurunan fungsi neurologik yang lambat yang terjadi beberapa hari setelah serangan stroke sering dihubungkan dengan kematian neuron yang progresif. Pandangan yang luas diterima adalah bahwa molekul sitotoksik dilepaskan pada kerusakan jaringan saraf, dimana kemudian menyebabkan destruksi neuron dan gangguan fungsi lebih lanjut. Bukti semakin banyak yang menyokong bahwa fagosit mononuklear termasuk mikroglia

merupakan sumber dari bahan sitotoksik tersebut. Meskipun tidak menyebabkan penyakit, mikroglia dapat bereaksi terhadap penyakit, dan menentukan pola dan derajat pemulihan. Strategi pengobatan masa depan bagi gangguan pembuluh darah otak akan perlu ditujukan pada akibat dari reaktivitas mikroglia (Giulian, 1997).

Beberapa bukti menunjukkan bahwa mikroglia berbeda dengan klas fagosit mononuklear lain seperti makrofag peritoneal, makrofag lien, monosit darah dan sel progenitor sumsum tulang.

Ativitas sel T dapat dibagi menjadi 2 fase, yaitu fase induksi dimana sel T diaktifkan, dan fase efektor dimana aktivasi diekspresikan dan diukur.

Ada 3 macam subset dari pada sel T, yaitu: *Helper CD4 T cells (Th2 > Th1)*, *Inflammatory CD4 T cells (Th1 >> Th2)*, dan *Cytotoxic CD8 T cells* (Janeway, 1996).

Tentang respons dari makrofag terhadap adanya hipoksia, Hempel *et al.* (1996) dan juga Guilan (1997) mengemukakan bahwa hipoksia meningkatkan stimulasi LPS bagi pelepasan sitokin inflamatorik IL-1 dan TNF alfa, sehingga kadar kedua sitokin itu meningkat. Guilan menyebutkan pula bahwa hipoksia dapat menekan PGHS-2 yang memicu anti-inflamatorik PGE-2, sehingga anti-inflamatorik tersebut menurun.

Mikroglia dan makroglia merupakan sumber utama dari sitokin yang terlibat pada proses inflamasi pada keadaan hipoksia. Lehrmann *et al.* (1998) mengemukakan bukti bahwa mikroglia dan makroglia merupakan sumber utama dari *transforming growth factor*-beta 1 setelah oklusi a. serebri media pada tikus. Jumlah mikroglia dan makroglia yang mengekspresi mRNA TGF-beta 1 meningkat dengan kuat pada minggu pertama. Setelah itu, mRNA TGF-beta 1 menjadi meningkat terbatas pada penumbra neokortek (3 minggu), dan setelah 3 bulan dibantu oleh mikroglia yang diaktifkan dikomisura anterior.

Dia menyimpulkan bahwa setelah iskemik serebral fokal, fungsi yang diantarai oleh TGF-beta 1 pada fase degeneratif awal dilakukan oleh mikroglia, sedang pada fase lanjut (fase penyembuhan) dilakukan oleh mikroglia bersama dengan makrofag yang berasal dari darah.

Kerusakan neuron didekat jejas (*injury*) merupakan mekanisme yang penting bagaimana *reactive microglia* menimbulkan penyebaran disfungsi neurologik. Seperti dikemukakan oleh Rio-Hortega, jaringan nekrotik atau hemoragik akan menimbulkan reaksi inflamatorik. Sebagai stimuli yang kuat untuk *reactive microgliosis*, sisa jaringan dapat secara terus menerus menyebabkan produksi lokal dari pada *neuron-killing factors* sebagai respons terhadap kerusakan iskemik, dan karenanya mempengaruhi perjuangan hidup neuronal pada periode awal serangan (Giulian, 1997).

Giulian (1997) juga mengemukakan bahwa meskipun penekanan terhadap glia yang reaktif dapat meningkatkan pemulihan fungsional setelah kerusakan susunan saraf pusat, strategi pengobatan demikian perlu dilakukan dengan harapan yang realistis, karena neuron yang telah rusak pada daerah infark tidak akan membaik dengan supresi mikroglia. Namun pada penumbra yang melingkungi, dimana neuron masih berjuang untuk hidup, mungkin merupakan target yang baik bagi pengobatan immunosupresif selama fase akut kerusakan iskemik.

2.5. Sitokin

2.5.1. Sitokin, hormon, neurotransmitter, enzim dan faktor neurotropik

Sitokin tidak boleh dikacaukan dengan hormon, neurotransmitter, enzim dan faktor neurotropik (Clemens, 1991; Jain, 1999).

Sitokin: substansi protein imunoregulatorik (misalnya limfokin), yang disekresi oleh sel dari pada sistim imun (Clemens, 1991). Sedang Licinio (1997) menyebutkan bahwa sitokin tidak hanya disintesis oleh sistim imun saja, tetapi juga oleh sel dalam sistim saraf pusat seperti neuron, glia, sel vaskuler otak.

Limfokin adalah sitokin yang diproduksi oleh atau bekerja terhadap sistim imun. Limfokin merupakan sitokin yang lebih banyak dihasilkan dari pada sitokin lain. Interleukin termasuk limfokin ini. Interleukin bekerja sebagai *intercellular signalling agents* antar limfosit (Clemens, 1991).

Hormon: substansi protein yang disekresi oleh kelenjar tertentu, yang bekerja terhadap target sel tertentu. Neurotransmitter adalah substansi yang meneruskan (mentranmisikan) impuls saraf melewati sinapsis. Enzim adalah protein kompleks yang dihasilkan oleh sel hidup dan bekerja mengkatalisis reaksi biokimiawi tertentu pada suhu tubuh. Sedangkan faktor neurotropik adalah molekul polipeptida yang disintesis dan dilepaskan dari sel target dari neuron, dan bekerja menyokong kehidupan neuron (Clemens, 1991).

2.5.2. Sitokin dan fungsinya

Sitokin adalah protein, biasanya glikoprotein, yang mempunyai berat molekul relatif rendah (jarang lebih dari 8-23 kDa), dan sering hanya terdiri dari satu rantai. Sitokin mengatur proses biologik yang penting pada sel: pertumbuhan sel, aktivasi sel, inflamasi, imunitas, *repair* jaringan, fibrosis dan morfogenesis. Beberapa sitokin juga mengatur kemotaksis bagi sel tertentu. Sitokin yang dibuat oleh suatu lekosit dan bekerja mempengaruhi lekosit, disebut interleukin (Roitt *et al.*, 1993).

Menurut Clemens (1991), istilah sitokin dipakai untuk protein yang dihasilkan oleh sel sebagai respon terhadap berbagai stimuli; sitokin disekresi oleh sel yang memproduksi dan kemudian mempengaruhi tingkah laku sel target. Hormon polipeptida yang klasik juga memenuhi definisi ini, namun menurut konvensi tidak dimasukkan sebagai sitokin, karena dihasilkan oleh organ endokrin spesifik (misalnya kelenjar hipofise); sedangkan sitokin dapat dihasilkan oleh lebih dari satu macam sel, dalam beberapa jaringan. Tetapi dalam beberapa keadaan, kerjanya serupa; baik sitokin maupun hormon endokrin klasik bekerja setelah disekresi dari sel penghasil dan harus berikatan dengan reseptor spesifik pada permukaan sel target. Efek yang ditimbulkan didalam sel target dibawa oleh *signal transduction* menembus membran plasma.

Respons dari sel target untuk suatu sitokin, ditentukan oleh reseptor spesifik. Reseptor ini mungkin ada pada permukaan sel sendiri yang memproduksi sitokin tadi, untuk kemudian terjadi efek otokrin (pengaturan aktivitas sel oleh produknya sendiri). Kemungkinan lain, sitokin hanya bekerja terhadap jenis sel lain yang tidak memproduksinya. Bila sel target ini terletak di dekat sel yang memproduksi sitokin tadi, maka dipakai istilah pengaturan parakrin untuk menyebut proses tadi. Mungkin pula sel target terletak ditempat di bagian tubuh yang jauh, atau di jaringan atau organ lain, sehingga model pengaturan terhadap sel target tersebut analog dengan pengaruh dari hormon polipeptida (Clemens, 1991).

Meskipun berbagai sitokin merupakan grup molekul yang bermacam-macam dengan efek yang bervariasi, namun kebanyakan mempunyai gambaran struktur dan fungsi tertentu. Mereka merupakan protein yang termasuk kecil (15-30 kd). Beberapa dimodifikasi sebelum sekresi dengan penambahan rantai samping karbohidrat sehingga

menjadi glikoprotein. Beberapa sitokin disintesis oleh sel yang memproduksinya sebagai *precursor* yang lebih besar, untuk kemudian nanti baru dipisah (*cleaved*) menjadi molekul yang secara biologis aktif. Sebagai bahan yang mempunyai sejumlah peranan pengatur, sitokin jarang diproduksi dalam kecepatan yang konstan, tetapi lebih dipengaruhi, dipacu atau ditekan, oleh stimuli khusus terhadap mana tubuh perlu memberi respon. Lebih jauh disebutkan bahwa umur hidup didalam aliran darah atau cairan ekstraseluler lain kedalam mana sitokin disekresi adalah pendek, sebagaimana memang sitokin juga bekerja hanya pada periode yang pendek. Perusakan dan pembuangan molekul sitokin tampaknya merupakan proses yang teratur, sebagaimana sintesa dan sekresi dari protein ini dalam keadaan normal dikontrol dengan ketat (Clemens, 1991).

Perbandingan berbagai sitokin pada manusia dan pada hewan coba menunjukkan bahwa kebutuhan akan sitokin sudah ada pada hewan multiseluler yang sederhana. Ternyata struktur dari berbagai *region* dan protein ini mempunyai fungsi yang penting. Peran fisiologis dari sitokin berhubungan secara spesifik dengan kebutuhan organisme multiseluler, dan berhubungan dengan koordinasi antara sel yang berbeda atau respon terhadap stres lingkungan.

Peran fisiologis sitokin pada organisme multiseluler (Clemens, 1991) adalah kontrol proliferasi sel, kontrol diferensiasi dan fenotip dari sel, pengaturan hematopoiesis, pengaturan imun respon, kontrol pertahanan host terhadap infeksi virus dan parasit, pengaturan respon inflamasi dan demam, kontrol sitotoksik dan fagositik dari sel, penyembuhan luka, *remodelling* jaringan dan pembentukan tulang, serta pengaruh pada metaboliske seluler dan kontrol keseimbangan nitrogen.

Salah satu pembagian sitokin adalah berdasar riwayat penemuan dan fungsi yang serupa. Akan banyak tumpang tindih tentang efek biologik dan mekanisme kerjanya. Klasifikasi tersebut adalah (Clemens, 1991): *Growth Factors*, *Lymphokine*, *Colony Stimulating Factors*, *Transforming Growth Factors*, *Tumor Necrosis Factors*, dan *Interferons*.

Subset dari limfosit T helper CD4+ yang berbeda dalam hal pola sekresi sitokin dan fungsi efektor memberi gambaran suatu *framework* untuk memahami heterogenitas dari respons imun normal maupun patologik. Penetapan mekanisme seluler dan molekuler dari diferensiasi sel T helper dapat membantu strategi yang rasional dalam manipulasi respons imun bagi profilaksi dan terapi. Sitokin yang dihasilkan oleh populasi limfosit Th1 dan Th2 menentukan fungsi efektor yang berlawanan dan fungsi inhibitoriknya. Jalur Th1 dan Th2 adalah simetris, masing-masing bekerja mengontrol suatu set respon imun, dan masing-masing memperjelas perkembangan sel dari *subset* yang sama sambil menekan ekspansi dan/atau fungsi efektor dari *subset* yang lain (Abbas, 1996).

2.5.3 Kerja sitokin

Karena semua sitokin merupakan protein atau glikoprotein sedangkan membran plasma dari sel eukariota adalah tidak permeabel terhadap makromolekul demikian, maka sitokin tidak dapat langsung memasuki sel target. Karena itu pengaruh sitokin terhadap fungsi sel harus dilakukan melalui interaksi dengan struktur diluar membran plasma. Ini yang disebut reseptor. Reseptor mengatur jumlah dan/atau aktivitas biokimiawi dari reseptor, tidak tergantung dari sitokinnya sendiri (Clemens, 1991).

Reseptor bekerja dengan cara dimana semua efek biologis dari sitokin dibawa. Pada awal tahun 90 an didapat kemajuan yang pesat mengenai struktur, organisasi dan fungsi reseptor. Dipakai molekul sitokin *cloned* murni sebagai *labeled ligands bind* terhadap sel dan membantu mengidentifikasi reseptor yang sesuai.

Pada umumnya, reseptor sitokin terdiri atas 3 bagian. Pertama ranah ekstraseluler menyediakan tempat pengikatan sitokin dan memberikan spesifisitas untuk *ligand* tertentu. Bagian kedua, daerah transmembran merupakan dua lapisan fosfolipid dari membran plasma. Sedang yang ketiga ranah intraseluler mempunyai aktivitas ensimatik atau mengikat molekul lain. *Signal* yang berada didalam sel adalah sebagai respon terhadap *ligand* sitokin.

Beberapa reseptor sitokin atau hormon polipeptida (misalnya reseptor untuk EGF atau PDGF) terdiri dari rantai polipeptida tunggal yang dapat membawa semua fungsi ini. Pada keadaan lain (misalnya reseptor IFN gama) rantai tunggal demikian dapat mengikat *ligand* tetapi harus berinteraksi dengan protein kedua didalam membran plasma atau sitoplasma untuk menunjukkan aktivitas biologisnya. Akhirnya, reseptor terhadap IL-2 dan IGF-1 merupakan contoh dimana tempat pengikatan *ligand* dengan afinitas tinggi terdiri atas lebih dari 1 rantai polipeptida (Clemens, 1991).

Dikenal beberapa mekanisme tentang bagaimana sitokin atau hormon yang disampaikan ke sel memberikan respon spesifik. *Signal modern mechanisms* demikian, saat ini merupakan suatu bidang riset biokimia modern yang paling aktif. Aspek biologis sitokin ini tumpang tindih dengan biokimiawi endokrin; misalnya peran dari adenylate cyclase dan cAMP dalam pengaturan hormonal dari metabolisme yang telah dipelajari sejak tahun 1960 an. Konsep *second messenger* yang mencakup signal intraseluler

terhadap enzim spesifik karenanya merupakan suatu yang kuno, tetapi hal ini akhir-akhir ini diperluas dengan penemuan adanya molekul *second messenger*.

Fosforilasi protein dan pengaturannya merupakan bidang dimana telah ditemukan kemajuan besar, utamanya penemuan *tyrosine-specific protein kinases* dan perannya dalam kontrol pertumbuhan sel. Jalur ini berpusat pada kerja pengaturan sitokin.

Tingkah laku dari sel tergantung pada jenis protein yang dibuatnya. Kemajuan pada biologi molekuler memungkinkan dilakukannya identifikasi gen yang ekspresinya dikontrol oleh sitokin. Dua tujuan yang penting dari penelitian adalah menemukan mekanisme sitokin mengontrol ekspresi gen, dan untuk memahami kerja hasil dari gen itu didalam sel. Diantara gen yang diatur oleh sitokin, beberapa kode untuk protein diekspresikan pada permukaan sel. Protein spesifik *cell-lineage* yang dapat diidentifikasi melalui pengikatan antibodi spesifik terhadap sel intak, sering dinamakan *differentiation antigens*. Kelompok molekul permukaan sel pengatur yang lain meliputi reseptor untuk sitokin yang sama atau sitokin lain. Beberapa protein permukaan sel mengantarai pengenalan sel atau interaksi sel dengan bahan ekstraseluler. Contoh yang penting dari protein yang dikontrol oleh sitokin demikian adalah antigen kompleks histokompatibilitas mayor (MHC). Perubahan tingkah laku sel yang dipicu oleh sitokin sering diantarai oleh perubahan ekspresi protein permukaan sel demikian (Clemens, 1991).

2.5.4 Sitokin anti-inflamatorik dan sitokin pro-inflamatorik

Sitokin adalah mediator peptida yang memodulasi berbagai fungsi seluler, melalui rangkaian otokrin, parakrin dan endokrin. Peptida ini mempunyai peran fisiologik dan patofisiologik yang penting dalam inflamasi dan regulasi imun. Kemajuan yang pesat

dalam riset neuroimunologik telah dicapai, dan salah satu diantaranya adalah penemuan bahwa beberapa sitokin dihasilkan dalam kerusakan otak akut. Kejadian seluler setelah kerusakan otak, khas ditandai dengan infasi leukosit dan aktivasi glia (Yamasaki, 1997).

Interleukin-8 (IL-8) mempunyai kemampuan yang tinggi untuk menarik netrofil ketempat jaringan yang rusak atau mengalami inflamasi, sehingga meningkatkan aktivitas fagositik dan sitolitik. Limfosit, fibroblast, sel endotel dan juga makrofag kemungkinan dapat juga menghasilkan *chemotactic protein like* IL-8, dan nampaknya sitokin lain seperti IL-1 dapat juga memacu sel tersebut untuk menghasilkan IL-8. Disamping itu IL-8 juga dapat memicu ekspresi molekul adesi sel CD11/CD18 dan memperkuat perlekatan netrofil ke sel-sel endotel dan protein matrik sub-endothel (Clemens, 1991).

Ehrlich *et al.* (1998) mendapatkan dari penelitian yang dilakukannya, bahwa LPS (lipopolisakarida), IL-1beta dan juga TNF alfa dapat meningkatkan kadar IL-8 dalam darah yang selanjutnya IL-8 mempunyai pengaruh kemotaktik terhadap neutrofil. IL-1 beta dan TNF alfa ini digolongkan kedalam sitokin pro-inflamatorik. Sedang IL-4 dan TGF beta 1 menghambat pengaruh stimulasi dari sitokin pro-inflamatorik tadi, dan disebut sebagai sitokin anti inflamatorik.

2.5.5 Interleukin 1 beta

Sitokin yang diproduksi oleh atau bekerja terhadap sistim imun dikenal sebagai limfokin. Limfokin merupakan sitokin yang lebih banyak dihasilkan dari pada sitokin lain. Termasuk limfokin adalah interferon gama dan interleukin. Interleukin bekerja sebagai *interferon signaling agents* diantara dua limfosit. Setiap tahun selalu saja bertambah daftar interleukin baru yang ditemukan (Clemens 1991).

Nama umum interleukin mulai diajukan pada tahun 1979 bagi faktor yang diproduksi dan dilepaskan oleh limfosit T yang teraktivasi, yang bekerja terhadap limfosit lain untuk menghasilkan efek biologis. Kenyataannya, beberapa interleukin juga dihasilkan oleh sel diluar sistim hematopoetik, seperti monosit. Interleukin-1 (IL-1) merupakan contoh dari monokin tadi. IL-1 dihasilkan oleh monosit sebagai respons terhadap stimulasi oleh *fever inducing agents* seperti bakteri lipopolisakarida (LPS), yang sebelumnya dikenal sebagai *lymphocyte activating factors* atau *endogenous pyrogen* karena kemampuannya menimbulkan demam.

Dua bentuk dari IL-1, yaitu IL-1 alfa dan IL-1 beta, berhasil di *clon* dan di *sequence* pada pertengahan 80an. Seperti halnya beberapa *growth factor*, IL-1 alfa dan IL-1 beta disintesa sebagai protein precursor yang lebih besar, dari mana molekul aktif dipisahkan oleh *proteolytic cleavage*. Protein yang matang mengandung 159 dan 153 asam amino. Mungkin mengherankan bahwa 2 bentuk IL-1 mempunyai pengaruh yang sangat serupa terhadap sel target meskipun hanya mempunyai 25% urutan asam amino yang homolog.

Meskipun monosit merupakan sumber utama bagi IL-1, hampir semua sel dalam tubuh dapat menghasilkan IL-1 bila kondisi memungkinkan. Mungkin ada berbagai bahan yang dapat merangsang produksi IL-1, untuk masing-masing tipe sel. Bahkan bahan tersebut dapat merangsang sintesisnya sendiri dan terjadi *positive feedback regulation* yang menarik. Ekspresi dari dua gen untuk IL-1 alfa dan IL-1 beta, dan pelepasan dari beberapa protein tersebut dari sel masing-masing ada pengaturan yang berbeda.

Seperti halnya semua sitokin dan hormon polipeptida, didapati reseptor spesifik untuk interleukin pada permukaan sel target. Interleukin-1 alfa dan beta mempunyai persamaan

reseptor yang umum, disamping adanya perbedaan struktur diantara dua molekul, yang menjelaskan keduanya mempunyai efek yang serupa. Dua bentuk reseptor IL-1, dengan afinitas tinggi dan rendah, dapat menyebabkan IL-1 berperan secara universal dalam mengatur aktivitas sel. Reseptor dengan afinitas rendah adalah gliko-protein permukaan 80 kd yang dipunyai oleh superfamili imunoglobulin.

Sebagaimana sitokin lain yang dapat bekerja pada sel target yang beragam, efek pengikatan IL-1 alfa dan beta pada reseptornya bervariasi tergantung pada sel target. Pada umumnya IL-1 mengantarai dua macam pengaruh, stimulasi respons imun (termasuk induksi sintesis limfokin lain) dan produksi respons inflamasi melalui produksi prostaglandin.

2.5.6 *Tumor Necrosis Factor alpha*

Disamping diduga dapat memicu pertumbuhan beberapa tumor, TNF juga mempunyai pengaruh lain. Ada dua bentuk TNF, yaitu TNF alfa dan TNF beta, yang menunjukkan homolog dalam urutan asam amino antara keduanya. TNF alfa pada manusia adalah protein 157 asam amino yang berasal dari *precursor* yang lebih besar, dan berupa kompleks dari 3 rantai polipeptida. TNF alfa terutama diproduksi oleh makrofag sebagai respons terhadap aktivasi oleh bakteri LPS (endotoksin). TNF alfa juga disebut sebagai *cachectin*, karena perannya dalam hal menginduksi kakeksia (kelemahan jaringan, keseimbangan nitrogen negatif dan penurunan berat badan).

Eigler A *et al.* (1997) menyebutkan adanya 3 anggota keluarga TNF, yaitu TNF alfa, TNF beta (yang juga dikenal sebagai limfotoksin alfa, LT alfa), dan LT beta.

Pada umumnya, produksi TNF sebagian merupakan respons terhadap invasi mikroorganisme dan merupakan bagian yang penting dari pertahanan tubuh terhadap infeksi. Bersama dengan faktor lain seperti IL-2, TNF dapat menstimulasi proliferasi limfosit B dan T dan menyebabkan sekresi antibodi, menyerupai efek IL-1 terhadap limfosit. Pengenalan sel dapat pula difasilitasi oleh TNF, karena dapat menstimulasi ekspresi antigen histokompatibilitas mayor pada permukaan sel; pengaruh yang lain mungkin adalah aktivasi sel sitolitik dan sitotoksik.

TNF mungkin juga mempengaruhi monosit/makrofag untuk menimbulkan diferensiasi dan produksi sitokin lain. Mungkin juga ada lengkung otokrin untuk mengontrol makrofag oleh bahan produknya sendiri. Karenanya TNF mempunyai peran dalam mengontrol inflamasi.

2.5.7 Interleukin 8

Interleukin 8 (IL-8) juga disebut *neutrophil chemotactic factor* (NCF), *neutrophil activating protein* (NAP), *monocyte-derived neutrophil chemotactic factor* (MDNCF), *T-lymphocyte chemotactic factor* (TCF), *granulocyte chemotactic protein* (GCP) dan *leukocyte adhesion inhibitor* (LAI). Beberapa sel, termasuk monosit dan makrofag, sel T, netrofil, fibroblast, sel endotel, sel keratin, hepatosit, kondrosit dapat memproduksi IL-8 sebagai respon terhadap berbagai stimuli pro-inflamatorik seperti IL-1, TNF, LPS.

Sitokin IL-8 merupakan anggota dari kemokin subfamili alfa (C-X-C) yang juga meliputi faktor trombosit-4.

Sitokin IL-8 adalah *chemoattractant* yang kuat untuk netrofil. Sebagai tambahan, IL-8 juga mempunyai efek inflamasi lain yang luas. Sitokin IL-8 dapat menyebabkan

kerusakan granula spesifik netrofil dan granula *azurophilic*. IL-8 memicu molekul adesi sel CD11/CD18, dan memperkuat perlekatan netrofil ke sel endotel serta matrik sub-endothel. Disamping itu, IL-8 juga kemotaktik untuk basofil, sel T dan eosinofil (Clemens, 1991).

IL-8 merupakan sitokin yang diproduksi oleh makrofag, yang bekerja kemotaktik terhadap netrofil. IL-8 yang matang mengandung 78 asam amino yang mungkin tidak mengalami glikolisasi. Analisis urutan asam amino menunjukkan bahwa IL-8 mungkin merupakan anggota keluarga *protein inflammatory* atau *growth regulatory*. Satu peran dari IL-8 dan faktor yang berhubungan kemungkinan menarik netrofil ketempat jaringan yang rusak atau mengalami inflamasi, sehingga meningkatkan aktivitas fagositik dan sitolitik. Limfosit, fibroblast, sel endotel dan juga makrofag kemungkinan dapat juga menghasilkan *chemotactic protein like* IL-8, dan nampaknya sitokin lain seperti IL-1 dapat juga memacu berbagai sel tersebut untuk menghasilkan IL-8. Sitokin IL-8 dapat juga menarik dan mengaktifkan limfosit T (Clemens, 1991).

2.5.8 Interleukin 4

Interleukin 4 (IL-4) adalah interleukin anti-inflamatorik, yang diproduksi oleh limfosit T namun bekerja terhadap berbagai macam sel. Peran utama in-vivo mungkin adalah memacu proliferasi limfosit B yang sudah diaktifkan oleh pengikatan dengan antigen atau karena kejadian lain dipermukaan sel. Aktivitas dari IL-4 dicerminkan dari nama yang diberikan sebelumnya, yaitu *B-cell growth factor* atau *B-cell stimulating factor-1*. IL-4 yang matang pada manusia mengandung 129 asam amino, dengan 2 *site* untuk glikolisasi protein. Seperti halnya sitokin lain, glikolisasi nampaknya tidak penting bagi aktivitas

biologik. IL-4, *granulocyte/macrophag colony stimulating factor* dan interferon gama mempunyai pola organisasi gen dan urutan asam amino yang serupa (Clemens, 1991).

Interleukin-4 dan interleukin10 merupakan sitokin Th2 (Kosarova *et al.*, 1999).

2.5.9 Transforming Growth Factors beta

Dua sitokin yang memacu proliferasi sel tertentu dalam kultur adalah TGF alfa dan TGF beta. Istilah tersebut untuk TGF beta sebenarnya kurang tepat, karena TGF beta adalah menghambat pertumbuhan dan bukan menyebabkan mitosis.

TGF beta terdiri dari sekeluarga kecil polipeptida yang strukturnya berhubungan. Faktor fugsionil itu adalah *dimer* (biasanya *homodimer*) dari sub-unit yang masing-masing mengandung 112 asam amino. Paling sedikit ada 3 urutan sub-unit yang disebut beta 1,2 dan 3 yang berasal dari *precursor* yang lebih besar yang mengalami proteolisis. Disamping banyak sel lain, platelet adalah sel yang memproduksi TGF beta dengan baik

Pengaruh biologik dari TGF beta adalah beragam. Meskipun TGF beta ditemukan sebagai bahan yang menstimulir pertumbuhan, juga pada sel mesensim, pengaruh ini tidak khas pada kebanyakan sel target. Mungkin diperlukan produksi dan kerja bahan lain secara otokrin. Respons yang lebih khas dari sel terhadap TGF beta adalah penghambatan pertumbuhan. Aktivitas makrofag dan respon inflamasi juga dihambat oleh TGF beta.

2.6 Sitokin dan Stroke Iskemik

1.6.1 Dinamika sitokin pada stroke iskemik

Beberapa peneliti berusaha menjelaskan pengaruh sitokin pada infark serebri. TNF-alfa merupakan sitokin pleiotropik yang dengan cepat meningkat didalam otak setelah

kerusakan. Lebih lanjut Barone *et al.* (1997) dari penelitiannya mendapatkan bahwa TNF-alfa eksogen memicu kerusakan iskemik fokal dan bahwa penghambat TNF-alfa endogen adalah neuroprotektif. Spesifisitas kerja TNF-alfa ditunjukkan oleh antagonis dari efeknya dengan bahan anti-TNF alfa (misalnya mAb dan sTNF-RI). Toksisitas TNF-alfa tidak timbul karena efek langsung pada neuron atau modulasi dari sensitivitas neuronal terhadap glutamat atau radikal oksigen dan nampaknya diteruskan melalui sel non neuronal. Dari data tersebut Barone *et al* menyebutkan bahwa penghambatan TNF-alfa dapat merupakan strategi farmakologik dalam pengobatan stroke iskemik.

Meistrell *et al.* (1997) juga menyebutkan bahwa peranan patofisiologis dari TNF-alfa dalam mengantarai kemajuan kerusakan otak iskemik, dan dugaan penghambatan TNF mungkin menguntungkan pada pengobatan stroke dimasa datang.

Pernah dilaporkan bahwa oklusi a.serebri media pada tikus (*rat*) menyebabkan ekspresi IL-1 yang berlebihan, dan bahwa pemberian protein antagonis reseptor IL-1 (IL-1 ra) menurunkan kerusakan otak iskemik (Yang, 1997). Yang *et al.* meneliti bahwa vektor adenovirus rekombinan yang membawa *cDNA antagonis reseptor IL-1* manusia dapat dipakai untuk *overexpress* IL-1 ra pada otak tikus (mouse), dan mengevaluasi efeknya pada perkembangan edema dan infark serebri setelah iskemia fokal permanen pada tikus (mice). Sedangkan Hu *et al.* (1997) mendapatkan bahwa neurotoksisitas yang dimediasi oleh sitokin (IL-1 beta) melibatkan *free radical* NO melalui mekanisme apoptosis. Dengan kata lain sitokin tersebut meningkatkan pelepasan radikal bebas NO yang menyebabkan apoptosis dari neuron.

Stoll *et al.* (1998) mengemukakan bahwa beberapa sitokin pro-inflamatorik seperti TNF alfa dan IL-1 beta meningkat dalam beberapa jam dalam lesi otak iskemik. Baik

langsung maupun melalui induksi mediator neurotoksis seperti nitrik oksida, sitokin dapat berpengaruh pada progresi infark pada periode pasca iskemik. Dipihak lain, inflamasi adalah berhubungan erat dengan pembuangan sisa yang cepat dan proses perbaikan. Pada saat ini belum jelas, apakah efek *detrimental* dari inflamasi mempengaruhi mekanisme neuroprotektif atau sebaliknya. Pada iskemia global respon inflamasi adalah terbatas, namun mikroglia dan astroglia juga teraktivasi dengan kuat. Respon glial ini jelas berbeda diantara daerah otak dengan kematian neuron selektif, dan daerah didekatnya yang lebih resisten terhadap kerusakan iskemik.

Yamada *et al.* (1999) meneliti pengaruh HILP (*hyperthermochemohypoxic isolated liver perfusion*) pada produksi interleukin 8 (IL-8) dan fungsi mitokondria hepar, serta hubungan antara 2 parameter tersebut. Juga diukur kadar TNF-alfa dan IL-1 beta. Mereka mendapatkan bahwa HILP meningkatkan pelepasan IL-8, tetapi tidak TNF-alfa dan IL-1 beta, dan bahwa kadar IL-8 dalam serum mencerminkan keadaan *redox* mitokondria dalam hepar. Penemuan ini menimbulkan dugaan bahwa produksi IL-8 mungkin berhubungan dengan kerusakan mitokondria dalam hepar selama iskemia.

Legos *et al.* (2000) meneliti perubahan temporal konsentrasi protein IL-1 alfa, IL-1 beta dan IL-6 dari 1 jam sampai 15 hari setelah iskemia fokal pada tikus (*rat*). Ekspresi protein diserebral diperiksa dengan ELISA dengan memakai antibodi tikus. IL-1 beta meningkat secara signifikan ($p < 0.05$) sejak 4 jam dan mencapai puncaknya pada 3 – 5 hari. IL-1 alfa mencapai puncaknya pada 3 hari, sedang IL-6 mencapai puncaknya lebih awal, yaitu pada 24 jam.

Ehrlich *et al.* (1998) mengemukakan bahwa peran IL-8 dalam aktivasi netrofil dan kemotaksis mungkin penting dalam respon inflamasi dalam sistim saraf pusat, seperti

pada keadaan sekunder dari meningitis, ensefalitis atau trauma. Tetapi sumber dari IL-8 didalam otak selama proses inflamasi ini belum jelas diketahui. Untuk mengungkap peran dari mikroglia dalam produksi IL-8, maka terhadap mikroglia fetus manusia, yang merupakan tempat makrofag otak, diberikan LPS, dan sitokin pro serta anti inflamasi, untuk menentukan efeknya terhadap produksi IL-8. Peneliti tersebut mendapatkan bahwa kadar protein IL-8 meningkat sebagai respon terhadap LPS atau IL-1 beta, atau terhadap TNF-alfa, yang juga meningkatkan mRNA IL-8. Sedang pemberian IL-4, IL-10 atau TGF-beta 1 jelas menghambat pengaruh stimulasi dari bahan pro-inflamasi tadi. Dari penemuan tersebut, Ehrlich LC *et al* menyimpulkan bahwa mikroglia pada manusia mensintesis IL-8 sebagai respon terhadap stimulasi pro-inflamasi, dan bahwa sitokin anti-inflamasi menyebabkan penurunan produksi kemokin ini.

2.6.2 Ekspresi mRNA sitokin pada stroke iskemik

Tentang peran gen sitokin, Liu *et al.* (1994) meneliti apakah messenger RNA TNF-alfa (mRNA TNF-alfa) dan peptidanya diekspresikan dalam otak setelah stroke fokal eksperimental dan sebelum akumulasi leukosit. Dari penelitian ini ia menyimpulkan bahwa iskemia serebral fokal pada tikus menimbulkan peningkatan mRNA TNF-alfa dan protein dalam neuron yang iskemik. Ekspresi peptida neuronal muncul untuk memfasilitasi infiltrasi sel inflamatorik yang dapat memicu kerusakan jaringan lebih jauh pada iskemia serebri.

Herskowitz *et al.* (1995) meneliti ekspresi mRNA untuk TNF-alfa, IL-1 beta, IL-2, IL-6, IFN gama dan TGF beta-1, pada tikus yang diberi perlakuan dengan oklusi a.koronaria desenden anterior kiri. Pada satu kelompok dilakukan oklusi temporer

(sekitar 35 menit), dan kelompok lain oklusi permanen. Ternyata didapati peningkatan dari semua sitokin tadi kecuali untuk IL-6 dan IFN-gama dalam otot jantungnya, yang diukur pada waktu 15-30 menit setelah oklusi, dimana peningkatan itu dipertahankan sampai 3 jam. Selama reperfusi awal, kadar mRNA untuk IL-6 dan TGF-beta 1 menurun secara bermakna pada oklusi temporer bila dibandingkan dengan yang mendapatkan oklusi permanen. Pada kedua kelompok, kadar mRNA sitokin kembali ke kadar semula dalam 24 jam, sementara pada kelompok oklusi permanen kadar mRNA untuk IL-1 beta TNF-alfa dan TGF-beta 1 meningkat lagi secara bermakna pada hari ke 7. Penulis tersebut menyimpulkan bahwa terbukti ada ekspresi mRNA sitokin lokal pada pasca-iskemik miokardium, dan bahwa selama periode post-iskemik terjadi perubahan pengaturan pelepasan sitokin lokal.

Wang *et al.* (1997) juga mendapatkan dari binatang percobaan bahwa ekspresi IL-1 beta meningkat setelah iskemia serebral fokal, dan beberapa penelitian menunjukkan tentang perannya pada kerusakan iskemik. Antagonis reseptor IL-1 (IL-1 ra), suatu antagonis kompetitif alami dari reseptor IL-1 (IL-1 Rs), pernah ditunjukkan mempunyai peran dalam memperparah kerusakan iskemik dari jaringan otak. Wang *et al.* (1997) meneliti keterlibatan sistim IL-1 dalam kerusakan iskemik, dengan mengukur ekspresi mRNA dari IL-1 ra, IL-1 RI dan IL-1 RII setelah stroke fokal. Digunakan tehnik *reverse transcription and polymerase chain reaction* (RT-PCR) kuantitatif untuk memeriksa profil ekspresi mRNA bagi IL-1 ra dan dua isoform IL-1 R pada waktu yang terencana (n=4 untuk setiap titik waktu) setelah oklusi permanen dari a.serebri media pada tikus (rat) yang mengalami hipertensi spontan. Ekspresi mRNA IL-1 ra dan IL-1 R dikonfirmasi dengan *Northern blot analysis* menggunakan poly (A) RNA diisolasi setelah

2 dan 12 jam dari oklusi. Hasil yang didapatkan adalah bahwa mRNA IL-1 α adalah sangat rendah pada kortek non-iskemik. Pada kortek yang iskemik, mRNA IL-1 α sangat meningkat pada 12 jam (kenaikan 16,5 kali lipat, $P < 0,001$) dan masih meningkat sampai 5 hari (kenaikan 17.2 kali $P < 0,1$) setelah oklusi. mRNA IL-1 R I diekspresikan relatif tinggi pada kortek normal dan pada oklusi meningkat lambat (3.3 lipat kenaikan pada hari kelima, $p < 0.001$). Sebaliknya ekspresi basal mRNA IL-1 R II jelas meningkat pada 6 jam (peningkatan 5.3 kali lipat, $P < 0.5$), mencapai puncak pada 12 jam (10.3 kali lipat, $P < 0.01$) setelah oklusi. Disimpulkan bahwa ekspresi yang berbeda dari mRNA untuk IL-1 β , IL-1 α , IL-1 RI dan IL-1 RII setelah stroke fokal menunjukkan adanya peran yang berbeda dari setiap komponen sistem IL-1 pada kerusakan iskemik. Data tersebut juga menekankan pentingnya memeriksa semua komponen dari sistem sitokin (misalnya agonis, reseptor dan antagonis alami) (Wang *et al.*, 1997).

Pada manusia, Kostula *et al.* (1998) dari penelitiannya terhadap para penderita stroke akut mendapatkan bahwa dalam plasma penderita ada kenaikan sel mononuklear yang mengekspresikan mRNA IL-8, disamping kenaikan IL-8. Penderita stroke diperiksa dalam minggu pertama serangan.

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Konseptual

Didalam jaringan otak, disamping sel saraf (neuron) terdapat berbagai sel glia, yaitu oligodendrosit, sel Schwann, astrosit, dan mikroglia. Bila terjadi suatu gangguan pada aliran darah di otak, maka seperti halnya neuron, berbagai sel tersebut akan terpengaruh (Kandel, 1995; Bear, 1996).

Terhadap neuron, iskemia yang cukup berat dapat menyebabkan kematian neuron. Protein membran plasma terganggu, ATP menurun, K^+ ekstraseluler meningkat, glutamat meningkat, Ca^{++} intrasel meningkat, sehingga timbul lipolisis, disagregasi tubulin dan poliribosom serta berlanjutnya kerusakan membran plasma. Terjadi pula gangguan pada struktur sitoplasmik termasuk mitokondria, sehingga potensial transmembran mitokondrial menurun, keluar radikal bebas, dan berakibat abnormalitas nuklear dan selanjutnya terjadi kematian neuron (Leist, 1997; Mattson, 1997). Gejala yang timbul pada penderita stroke iskemik akut baik berupa kelumpuhan, kesulitan berbicara, atau berbagai gejala fokal lain adalah merupakan manifestasi dari gangguan atau kematian neuron pada suatu area di jaringan otak.

Pada iskemia disuatu daerah jaringan otak, tidak hanya neuron saja yang mengalami gangguan, tetapi berbagai sel lain di jaringan otak juga dapat mengalami gangguan, yang akan menimbulkan perubahan sesuai dengan fungsi setiap sel. Beberapa sel imunokompeten di jaringan otak yang mengalami iskemia akan merespon iskemia tersebut sebagai rangsang untuk mempengaruhi produksi molekul mediator yang berupa

sitokin. Untuk setiap rangsang yang berbeda, kemungkinan respon produksi sitokin akan berlainan.

Mikroglia, yang merupakan sumber sitokin utama diserebral, dengan adanya hipoksia akan meningkatkan produksi sitokin IL-1 dan TNF alfa (Hempel 1996, Guilan 1997). Kedua sitokin ini akan mempunyai pengaruh resiprok terhadap mikroglia, yang selanjutnya akan meningkatkan ekspresi IL-8 (Ehrlich, 1998). IL-8 sendiri mempunyai pengaruh kemotaktik terhadap netrofil.

IL-1 dan TNF alfa juga akan memicu limfosit Th1, dimana Th1 sendiri juga penghasil IL-1 dan TNF alfa. Disamping itu, IL-1 dan TNF alfa mempunyai pengaruh penekanan terhadap limfosit Th2 dan Th3 yang masing-masing merupakan penghasil utama IL-4 dan TGF beta 1 (Cerwenka, 1999). Selanjutnya menurut Ehrlich *et al.*(1998), IL-4 dan TGF beta 1 ini mempunyai pengaruh penekanan terhadap mikroglia, sehingga produksi IL-8 menurun.

Ehrlich *et al.* (1998) juga menyebutkan bahwa IL-1 beta dan TNF alfa digolongkan kedalam sitokin pro-inflamatorik. Sedangkan IL-4, dan TGF beta 1 yang menghambat pengaruh stimulasi dari sitokin pro-inflamatorik tadi, disebut sitokin anti inflamatorik.

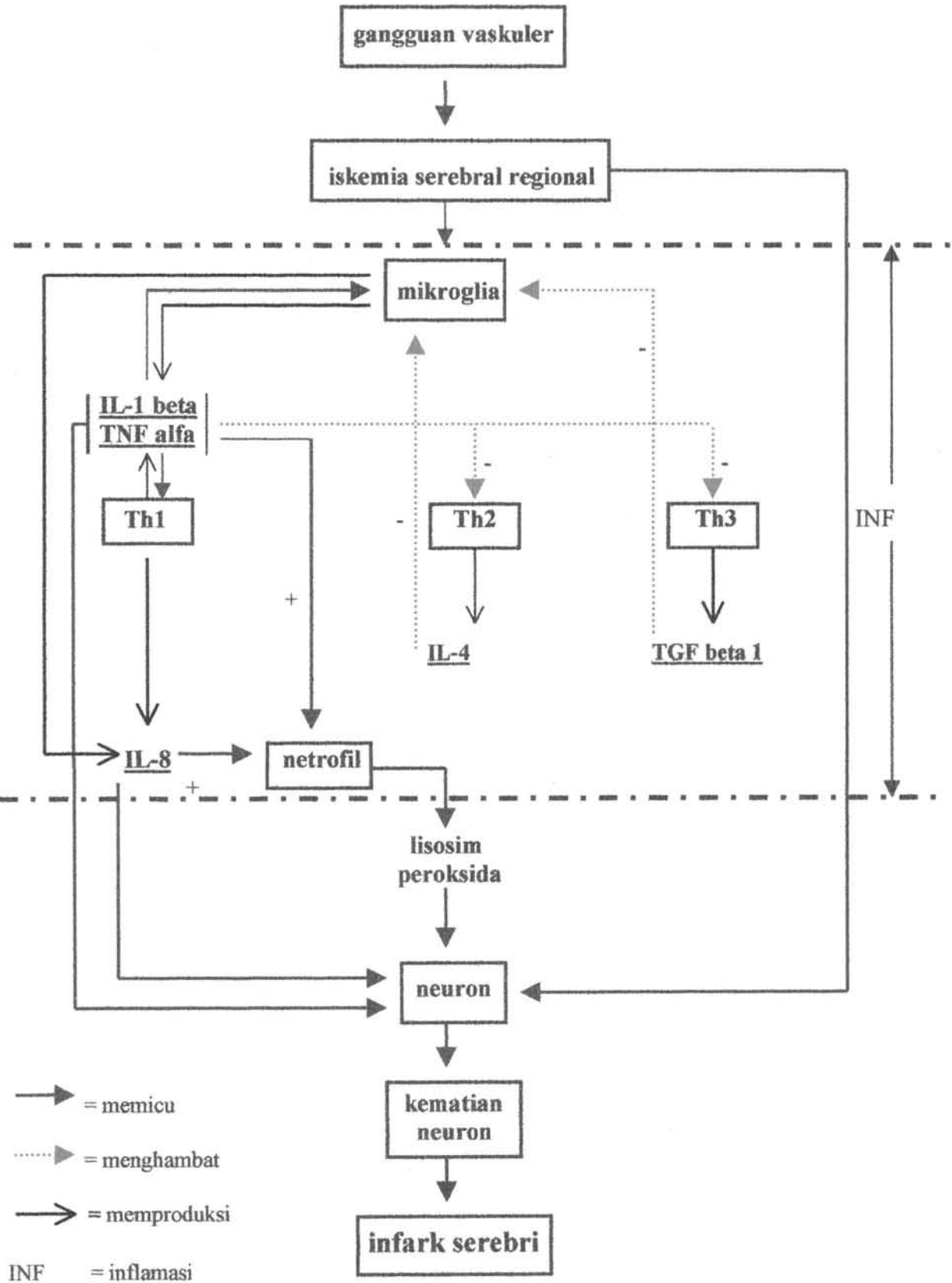
Respons inflamatorik yang menyusul segera setelah terjadinya iskemia jaringan otak tadi akan sangat berpengaruh buruk terhadap berkembangnya infark jaringan otak (Ferrarese, 1999; Del Zoppo, 2000). Efek dari netrofil dalam patogenesis kerusakan iskemik serebral dipostulasikan sebagai berikut (Soriano, 1999):

1. penurunan aliran darah serebral dengan *plugging* atau pelepasan mediator vasokonstriktif seperti endothelin

2. eksaserbasi kerusakan *blood brain barrier* (BBB) atau parensim, melalui pelepasan enzim hidrolitik, produksi oksigen radikal dan lipid peroksidase.

Keadaan tersebut akan menambah jumlah neuron yang mati dan akan memperluas infark serebri yang terjadi.

Kerangka konsep tersebut digambarkan dalam skema dibawah ini.



3.2 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah

1. Ada perbedaan kadar sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL8, IL-4 dan TGF beta 1 pada penderita stroke iskemik dibanding kontrol non stroke dengan faktor risiko
2. Ada perbedaan kadar sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4 dan TGF beta 1 pada penderita stroke iskemik dibanding kontrol non stroke tanpa faktor risiko.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan termasuk penelitian observasional dengan menggunakan penderita stroke sebagai obyek penelitian. Penelitian ini dimaksudkan untuk melihat perbedaan peran sitokin IL-1, TNF alfa, IL-8, IL-4 dan TGF beta 1 pada penderita stroke iskemik hari ketiga serangan dibanding kontrol, baik dengan faktor risiko maupun tanpa faktor risiko.

4.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang akan dipakai adalah: *cross sectional study*. Kelompok yang akan dibandingkan adalah kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko, dalam hal kadar beberapa sitokin diatas.

Maksud dari pemakaian dua kelompok kontrol tersebut adalah: kelompok kontrol tanpa faktor risiko untuk mewakili keadaan saat normal dan kelompok kontrol dengan faktor risiko untuk mewakili keadaan saat sudah mengalami aterosklerosis namun belum mendapatkan serangan stroke (lihat bagan rancangan penelitian). Sehingga rancangan penelitian ini juga dapat disebut *post only double control group design*. Yang diperhitungkan sebagai faktor risiko adalah hipertensi, merokok, penyakit jantung, diabetes melitus dan obesitas.

Untuk mendapatkan validitas interna yang baik, pengambilan sampel kelompok kasus stroke dilakukan secara *systematic random sampling*. Sedangkan untuk mendapatkan

sampel yang homogen, pengambilan kontrol, baik kelompok kontrol penderita tanpa faktor risiko maupun kelompok kontrol dengan faktor risiko, dilakukan secara *matching* dalam hal umur, jenis kelamin dan ras terhadap kelompok kasus.

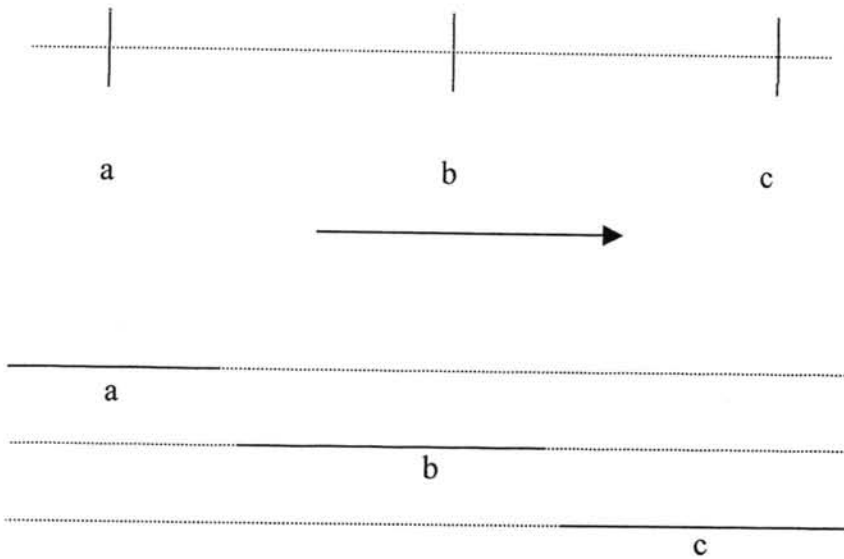
Pemeriksaan laboratorium dan radiologik dilakukan dengan memperhatikan pembutaan (*blinding*), dimana pemeriksa tidak mengetahui subyek yang diperiksa termasuk kelompok kasus atau kontrol.

Pengambilan darah tepi dilakukan pada hari ketiga serangan stroke iskemik, berdasarkan yang didapat oleh Kostula (1998) bahwa perubahan sitokin pada penderita stroke iskemik mencapai puncaknya pada hari ketiga.

Untuk diagnosis stroke iskemik, disamping pemeriksaan klinis dilakukan pula pemeriksaan CT scan kepala tanpa kontras pada hari keempat. Ini berdasarkan berbagai temuan terdahulu bahwa adanya infark serebri pada penderita stroke iskemik akut dapat dilihat setelah hari ketiga.

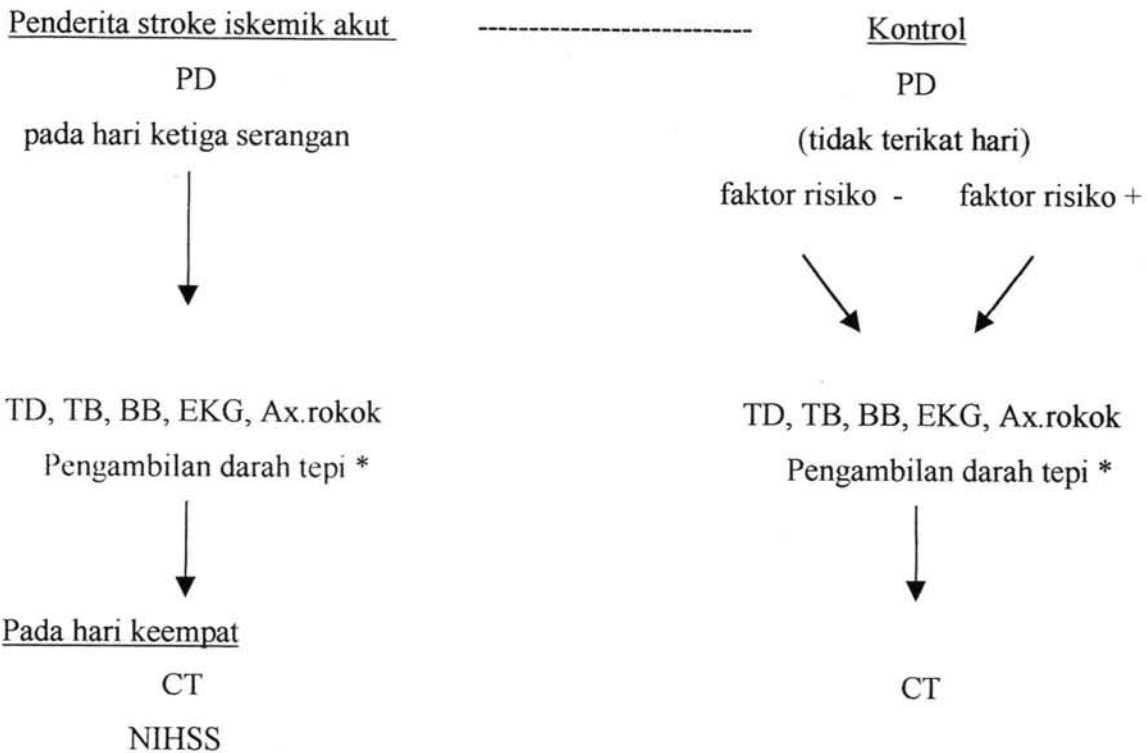
4.3 Bagan Rancangan Penelitian

Untuk mendapatkan sampel yang sesuai dengan perjalanan penderita dari saat normal, kemudian menderita aterosklerosis dan kemudian mendapatkan stroke (lihat bagan dibawah) diambil sampel tiga kelompok: kelompok kasus stroke, kelompok kontrol tanpa faktor risiko untuk mewakili keadaan saat normal, dan kelompok kontrol dengan faktor risiko untuk mewakili keadaan saat sudah mengalami aterosklerosis namun belum mendapatkan serangan stroke.



- a: non stroke, tanpa faktor risiko
- b: non stroke, dengan faktor risiko
- c: stroke iskemik akut

4.4 Kerangka Operasional Penelitian



keterangan:

- PD : *physic diagnostic*
- TD : pengukuran Tekanan Darah
- TB : pengukuran Tinggi Badan
- BB : pengukuran berat badan
- EKG : perekaman Elektro Kardio Grafi
- Ax rokok : anamnesis tentang kebiasaan merokok
- CT : pengambilan foto dengan *Computerized Tomography (CT) scan* kepala tanpa kontras
- NIHSS : National Institute of Health Stroke Scale
- * Pengambilan darah tepi, untuk pemeriksaan
 - a. jumlah sel: eritrosit, leukosit, trombosit, basofil, eosinofil, limfosit, monosit dan neutropil
 - b. kimia darah: albumin, asam urat, fibrinogen, gula darah, Hb, kolesterol total, HDL, LDL, hematokrit, Laju Endap darah, Lp(a) dan trigliserida
 - c. sitokin: IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4 dan TGF beta 1

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan dengan mengambil kasus di Lab/UPF I.Penyakit Saraf FK UNS/RS dr Moewardi Surakarta. Pemeriksaan laboratorium dilaksanakan di laboratorium klinik swasta yang sudah berpengalaman di Surakarta dan Jakarta. Pemeriksaan radiologik dengan *CT scan* kepala dilakukan di Lab/SMF Radiologi FK UNS/RS dr Moewardi Surakarta.

Penelitian dilaksanakan antara bulan September 1999 s/d Desember 2000.

4.6 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah penderita stroke iskemik akut yang rawat inap di RSDS Dr Moewardi Surakarta.

4.7 Besar Sampel

Untuk menentukan besar sampel, dilakukan penelitian pendahuluan pengukuran IL-1 dari darah tepi 5 orang penderita stroke dibanding non stroke, dengan hasil sebagai berikut:

	stroke	kontrol
rerata	2,512	2,023
SD	0,502	0,528

Penghitungan besar sampel dipakai rumus estimasi mean.

$$n = \frac{2 \times (Z_a + Z_b)^2 \times S_c^2}{(u_1 - u_2)^2}$$

$$= 18,264$$

dibulatkan menjadi 19.

Jumlah sampel yang dibutuhkan minimal 19 orang untuk setiap kelompok.

Keterangan:

n = besar sampel

Z_a = 1,96

Z_b = 0,842

S_c = Standard deviasi kelompok kontrol

U₁ = mean kelompok kontrol

U₂ = mean kelompok perlakuan

4.8 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas adalah penderita stroke iskemik.
2. Variabel tergantung adalah:

Kadar dalam darah dari IL-1 beta, TNF alfa, IL-4, TGF beta 1, dan IL-8

3. Variabel kendali:

tekanan darah, kadar gula darah, merokok, obesitas, kelainan EKG

4. Variabel *confounding*

- a. Jumlah sel darah tepi: eritrosit, leukosit, trombosit, basofil, eosinofil, limfosit, monosit dan neutropil
- b. Kadar kimia darah: albumin, asam urat, fibrinogen, gula darah, Hb, kolesterol total, HDL, LDL, hematokrit, Laju Endap darah, Lp(a) dan trigliserida

4.9 Batasan Operasional

1. Patogenesis adalah urutan kejadian yang merupakan respon dari sel atau jaringan terhadap suatu penyebab, dari stimulus awal sampai ke ekspresi suatu penyakit (Cotran, 1999)
2. Patobiologi adalah ilmu yang mempelajari perubahan biologik yang merugikan yang terjadi pada tubuh sebagai akibat interaksi dengan lingkungan (Putra, 1997).
3. Immunopatobiologi adalah ilmu yang mempelajari perubahan fungsi sistem imun yang tidak lazim atau menyimpang, yang menempatkan kelainan sistem imun, baik sebagai penyebab, proses maupun akibat dari proses patobiologis tersebut (Putra, 1997).
4. Sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4 dan TGF beta 1 adalah sitokin yang diukur dari darah tepi dengan cara teknik ELISA, dinyatakan dengan satuan pg/ml.
5. Penderita dengan stroke iskemik adalah penderita dengan tanda gangguan neurologik fokal yang mendadak, yang disebabkan karena obstruksi atau

penyempitan pembuluh darah arteri otak dan menunjukkan adanya gambaran infark pada *CT-scan* kepala.

6. Pola diskriminan adalah model diskriminan dalam bentuk diagram bar yang merupakan gambaran kontribusi fungsi setiap diskriminator dalam proses modulasi sistim imun (Putra, 1990; Sharma, 1996). Besaran kontribusi fungsi diperoleh dari perkalian antara setiap diskriminator dengan koefisien linear Fisher setiap diskriminator tersebut., dengan asumsi diskriminator lain sama dengan nol, atau dibuat konstan.
7. Peran sitokin, merupakan kontribusi sitokin dalam membedakan keadaan stroke dengan non stroke. Peran sitokin diamati dengan analisis multivariat, analisis diskriminan dan pola diskriminan.

4.10 Kriteria Sampel, Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi

4.10.1 Kriteria sampel:

Umur antara 50 – 70 tahun

Bangsa Indonesia suku Jawa

Tidak menderita penyakit jantung koroner

Tidak menderita keganasan

Tidak menderita penyakit SLE secara klinis

Tidak menderita anemia

Tidak menderita malnutrisi secara klinis

Tidak mengalami luka ditubuh akibat trauma

Tidak mendapatkan terapi kortikosteroid

4.10.2 Kriteria inklusi kelompok kasus:

Penderita stroke iskemik serangan pertama, dengan lokasi infark pada gambaran *CT scan* kepala tidak pada batang otak

4.10.3 Kriteria inklusi kelompok kontrol dengan faktor risiko

Penderita non stroke iskemik dengan faktor risiko. Yang dinilai sebagai faktor risiko adalah salah satu atau lebih dari yang berikut:

1. Berat badan berlebih

Diberi nilai normal bila $BB = (\text{tinggi badan} - 110) \pm 10\%$.

2. Hipertensi. Diberi penilaian hipertensi bila $S \geq 160$ mm Hg dan/atau $D \geq 100$ mm Hg.

3. Riwayat diabetes melitus dan gula darah puasa yang tinggi. Gula darah puasa dianggap lebih dari normal bila ≥ 126 mg.

4. Merokok: Diberi penilaian sebagai perokok bila subyek merokok rata-rata 10 batang sehari atau lebih selama minimal satu tahun

5. Kelainan jantung. Adanya kelainan jantung yang dianggap sebagai faktor risiko stroke apabila EKG menunjukkan adanya gangguan irama, gambaran fibrilasi, gangguan koroner atau klinis menunjukkan adanya gangguan katup atau kongesti.

4.10.4 Kriteria inklusi kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Penderita non stroke iskemik tanpa faktor risiko tersebut diatas.

4.10.5 Kriteria eksklusi:

Penderita dengan infeksi

4.11 Cara Kerja

4.11.1 Pengambilan darah

1. Lengan penderita dalam posisi lurus, tidak membengkok disiku.
2. Penderita diminta untuk mengepalkan tangan.
3. *Torniquet* dipasang.
4. Dicari v.mediana kubiti atau sefalika.
5. Kulit pada bagian yang akan diambil darahnya dibersihkan dengan alkohol 70%; pada saat diambil darahnya, kulit dalam keadaan kering untuk mencegah terjadinya hemodialisis atau rasa terbakar. Kulit yang sudah bersih tidak boleh dipegang lagi.
6. Bagian vena ditusuk dengan lubang jarum menghadap keatas, dengan sudut kemiringan 45 derajat; tabung *venoject* ditekan sehingga vakumnya bekerja dan darah terhisap kedalam tabung.
7. Setelah volume darah dianggap cukup, *torniquet* dilepaskan dan penderita diminta membuka kepalan tangannya.
8. Jarum dilepaskan, dan segera diberikan kapas alkohol 70% untuk menekan bagian tersebut selama 2 menit. Setelah darah berhenti, plester bagian ini selama 15 menit.

4.11.2 Pemeriksaan sel darah tepi serta kimia darah

1. Pemeriksaan dilakukan dengan metode standard yang sudah baku.
2. Untuk pemeriksian kimia darah digunakan alat merek Hitachi 911, dengan *automatic analyzer spectrophotometri*

3. Pemeriksaan dilakukan dilaboratorium klinik swasta di Surakarta yang sudah berpengalaman.

4.11.3 Penanganan spesimen darah serum untuk pemeriksaan kadar sitokin

1. Darah dibiarkan membeku 20-30 menit terlebih dulu, baru dipusingkan pada 3.000 rpm selama 5-15 menit.
2. Keadaan serum diperhatikan dan dicatat: lipemik, ikterik atau hemolitik; keadaan demikian sedapat mungkin dihindarkan.
3. Serum disimpan pada suhu -20 derajat Celsius

4.11.4 Pemeriksaan terhadap sitokin

Untuk pemeriksaan sitokin IL-1 beta digunakan cara *ELISA-sandwich*. Alat yang digunakan adalah merek Organon. Reagen yang dipakai: *Quantikine human IL-1 beta* buatan *R&D systems*. Reagen ini adalah reagen untuk keperluan riset.

Pemeriksaan dilakukan dilaboratorium klinik swasta yang sudah berpengalaman, di laboratorium pusatnya di Jakarta.

Asai ini menggunakan tehnik imunoasai ensim *sandwich*. Tehnik pemeriksaan secara detil dapat dilihat pada lampiran.

Pemeriksaan TNF alfa, IL-8, IL-4 dan TGF beta 1, serupa dengan cara diatas.

4.11.5 Pemeriksaan *CT scan* kepala.

Pemeriksaan *CT scan* kepala dilakukan dengan alat buatan Hitachi yang ada di RS.dr.Moewardi Surakarta.

4.12 Analisis data

Berdasarkan data yang diperoleh, dilakukan analisis statistik sebagai berikut:

1. Uji homogenitas untuk mengetahui apakah sampel darah penderita dari populasi itu homogen dan memenuhi kriteria inklusi sampel.
2. Uji *identically, independency* dan *normality* (IIDN). Untuk membuktikan normalitas data.
3. Uji Manova untuk membuktikan perbedaan kadar sitokin antar kelompok.
4. Analisis Diskriminan untuk mendapatkan diskriminator dan besaran kontribusi setiap diskriminator, yang diperlukan untuk membuat pola diskriminan.

4.14 Etik Penelitian

Aspek etik dari penelitian telah diselesaikan sesuai dengan kaidah yang berlaku.

Ethical clearance dari komisi etik dapat dilihat pada lampiran.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS

5.1 Homogenitas sampel

5.1.1 Homogenitas umur, jenis kelamin dan ras

Homogenitas antara kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko diusahakan dengan melakukan *matching*.

5.1.2 Homogenitas faktor risiko

Tabel dibawah menunjukkan tebaran faktor risiko pada ketiga kelompok.

Tabel 5.1: Tebaran faktor risiko pada kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Faktor risiko	Kasus stroke		Kontrol+		Kontrol-	
	jml	%	jml	%	jml	%
Hipertensi	6	26,09	5	21,74	--	--
Jantung	2	8,70	2	8,70	--	--
Merokok	8	34,78	6	26,09	--	--
DM	9	39,13	8	34,78	--	--
Kegemukan	4	13,04	4	17,39	--	--
Total subyek	23	100,00	23	100,00	23	100,00

Keterangan: Kontrol+: kontrol dengan faktor risiko

Kontrol- : kontrol tanpa faktor risiko

DM : diabetes melitus

Pada kelompok kontrol tanpa faktor risiko, memang dipilih subyek yang tidak mempunyai faktor risiko. Sedangkan homogenitas faktor risiko pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko diuji dengan *Fisher's exact test* (lihat lampiran halaman 126) yang hasilnya sebagai berikut:

Tabel 5.2 Homogenitas faktor risiko pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko (*Fisher's exact test*) (lihat lampiran hal 126)

Faktor risiko	Kasus stroke	Kontrol+	FI(x)	p
Hipertensi	6	5	0,1596	1,0000
Jantung	2	2	0,1248	1,0000
Merokok	8	6	0,4287	0,7494
DM	9	8	0,1246	1,0000
kegemukan	4	4	0,0646	1,0000

Keterangan: kontrol+: kontrol dengan faktor risiko
DM : diabetes melitus

Dengan $p > 0,05$ berarti tidak ada perbedaan yang bermakna atau homogen.

5.2 Data umum darah tepi

5.2.1 Jumlah sel darah tepi

Tabel dibawah menunjukkan jumlah sel darah tepi pada ketiga kelompok

Tabel 5.3 : Rerata dari jumlah sel darah darah tepi pada kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Jumlah sel (ribu/mm ³)	Kasus stroke		Kontrol+		Kontrol-	
	rerata	SD	rerata	SD	rerata	SD
Eritrosit	4,6243	0,6061	4,4165	0,5078	4,3413	0,6713
Trombosit	304,7391	82,4545	271,4348	81,3236	270,1304	55,6215
Leukosit	10,4709	3,8377	7,6196	2,1108	7,3057	7,3057
Eosinofil	0,1518	0,2177	0,2673	0,2232	0,1918	0,1325
Basofil	0,0455	0,0246	0,0327	0,0194	0,0284	0,0155
Limfosit	1,5785	0,5573	2,9575	4,0626	1,9679	0,7495
Monosit	0,5761	0,2372	0,5811	0,5408	0,4424	0,1515
Netrofil	8,0583	3,9606	4,5829	1,6810	4,5424	2,1119
LUC	1,2348	1,1040	2,0261	0,9937	1,9609	0,8643

Keterangan: Kontrol+: kelompok kontrol dengan faktor risiko

Kontrol- : kelompok kontrol tanpa faktor risiko

LUC : *Large Unpainted Cell*

Apabila dari data diatas dibuat analisis varians untuk melihat perbedaan sel antar kelompok, maka didapat kemaknaan perbedaan dengan *Sig. of F* seperti pada tabel dibawah ini.

Tabel 5.4: Kemaknaan perbedaan sel darah tepi pada kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Sel	Perbedaan Stroke vs kontrol+ <i>Sig. of F</i>	Perbedaan Stroke vs kontrol- <i>Sig. of F</i>	Perbedaan Kontrol+ vs kontrol- <i>Sig. of F</i>
Eritrosit	0,214	0,141	0,670
Leukosit	0,003	0,002	0,637
Trombosit	0,175	0,102	0,950
Basofil	0,404	0,235	0,581
Eosinofil	0,057	0,259	0,228
Limfosit	0,060	0,000	0,320
Monosit	0,248	0,489	0,327
Netrofil	0,000	0,001	0,566

Keterangan: Kontrol+: kelompok kontrol dengan faktor risiko

Kontrol- : kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Dari tabel diatas, terlihat bahwa leukosit total dan netrofil lebih tinggi pada kelompok stroke dengan sangat bermakna ($p < 0,01$) dibanding kelompok kontrol dengan faktor risiko maupun kelompok kontrol tanpa faktor risiko.

5.2.2 Hasil pemeriksaan kimia darah

Tabel dibawah menunjukkan hasil pemeriksaan kimia darah pada ketiga kelompok

Tabel 5.5: Rerata dari kimia darah pada kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Kadar (mg%)	Kasus stroke		Kontrol+		Kontrol-	
	rerata	SD	rerata	SD	rerata	SD
Albumin	3,6158	0,5650	3,7304	0,6049	3,7820	0,3571
Asam urat	6,1435	2,2971	6,1987	1,7553	6,1735	1,5869
Fibrinogen	335,4783	296,2444	319,6522	83,9159	303,0435	76,7211
Gula darah	139,1739	63,4441	130,1739	60,6770	97,3478	11,2517
Hb	13,4826	1,9016	13,5435	1,6323	13,1261	2,0339
HDL	41,4783	9,0848	41,8696	10,5024	46,3913	8,9987
Hematokrit	47,6522	39,4401	38,6004	8,6687	38,8827	6,1100
Kolesterol	234,1739	40,3706	218,9565	38,5150	216,6957	42,7673
LDL	158,9091	35,1892	134,3478	32,5878	129,6957	31,5587
LED	32,0870	31,4468	32,5217	20,0496	29,3913	23,3330
Lp(a)	44,7541	37,7777	42,4905	35,6048	34,0810	26,6678
Trigliserida	146,3043	72,4346	180,5652	125,6734	145,0870	71,3072

Keterangan: Kontrol+: kelompok kontrol dengan faktor risiko

Kontrol- : kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Apabila dari data pemeriksaan kimia darah diatas dibuat analisis varians untuk melihat perbedaan antar kelompok, maka didapat kemaknaan perbedaan dengan Sig. of F seperti pada tabel dibawah ini.

Tabel 5.6: Kemaknaan perbedaan hasil pemeriksaan kimia darah pada kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risik dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Pemeriksaan	Perbedaan Stroke vs kontrol+ <i>Sig. of F</i>	Perbedaan Stroke vs kontrol- <i>Sig. of F</i>	Perbedaan Kontrol+ vs kontrol- <i>Sig. of F</i>
Albumin	0,783	0,382	0,632
Asam urat	0,876	0,619	0,667
Fibrinogen	0,834	0,315	0,337
Gula darah	0,727	0,014	0,034
Hb	0,309	0,164	0,619
HDL	0,750	0,146	0,288
Hematokrit	0,178	0,217	0,762
Kolesterol	0,394	0,570	0,770
LDL	0,040	0,032	0,956
LED	0,351	0,824	0,459
Lp(a)	0,875	0,502	0,416
Trigliserida	0,185	0,414	0,421

Keterangan: Kontrol+: kelompok kontrol dengan faktor risiko

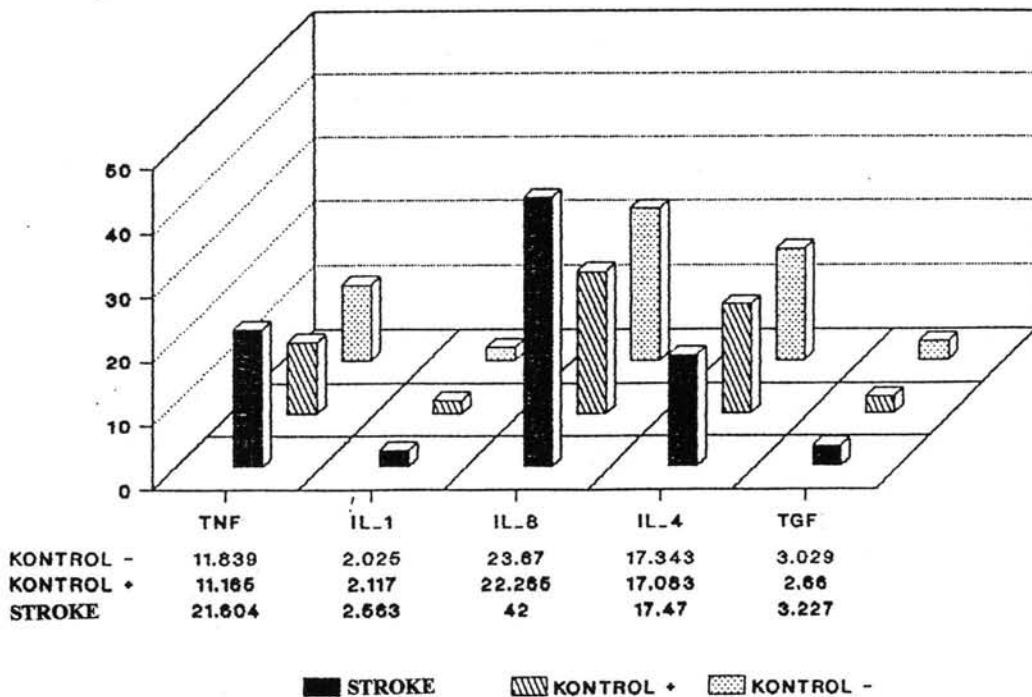
Kontrol- : kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Dari tabel diatas, terlihat bahwa LDL lebih tinggi pada kelompok stroke dengan bermakna dibanding kelompok kontrol dengan faktor risiko maupun kontrol tanpa faktor risiko (*Sig. of F* = 0,040 dan 0,032 atau $p < 0,05$). Untuk melihat apakah perubahan kadar sitokin disebabkan karena LDL ini, dilakukan analisis bivariat antara LDL dengan kadar sitokin yang ternyata kadar LDL tidak ada hubungannya dengan kadar sitokin (lihat lampiran perhitungan SPSS).

Kadar gula darah lebih tinggi pada kelompok kontrol dengan faktor risiko dari pada kelompok kontrol tanpa faktor risiko karena memang termasuk variabel yang dikendalikan waktu pengelompokan sampel.

5.3 Analisis Peran Sitokin

5.3.1 Rerata sitokin pada kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko.



Grafik 5.1 Rerata sitokin pada kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko (pg/mm³)

Keterangan: kontrol+: kelompok kontrol dengan faktor risiko

kontrol- : kelompok kontrol tanpa faktor risiko

5.3.2 Perbedaan sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko

1. Analisis multivariat

Tabel dibawah menunjukkan perbedaan rerata sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko.

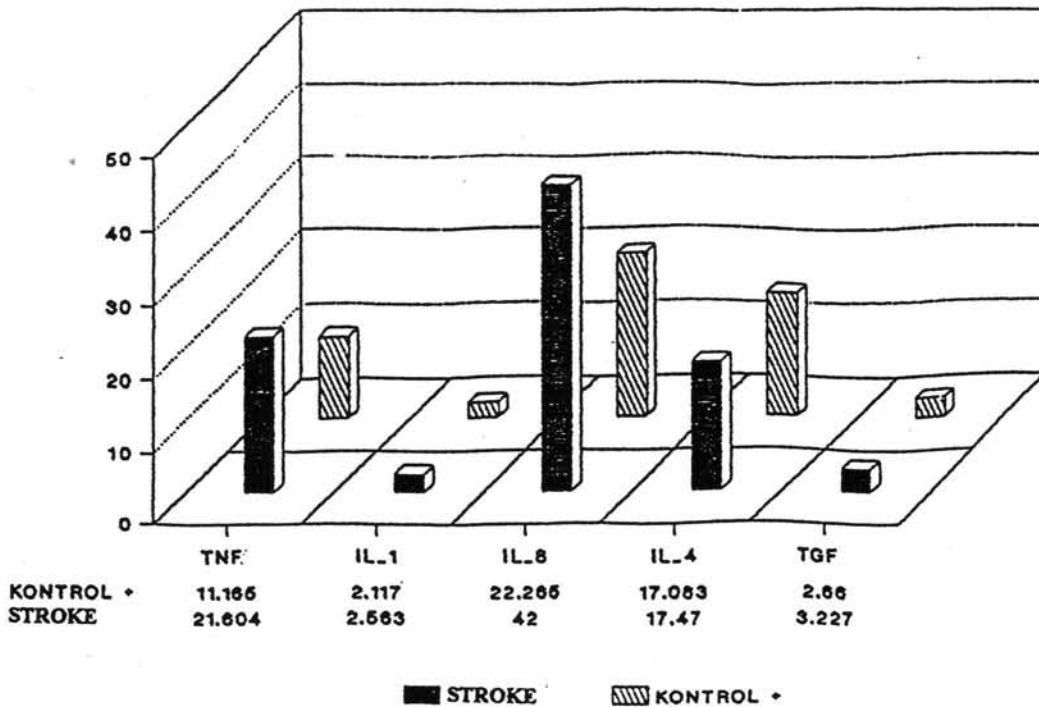
Tabel 5.7 Perbedaan sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko

Sitokin	Kasus stroke		Kontrol+		Perbedaan Sig. of F
	rerata (pg/ml)	SD	rerata (pg/ml)	SD	
IL-1 beta	2,563	0,822	2,117	0,657	0,048
TNF alfa	21,604	22,302	11,165	3,071	0,031
IL-8	42,000	32,673	22,265	16,532	0,013
IL-4	17,470	4,390	17,083	5,780	0,799
TGF beta 1	3,227	2,121	2,660	2,691	0,432

Wilks Lambda = 0,71816, p = 0,018

Keterangan: kontrol+: kelompok kontrol dengan faktor risiko

Tabel 5.7 diatas menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara kadar sitokin secara bersama pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko. Kadar sitokin pada dua kelompok tersebut dapat digambarkan dalam grafik sebagai gambar dibawah ini.



Grafik 5.2: Rerata sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko (pg/mm³)
 Keterangan: kontrol+: kelompok kontrol dengan faktor risiko

2. Analisis diskriminan

Analisis diskriminan dilakukan dengan *maximum significant of F to enter* 0,50000 dan *minimum significant of F to remove* 0,50000. Didapatkan hasil bahwa dalam membedakan kedua kelompok, dari kelima variabel diatas, ada 3 variabel yang secara signifikan menjadi pembeda, yaitu IL-8, IL-1 beta dan TNF alfa. Kekuatan membedakan

dua kelompok oleh ketiga variabel tersebut seperti dinyatakan sebagai *percent of grouped cases corectly classified* adalah sebesar 76,09% (lihat lampiran).

Diantara tiga variabel pembeda tersebut IL-8 merupakan variabel pembeda yang pertama kali muncul dalam analisis diskriminan (*step 1 included in the analysis*).

3. Pola peran sitokin pada dua kelompok

Pola peran sitokin menggambarkan kontribusi fungsi ketiga sitokin dalam membedakan kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko. Kontribusi fungsi tersebut adalah hasil perkalian faktor diskriminan Fisher dalam analisis diskriminan (lihat lampiran perhitungan SPSS), dikalikan dengan data awal.

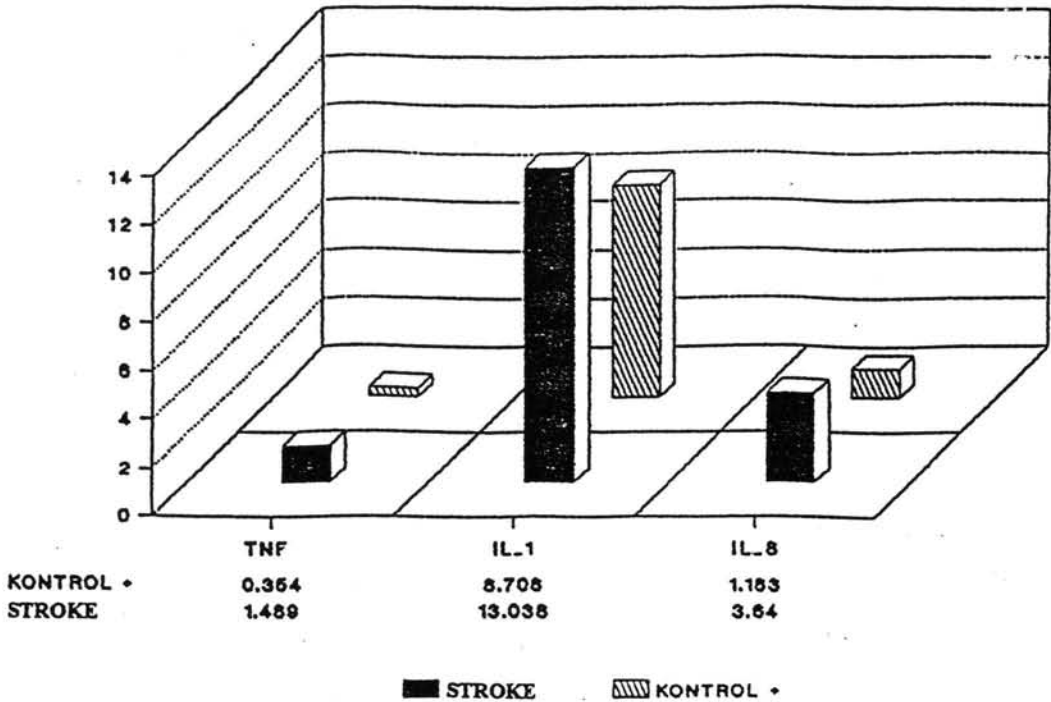
Tabel berikut menggambarkan hasil perhitungan tersebut.

Tabel 5.8: Kontribusi fungsi sitokin IL-1 beta, TNF alfa dan IL-8 pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor resiko

Sitokin	Kontribusi fungsi pada kelompok kasus	Kontribusi fungsi pada kelompok kontrol+
IL-1 beta	13,038	8,708
TNF alfa	1,489	0,354
IL-8	3,640	1,183

Keterangan: kontrol+: kelompok kontrol dengan faktor risiko

Apabila pola peran sitokin tersebut digambarkan dengan grafik akan terlihat gambaran sebagai berikut:



Grafik 5.3: Pola peran sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko

Keterangan: kontrol+: kelompok kontrol dengan faktor risiko

Dari grafik diatas dapat dilihat besarnya peran masing-masing sitokin pada dua kelompok. Selisih peran masing-masing sitokin pada kelompok stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko, menunjukkan pentingnya sitokin tersebut pada patogenesis stroke iskemik.

5.3.3 Perbedaan sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko

1. Analisis multivariat

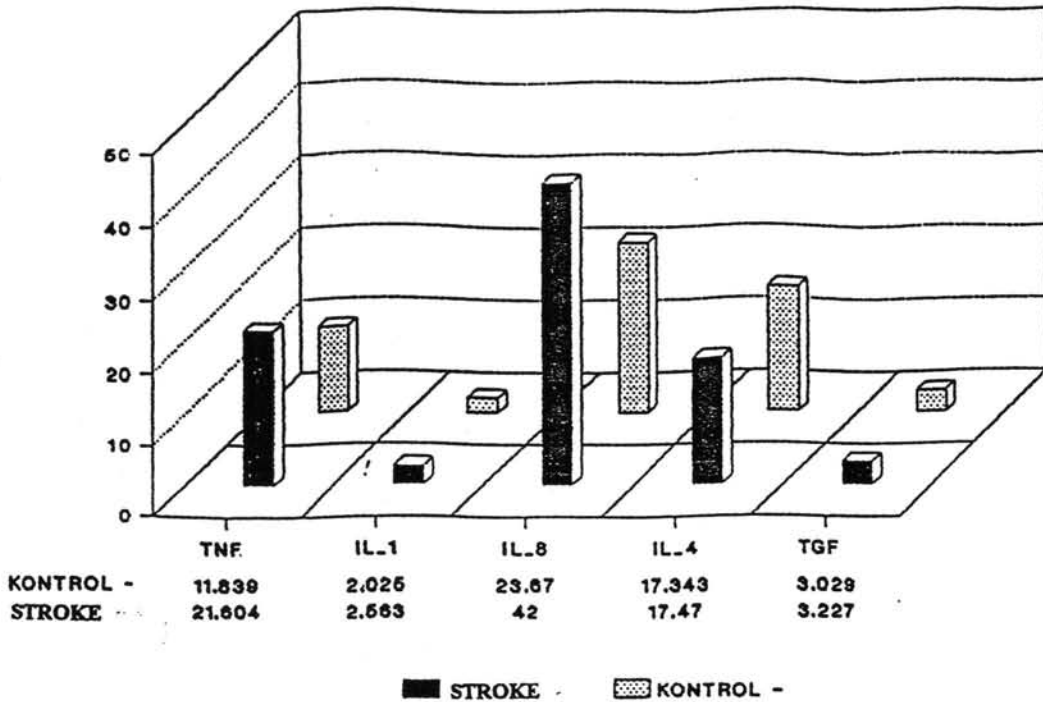
Tabel 5.9: Perbedaan sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Sitokin	Kasus stroke		Kontrol-		Perbedaan Sig. of F
	rerata (pg.ml)	SD	rerata (pg/ml)	SD	
IL-1 beta	2,563	0,822	2,025	0,882	0,038
TNF alfa	21,604	22,302	11,839	3,717	0,044
IL-8	42,000	32,673	23,670	20,697	0,028
IL-4	17,467	4,390	17,343	5,780	0,934
TGF beta 1	3,227	2,121	3,145	2,712	0,784

Wilks Lambda = 0,74364, p = 0,031

Keterangan: kontrol-: kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Tabel 5.9 menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara kadar sitokin secara bersama, pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko



Grafik 5.4: Rerata sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko (pg/mm³)
Keterangan: kontrol-: kelompok kontrol tanpa faktor risiko

2. Analisis diskriminan

Analisis diskriminan dilakukan dengan *maximum significant of F to enter* 0,50000 dan *minimum significant of F to remove* 0,50000. Didapatkan hasil bahwa dalam membedakan kedua kelompok, dari kelima variabel diatas, ada 4 variabel yang secara signifikan menjadi pembeda, yaitu IL-8, IL-1 beta dan TNF alfa dan TGF beta. Kekuatan

membedakan dua kelompok oleh empat variabel tersebut seperti dinyatakan sebagai *percent of grouped cases corectly classified* adalah sebesar 67,39% (lihat lampiran).

Diantara empat variabel pembeda tersebut IL-8 merupakan variabel pembeda yang pertama kali muncul dalam analisis diskriminan (*step 1 included in the analysis*).

3. Pola peran sitokin pada dua kelompok

Pola peran sitokin menggambarkan kontribusi fungsi ketiga sitokin dalam membedakan kelompok stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko. Kontribusi fungsi tersebut adalah hasil perkalian faktor diskriminan Fisher dalam analisis diskriminan, dikalikan dengan data awal.

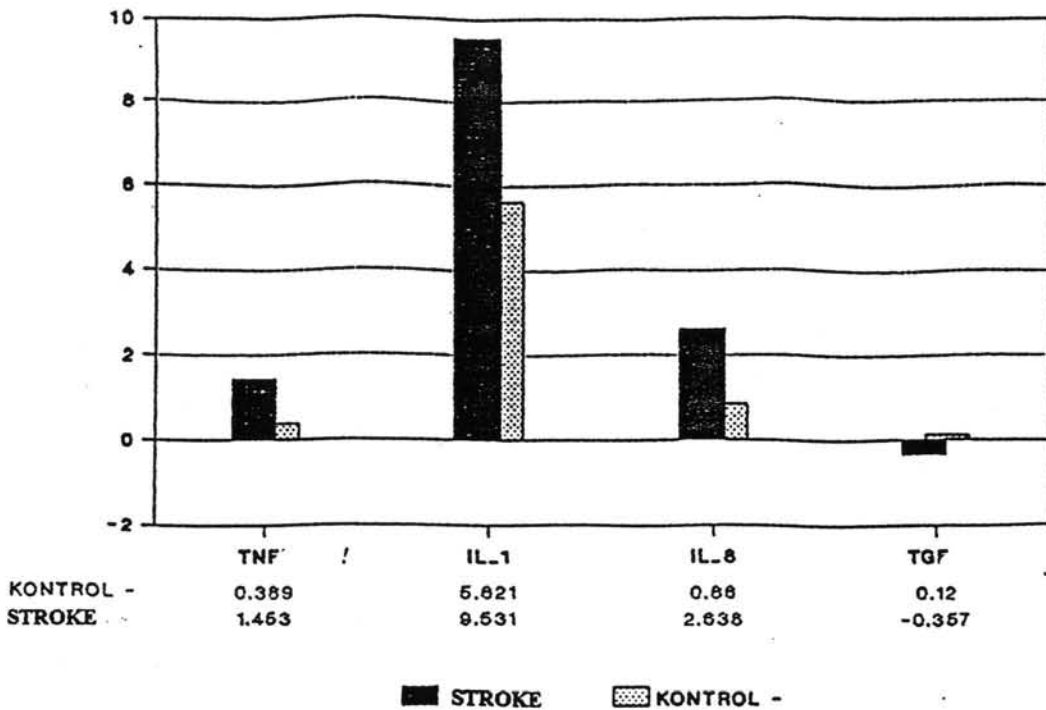
Tabel berikut menggambarkan hasil perhitungan tersebut.

Tabel 5.10: Kontribusi fungsi sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL-8 serta TGF beta pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Sitokin	Kontribusi fungsi pada kelompok kasus	Kontribusi fungsi pada kelompok kontrol-
IL-1 beta	9,531	5,621
TNF alfa	1,453	0,389
IL-8	2,638	0,860
TGF beta 1	-,357	0,120

Keterangan: kontrol-: kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Apabila pola peran sitokin tersebut digambarkan dengan grafik, akan nampak grafik sebagai berikut:



Grafik 5.5: Pola peran sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko.

Keterangan: kontrol-: kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Dari grafik diatas dapat dilihat besarnya peran masing-masing sitokin pada dua kelompok. Selisih peran masing-masing sitokin pada kedua kelompok menunjukkan pentingnya sitokin tersebut pada patogenesis stroke iskemik

Disini juga tampak adanya peran negatif dari TGF beta 1 pada stroke, yang berarti bahwa adanya TGF beta 1 menurunkan kecenderungan mendapat stroke.

5.3.4 Perbedaan sitokin pada kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko

1. Analisis multivariat

Tabel dibawah menunjukkan mean sitokin pada kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko, serta signifikansi perbedaannya.

Tabel 5.11: Perbedaan sitokin pada kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko

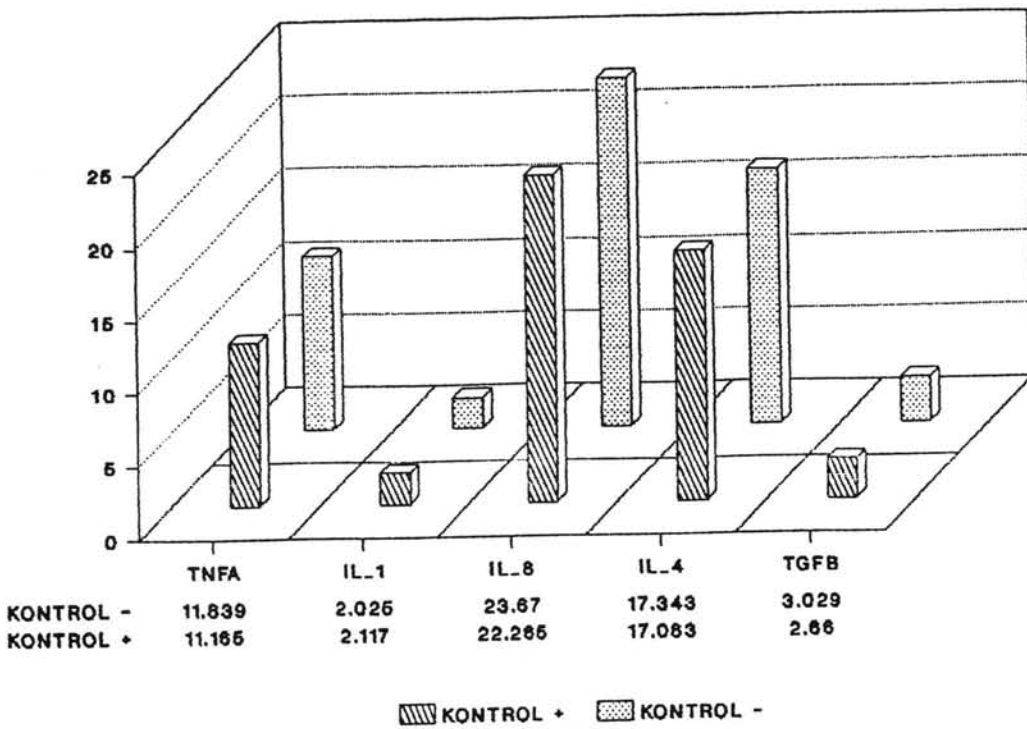
Sitokin	Kontrol+		Kontrol-		Perbedaan Sig. of F
	Rerata (pg/ml)	SD	Rerata (pg/ml)	SD	
IL-1	2,117	0,657	2,025	0,882	0,692
TNF alfa	11,165	3,071	11,839	3,717	0,506
IL-8	22,265	16,532	23,670	20,697	0,800
IL-4	17,083	5,780	17,343	5,780	0,880
TGF beta 1	2,660	2,691	3,145	2,712	0,645

Wilks Lambda = 0,97574, p = 0,961

Keterangan: Kontrol+: kelompok kontrol dengan faktor risiko

Kontrol-: kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Tabel 5.11 menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kadar sitokin pada kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko.



Grafik 5.6: Rerata sitokin pada kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko (pg/mm³)

Keterangan: kontrol +: kelompok kontrol dengan faktor-risiko

Kontrol -: kelompok kontrol tanpa faktor risiko

BAB 6

PEMBAHASAN

Dalam bab pembahasan ini, pertama kali akan dikemukakan tentang pendekatan penelitian dan paradigma yang digunakan untuk mengungkap masalah.

Perhatian terhadap penanganan stroke iskemik akut sampai saat ini kebanyakan diarahkan kepada neuron yang terganggu karena iskemia. Masih jarang perhatian tertuju kepada lingkungan di jaringan serebral yang mengalami iskemia, padahal pada saatnya juga akan memperberat kerusakan neuron itu sendiri.

Beberapa tahun terakhir banyak perhatian ditujukan kepada peran dari inflamasi setelah oklusi arteriil dan reperfusi. Pada stroke iskemik terjadi proses seluler dan molekuler yang mendasari transisi dari iskemia menjadi inflamasi, meliputi reaktivitas mikrovaskuler, aktivasi dan kemo-taksis dari lekosit polimorfonuklear, perubahan biologi reseptor endotel, sintesis dan pelepasan sitokin, transmigrasi dan invasi dari lekosit ke jaringan otak, dan trombosis mikrovaskuler (Fuerstein, 1997; Yamasaki Kogure, 1997). Sintesis dan pelepasan sitokin pada penderita stroke iskemik tersebut menjadi fokus pada penelitian ini.

Untuk mengungkap peran berbagai sitokin pada stroke iskemik akut sebagaimana yang diuraikan diatas, dapat dikemukakan bahwa paradigma yang dipakai pada penelitian ini adalah paradigma imunopatobiologi.

Selanjutnya akan dibahas mengenai subyek penelitian, serta pengelompokan sampel. Stroke iskemik terjadi karena penyempitan pembuluh darah arteri (aterosklerosis) atau adanya emboli dari jantung (biasanya gangguan irama atau atrial fibrilasi).

Aterosklerosis sendiri mempunyai beberapa faktor risiko yang dapat menjadi penyebab seperti diabetes melitus, obesitas, merokok dan hipertensi (Love, 1999).

Idealnya, untuk meneliti peran sitokin pada penderita stroke, sebaiknya dilihat secara *cohort* setiap subyek mulai pada waktu masih normal, saat menderita aterosklerosis dan saat setelah mendapatkan serangan stroke. Hal ini tidak mungkin karena kita tidak bisa mengetahui sebelumnya subyek mana yang dikemudian hari akan menderita stroke; juga kita tidak boleh memberikan perlakuan yang mengakibatkan stroke pada manusia. Pemeriksaan patologik anatomik aterosklerosis hampir tidak mungkin dilakukan. Karena itu untuk mendapatkan sampel yang sesuai dengan perjalanan penderita dari saat normal, kemudian menderita aterosklerosis dan kemudian stroke, diambil sampel tiga kelompok: kelompok kasus stroke, kelompok kontrol tanpa faktor risiko untuk mewakili keadaan saat normal, dan kelompok kontrol dengan faktor risiko untuk mewakili keadaan saat sudah mengalami aterosklerosis namun belum mendapatkan serangan stroke.

Kelompok kasus diambil dari penderita stroke iskemik akut yang dirawat di RS.dr.Moewardi Surakarta yang memenuhi kriteria sesuai dengan yang dapat dilihat pada metode penelitian (bab5) Untuk kedua kelompok kontrol diambil penderita non stroke yang memenuhi kriteria seperti dapat dilihat pada metode penelitian, dan dilakukan *matching* dalam hal umur, jenis kelamin dan ras. Ketiga kelompok, yaitu kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko serta kelompok kontrol tanpa faktor risiko adalah homogen dalam hal umur, jenis kelamin dan ras, dengan dilakukannya *matching* tadi. Homogenitas ini mengakibatkan pengaruh umur, jenis kelamin dan ras terhadap kadar sitokin dapat diabaikan.

Stimulus atau stressor yang memicu ekspresi sitokin oleh suatu sel misalnya mikroglia dapat berupa iskemia jaringan, seperti pada stroke iskemik. Sitokin ini akan mempengaruhi sel lain, terkadang juga sel diri sendiri, dengan melalui reseptor dipermukaan sel. *Signal* dari reseptor ini akan disampaikan kedalam sel sehingga dapat terjadi pengaruh pada gen, yang kemudian akan bermanifestasi pada tingkah laku berikutnya dari sel target tersebut. Demikianlah kerja sitokin berkaitan erat dengan perubahan gen sehingga besar kemungkinan ekspresi dan peran sitokin tidak sama persis antara satu ras dengan ras yang lain (Clemens, 1991). Karena itulah pada penelitian ini dipakai sampel dan kontrol dari suku bangsa yang sama.

Kadar berbagai sitokin tersebut mungkin berfluktuasi pada penderita stroke iskemik segera setelah mendapat serangan, sehingga sebenarnya perlu diperiksa dinamika berbagai sitokin tersebut pada selang beberapa waktu yang berbeda setelah serangan stroke. Penelitian ini mengambil darah tepi penderita stroke iskemik pada hari ketiga berdasarkan apa yang didapatkan oleh Kostula *et al.*(1998) bahwa kadar sitokin pada penderita stroke iskemik meningkat pada minggu pertama dan mencapai puncaknya pada hari ketiga serangan.

Perlu diambil kontrol dua kelompok yaitu dengan faktor risiko dan tanpa faktor risiko untuk meyakinkan bahwa perubahan kadar sitokin ada hubungannya dengan proses stroke yang baru terjadi.

Dari gambaran tebaran faktor risiko pada tabel 5.1 dan hasil uji homogenitas tabel 5.2 berdasarkan analisis *Fisher's exact test* dapat dilihat bahwa faktor risiko pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko adalah homogen. Perbedaan

kadar sitokin pada kedua kelompok tersebut adalah disebabkan karena stroke yang baru terjadi.

Pemeriksaan berbagai sel darah tepi dilakukan untuk melihat apakah ada perbedaan dari sel pada ketiga kelompok, dan kalau ada dicoba dibahas hubungannya dengan stroke atau dengan kadar sitokin. Dari data yang didapat, terlihat bahwa jumlah lekosit total serta jumlah netrofil lebih tinggi secara bermakna pada kelompok kasus stroke dari pada kelompok kontrol baik dengan faktor risiko maupun tanpa faktor risiko. Penjelasan yang dapat diberikan adalah bahwa ini sesuai dengan kerangka konsep penelitian, bahwa hal ini adalah akibat dari sitokin yang bekerja kemoatraktif terhadap netrofil. Hal ini diperkuat dengan adanya hubungan yang bermakna antara jumlah netrofil dan kadar IL-8 pada uji korelasi bivariat (lihat lampiran perhitungan SPSS). Kejadian ini memang lokal, tetapi seperti disebut oleh Kostula *et al.* (1998), sebagian dapat menembus blood brain barrier, sehingga keadaan dalam darah dapat mencerminkan kejadian lokal tersebut.

Jumlah limfosit yang lebih tinggi pada kelompok kasus stroke dapat dijelaskan karena limfosit memang merupakan sumber dari sitokin..

Beberapa penelitian terdahulu juga menunjukkan bahwa pada stroke iskemik akut terdapat peningkatan jumlah netrofil. Sebagian penelitian melihatnya lokal di jaringan otak dengan biopsi pada binatang atau dengan SPECT (*Single-Photon Emission Computed Tomography*) pada manusia, atau pada darah tepi.

Akopov *et al.* (1996) dari penelitiannya terhadap 88 penderita stroke iskemik mendapatkan bahwa pada umumnya akumulasi lekosit polimorfonuklear meningkat secara progresif selama 6-24 jam setelah stroke, dan tetap tinggi sampai hari ke 6-9, kemudian menurun. Akumulasi lekosit diserebral dilihat dengan SPECT. Penderita dibagi

dalam 3 kelompok: penderita dengan akumulasi PMN berat dimana kenaikan secara dramatis dalam 12 jam setelah serangan stroke dan tetap tinggi sampai 28-30 hari (kelompok A); penderita dengan akumulasi PMN sedang, dimana jelas menurun pada 30 hari (kelompok B); serta penderita dengan akumulasi PMN ringan, dimana telah menurun pada hari 6-9 (kelompok C). Kelainan klinis serta radiologis pada waktu pemeriksaan pertama adalah serupa pada ketiga kelompok. Namun pada pemeriksaan akhir, kelompok dengan akumulasi PMN berat ternyata keadaan klinisnya adalah yang paling berat dan ukuran infarknya paling luas. Peneliti menyimpulkan bahwa akumulasi netrofil berhubungan dengan luasnya kerusakan otak dan kelainan klinis.

Bednar *et al.* (1997) menyebutkan bahwa aktivasi netrofil akan memperberat kerusakan otak pada stroke akut, dan hal tersebut telah banyak diterima dikalangan peneliti. Namun hubungan waktu antara aktivasi netrofil dan kejadian iskemik pada keadaan klinik adalah belum jelas. Dari penelitiannya, Bednar mendapati bahwa aktivasi netrofil terjadi pada hari pertama serangan stroke iskemik. Menurutnya, hal ini dapat dimanfaatkan dalam mempertimbangkan penanganan yang diarahkan terhadap penekanan fungsi netrofil pada stroke iskemik.

Sato *et al.* (1997) mengemukakan dari penelitiannya bahwa reperfusi bertahap dari area yang iskemik akan mengurangi terjadinya infark, dan memperbaiki fungsi endotel, tapi dengan paradoksial meningkatkan akumulasi netrofil diarea yang berada dalam keadaan resiko tinggi. Sedang Iwatsuki *et al.* (1998) meneliti kadar sel polimorfonuklear pada 6 orang penderita stroke akut pada hari onset (hari ke 0) dan hari ke7 onset, untuk melihat peran aktifitas proteolitik PMN pada patofisiologi stroke. Mereka mendapatkan

kenaikan yang signifikan PMN di v.jugularis yang bersifat transien pada penderita infark serebri, terutama segera setelah terjadi infark hemoragik.

Pemeriksaan kadar kimia darah dilakukan, untuk melihat perbedaan kadar beberapa bahan didalam darah, yang kadang-kadang juga diduga dapat berlaku sebagai faktor risiko stroke iskemik, tetapi belum diperhitungkan dalam pembentukan kelompok diatas. Kemudian akan dicoba membahas perbedaan yang ada.

Dari gambaran kimia darah pada ketiga kelompok (tabel 5) dapat dilihat bahwa kadar kolesterol LDL adalah lebih tinggi pada kelompok kasus dibanding kontrol. Pada berbagai penelitian yang lalu, masih menjadi kontroversi, apakah yang berperan sebagai faktor resiko stroke sebenarnya kolesterol HDL yang rendah, atau kolesterol LDL yang tinggi.

Kadar kolesterol LDL yang tinggi pada kelompok kasus stroke pada penelitian ini, perlu dianalisis apakah kadar kolesterol LDL ini ada hubungannya dengan kadar sitokin. Analisis korelasi bivariat ternyata menunjukkan bahwa kadar kolesterol LDL tidak ada hubungannya dengan kadar sitokin (lihat perhitungan SPSS). Sedangkan pemeriksaan kimia darah yang lain adalah tidak berbeda secara bermakna pada ketiga kelompok.

Penelitian ini menggunakan alat pemeriksaan maupun reagen yang sudah baku, dan pemeriksaan dilakukan dilaboratorium klinik yang berpengalaman, sehingga adanya deviasi standard yang tinggi pada beberapa data yang diperoleh pada penelitian, kemungkinan memang disebabkan karena datanya sendiri yang memang bervariasi.

Variabel sitokin yang diteliti pada penelitian ini adalah sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4 dan TGF beta 1. Alasan pemilihan sitokin tersebut yang pertama adalah karena beberapa sitokin tersebut, secara terpisah, pernah dilaporkan ada perubahan pada

binatang coba atau pada manusia. Yang kedua, ada yang membedakan sitokin menjadi sitokin pro-inflamatorik serta anti-inflamatorik. IL-1 beta dan TNF alfa mewakili sitokin pro-inflamatorik, sedangkan IL-4 dan TGF beta 1 termasuk sitokin anti-inflamatorik. IL-8 adalah sitokin yang produksinya dipengaruhi oleh sitokin pro-inflamatorik dan sitokin anti-inflamatorik dan bekerja sebagai *chemoattractant* utama bagi neutrofil (Hempel, 1996). Alasan yang ketiga adalah, bahwa berbagai sel imunokompeten penghasil sitokin terwakili oleh kelima sitokin tersebut. Makrofag/mikroglia yang merupakan sumber sitokin utama diserebral (Lehrmann 1998) menghasilkan IL-1 beta, TNF alfa. Limfosit Th1 menghasilkan IL-1 beta dan TNF alfa. Th2 menghasilkan IL-4 dan Th3 menghasilkan TGF beta, sedangkan IL-8 merupakan sitokin yang belum jelas dihasilkan oleh limfosit yang mana. Pemahaman peran beberapa sitokin tersebut, diharapkan dapat mengungkap peran sitokin sebagai molekul mediator inflamatorik pada stroke iskemik.

Pembahasan selanjutnya adalah mengenai uji peran sitokin pada kelompok kasus stroke, kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko, yang menjadi tujuan dari penelitian ini. Uji beda pada penelitian ini menggunakan analisis statistik multivariat karena peran sitokin seperti digambarkan pada kerangka konsep penelitian merupakan akibat interaksi dari semua variabel yang terkait. Variabel tersebut berasal dari kerangka konseptual yang berdasarkan paradigma imunopatobiologik, berkonsep sel imunokompeten yang mendapat pengaruh iskemia. Bila hasil uji menunjukkan adanya peran pembeda, maka hal tersebut adalah merupakan hasil suatu proses yang melibatkan semua variabel yang saling berinteraksi satu dengan yang lain.

Pada penelitian ini juga dilakukan analisis diskriminan, yang dilakukan untuk mendapatkan variabel pembeda yang dominan (diskriminator) atas perubahan kadar sitokin pada kelompok kasus stroke, dibanding kelompok kontrol dengan faktor resiko maupun kelompok kontrol tanpa faktor resiko. Diskriminator ini kemudian digunakan untuk membuat suatu pola diskriminan, yang menggambarkan kontribusi fungsi setiap diskriminator dalam patogenesis stroke iskemik. Pola diskriminan ini dibentuk oleh skor diskriminan, yang diperoleh dari perkalian antara koefisien linear Fisher dengan kadar setiap diskriminator tersebut. Untuk mendapatkan besaran kontribusi fungsi setiap diskriminator, diasumsikan diskriminator yang lain sama dengan nol. Setiap diskriminator mempunyai besaran kontribusi fungsi sendiri untuk setiap kelompok (Sharma, 1996).

Variabel yang diperiksa dalam penelitian ini adalah IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4 dan TGF beta 1. Pemeriksaan sitokin dilakukan dengan tehnik *Elisa* di Jakarta, dilaboratorium klinik swasta yang sudah berpengalaman. Reagen yang digunakan adalah *Quantikine* dengan reagen buatan *R&D system*. Untuk menghilangkan kemungkinan pengaruh subyektivitas, dilakukan tehnik pembutaan (*blinding*) dimana pemeriksa tidak mengetahui identitas dan kelompok mana spesimen yang diperiksa.

Sesuai dengan tujuan penelitian, maka mula-mula dianalisis perbedaan kadar sitokin pada kelompok kasus dan kelompok kontrol dengan faktor risiko. Kemudian dianalisis perbedaan kadar sitokin pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko. Pada penelitian ini juga dilihat ada/tidaknya perbedaan kadar sitokin pada kelompok kontrol dengan faktor risiko dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko.

Untuk melihat apakah kelima variabel secara bersama-sama mempunyai peran pembeda pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko, dilakukan uji analisis multivariat (*multivariate analysis*). Ternyata dengan analisis multivariat didapati bahwa kelima sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4 dan TGF beta 1 secara bersama mempunyai pengaruh yang signifikan dalam membedakan kedua kelompok (Wilks Sign. of F 0,018).

Analisis diskriminan dilakukan dengan *maximum significant of F to enter* 0,50000 dan *minimum significant of F to remove* 0,50000. Didapatkan hasil bahwa dalam membedakan kedua kelompok, dari kelima variabel diatas, ada 3 variabel yang secara signifikan menjadi pembeda, yaitu IL-8, IL-1 beta dan TNF alfa. Kekuatan membedakan dua kelompok oleh ketiga variabel tersebut seperti dinyatakan sebagai *percent of grouped cases corectly classified* adalah sebesar 76,09% (lihat lampiran).

Diantara tiga variabel pembeda tersebut IL-8 merupakan variabel pembeda yang paling kuat (*step 1 included in the analysis*).

Kemampuan kelima variabel tersebut untuk membedakan kedua kelompok adalah 73,91%, sedangkan tiga variabel (IL-8, IL-1 beta dan TNF alfa) mempunyai kekuatan membedakan dua kelompok sebesar 76,09%.

Untuk melihat apakah kelima variabel secara bersama-sama mempunyai peran pembeda pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko, dilakukan uji analisis multivariat (*multivariate analysis*). Ternyata bahwa kelima sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4 dan TGF beta 1 secara bersama mempunyai pengaruh yang signifikan dalam membedakan kedua kelompok (*Wilks Sign. of F* 0,031).

Analisis diskriminan dilakukan dengan *maximum significant of F to enter* 0,50000 dan *minimum significant of F to remove* 0,50000. Didapatkan hasil bahwa dalam membedakan kedua kelompok, dari kelima variabel diatas, ada 3 variabel yang secara signifikan menjadi pembeda, yaitu IL-8, IL-1 beta dan TNF alfa dan TGF beta 1. Kekuatan membedakan dua kelompok oleh empat variabel tersebut seperti dinyatakan sebagai *percent of grouped cases corectly classified* adalah sebesar 67,39% (lihat lampiran).

Diantara empat variabel pembeda tersebut IL-8 merupakan variabel pembeda yang paling kuat (*step 1 included in the analysis*).

Kemampuan kelima variabel tersebut untuk membedakan kedua kelompok adalah 65,22%, sedangkan empat variabel (IL-8, IL-1 beta, TNF alfa dan TGF beta 1) mempunyai kekuatan membedakan dua kelompok sebesar 67,39%.

Disini juga tampak bahwa peran TGF beta 1 pada stroke iskemik adalah peran negatip, yang berarti bahwa TGF beta 1 menurunkan kecenderungan terjadinya stroke iskemik, atau mempunyai pengaruh protektif bagi terjadinya stroke. Hal tersebut sesuai dengan kerja TGF beta 1 yang termasuk sitokin anti-inflamatorik.

Dari data tentang perbedaan kadar sitokin yang diuraikan diatas, dapat disimpulkan bahwa apa yang disebutkan dalam kedua hipotesis adalah terbukti. Yaitu bahwa terdapat perbedaan kadar sitokin (IL- beta, TNF alfa, IL-8, IL-4 dan TGF beta 1) secara bersama pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko; serta terdapat perbedaan kadar sitokin tersebut secara bersama pada kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko.

Beberapa penelitian dahulu yang dilakukan secara univariat memberikan gambaran perubahan kadar sitokin pada penderita stroke iskemik akut, pada berbagai organ. Namun hasil penelitian univariat mereka tidak menggambarkan sitokin mana sebenarnya yang paling berperan. Perbedaan lain adalah bahwa berbagai penelitian terdahulu tidak memperhitungkan ada/tidak adanya faktor risiko pada kelompok kontrolnya.

Tarkowski *et al* (1995, 1997) mendapatkan bahwa terdapat peningkatan kadar IL-1 beta intratekal pada penderita stroke, yang terjadi sejak 24 jam pertama serangan stroke. Ferrarese *et al.* (1999) mendapatkan bahwa TNF alfa meningkat secara signifikan (kira-kira 3 kali dibanding kontrol) dari hari 1 – 2 sampai hari ke 90 setelah stroke.

Tentang IL-8, Matsumoto *et al.* (1997) mengemukakan bahwa kadar IL-8 dalam jaringan otak yang merupakan sitokin kemotaktik netrofil yang kuat, meningkat secara signifikan dalam waktu 6 jam setelah reperfusi, tetapi tanpa kenaikan IL-8 dalam plasma. Sementara itu Kostula *et al.* (1998) melakukan pemeriksaan kadar IL-8 pada penderita stroke iskemik dengan mengambil darah perifer pada pagi hari, pada hari ke 1 – 7 (rata-rata hari ke 3) setelah onset serangan stroke. Digunakan tehnik ELISA untuk pengukuran kadar IL-8 plasma. Ternyata didapatkan peningkatan yang bermakna dari IL-8 pada penderita dengan stroke iskemik dibanding dengan orang normal. Hal yang serupa juga didapatkan oleh Okada *et al.* (1998).

Sedangkan untuk TGF beta, Kim *et al.* (1996) mengukur secara serial (dalam 24 jam, hari ke 3, dan hari ke 7) kadar TGF-beta 1 dalam serum penderita pada 29 penderita stroke akut (10 dengan infark serebri kortikal yang besar, 9 dengan infark sub-kortikal yang kecil, dan 10 dengan perdarahan intraserebral). Kim JS *et al.* (1996) mendapatkan bahwa kadar TGF beta 1 secara bermakna menurun pada hari pertama dan ketiga dan

setelah itu cenderung meningkat. Diantara berbagai jenis stroke akut tadi, tidak didapati perbedaan yang bermakna .

Sehubungan dengan data yang diperoleh dihubungkan dengan kerangka konseptual , mengenai peran sitokin dapat diungkap beberapa hal sebagai berikut. IL-8 merupakan sitokin yang menjadi diskriminator paling kuat pada stroke iskemik, baik dalam membedakan dengan kontrol yang mempunyai faktor resiko maupun tidak. Ini sesuai kerangka konsep dimana IL-8 adalah *chemoattractant* penarik netrofil yang utama, sedangkan netrofil adalah komponen seluler utama pada proses inflamasi akut. IL-1 beta dan TNF alfa juga merupakan diskriminator stroke iskemik. IL-1 beta dan TNF alfa merupakan sitokin yang dihasilkan limfosit Th1, yang mengalami peningkatan pada keadaan iskemia. IL-1 beta dan TNF alfa dapat memicu mikroglia/makrofag untuk meningkatkan produksi IL-8. Disamping itu kemungkinan IL-1 beta dan TNF alfa dapat menekan baik limfosit Th2 dan Th3 sehingga produksi IL-4 dan TGF beta 1 tertekan, sehingga pengaruh anti-inflamatoriknya berkurang.

IL-4 pada penelitian ini tidak mengalami perubahan yang bermakna. IL-4 dihasilkan oleh limfosit Th2 dan sering disebut bekerja sebagai sitokin anti-inflamatorik. Dari data yang didapat dapat diduga bahwa IL-4 tidak berperan atau limfosit Th2 tidak teraktivasi pada stroke iskemik.

Yang menarik untuk dibahas adalah TGF beta 1. Sitokin ini tidak menjadi diskriminator pada perbedaan kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko, tetapi menjadi diskriminator dengan peran negatif pada perbedaan antara kelompok kasus stroke dan kelompok kontrol tanpa faktor risiko. Ini berarti, bahwa pada subyek tanpa faktor resiko, penurunan kadar TGF beta 1 atau penekanan terhadap

limfosit Th3 dapat meningkatkan kecenderungan terjadinya stroke iskemik. Karena TGF beta utamanya dihasilkan oleh Th3 (Cerwenka., 1999), maka dapat disimpulkan adanya peran negatif dari Th3. Sebenarnya hal ini dapat dipahami, mengingat bahwa TGF beta 1 termasuk sitokin anti-inflamatorik. Sedangkan adanya fakta juga bahwa TGF beta 1 tidak mempunyai peran dalam perbedaan kelompok stroke dan kelompok kontrol dengan faktor risiko, menunjukkan kemungkinan bahwa adanya faktor risiko menghilangkan peran protektif dari Th3 untuk terjadinya stroke.

Dari beberapa hal tentang beda sitokin diatas, secara umum dapat disimpulkan adanya peran positif dari mikroglia/makrofag dan Th1, serta peran negatif dari Th2 dan Th3.

Karena respon inflamatorik yang terjadi dapat memperberat terjadinya infark yang terjadi, maka diharapkan penemuan tentang IL-8 sebagai faktor dominan ini dapat dimanfaatkan dan dikembangkan selanjutnya bagi penanganan dan pencegahan stroke iskemik. Hal ini dapat dilakukan melalui tiga hal yang berkaitan dengan sitokin IL-8 yaitu agonis, reseptor dan antagonis. Misalnya dengan penekanan agonis IL-8, pengembangan antagonis reseptor terhadap IL-8 (IL-8-ra) dan sebagainya, atau dengan pengembangan antibodi monoklonal terhadap IL-8 (*Anti-human IL-8 Monoclonal Antibody*).

Kekurangan dan kelemahan dalam penelitian ini antara lain adalah bahwa penelitian ini mengambil sampel dari darah penderita pada hari ketiga serangan stroke iskemik akut dengan asumsi bahwa pada hari tersebut sitokin pro-inflamatorik berada pada kadar puncak. Mungkin lebih baik dilakukan beberapa kali pada tahapan yang berlainan, tentunya dengan biaya pemeriksaan yang lebih besar. Kekurangan lain adalah bahwa penelitian ini mengambil darah tepi dari vena mediana kubiti, yang terpaksa dilakukan

karena adalah tidak mungkin kita mengambil sampel dari tempat lokal jaringan otak yang mengalami iskemik. Namun menurut Kostula *et al.*(1998) peningkatan sitokin lokal jaringan otak akan bermanifestasi pula di darah tepi meskipun kadarnya tidak sama, dan secara klinis pengukuran dari darah tepi adalah lebih praktis.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

1. Terdapat perbedaan kadar sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4, dan TGF beta 1 pada penderita stoke iskemik dibanding kontrol non stroke dengan faktor risiko
2. Terdapat perbedaan kadar sitokin IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, IL-4, dan TGF beta 1 pada penderita stoke iskemik dibanding kontrol non stroke tanpa faktor risiko
3. Sitokin yang berperan sebagai diskriminator pada penderita stroke iskemik dan kontrol non stroke dengan faktor risiko adalah IL-1 beta, TNF alfa dan IL-8. Diskriminator yang paling kuat adalah IL-8.
4. Sitokin yang berperan sebagai diskriminator pada penderita stroke iskemik dan kontrol non stroke tanpa faktor risiko adalah IL-1 beta, TNF alfa, IL-8 dan TGF beta 1. Diskriminator yang paling kuat adalah IL-8.
5. Terdapat peran negatif dari TGF beta 1 pada kelompok kasus stroke dibanding kelompok kontrol tanpa faktor risiko.

7.2 Saran bagi penanganan stroke iskemik akut

1. Penelitian ini menyokong bahwa respons inflamasi merupakan hal yang perlu diperhatikan pada penanganan stroke iskemik fase akut.
2. Kadar IL-8, IL-1 beta dan TNF alfa dalam darah tepi, utamanya IL-8, dapat digunakan sebagai indikator prognostik bagi stroke iskemik pada awal serangan stroke.

7.3 Saran bagi penelitian lebih lanjut

1. Perlu diteliti dan dikembangkan pemanfaatan dari sistim sitokin IL-8, IL-1 beta dan TNF alfa pada penderita stroke iskemik akut, misalnya *agonist* IL-8, dan IL-8ra (*IL-8 receptor antagonist*) atau antibodi monoklonal terhadap IL-8.
2. Perlu diteliti dinamika IL-8, IL-1 beta dan TNF alfa pada stroke iskemik akut, artinya kadar sitokin tersebut diukur secara serial.
3. Perlu diteliti dan dikembangkan peran protektif dari TGF beta 1
4. Perlu diteliti dan dikembangkan penanganan lain terhadap proses inflamasi yang terjadi termasuk pemanfaatan antibodi anti netrofil pada penderita stroke iskemik akut.

DAFTAR PUSTAKA

Abbas AK, Murphy KM, Sher A, 1996. Functional diversity of Helper T lymphocytes. *Nature* 383: 787-793.

Akopov SE, Simonian NA, Grigorian GS, 1996. Dynamics of Polymorphonuclear Leukocyte Accumulation in Acute Cerebral Infarction and Their Correlation With Brain Tissue Damage. *Stroke* 27:1739-1743.

An International Study of Early/Progressing Stroke. European Stroke Database Collaboration/Early/Progressing Stroke Study (EPSS) Group. Available from: <http://www.ncl.ac.uk/stroke-research-unit/posters/epssp.htm>. Accessed: 14/12/00.

Asia Pacific Consensus Forum on Stroke Management, 1998. *Stroke* 29: 1730-1736.

Barone FC, Arvin B, White RF, Miller A, Webb CL, Willette RN, Lysko PG, Feuerstein GZ, 1997. Tumor Necrosis Factor- α , A Mediator of Focal Ischemic Brain Injury. *Stroke* 28:1233-1244

Bear MF, Connors BW and Paradiso MA, 1996. *Neuroscience Exploring the Brain*. Baltimore: Williams & Wilkins, pp. 44 and 425

Bednar MM, Gross CE, Howard DB, Lynn M, 1997. Neutrophil activation in acute human central nervous system injury. *Neurol Res* 19:6, 588-92.

Budd SL 1998. Mechanisms of neuronal damage in brain hypoxia/ischemia: focus on the role of mitochondrial calcium accumulation. *Pharmacol Ther*, 80(2):203-29.

Burns DK, 1997. The Nervous System. In (Kumar V, Cotran RS, Robbins SL, eds). *Basic Pathology* 6th edition. Philadelphia: WB.Sounders Co, pp 713-744.

Cerwenka A, Swain SL., 1999. TGF beta1: immunosuppresant and viability factor for T lymphocytes. *Microbes and Infection*, 1291-1296.

Clemens MJ, 1991. *Cytokines*. BIOS Scientific Publishers Limited.

Constantinides P, 1993. *General Pathobiology*. Norwalk: Appleton & Lange, pp 1-23

Cotran RS, Kumar V, Collin T, 1999. *Robbins Pathologic Basis of Disease* 6th edition. Philadelphia: WB.Sounders Co, pp.1-30.

De Graba TJ, 1998. The role of inflammation after acute stroke: utility of pursuing anti-adhesionmolecule therapy. *Neurology*52(3Suppl 3):S62-8.

Del Zoppo GJ, 1997. Reperfusion Damage: The Role of PMN Leukocytes. In (Welch KMA, Caplan LR, Reis DJ, Siesjo BK, Weir B, eds). *Primer on Cerebrovascular Disease*. San Diego: Academic Press, pp. 217-222

Del Zoppo GJ, Becker K and Hallenbeck JM, 2000. The roles of inflammation in ischemic stroke. *World Stroke Congress*. Melbourne.

Ehrlich LC, Hu S, Sheng WS, Sutton RL, Rockswold GL, Peterson PK, Chao CC, 1998. Cytokine regulation of human microglial cell IL-8 production. *J.Immunol* 160:4, 1944-8.

Eigler A, Sinha B, Hartmann G, Endres S, 1997. Taming TNF: strategies to restrain this proinflammatory cytokines. *Immunology Today* 11:10, 487.

Ferrarese C, Masciarucci P, Zoia C, Cavarretta R, Frigo M, Begni B, Sarinella F, Frattola L, De Simoni MG, 1999. Increased cytokine release from peripheral blood cells after acute stroke. *J.Cereb Blood Flow Metab*, 19(9):1004-9.

Fisher M, 1999. The target of acute stroke therapy and neuroprotective therapeutic approaches. Canada: Education Program Syllabus, American Academy of Neurology, 51st Annual Meeting.

Fuerstein GZ, Wang X, Barone FC, 1997. Inflammatory gene expression in cerebral ischemia and trauma. Potential new therapeutic targets. *Ann N Y Acad Sci* 825:179-93.

Guilan D, 1997. Reactive Microglia and Ischemic Injury. In (Welch KMA, Caplan LR, Reis DJ, Siesjo BK, Weir B, eds). *Primer on Cerebrovascular Disease*. San Diego: Academic Press, pp. 117-124.

Hakim AM, 1998. Ischemic penumbra the therapeutic window. *Neurology* 51:3 Suppl 3, S44-6.

Hempel LS, Monick MM, Hunninghake GW, 1996. Effect of Hypoxia on Release of IL-1 and TNF by Human Alveolar Macrophages. *J.Resp.Cell.Mol.Biol* 14: 170-176.

Herskowitz A, Chol S, Ansari AA, Wessellingh S, 1995. Cytokine mRNA Expression in Postischemic/Reperfused Myocardium. *Am.J.of Pathology* 146:2, 419-428.

Himawan Sutisno, 1973. *Patologi*. Jakarta: Bagian Patologi Anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal:394-395.

Hu S, Peterson PK, Chao CC, 1997. Cytokine-mediated neuronal apoptosis. *Neurochem Int* 30(4-5):427-31.

Iwatsuki K, Kumura E, Yoshimine T, Yamamoto K, Sato M, Hayakawa T, 1998. Increase in jugular levels of polymorphonuclear neutrophil elastase in patients with acute cerebral infarction. *Neurol Res* 20:5, 397-402.

- Jain KK 1999. Neurotropic factors. In (Gilman S, Goldstein GW, Waxman SG, eds). Neurobase, 2nd 1999 ed. San Diego: Arbor Publishing.
- Janeway CA, Tavers P, 1996. Immunobiology, the immune system in health and disease, 2nd ed. London: Current Biology Ltd, ch 6.
- Jean WC, Spellman SR, Nussbaum ES, Low Wc, 1998. Reperfusion injury after focal cerebral ischemia: the role of inflammation and the therapeutic horizon. Neurosurgery 43(6):1382-96; discussion 1396-7.
- Kandel RE, Schwartz JH and Jessel TM, 1995. Essentials of Neuronal Science and Behavior. London: Prentice Hall International Inc, p.27-29.
- Kasner SE, Raps EC, 1999. Current Management of Acute Ischemic Stroke. In (Miller DH, Raps EC, eds). Critical Care Neurology, Bluebooks of Practical Neurology. Boston: Butterworth Heizemann, pp.149-173.
- Kim JS, Yoon SS, Kim YH, Ryu JS, 1996. Serial Measurement of Interleukin-6, Transformig Growth Factor-beta, and S-100 Protein in Patients With Acute Stroke. Stroke 27:1553-1557.
- Kogure T, Kogure K, 1997. Molecular and biochemical events within the brain subjected to cerebral ischemia (targets for therapeutical intervention). Clin Neurosci 4:4, 179-83.
- Kohutnicka M, Czionkowski A, Czionkowska A, 1998. Involvement of the immunological and inflammatory response in the pathogenesis of neurodegenerative and ischemic disease. Med Sci Monit 4 (6): 1096-1103.
- Kosarova M, Havelkova H, Krulova M, Demant P, Lipoldova M, 1999. The production of two Th2 cytokines, interleukin-4 and interleukin-10 is controlled independently by locus Cypr 1 and by loci Cypr2 and Cypr3, respectively. Immunogenetics 49:2, 134-41.
- Kostulas N, Kivisak P, Huang Y, Matusevicius D, Kostulas V, Link H, 1998. Ischemic Stroke Is Associated With a Systemic Increase of Blood Mononuclear Cells Expressing Interleukin-8 mRNA. Stroke 29:462-466.
- Lees KR, 1998. Does neuroprotection improve stroke outcome? The Lancet 351: 1447-1448.
- Legos JJ, Whitmore RG, Erhardt JA, Parsons AA, Tuma RF, Barone FC, 2000. Quantitative changes in interleukin proteins following focal stroke in rat. Neurosci Lett 24;282(3):189-192.

Lehrmann E, Kiefer R, Christensen T, Toyka KV, Zimmer J, Diemer NH, Hartung HP, Finsen B, 1998. Microglia and macrophages are major sources of locally produced transforming growth factor-beta 1 after transient middle cerebral artery occlusion in rats. *Glia* 24:4, 437-48.

Leist M, Nicoten P, 1997. Cell Death: Apoptosis versus Necrosis. In (Welch KMA, Caplan LR, Reis DJ, Siesjo BK, Weir B, eds). *Primer on Cerebrovascular Disease*. San Diego: Academic Press, pp.101-107.

Licinio J, 1997. Central nervous system cytokines and their relevance for neurotoxicity and apoptosis. *J Neural Transm Suppl*, 49():169-75.

Liu T, Clark RK, McDonnell PC, Young PR, White RF, Barone FC, Feuerstein GZ, 1994. Tumor Necrosis Factor- alfa Expression in Ischemic Neurons. *Stroke* 25:1481-1488.

Love BB, 1999. Ischemic Stroke. In (Gilman S, Goldstein GW, Waxman SG, eds). *Neurobase*, 2nd 1999 ed. San Diego: Arbor Publishing.

Matsumoto T, Ikeda K, Mukaida N, Harada A, Matsumoto Y, Yamashita J, Matsushima K, 1997. Prevention of cerebral edema and infarct in cerebral reperfusion injury by an antibody to interleukin-8. *Lab Invest* 77:2, 119-25.

Mattson MP, Mark RJ, 1997. Exitotoxicity and Exitoprotection In Vitro. In (Siesjo BK, Wieloch T, eds). *Cellular and Molecular Mechanisms of Ischemic Brain Damage*. Philadelphia: Lippincot-Raven Publ, pp.1-36.

Meistrell ME 3rd , Botchkina GI, Wang H, Di santo E, Cockroft KM, Bloom O, Vishnubhakat JM, Ghezzi P, Tracey KJ, 1997. Tumor necrosis factor is a brain damaging cytokine in cerebral ischemia. *Shock* 8:5, 341-8.

Mitchell RN, Cotran RS, 1997. Cell Injury, Death, and Adaptation. In (Kumar V, Cotran RS, Robbin SL, eds). *Basic Pathology*, 6th edition. Philadelphia: WB Saunders Co, pp.3-24.

Nieber K, 1999. Hypoxia and neuronal function under in vitro condition. *Pharmacol Ther* 82(1):71-86.

Okada M, Matsumori A, Ono K, Furukawa Y, Shioi T, Iwaaki A, Matsushima K, Sasayama S, 1998. Cyclic stretch upregulates production of interleukin-8 and monocyte chemotactic and activating factor/monocyte chemoattractant protein-1 in human endothelial cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 18:6, 894-901.

Outlines in Clinical Medicine, 1997. Available from:
<http://www.avicenna.com/scripts/thr> Accessed 06/07/1997

Panduan Lengkap SPSS 6.0 for Windows, 1998, Andi Yogyakarta & Wahana Komputer, Semarang, ed 2.

Pantoni L, Sarti C, Inzitari D, 1998. Cytokine and Cell Adhesion Molecules in Cerebral Ischemia, Experimental Bases and Therapeutic Perspectives. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 18:503-513.

Perez Velazquez JL, Frantseva MV, Carlen PL, 1997. In vitro ischemia promotes glutamate-mediated free radical generation and intracellular calcium accumulation in hippocampal pyramidal neurons. *J Neurosci* 1;17(23):9085-94.

Putra ST, 1990. Pola Imunopatologi Kelenjar Getah Bening Regional sebagai Prognostikator Kanker Payudara. (Suatu Pendekatan Morfofungsional, dengan metoda Observasional dan Eksperimental). Disertasi Program Doktor, Program Pascasarjana Unair.

Putra ST, 1997. Konsep Patobiologi dan Imun Mukosal. Dalam: *Imunologi Mukosal Kedokteran*. Ed.1, GRAMIK FK Unair, hal 27-31.

Roitt IM, Brostoff J, Male DK, 1993. *Immunology*, 3rd edition. St.Louis: Mosby. 13.3-5 and 24.8.

Sato H, Jordan JE, Zhao ZQ, Sarvotham SS, Vinten Johansen J, 1997. Gradual reperfusion reduces infarct size and endothelial injury but augments neutrophil accumulation. *Ann Thorac Surg*, 64:4, 1099-107.

Scandinavian Stroke Study Group, 1985. Scandinavian Scale. Available from <http://medx.fbm.msu.ru/Academics/Manuals/Neurology/HTML-eng/eskales2.htm>. Accessed: 11/12/00.

Schneck MJ, 1998. Acute Stroke: An Aggressive Approach to Intervention and Prevention. *Hospital Medicine* 34(1):11-28.

Schwamm LH, Boston MA, 1999. Canada: Education Program Syllabus, American Academy of Neurology, 51st Annual Meeting.

Sharma S, 1996. *Applied Multivariate Techniques*. New York. John Wiley & Sons, Inc. pp.237-286.

Sharp FR, Sanson RA, Honkaniemi J, Kogure K, Massa SM, 1998. Neurochemistry and Molecular Biology. In Barnett HJM, Mohr JP, Stein BM, Yatsu FM. *Stroke, Pathophysiology, Diagnosis and Management*, 3rd edition. New York: Churchill Livingstone, 51-83.

Sherman DG, 2000. Outcomes of Ancrod in Acute Ischemic Stroke (letters). Available from: <http://jama.ama-assn.org/issues/v284n15/ffull/jlt1018-4.html> Accessed: 14/12/00.

Simon RP, 1999. Hypoxia versus ischemia. *Neurology* 52:7.

Soriano SG, Coxon A, Wang YF, Frosch MP, Lipton SA, Hickey PR, Mayadas TN, 1999. Mice deficient in Mac-1 (CD11b/CD18) are less susceptible to cerebral ischemia/reperfusion injury. *Stroke* 30:1, 134-9.

Stoll G, Jander S, Schroeter M, 1998. Inflammation and glial responses in ischemic brain lesions. *Prog Neurobiol* 56:2, 149-71.

Sweeney MI, 1997. Neuroprotective effects of adenosine in cerebral ischemia: window of opportunity' *Neurosci Biobehav Rev* 21:2, 207-17.

Tarkowski E, Rosengren L, Blomstrand C, Wikkelso C, Jensen C, Ekholm S, Tarkowski A, 1995. Early intrathecal production of interleukin-6 predicts the size of brain lesion in stroke. *Stroke* 26(8): 1393-8.

Tarkowski E, Rosengren L, Blomstrand C, Wikkelso C, Ekholm S, Tarkowski A, 1997. Intrathecal release of pro- and anti-inflammatory cytokines during stroke. *Clin Exp Immunol* 110(3):492-9.

Trump BF, Berezsky IK, 1996. The role of altered $[Ca^{2+}]_i$ regulation in apoptosis, onkosis and necrosis. *Biochim Biophys Acta*, 1313(3):173-8.

Trump BF, Berezsky IK, Chang SH, Phelps PC, 1997. The pathways of cell death. *Toxicol Pathol*, 25(1):82-8.

Vila N, Filella X, Deulofeu R, Ascaso C, Abellana R, Chamorro A, 1999. Cytokine-induced inflammation and long-term stroke functional outcome. *J Neurol Sci* 162(2):185-8

Wang X, Barone FC, Aiyar NV, Fuerstein GZ, 1997. Interleukin-1 receptor and receptor antagonist gene expression after focal stroke in rats. *Stroke* 28(1):155-61; discussion 161-2.

Wibisono Soerodikoesoemo, Hari Hardiko, 1989. *Biologi Molekuler*. Yogyakarta: Pusat Antar Universitas – Bioteknologi Universitas Gajah Mada, hal. 223-241.

Yamada T, Hisanaga M, Nakajima Y, Kanehiro H, Aomatsu Y, Ko S, Kin T, Nishio K, Sho M, Nagao M, Harada A, Matsushima K, Nakano H, 1999. The serum interleukin 8 level reflects hepatic mitochondrial redox state in hyperthermo-chemohypoxic isolated liver perfusion with use of a venovenous bypass. *Surgery* 125:3, 304-14.

Yamasaki Y, Kogure K, 1997. Cytokines, Growth Factors, Adhesive Meolecules and Inflammation after Ischemia. In (Welch KMA, Caplan LR, Reis DJ, Siesjo BK, Weir B, eds). *Primer on Cerebrovascular Disease*. San Diego: Academic Press, pp. 265-269.

Yamasaki Y, Matsuo Y, Zagorski J, Matsuura N, Onodera H, Itoyama Y, Kogure K, 1997. New therapeutic possibility of blocking cytokine-induced neutrophil chemoattractant on transient ischemic brain damage in rats. *Brain Res* 759-1, 103-11.

Yang GY, Zhao YJ, Davidson BL, Betz AL, 1997. Overexpression of interleukin1 receptor antagonist in the mouse brain reduces ischemic brain injury

PEMERINTAH PROPINSI JAWA TENGAH
RSUD DR. MOEWARDI SURAKARTA

Jl. Kol. Sutarto No. 132 Telp. 634634 Fax. 637412 Surakarta.

Nomor : 843/1800/2000

Surakarta, 8 Mei 2000

Lampiran :

Perihal : Ijin Penelitian.

K e p a d a :
 Yth. Dr. Suroto, Sp.S
 di –
SURAKARTA.

Memperhatikan surat saudara tanggal 28 April 2000 nomor - perihal permohonan ijin melaksanakan penelitian di RSUD Dr. Moeawardi Surakarta.

Dengan ini disampaikan bahwa pada prinsipnya kami tidak keberatan memberikan ijin kepada saudara untuk melaksanakan penelitian termaksud.

Untuk memperlancar kegiatan dimaksud saudara dapat menghubungi Ka. SMF Penyakit Saraf dan Bidang Diklat RSDM.

Demikian untuk menjadikan periksa dan terima kasih.



MOEWARDI SURAKARTA
 Direktur,

A. RASIM, MM, MARS.
 Pembina Utama Muda
 NIP. 140 052 362

Tembusan Kepada Yth. :

1. Wadir Jang Med & Pendidikan RSDM
2. Ka. SMF SARAF RSDM
3. Ka. Bidang Diklat RSDM
4. Arsip.

FORMULIR PERSETUJUAN

Dengan ini saya:

Nama :

Umur :

Jenis kelamin :

Etnis :

Pekerjaan :

Alamat :

No. KTP :

Setelah mendapatkan keterangan secukupnya serta menyadari manfaat dan resiko penelitian yang berjudul:

*'Peran Interleukin-8, sitokin pro-inflamatorik (IL-1 beta, TNF alfa)
dan sitokin anti-inflamatorik (TGF beta, IL-4) pada penderita stroke iskemik akut'*

Dengan sukarela menyatakan menyetujui diikut sertakan dalam penelitian diatas dengan catatan apabila suatu waktu merasa dirugikan dalam bentuk apapun, berhak membatalkan persetujuan ini.

Surakarta, 2000

Peserta Penelitian,

(.....)

Penanggung jawab
Penelitian

Saksi

(.....)

(.....)

PERSETUJUAN TINDAKAN MEDIS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama :
 Umur/kelamin :
 Alamat :
 Bukti diri / KTP :

Dengan ini menyatakan dengan sesungguhnya telah memberikan PERSETUJUAN Untuk dilakukan tindakan medis berupa anamnesis, pemeriksaan fisik, pengambilan darah untuk laboratorium serta pemeriksaan radiologis terhadap diri saya sendiri /isteri/ suami/ anak/ ayah/ ibu/ saudara saya:

Nama :
 Umur/kelamin :
 Alamat :
 Bukti diri KTP :
 Dirawat di :
 Nomor rekam medis :

Yang tujuan, sifat dan perlunya tindakan medis tersebut diatas, serta resiko yang dapat ditimbulkannya telah cukup dijelaskan oleh dokter dan telah saya mengerti sepenuhnya.

Demikian pernyataan persetujuan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan telah saya mengerti sepenuhnya.

Surakarta,.....2000

Saksi I

Saksi II

Dokter

Yang membuat pernyataan

(.....) (.....) (.....) (.....)

**SURAT KETERANGAN
KELAIKAN ETIK PENELITIAN**

115

No. : 27/ETIK-KK/VIII/00

Tgl. 1 Juli 2000

Panitia Komite Etik RSUD Dr.Moewardi Surakarta menerangkan bahwa :

Judul Penelitian : "Peran IL- 8, Sitokin Pro-Inflamatorik (IL-1 beta, TNF alfa) dan Sitokin Anti-Inflamatorik (TGF-beta, IL-4) pada penderita Stroke Iskemik Akut"

Nama peneliti : Dr.Suroto, Sp.S

dinyatakan **laik etik.**

Panitia Komite Etik RSUD Dr.Moewardi Surakarta

Ketua : Dr.Zaenal Arifin Adnan, Sp.PD (.....)

Sekretaris : Dr.Samuel Ngahu, Sp.B (.....)

Anggota : Dr.Tri Budi Wiryanto, Sp.OG (.....)

Dr.Marthonus Judin, Sp.An (.....)

Dr.Mardiyatmi, SpJ (.....)

Prosedur Pemeriksaan Kadar Sitokin dalam Darah

Untuk pemeriksaan sitokin IL-1 beta digunakan cara *ELISA-sandwich*. Reagen yang dipakai: *Quantikine human IL-1 beta* buatan R&D systems.

Asai ini menggunakan tehnik imuno-asai enzim *sandwich*. Antibodi monoklonal yang spesifik terhadap IL-1 beta ditempatkan kedalam *microplate*. Standar, sampel dan konjugat dipipetkan kedalam *well*; IL-1 beta yang ada di-*sandwich* oleh antibodi yang di-*immobilize* serta *enzyme-linked polyclonal antibody* yang spesifik untuk IL-1 beta.

Setelah pencucian untuk membuang substansi yang *unbound* dan/atau reagen enzim antibodi, larutan substrat ditambahkan kedalam *well* dan akan timbul warna yang proporsional dengan jumlah IL-1 beta yang terikat. Pembentukan warna kemudian distop dan intensitas warna diukur.

Reagen terdiri atas:

1. *Microplate IL-1 beta*, berupa 96 *well microplate polystyrene* (12 strip masing-masing 8 *well*) yang diisi dengan antibodi monoklonal murin terhadap IL-1.
2. *Conjugate IL-1 beta*, berupa 11.5 ml antibodi poliklonal terhadap IL-1, yang dikonjugasi pada HRP (*horseradish peroxidase*), dengan pengawet dan pengecatan merah.
3. *Standard IL-1 beta*, berupa 10 ng *human IL-1 recombinant*, didalam *buffered protein base*, dengan pengawet dan di-*lyophilize*.
4. *Assay Diluent RD1-8*, berupa 11 ml *buffered protein base* dengan pengawet dan pengecatan biru.
5. *Calibrator Diluent RD6Z*, 21 ml serum binatang dengan pengawet.
6. *Wash Buffer Concentrate* 21 ml dari larutan terkonsentrasi 25 kali lipat dari *buffered surfactant* dengan pengawet
7. *Reagen warna A*, berupa 12.5 ml hidrogen peroksida yang distabilkan
8. *Reagem warna B*, berupa 12.5 ml khromogen (tetra-metil-benzidin) yang distabilkan.
9. *Stop solution*, 6l dari 2 N *sulfuric acid*.
10. *Plate Covers* berupa 4 strip yang dapat lengket.

Perlengkapan lain yang dipakai:

1. *Microplate reader*, yang mampu mengukur *absorbance* pada 450 nm dengan penempatan panjang gelombang koreksi pada 540 atau 570.
2. Pipet dan *pipette tips*
3. Air yang diionisasi atau didestilasi
4. Pipet *multi channel*, botol *squirt*, dispenser *manifold* atau pencuci *microplate* otomatis.
5. Tabung bertahap 100 ml dan 500 ml.

Penyiapan reagen:

1. Buffer pencuci – Bila terbentuk kristal pada *buffer concentrate*, hangatkan pada temperatur kamar dan campurkan dengan hati-hati sampai kristal terlarut sempurna. Larutkan 20 ml *Wash Buffer Concentrate* kedalam air yang sudah diionisasi atau didestilasi untuk mendapatkan 500 ml *Wash Buffer*.
2. Larutan substrat – reagen warna A dan B harus dicampur bersama dalam volume yang *equal* dalam 15 menit Diperlukan 200 ul hasil campuran untuk setiap well.
3. *Calibrator Diluent RD5P (1x)* – Larutkan 20 ml *Calibrator Diluent RD5P Concentrate (5x)* kedalam air yang telah diionisasi atau didestilasi untuk mendapatkan 100 ml *Calibrator Diluent RD5P (1x)*.
4. *Standard IL- beta* – Rekonstitusi standard IL-1 dengan *Calibrator Diluent RD5P* Rekonstitusi ini menghasilkan *stock solution* 2000 pg /ml.

Prosedur *assay*:

1. Siapkan semua reagen, sampel dan standard
2. Tambahkan 100 uL *Assay Diluent RD1-8* pada setiap well.
3. Tambahkan 50 uL standard atau sampel kepada masing-masing well.
4. Tambahkan 100 uL konjugat pada setiap well.
5. Inkubasi selama 3 jam. Temperatur kamar.
6. Aspirasi dan cuci 6x.
7. Tambahkan 200 uL larutan substrat pada setiap *well*. Inkubasi selama 30 menit. Temperatur kamar.
8. Tambahkan 50 uL *Stop Solution* pada setiap well. Baca pada 450 nm dalam 30 menit. Koreksi panjang gelombang 540 atau 570 nm.

Pemeriksaan TNF alfa, IL-8, IL-4 dan TGF beta, serupa dengan cara diatas.

Tabel: Faktor risiko pada 3 kelompok

No.	Nama	BB 1: n/< 2: >	S mm Hg	D mm Hg	GD puasa (mg%)	Rokok 1:ya 2:tidak	Jantung 1: kel - 2: kel+	Faktor risiko	Kelom pok
1.	Skr	1	160	100	110	2	1	--	1
2.	Pmn	1	160	90	332	2	1	DM	1
3.	Spd	1	140	80	103	2	1	--	1
4.	Ssw	2	140	80	130	2	1	BBB	1
5.	Bsn	2	170	110	192	2	1	BBB+HT+DM	1
6.	Skd	2	150	80	88	2	1	BBB	1
7.	Wmt	1	150	80	123	1	1	DM+rokok	1
8.	Mts	1	180	120	102	1	1	HT+rokok	1
9.	Mhd	1	150	100	127	1	1	DM+rokok	1
10.	Prn	1	150	100	72	1	1	rokok	1
11.	Mjm	2	130	90	170	1	2	DM+rokok+jantung	1
12.	Snn	1	180	110	123	2	2	HT+DM+jantung	1
13.	Pgh	1	130	80	106	1	1	rokok	1
14.	Mgn	1	150	90	171	2	1	DM	1
15.	Pwa	1	150	80	83	1	1	rokok	1
16.	Mtw	1	220	140	91	1	1	rokok	1
17.	Mrn	1	160	100	110	2	1	--	1
18.	Est	1	160	100	141	2	1	--	1
19.	Nrs	1	190	100	271	2	1	HT	1
20.	Hsd	1	150	90	98	2	1	--	1
21.	Jky	1	180	80	110	2	1	HT	1
22.	Wjy	1	120	70	226	2	1	DM	1
23.	Skj	1	190	100	122	2	1	HT+DM	1
24.	Tgl	2	200	140	89	2	1	BBB+HT	2
25.	Smt	1	140	90	80	1	1	rokok	2
26.	Skn	1	110	60	181	2	1	DM	2
27.	Tnw	1	120	70	315	2	1	DM	2
28.	Wkd	1	140	90	99	1	1	rokok	2
29.	Swd	1	180	100	89	2	1	HT	2
30.	Dts	1	150	90	99	1	1	rokok	2
31.	Sws	2	130	90	78	2	1	BBB	2
32.	Cmd	1	160	90	90	1	1	rokok	2
33.	Sdw	2	160	100	109	1	1	BBB+rokok	2
34.	Smd	2	150	90	150	2	1	BBB+DM	2
35.	Dsm	1	140	90	99	1	1	rokok	2
36.	Bmn	1	140	100	101	2	2	jantung	2
37.	Rjs	1	140	90	251	2	1	DM	2
38.	Rmn	1	190	110	105	2	1	HT	2
39.	Smy	2	130	80	88	2	1	BBB	2
40.	Syt	1	140	70	162	2	1	DM	2
41.	Spd	1	150	70	86	2	2	jantung	2
42.	Jmr	1	180	100	100	2	1	HT	2
43.	Amn	1	120	80	203	2	1	DM	2
44.	Sjt	1	170	80	96	2	1	HT	2
45.	Npa	1	120	70	159	2	1	DM	2
46.	Smh	2	130	80	165	2	1	BBB+DM	2
47.	Pwt	1	130	70	83	2	1	--	3

48.	Smn	1	130	80	100	2	1	--	3
49.	Swn	1	120	80	83	2	1	--	3
50.	Snj	1	150	100	93	2	1	--	3
51.	Srp	1	110	70	84	2	1	--	3
52.	Sml	1	140	90	88	2	1	--	3
53.	Ikd	1	120	80	100	2	1	--	3
54.	Wsn	1	130	80	106	2	1	--	3
55.	Sjt	1	120	80	82	2	1	--	3
56.	Sms	1	140	90	92	2	1	--	3
57.	Spg	1	120	80	89	2	1	--	3
58.	Ims	1	140	90	89	2	1	--	3
59.	Stw	1	120	70	100	2	1	--	3
60.	Swt	1	150	90	109	2	1	--	3
61.	Kmj	1	150	90	99	2	1	--	3
62.	Srt	1	140	90	109	2	1	--	3
63.	Smc	1	160	80	101	2	1	--	3
64.	Sry	1	130	80	114	2	1	--	3
65.	Smr	1	140	70	93	2	1	--	3
66.	Smh	1	150	90	124	2	1	--	3
67.	Snm	1	160	100	108	2	1	--	3
68.	Hrw	1	140	90	87	2	1	--	3
69.	Sth	1	140	80	106	2	1	--	3

Keterangan:

BB : berat badan

1: Tidak berlebih

2: berlebih

S : tekanan darah sistolik

D : tekanan darah diastolik.

GD puasa : gula darah puasa

Merokok : ya: merokok 10 batang sehari atau lebih selama minimal 1 tahun

EKG : Elektro-kardiografi

Jantung : +: klinis ada dekomposisi, kelainan katup atau pada EKG ada gambaran aritmia, fibrilasi atau gangguan koroner

BBB: : berat badan berlebih (*overweight*)

HT : hipertensi

DM : Diabetes Melitus

Kelompok 1 : kelompok kasus stroke

Kelompok 2 : kelompok kontrol dengan faktor risiko

Kelompok 3 : kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Tabel: Subyek penelitian dan gambaran darah tepi (1000/mm³)

No.	Nama	Kelom pok	Leko	Eri	Trom	Neu	Lym	Mon	Eos	Bas	Luc
1	Skr	1	14,73	04,81	359	12,54	1,47	,63	,00	,03	,06
2	Pmn	1	7,44	4,54	197	5,17	1,51	,40	,18	,05	,13
3	Spd	1	16,56	4,53	313	14,95	,73	,79	,00	,02	,05
4	Ssw	1	13,34	5,85	342	11,85	,72	,63	,03	,05	,07
5	Bsn	1	7,65	5,38	281	5,47	1,47	,38	,22	,04	,07
6	Skd	1	6,76	5,19	145	3,47	1,80	,45	,95	,02	,06
7	Wmt	1	7,74	4,64	191	5,21	1,56	,73	,10	,05	,09
8	Mts	1	13,95	4,91	385	11,66	1,31	,82	,03	,06	,07
9	Mhd	1	10,95	4,26	357	8,15	1,60	,95	,05	,04	,16
10	Prn	1	11,04	5,71	227	8,00	2,12	,63	,12	,07	,10
11	Mjm	1	9,99	3,88	400	5,40	2,78	1,17	,31	,10	,23
12	Snn	1	12,85	3,32	363	10,58	1,45	,77	,01	,03	,03
13	Pgh	1	18,21	3,93	425	15,86	1,80	,44	,02	,05	,04
14	Mgn	1	4,85	5,09	209	4,76	,80	,20	,00	,01	,05
15	Pwa	1	16,64	4,51	351	13,73	1,80	,90	,02	,07	,12
16	Mtw	1	10,39	4,72	323	7,82	1,48	,53	,43	,06	,08
17	Mrn	1	11,43	4,42	247	9,43	1,53	,39	,00	,03	,05
18	Est	1	4,61	4,29	248	2,42	1,45	,42	,06	,07	,19
19	Nrs	1	7,01	4,76	434	3,75	2,29	,37	,34	,10	,16
20	Hsd	1	10,02	5,05	394	6,57	2,47	,44	,33	,03	,18
21	Jky	1	7,63	4,05	209	5,42	1,60	,38	,09	,02	,11
22	Wjy	1	6,18	4,66	291	3,20	2,06	,44	,20	,02	,25
23	Skj	1	10,86	3,86	318	9,94	,49	,38	,00	,02	,02
24	Tgl	2	8,96	4,28	181	6,35	1,26	1,28	,01	,02	,04
25	Smt	2	9,48	4,74	237	6,29	1,43	,82	,80	,09	,07
26	Skn	2	11,34	3,70	245	7,50	2,53	,66	,44	,06	,16
27	Tnw	2	10,33	3,61	492	8,57	1,27	,30	,00	,04	,13
28	Wkd	2	5,12	4,42	167	3,19	1,48	,30	,04	,02	,09
29	Swd	2	6,9	4,60	279	3,89	2,33	,30	,21	,02	,15
30	Dts	2	5,16	4,35	301	2,52	1,87	,38	,21	,02	,17
31	Sws	2	7,48	4,27	266	4,61	2,20	,43	,09	,01	,13
32	Cmd	2	6,27	3,95	315	3,71	1,66	,31	,43	,03	,14
33	Sdw	2	7,36	5,14	254	3,83	21,27	,71	,52	,04	,13
34	Smd	2	12,19	4,36	365	6,74	4,38	,55	,22	,05	,26
35	Dsm	2	9,76	5,10	333	5,90	2,27	,70	,62	,07	,20
36	Bmn	2	6,55	4,75	236	2,91	2,58	,31	,56	,02	,18
37	Rjs	2	8,08	5,01	297	4,86	2,23	,59	,21	,02	,17
38	Rmn	2	7,43	4,58	250	4,50	2,27	,32	,08	,04	,21
39	Smy	2	3,09	3,55	69	1,42	,71	,28	,49	,02	,17
40	Syt	2	6,49	4,72	262	3,89	2,00	,39	,07	,02	,10
41	Spd	2	5,21	3,92	301	3,13	1,48	2,81	,17	,01	,15
42	Jmr	2	6,78	4,63	326	3,88	2,30	,32	,12	,03	,14
43	Amn	2	7,8	4,45	332	4,77	2,29	,35	,25	,05	,09
44	Sjt	2	8,83	4,69	302	5,07	3,17	,43	,00	,03	,14
45	Npa	2	7,37	3,54	250	4,27	2,06	,50	,39	,03	,13
46	Smh	2	7,27	5,22	183	3,61	2,97	,32	,21	,04	,12
47	Pwt	3	13,66	5,36	242	10,26	1,94	,78	,44	,05	,18
48	Smn	3	12,28	3,51	390	10,30	1,35	,52	,02	,04	,04
49	Swm	3	4,98	3,12	368	3,23	1,23	,36	,11	,01	,03

50	Snj	3	7,57	4,85	254	5,48	1,23	,51	,21	,03	,11
51	Srp	3	7,16	4,35	358	4,63	1,85	,47	,08	,01	,11
52	Sml	3	8,27	4,41	285	5,01	2,41	,40	,27	,02	,17
53	Ikd	3	8,54	4,95	192	5,86	1,86	,43	,23	,03	,14
54	Wsn	3	5,16	4,52	185	2,58	1,91	,29	,23	,02	,13
55	Sjt	3	5,63	4,74	233	3,31	1,19	,41	,53	,02	,16
56	Sms	3	9,32	4,22	292	4,99	3,34	,72	,08	,06	,15
57	Spg	3	5,97	5,07	204	3,27	1,77	,67	,15	,02	,10
58	Ims	3	6,13	4,85	259	3,76	1,47	,25	,39	,03	,24
59	Stw	3	5,27	2,29	264	2,35	2,36	,35	,03	,05	,14
60	Swt	3	6,38	4,28	316	3,80	1,84	,36	,19	,02	,18
61	Kmj	3	7,07	4,44	213	5,15	1,28	,52	,03	,02	,06
62	Srt	3	7,68	4,49	285	4,70	1,90	,58	,29	,02	,18
63	Smc	3	5,11	4,39	225	2,67	1,65	,49	,16	,02	,12
64	Sry	3	5,43	5,01	226	2,92	1,94	,30	,12	,03	,11
65	Smr	3	6,48	4,29	303	4,54	1,41	,27	,15	,02	,09
66	Smh	3	6,08	4,21	317	3,48	1,97	,30	,16	,02	,14
67	Snm	3	11,21	4,36	239	6,09	4,18	,58	,13	,07	,17
68	Hrw	3	5,31	4,39	256	2,94	1,83	,24	,10	,02	,19
69	Sth	3	7,34	3,75	307	3,15	3,35	,37	,30	,04	,13

Keterangan:

Kelompok 1: kelompok kasus stroke

Kelompok 2: kelompok kontrol dengan faktor risiko

Kelompok 3: kelompok kontrol tanpa faktor risiko

Leko : lekosit

Eri : eritrosit

Trom : trombosit

Neu : netrofil

Mon : monosit

Eos : eosinofil

Bas : basofil

Luc : *large unpaint cell*

Tabel: Subyek penelitian dan kimia darah (mg%)

Nama	Kelompok	Hb	HCT	LED	FIB	GDN	UA	CH	TG	HDL	LDL	Lp(a)	Alb
Skr	1	14,0	42,9	14	251	110	6,07	298	146	36	231	20,5	4,50
Pmn	1	12,7	30,0	37	416	332	7,62	276	294	42	165	153,3	,
Spd	1	12,8	40,7	57	416	103	3,19	300	246	53	119	18,1	4,00
Ssw	1	15,3	47,0	63	467	130	8,67	251	112	58	172	67,6	4,10
Bsn	1	15,0	42,4	25	308	192	6,28	240	285	36	142	22,4	4,10
Skd	1	10,5	31,7	7	242	88	5,56	146	105	28	95	16,6	2,80
Wmt	1	15,1	44,5	13	293	123	9,10	224	104	26	177	25,4	4,00
Mts	1	15,7	47,8	77	516	102	7,63	279	118	53	203	61,7	3,60
Mhd	1	15,9	38,5	80	612	127	6,07	224	67	51	151	21,2	3,20
Prn	1	17,4	227	3	273	72	6,77	205	127	30	154	28,5	3,40
Mjm	1	11,3	33,1	2	242	170	4,19	206	147	32	155	20,5	3,70
Snn	1	9,4	27,9	5	296	123	6,89	265	93	46	190	<10,0	4,10
Pgh	1	12,3	38,6	126	322	106	3,0	250	99	40	181	<10,0	2,60
Mgn	1	14,6	43,7	6	273	171	3,28	211	88	48	139	62,7	3,40
Pwa	1	13,1	40,9	8	242	83	4,68	244	161	37	181	17,2	3,50
Mtw	1	15,4	46,6	20	322	91	11,51	196	157	40	119	19,2	4,00
Mrn	1	13,5	39,1	21	296	110	2,51	230	152	48	149	47,7	3,00
Est	1	12,3	36,9	22	342	141	7,25	205	320	34	112	25,8	,
Nrs	1	12,3	38,4	40	407	271	7,55	304	161	36	220	51,0	,
Hsd	1	13,5	41,1	17	279	98	6,99	241	132	40	176	107,3	3,60
Jky	1	12,0	36,7	13	242	110	8,5	180	76	45	115	25,4	4,40
Wjy	1	13,9	41,7	22	322	226	3,05	212	110	38	150	110,9	2,70
Skj	1	12,1	38,8	60	337	122	4,94	199	65	57	28*	16,9	,
Tgl	2	12,7	39,6	9	199	89	9,19	147	48	42	98	15,9	3,30
Smt	2	13,8	41,9	38	335	80	4,7	213	97	41	151	102,4	3,10
Skn	2	10,9	33,5	12	322	181	2,86	198	167	30	145	76,3	3,50
Tnw	2	11,3	35,1	35	563	315	8,64	175	118	18	144	70,4	1,80
Wkd	2	13,9	41,5	8	228	99	6,50	173	63	51	103	43,5	3,40
Swd	2	15,1	4,51	5	228	89	7,48	198	95	43	129	23,8	3,50
Dts	2	13,9	41,6	30	351	99	6,79	245	184	32	168	<10,0	4,00
Sws	2	13,9	41,3	22	343	78	5,06	175	96	48	110	68,3	3,40
Cmd	2	11,1	32,2	24	242	90	4,88	192	69	50	122	10,0	3,80
Sdw	2	16,2	48,0	25	284	109	7,25	320	167	44	234	42,8	4,80
Smd	2	13,8	41,4	35	381	150	9,37	267	200	47	172	17,1	4,30
Dsm	2	16,3	45,0	70	441	99	9,59	221	392	27	105	12,7	3,60
Bmn	2	14,4	43,8	55	336	101	6,86	240	182	46	92	17,1	3,50
Rjs	2	15,9	47,3	41	392	251	4,35	212	255	36	118	33,8	4,10
Rmn	2	13,7	41,8	40	339	105	5,39	210	110	45	135	54,8	4,30
Smy	2	11,6	35,2	28	251	88	4,87	200	104	45	133	14,4	3,60
Syt	2	14,6	43,4	15	228	162	4,95	225	119	45	161	<10,0	4,10
Spd	2	12,9	37,8	55	251	86	5,71	195	76	68	117	15,0	4,20
Jmr	2	13,6	39,7	44	273	100	6,69	260	345	45	134	12,8	3,70
Amn	2	12,7	37,0	22	329	203	5,26	232	266	36	132	152,5	3,60
Sjt	2	14,0	40,4	36	336	96	5,56	271	179	57	171	38,6	3,80
Npa	2	10,6	31,5	85	416	159	5,82	226	235	33	126	36,7	3,70
Smh	2	14,6	44,3	14	284	165	4,8	241	586	34	90	33,4	4,70
Pwt	3	15,3	49,8	25	476	83	5,82	155	102	31	101	41,1	,
Smn	3	10,3	30,4	103	475	100	6,79	211	156	35	126	14,1	3,70
Swm	3	9,7	29,2	20	469	83	7,67	236	191	38	159	51,9	3,60

Snj	3	15,1	43,4	4	215	93	6,05	224	111	50	136	32,5	3,10
Srp	3	9,6	30,1	17	215	84	7,15	238	179	57	144	47,3	4,00
Sml	3	13,7	40,3	24	251	88	4,59	210	80	47	140	21,3	4,00
Ikd	3	15,3	44,2	12	322	100	4,97	154	79	39	94	21,8	4,20
Wsn	3	14,8	44,0	23	273	106	5,93	196	239	41	93	28,5	4,00
Sjt	3	15,3	45,9	12	242	82	5,24	194	42	41	145	24,0	3,90
Sms	3	13,5	39,0	10	251	92	7,70	174	65	58	98	37,5	3,30
Spg	3	15,0	41,7	20	322	89	6,64	181	204	37	97	14,3	4,00
Ims	3	15,0	44,1	17	284	89	9,79	242	153	47	161	25,6	4,00
Stw	3	8,4	25,7	63	251	100	4,33	154	73	63	68	<10,0	3,60
Swt	3	12,6	39,0	35	296	109	8,32	235	213	34	150	14,1	4,20
Kmj	3	13,0	38,7	23	273	99	4,26	278	113	53	195	26,6	3,90
Srt	3	14,5	41,2	10	273	109	4,86	281	95	58	193	26,8	4,30
Smc	3	13,5	39,6	12	242	101	6,14	226	123	50	152	19,9	4,10
Sry	3	14,4	44,2	15	235	114	5,98	187	68	58	106	10,9	3,30
Smr	3	12,9	36,9	44	336	93	3,32	226	230	42	129	16,0	3,90
Smh	3	13,3	39,9	25	329	124	7,99	215	139	51	119	28,3	4,00
Snm	3	12,5	37,6	58	336	108	6,72	327	275	46	131	117,4	3,50
Hrw	3	13,0	39,9	42	308	87	4,16	193	112	52	113		3,50
Sth	3	11,2	31,8	62	296	106	7,57	247	295	39	133	95,8	3,10

Keterangan:

Kelompok 1 kelompok kasus stroke

Kelompok 2:kelompok kontrol dengan faktor risiko

Kelompok 3: kelompok ontlol tanpa faktor risiko

Hb : Hemoglobin

HCT : Hematokrit

LED : Laju Endap Darah

FIB : Fibrinogen

GDN : Gula Darah Puasa

UA : asam urat

CH : kolesterol

TG : trigliserida

HDL : kolesterol LDL

LDL : kolesterol LDL

Lp(a) : lipoprotein a

Tabel: Subyek penelitian dan kadar sitokin

No.	Nama	Kelompok	TNF alfa pg/ml	IL-1 beta pg/ml	IL-8 pg/ml	IL-4 pg/ml	TGF beta pg/ml	Luas infark (cm)	Luas infark (1-2)
1	Skr	1	9,6	1,96	27,3	21,7	1,98	1,40	2,00
2	Pmn	1	13,7	2,52	61,0	15,0	2,94	1,70	1,00
3	Spd	1	10,2	1,76	30,2	15,6	0,76	3,10	1,00
4	Ssw	1	28,6	2,97	138,0	23,6	2,33	2,20	1,00
5	Bsn	1	55,4	2,89	29,4	17,4	3,56	2,80	1,00
6	Skd	1	96,7	2,38	20,1	16,2	2,33	1,30	2,00
7	Wmt	1	66,7	1,43	62,6	26,6	3,89	1,10	2,00
8	Mts	1	7,4	1,63	72,9	15,6	2,23	2,10	1,00
9	Mhd	1	10,0	3,04	36,0	11,6	2,44	1,40	2,00
10	Prn	1	6,4	1,96	21,2	18,6	2,89	2,30	2,00
11	Mjm	1	17,5	2,97	75,2	12,7	4,96	1,70	1,00
12	Snn	1	8,3	2,89	25,6	23,6	8,56	1,10	2,00
13	Pgh	1	6,5	1,31	119,7	25,5	2,49	2,30	1,00
14	Mgn	1	5,7	1,50	21,2	19,8	0,85	,90	2,00
15	Pwa	1	12,3	3,19	22,4	12,1	5,57	1,00	2,00
16	Mtw	1	11,3	2,31	15,6	13,8	2,23	1,30	2,00
17	Mrn	1	10,2	2,03	13,2	17,4	0,68	1,40	2,00
18	Est	1	10,9	2,10	24,8	15,0	2,23	1,40	2,00
19	Nrs	1	16,4	2,67	22,8	15,0	6,46	1,20	2,00
20	Hsd	1	25,1	3,69	40,2	18,6	7,05	1,90	1,00
21	Jky	1	21,1	3,82	25,3	20,4	0,53	1,10	2,00
22	Wjy	1	26,2	4,12	38,1	12,7	4,88	2,10	1,00
23	Skj	1	20,7	3,82	23,2	13,3	2,38	1,30	2,00
24	Tgl	2	10,3	2,17	18,6	6,8	1,11	-	-
25	Smt	2	8,8	2,36	52,3	14,4	4,17	-	-
26	Skn	2	20,7	1,25	86,6	26,8	1,49	-	-
27	Tnw	2	10,2	1,56	35,5	23,6	1,04	-	-
28	Wkd	2	9,8	1,96	14,9	20,4	1,84	-	-
29	Swd	2	9,6	2,60	12,9	16,2	0,97	-	-
30	Dts	2	10,0	2,45	21,6	9,9	7,49	-	-
31	Sws	2	13,5	2,89	17,8	12,7	2,38	-	-
32	Cmd	2	11,5	3,35	18,6	15,0	12,34	-	-
33	Sdw	2	10,9	2,97	13,6	16,2	0,71	-	-
34	Smd	2	9,4	2,52	11,9	18,0	2,83	-	-
35	Dsm	2	17,7	2,67	24,8	12,1	2,18	-	-
36	Bmn	2	12,1	2,67	13,9	13,8	5,49	-	-
37	Rjs	2	7,9	1,31	12,9	19,2	1,07	-	-
38	Rmn	2	12,3	2,24	18,2	9,4	0,60	-	-
39	Smy	2	8,7	2,17	14,2	13,8	<0,47	-	-
40	Syt	2	10,2	1,96	18,6	11,6	2,89	-	-
41	Spd	2	12,5	1,37	14,2	21,7	1,57	-	-
42	Jmr	2	6,4	2,74	17,8	18,0	1,98	-	-
43	Amn	2	9,0	1,17	17,8	28,1	3,50	-	-
44	Sjt	2	11,5	1,45	18,9	27,4	2,33	-	-
45	Npa	2	10,9	0,96	15,3	18,6	1,88	-	-
46	Smh	2	12,9	1,89	21,2	19,2	0,85	-	-
47	Pwt	3	10,9	1,76	64,8	19,8	0,94	-	-
48	Smn	3	23,0	2,45	100,9	21,7	7,40	-	-

49.	Swn	3	9,4	2,10	11,6	15,6	3,76	-	-
50.	Snj	3	13,5	3,12	22,0	12,7	4,81	-	-
51.	Srp	3	12,3	2,89	14,9	20,4	9,21	-	-
52.	Sml	3	7,9	1,76	12,5	25,5	2,08	-	-
53.	lkd	3	13,9	3,35	19,7	12,1	4,52	-	-
54.	Wsn	3	8,5	2,24	14,6	19,8	2,33	-	-
55.	Sjt	3	11,3	2,52	12,5	29,4	0,76	-	-
56.	Sms	3	9,8	1,82	13,9	15,0	0,49	-	-
57.	Spg	3	13,9	1,07	20,5	11,0	1,79	-	-
58.	Ims	3	10,0	3,12	18,9	13,3	3,89	-	-
59.	Stw	3	9,6	1,43	46,8	13,3	<0,47	-	-
60.	Swt	3	9,2	1,23	12,2	8,4	0,65	-	-
61.	Kmj	3	16,6	2,52	22,4	9,9	3,50	-	-
62.	Srt	3	11,9	2,52	16,7	15,6	10,26	-	-
63.	Smc	3	10,2	3,43	16,7	28,1	1,57	-	-
64.	Sry	3	11,3	2,45	18,9	16,8	1,45	-	-
65.	Smr	3	9,8	1,90	16,7	21,7	3,12	-	-
66.	Smh	3	19,2	1,07	22,0	11,6	1,98	-	-
67.	Snm	3	13,7	0,82	16,7	22,9	2,08	-	-
68.	Hrw	3	7,6	0,56	14,9	21,0	0,53	-	-
69.	Sth	3	8,8	0,45	13,6	13,3	2,08	-	-

Keterangan: kelompok 1: kelompok kasus stroke

kelompok 2: kelompok kontrol dengan faktor risiko

kelompok 3: kelompok kontrol tanpa faktor risiko

luas infark (cm): (diameter sagital + transversal) : 2

luas infark (1-2): 1: luas infark (cm) < atau = 1,5 cm

2: luas infark (cm) > 1,5 cm

UJI HOMOGENITAS FAKTOR RISIKO

Fisher's exact test untuk tabel 2x3 dan 2x2

Faktor Resiko	Kasus stroke	Kontrol +	Kontrol -
Hipertensi +	6	5	0
Hipertensi -	17	18	23
Jumlah	23	23	23

Statistik Fisher : $FI(x) = 7,743$ $p = 0,0320$

Kesimpulan terdapat perbedaan sebaran faktor resiko hipertensi antara 3 kelompok

Faktor Resiko	Kasus stroke	Kontrol +
Hipertensi +	6	5
Hipertensi -	17	18
Jumlah	23	23

Statistik Fisher : $FI(x) = 0,1598$ $p = 1,0000$

Kesimpulan tidak terdapat perbedaan sebaran faktor resiko hipertensi antara 2 kelompok

Faktor Resiko	Kasus stroke	Kontrol +	Kontrol -
Jantung +	2	2	0
Jantung -	21	21	23
Jumlah	23	23	23

Statistik Fisher : $FI(x) = 2,173$ $p = 0,5356$

Kesimpulan tidak terdapat perbedaan sebaran faktor resiko penyakit jantung antara 3 kelompok

Faktor Resiko	Kasus stroke	Kontrol +
Jantung +	2	2
Jantung -	21	21
Jumlah	23	23

Statistik Fisher : $FI(x) = 0,1248$ $p = 1,0000$

Kesimpulan tidak terdapat perbedaan sebaran faktor resiko penyakit jantung antara 2 kelompok

Faktor Resiko	Kasus stroke	Kontrol +	Kontrol -
Merokok +	8	6	0
Merokok -	15	17	23
Jumlah	23	23	23

Statistik Fisher : $FI(x) = 10,89$ $p = 0,0056$

Kesimpulan terdapat perbedaan sebaran faktor resiko merokok antara 3 kelompok

Faktor Resiko	Kasus stroke	Kontrol +
Merokok +	8	6
Merokok -	15	17
Jumlah	23	23

Statistik Fisher : $FI(x) = 0,4287$ $p = 0,7494$

Kesimpulan tidak terdapat perbedaan sebaran faktor resiko merokok antara 2 kelompok

Faktor Resiko	Kasus stroke	Kontrol +	Kontrol -
Diabet +	9	8	0
Diabet -	14	15	23
Jumlah	23	23	23

Statistik Fisher : $FI(x) = 13,74$ $p = 0,0012$

Kesimpulan terdapat perbedaan sebaran faktor resiko penyakit diabet antara 3 kelompok

Faktor Resiko	Kasus stroke	Kontrol +
Merokok +	9	8
Merokok -	14	15
Jumlah	23	23

Statistik Fisher : $FI(x) = 0,1246$ $p = 1,0000$

Kesimpulan tidak terdapat perbedaan sebaran faktor resiko penyakit diabet antara 2 kelompok

Faktor Resiko	Kasus stroke	Kontrol +	Kontrol -
Kegemukan +	4	4	0
Kegemukan -	19	19	23
Jumlah	23	23	23

Statistik Fisher : $FI(x) = 5,047$ $p = 0,1126$

Kesimpulan tidak terdapat perbedaan sebaran faktor resiko kegemukan antara 3 kelompok

Faktor Resiko	Kasus stroke	Kontrol +
Kegemukan +	4	4
Kegemukan -	19	19
Jumlah	23	23

Statistik Fisher : $FI(x) = 0,0646$ $p = 1,0000$

Kesimpulan tidak terdapat perbedaan sebaran faktor resiko kegemukan antara 2 kelompok

- - Description of Subpopulations - -

Summaries of AE
By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			4,4607	,6022
KELOMPOK	1,00		4,6243	,6061
KELOMPOK	2,00		4,4165	,5078
KELOMPOK	3,00		4,3413	,6713

Total Cases = 70
Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

- - Description of Subpopulations - -

Summaries of AL
By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			8,4654	3,1729
KELOMPOK	1,00		10,4709	3,8377
KELOMPOK	2,00		7,6196	2,1108
KELOMPOK	3,00		7,3057	2,3612

Total Cases = 70
Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

- - Description of Subpopulations - -

Summaries of AT
By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			282,1014	74,8363
KELOMPOK	1,00		304,7391	82,4545
KELOMPOK	2,00		271,4348	81,3236
KELOMPOK	3,00		270,1304	55,6215

Total Cases = 70
Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

Summaries of BASABS
 By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			,0355	,0212
KELOMPOK	1,00		,0455	,0246
KELOMPOK	2,00		,0327	,0194
KELOMPOK	3,00		,0284	,0155

Total Cases = 70
 Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

- - Description of Subpopulations - -

Summaries of EOSABS
 By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			,2036	,1986
KELOMPOK	1,00		,1518	,2177
KELOMPOK	2,00		,2673	,2232
KELOMPOK	3,00		,1918	,1325

Total Cases = 70
 Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

- - Description of Subpopulations - -

Summaries of LIMFABS
 By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			2,1679	2,4421
KELOMPOK	1,00		1,5785	,5573
KELOMPOK	2,00		2,9575	4,0626
KELOMPOK	3,00		1,9679	,7495

Total Cases = 70
 Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

- - Description of Subpopulations - -

Summaries of MONOABS
 By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			,5332	,3528
KELOMPOK	1,00		,5761	,2372
KELOMPOK	2,00		,5811	,5408
KELOMPOK	3,00		,4424	,1515

Total Cases = 70
 Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			5,7279	3,1918
KELOMPOK	1,00		8,0583	3,9606
KELOMPOK	2,00		4,5829	1,6810
KELOMPOK	3,00		4,5424	2,1119

Total Cases = 70

Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

***** Analysis of Variance *****

46 cases accepted.
 23 cases rejected because of out-of-range factor values.
 1 case rejected because of missing data.
 2 non-empty cells.

 1 design will be processed.

***** Analysis of Variance -- design 1 *****

EFFECT .. KELOMPOK
 Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 3 1/2, N = 17)

Test Name	Value	Exact F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	,47312	3,59186	9,00	36,00	,003
Hotellings	,89796	3,59186	9,00	36,00	,003
Wilks	,52688	3,59186	9,00	36,00	,003
Roys	,47312				

Note.. F statistics are exact.

EFFECT .. KELOMPOK (Cont.)
 Univariate F-tests with (1;44) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
AE	,49670	13,75509	,49670	,31262	1,58887	,214
AL	93,49427	422,02528	93,49427	9,59148	9,74763	,003
AT	12755,5652	295070,087	12755,5652	6706,13834	1,90207	,175
BAS	,06283	3,88870	,06283	,08838	,71087	,404
EOS	44,41391	512,28609	44,41391	11,64287	3,81469	,057
LUC	7,20087	48,53652	7,20087	1,10310	6,52783	,014
LYM	5734,45565	67945,7843	5734,45565	1544,22237	3,71349	,060
MONO	75,16174	2413,78261	75,16174	54,85870	1,37010	,248
NEU	2590,50087	5924,91826	2590,50087	134,65723	19,23774	,000

***** Analysis of Variance *****

46 cases accepted.
 23 cases rejected because of out-of-range factor values.
 1 case rejected because of missing data.
 2 non-empty cells.

1 design will be processed.

***** Analysis of Variance -- design 1 *****

EFFECT .. KELOMPOK
 Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 3 1/2, N = 17)

Test Name	Value	Exact F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	,49680	3,94911	9,00	36,00	,001
Hotellings	,98728	3,94911	9,00	36,00	,001
Wilks	,50320	3,94911	9,00	36,00	,001
Roys	,49680				

Note.. F statistics are exact.

EFFECT .. KELOMPOK (Cont.)
 Univariate F-tests with (1;44) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
AE	,92131	17,99703	,92131	,40902	2,25245	,141
AL	115,21391	446,66535	115,21391	10,15149	11,34946	,002
AT	13774,2609	217635,043	13774,2609	4946,25099	2,78479	,102
BAS	,12522	3,80783	,12522	,08654	1,44691	,235
EOS	8,87043	298,44261	8,87043	6,78279	1,30779	,259
LUC	6,06283	43,24696	6,06283	,98289	6,16840	,017
LYM	1310,22283	3588,51043	1310,22283	81,55706	16,06511	,000
MONO	1,92087	173,57565	1,92087	3,94490	,48692	,489
NEU	2078,36174	6616,55652	2078,36174	150,37628	13,82107	,001

***** Analysis of Variance *****

46 cases accepted.
 23 cases rejected because of out-of-range factor values.
 1 case rejected because of missing data.
 2 non-empty cells.

 1 design will be processed.

***** Analysis of Variance -- design 1 *****

EFFECT .. KELOMPOK
 Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 3 1/2, N = 17)

Test Name	Value	Exact F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	,10724	,48050	9,00	36,00	,878
Hotellings	,12012	,48050	9,00	36,00	,878
Wilks	,89276	,48050	9,00	36,00	,878
Roys	,10724				

Note.. F statistics are exact.

EFFECT .. KELOMPOK (Cont.)
 Univariate F-tests with (1;44) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
AE	,06506	15,58818	,06506	,35428	,18365	,670
AL	1,13323	220,67506	1,13323	5,01534	,22595	,637
AT	19,56522	213560,261	19,56522	4853,64229	,00403	,950
BAS	,01065	1,51739	,01065	,03449	,30888	,581
EOS	13,58696	399,10261	13,58696	9,07051	1,49793	,228
LUC	,04891	38,15913	,04891	,86725	,05640	,813
LYM	1562,55674	68048,7504	1562,55674	1546,56251	1,01034	,320
MONO	53,05130	2379,58609	53,05130	54,08150	,98095	,327
NEU	28,17391	3705,15478	28,17391	84,20806	,33458	,566

Summaries of ALB
By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			3,7141	,5157
KELOMPOK	1,00		3,6158	,5650
KELOMPOK	2,00		3,7304	,6049
KELOMPOK	3,00		3,7818	,3568

Total Cases = 70
Missing Cases = 6 or 8,6 Pct

- - Description of Subpopulations - -

Summaries of CHOL
By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			223,2754	40,7441
KELOMPOK	1,00		234,1739	40,3706
KELOMPOK	2,00		218,9565	38,5150
KELOMPOK	3,00		216,6957	42,7673

Total Cases = 70
Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

- - Description of Subpopulations - -

Summaries of FIB
By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			319,3913	85,7752
KELOMPOK	1,00		335,4783	96,2444
KELOMPOK	2,00		319,6522	83,9159
KELOMPOK	3,00		303,0435	76,7211

Total Cases = 70
Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

- - Description of Subpopulations - -

Summaries of GDN
By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			122,2319	53,4996
KELOMPOK	1,00		139,1739	63,4441
KELOMPOK	2,00		130,1739	60,6770
KELOMPOK	3,00		97,3478	11,2517

Total Cases = 70
Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			13,3841	1,8452
KELOMPOK	1,00		13,4826	1,9016
KELOMPOK	2,00		13,5435	1,6323
KELOMPOK	3,00		13,1261	2,0339

Total Cases = 70
Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

- - Description of Subpopulations - -

Summaries of HCT
By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			41,7534	23,7741
KELOMPOK	1,00		47,6522	39,4401
KELOMPOK	2,00		38,6004	8,6687
KELOMPOK	3,00		38,8827	6,1100

Total Cases = 70
Missing Cases = 2 or 2,9 Pct

- - Description of Subpopulations - -

Summaries of HDL
By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			43,2464	9,6762
KELOMPOK	1,00		41,4783	9,0848
KELOMPOK	2,00		41,8696	10,5024
KELOMPOK	3,00		46,3913	8,9987

Total Cases = 70
Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

- - Description of Subpopulations - -

Summaries of LDL
By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			140,7206	35,0449
KELOMPOK	1,00		158,9091	35,1892
KELOMPOK	2,00		134,3478	32,5878
KELOMPOK	3,00		129,6957	31,5587

Total Cases = 70
Missing Cases = 2 or 2,9 Pct

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			31,3333	25,0615
KELOMPOK	1,00		32,0870	31,4468
KELOMPOK	2,00		32,5217	20,0496
KELOMPOK	3,00		29,3913	23,3330

Total Cases = 70
Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

- - Description of Subpopulations - -

Summaries of LPA
By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			40,4429	33,4687
KELOMPOK	1,00		44,7571	37,7777
KELOMPOK	2,00		42,4905	35,6048
KELOMPOK	3,00		34,0810	26,6678

Total Cases = 70
Missing Cases = 7 or 10,0 Pct

- - Description of Subpopulations - -

Summaries of TRIG
By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			157,3188	93,4169
KELOMPOK	1,00		146,3043	72,4346
KELOMPOK	2,00		180,5652	125,6734
KELOMPOK	3,00		145,0870	71,3072

Total Cases = 70
Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

- - Description of Subpopulations - -

Summaries of UA
By levels of KELOMPOK

Variable	Value	Label	Mean	Std Dev
For Entire Population			6,1719	1,8760
KELOMPOK	1,00		6,1435	2,2971
KELOMPOK	2,00		6,1987	1,7553
KELOMPOK	3,00		6,1735	1,5869

Total Cases = 70
Missing Cases = 1 or 1,4 Pct

***** Analysis of Variance *****

38 cases accepted.
 19 cases rejected because of out-of-range factor values.
 13 cases rejected because of missing data.
 2 non-empty cells.

1 design will be processed.

***** Analysis of Variance -- design 1 *****

EFFECT .. KELOMPOK
 Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 5, N = 11 1/2)

Test Name	Value	Exact F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	,27262	,78082	12,00	25,00	,665
Hotellings	,37480	,78082	12,00	25,00	,665
Wilks	,72738	,78082	12,00	25,00	,665
Roys	,27262				

Note.. F statistics are exact.

EFFECT .. KELOMPOK (Cont.)
 Univariate F-tests with (1;36) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
ALB	,02633	12,28235	,02633	,34118	,07718	,783
CHOL	1182,36953	57293,0252	1182,36953	1591,47292	,74294	,394
FIB	415,79132	335091,709	415,79132	9308,10302	,04467	,834
GDN	368,21650	107370,336	368,21650	2982,50934	,12346	,727
HB	3,18915	107,79927	3,18915	2,99442	1,06503	,309
HCT	1802,98217	34442,9331	1802,98217	956,74814	1,88449	,178
HDL	10,81299	3781,00280	10,81299	105,02786	,10295	,750
LDL	5018,35478	39609,3557	5018,35478	1100,25988	4,56106	,040
LED	476,69534	19187,1204	476,69534	532,97557	,89440	,351
LPA	28,17125	40669,4993	28,17125	1129,70831	,02494	,875
TRIG	19964,0903	393641,725	19964,0903	10934,4924	1,82579	,185
UA	,11246	164,66429	,11246	4,57401	,02459	,876

Perbedaan kimia darah antara kelompok kasus stroke dan kontrol-

***** Analysis of Variance *****

36 cases accepted.
 19 cases rejected because of out-of-range factor values.
 15 cases rejected because of missing data.
 2 non-empty cells.

1 design will be processed.

***** Analysis of Variance -- design 1 *****

EFFECT .. KELOMPOK
 Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 5, N = 10 1/2)

Test Name	Value	Exact F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	,43689	1,48708	12,00	23,00	,200
Hotellings	,77587	1,48708	12,00	23,00	,200
Wilks	,56311	1,48708	12,00	23,00	,200
Roys	,43689				

Note.. F statistics are exact.

EFFECT .. KELOMPOK (Cont.)
 Univariate F-tests with (1;34) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
ALB	,15607	6,75393	,15607	,19865	,78566	,382
CHOL	510,32817	52857,6718	510,32817	1554,63741	,32826	,570
FIB	8720,75163	285188,471	8720,75163	8387,89619	1,03968	,315
GDN	6059,44582	30681,5542	6059,44582	902,39865	6,71482	,014
HB	6,69907	112,47065	6,69907	3,30796	2,02514	,164
HCT	1547,70983	33314,5226	1547,70983	979,83890	1,57956	,217
HDL	166,15927	2548,39628	166,15927	74,95283	2,21685	,146
LDL	4577,88235	31156,1176	4577,88235	916,35640	4,99574	,032
LED	30,95975	20943,0402	30,95975	615,97177	,05026	,824
LPA	398,45685	29436,6107	398,45685	865,78267	,46023	,502
TRIG	3001,75989	149277,796	3001,75989	4390,52340	,68369	,414
UA	1,05941	143,30376	1,05941	4,21482	,25135	,619

***** Analysis of Variance *****

40 cases accepted.
 17 cases rejected because of out-of-range factor values.
 13 cases rejected because of missing data.
 2 non-empty cells.

 1 design will be processed.

***** Analysis of Variance -- design 1 *****

EFFECT .. KELOMPOK

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 5, N = 12 1/2)

Test Name	Value	Exact F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	,24990	,74959	12,00	27,00	,693
Hotellings	,33315	,74959	12,00	27,00	,693
Wilks	,75010	,74959	12,00	27,00	,693
Roys	,24990				

Note.. F statistics are exact.

EFFECT .. KELOMPOK (Cont.)

Univariate F-tests with (1;38) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
ALB	,06217	10,11158	,06217	,26609	,23364	,632
CHOL	134,84267	59306,9323	134,84267	1560,70875	,08640	,770
FIB	5999,13690	240827,238	5999,13690	6337,55890	,94660	,337
GDN	10373,4141	81336,3609	10373,4141	2140,43055	4,84641	,034
HB	,79018	119,22757	,79018	3,13757	,25185	,619
HCT	5,16204	2108,16623	5,16204	55,47806	,09305	,762
HDL	104,10533	3401,86967	104,10533	89,52289	1,16289	,288
LDL	2,73690	34241,2381	2,73690	901,08521	,00304	,956
LED	276,57901	18778,3960	276,57901	494,16832	,55969	,459
LPA	703,12218	39475,1876	703,12218	1038,82073	,67685	,416
TRIG	7712,97149	442637,404	7712,97149	11648,3527	,66215	,421
UA	,54717	110,34986	,54717	2,90394	,18842	,667

PERBEDAAN ANTARA KASUS STROKE DAN KONTROL+

pro if (group<3).

man TNFa IL 1 IL 8 IL 4 TGFB BY group(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desiq.

46 cases accepted.

0 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

2 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
          CELL NUMBER
          1   2
Variable
GROUP    1   2
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. TNFA

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	21.604	22.302	23	11.960	31.248
GROUP	Kontrol+	11.165	3.071	23	9.837	12.493
For entire sample		16.385	16.602	46	11.455	21.315

Variable .. IL 1

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	2.563	.822	23	2.208	2.919
GROUP	Kontrol+	2.117	.657	23	1.833	2.400
For entire sample		2.340	.769	46	2.112	2.568

Variable .. IL 8

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	42.000	32.673	23	27.871	56.129
GROUP	Kontrol+	22.265	16.532	23	15.116	29.414
For entire sample		32.133	27.478	46	23.973	40.293

Variable .. IL 4

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	17.470	4.390	23	15.571	19.368
GROUP	Kontrol+	17.083	5.780	23	14.583	19.582
For entire sample		17.276	5.079	46	15.768	18.784

Variable .. TGFB

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	3.227	2.121	23	2.310	4.144
GROUP	Kontrol+	2.660	2.691	23	1.496	3.824
For entire sample		2.943	2.413	46	2.227	3.660

***** ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1 *****

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 19)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.28184	3.13955	5.00	40.00	.018
Hotelling's	.39244	3.13955	5.00	40.00	.018
Wilks	.71816	3.13955	5.00	40.00	.018
Rays	.28184				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.39244	100.00000	100.00000	.53088

Univariate F-tests with (1,44) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
TNFA	1253.21757	11149.6411	1253.21757	253.40094	4.94559	.031
IL 1	2.29736	24.33964	2.29736	.55317	4.15305	.048
IL 8	4478.80887	29498.4113	4478.80887	670.41844	6.68062	.013
IL 4	1.72196	1159.12175	1.72196	26.34368	.06537	.799
TGFB	3.69656	258.35889	3.69656	5.87179	.62955	.432

Averaged F-test with (5,220) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	5739.74231	42089.87254	1147.94846	191.31760	6.00022	.000

***** ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN I*****

EFFECT .. CONSTANT

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 19)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.97821	359.06427	5.00	40.00	.000
Hotellings	44.88303	359.06427	5.00	40.00	.000
Wilks	.02179	359.06427	5.00	40.00	.000
Roys	.97821				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	44.88303	100.00000	100.00000	.98904

Univariate F-tests with (1,44) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
TNFA	12349.2106	11149.6411	12349.2106	253.40094	48.73388	.000
IL 1	251.87760	24.33964	251.87760	.55317	455.33183	.000
IL 8	47495.2082	29498.4113	47495.2082	670.41844	70.84413	.000
IL 4	13729.3065	1159.12175	13729.3065	26.34368	521.16138	.000
TGFB	398.54696	256.35869	398.54696	5.87179	67.87488	.000

Averaged F-test with (5,220) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	74224.14991	42089.87254	14844.82998	191.31760	77.59260	.000

dro if (group(3)).
 dsc group group(1,2)/VAR TNFA IL_1 IL_8 IL_4 TGFB /met rac/PIN=0.5/POUT=0.5/ana all/stat all.

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by GROUP

46 (unweighted) cases were processed.
 0 of these were excluded from the analysis.
 46 (unweighted) cases will be used in the analysis.

Number of Cases by Group

GROUP	Number of Cases		Label
	Unweighted	Weighted	
1	23	23.0	Kasus Stroke
2	23	23.0	Kontrol+
Total	46	46.0	

Group Means

GROUP	TNFA	IL_1	IL_8	IL_4	TGFB
1	21.60435	2.56348	42.00000	17.46957	3.22696
2	11.16522	2.11652	22.26522	17.08261	2.65000
Total	16.38478	2.34000	32.13261	17.27609	2.94348

Group Standard Deviations

GROUP	TNFA	IL_1	IL_8	IL_4	TGFB
1	22.30178	.82174	32.67294	4.39022	2.12136
2	3.07122	.65657	16.53227	5.78043	2.69136
Total	16.60178	.76937	27.47816	5.07903	2.41318

Wilks' Lambda (U-statistic) and univariate F-ratio
 with 1 and 44 degrees of freedom

Variable	Wilks' Lambda	F	Significance
TNFA	.89896	4.946	.0313
IL_1	.91375	4.153	.0476
IL_8	.86818	6.681	.0131
IL_4	.99852	.6537E-01	.7994
TGFB	.98589	.6295	.4318

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by GROUP

Analysis number 1

Stepwise variable selection

Selection rule: Maximize Rao's V

Maximum number of steps..... 10
 Minimum Tolerance Level..... .00100
 Maximum significance of F to enter..... .50000
 Minimum significance of F to remove..... .50000
 Minimum increase in Rao's V..... .00000

Canonical Discriminant Functions

Maximum number of functions..... 1
 Minimum cumulative percent of variance... 100.00
 Maximum significance of Wilks' Lambda.... 1.0000

Prior probability for each group is .50000

----- Variables not in the analysis after step 0 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
TNFA	1.0000000	1.0000000	.0313	4.945592
IL 1	1.0000000	1.0000000	.0476	4.153047
IL 8	1.0000000	1.0000000	.0131	6.680617
IL 4	1.0000000	1.0000000	.7994	
TGFB	1.0000000	1.0000000	.4318	.6295453

At step 1, IL 8 was included in the analysis.

Wilks' Lambda	Degrees of Freedom	Signif. Between Groups
.86818	1 1	44.0
Equivalent F	1	44.0 .0131
RAO'S V	1	.0097 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 1 -----

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
IL 8	1.0000000	.0131	

----- Variables not in the analysis after step 1 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
TNFA	.9989432	.9989432	.0551	11.26437
IL 1	.9697572	.9697572	.0248	13.06068
IL 4	.8892434	.8892434	.5580	
TGFB	.9998838	.9998838	.4534	7.355226

F statistics and significances between pairs of groups after step 1
 Each F statistic has 1 and 44.0 degrees of freedom.

Group	Group 1	Kasus Stroke
2	Kontrol+	6.6806 .0131

At step 2, IL 1 was included in the analysis.

		Degrees of Freedom	Signif.	Between Groups
Wilks' Lambda	.77111	2 1	44.0	
Equivalent F	6.38193	2	43.0	.0037
RAO'S V	13.06068	2		.0015 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 2 -----

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
IL 1	.9697572	.0248	
IL B	.9697572	.0072	

----- Variables not in the analysis after step 2 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
TNFA	.9958096	.9667152	.0231	17.07129
IL 4	.6879886	.6879886	.5874	
TGFB	.8394680	.8141748	.8594	

F statistics and significances between pairs of groups after step 2
 Each F statistic has 2 and 43.0 degrees of freedom.

Group	Group 1	Kasus Stroke
2	Kontrol+	6.3819 .0037

At step 3, TNFA was included in the analysis.

		Degrees of Freedom	Signif.	Between Groups
Wilks' Lambda	.72047	3 1	44.0	
Equivalent F	5.43177	3	42.0	.0030
RAO'S V	17.07129	3		.0007 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 3 -----

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
TNFA	.9958096	.0931	
IL_1	.9667152	.0417	
IL_8	.9680629	.0132	

----- Variables not in the analysis after step 3 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
IL_4	.6749909	.6749909	.7661	
TGFB	.8394654	.8120893	.8634	

F statistics and significances between pairs of groups after step 3
 Each F statistic has 3 and 42.0 degrees of freedom.

Group	Group 1	Group 2
	Kasus Stroke	Kontrol+
2	5.4318	.0030

F level or tolerance or VIN insufficient for further computation.

Summary Table

Step	Action	Vars	Wilks'	Change				
	Entered	Removed	In Lambda	Sig. in V				
			Sig.	Sig. Label				
1	IL_8	1	.86818	.0131	6.68062	.0097	6.68062	.0097
2	IL_1	2	.77111	.0037	13.06068	.0015	6.38007	.0115
3	TNFA	3	.72047	.0030	17.07129	.0007	4.01061	.0452

Classification Function Coefficients
 (Fisher's Linear Discriminant Functions)

GROUP	=	1	2
		Kasus Stroke	Kontrol+
TNFA		.6891855E-01	.3174245E-01
IL_1		5.085904	4.114180
IL_8		.8667604E-01	.5312841E-01
(constant)		-9.776617	-5.815686

Canonical Discriminant Functions

Function	Eigenvalue	Percent of Variance	Cumulative Percent	Canonical Correlation	: After Function	Wilks' Lambda	Chi-squared	D.F.	Significance
1*	.38798	100.00	100.00	.5287065	0	.7204695	13.934	3	.0030

* marks the 1 canonical discriminant functions remaining in the analysis.

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by GROUP

Analysis number 2
 Direct method: All variables passing the tolerance test are entered.
 Minimum Tolerance Level..... .00100

Canonical Discriminant Functions

Maximum number of functions..... 1
 Minimum cumulative percent of variance... 100.00
 Maximum significance of Wilks' Lambda.... 1.0000

Prior probability for each group is .50000

Classification Function Coefficients
 (Fisher's Linear Discriminant Functions)

GROUP =	1	2
	Kasus Stroke	Kontrol+
TNFA	.2114428E-01	-.1503177E-01
IL 1	9.675319	8.572033
IL 8	.2450797E-01	-.7877292E-02
IL 4	1.299194	1.271821
TGFB	-.3372891	-.3038658
(constant)	-24.64142	-26.05185

Canonical Discriminant Functions

Function	Eigenvalue	Percent of Variance	Cumulative Percent	Canonical Correlation	: After Function	Wilks' Lambda	Chi-squared	D.F.	Significance
1*	.39244	100.00	100.00	.5308846	: 0	.7181616	13.739	5	.0174

* marks the 1 canonical discriminant functions remaining in the analysis.

Standardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1
TNFA	.46996
IL 1	.66966
IL 8	.68431
IL 4	.11466
TGFB	-.06609

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by GROUP

Analysis number.. 1

Number of Canonical Discriminant Functions.. 1

List of the 3 Variables used..

Variable Label

TNFA

IL 1

IL 8

Classification Results -

Actual Group	No. of Cases	Predicted Group Membership	
		1	2
Group 1 Kasus Stroke	23	16 69.6%	7 30.4%
Group 2 Kontrol+	23	4 17.4%	19 82.6%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 76.09%

Classification Processing Summary

46 Cases were processed.

0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.

0 Cases had at least one missing discriminating variable.

46 Cases were used for printed output.

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by GROUP

Analysis number.. 2

Number of Canonical Discriminant Functions.. 1

List of the 5-Variables used..

Variable Label

TNFA

IL 1

IL 8

IL 4

TGFB

Classification Results -

Actual Group	No. of Cases	Predicted Group Membership	
		1	2
Group 1 Kasus Stroke	23	15 65.2%	8 34.8%
Group 2 Kontrol+	23	4 17.4%	19 82.6%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 73.91%

Classification Processing Summary

46 Cases were processed.

0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.

0 Cases had at least one missing discriminating variable.

46 Cases were used for printed output.

POLA ANTARA KASUS STROKE DAN KONTROL +
 pro if (group(3)).

man TNFa IL_1 IL_8 BY group(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

46 cases accepted.
 0 cases rejected because of out-of-range factor values.
 0 cases rejected because of missing data.
 2 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1     2
Variable
GROUP          1     2
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. TNFA

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	1.489	1.537	23	.824	2.154
GROUP	Kontrol+	.354	.097	23	.312	.397
For entire sample		.922	1.220	46	.559	1.284

Variable .. IL_1

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	13.038	4.179	23	11.230	14.845
GROUP	Kontrol+	8.708	2.701	23	7.540	9.876
For entire sample		10.873	4.111	46	9.652	12.093

Variable .. IL_8

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	3.640	2.832	23	2.416	4.865
GROUP	Kontrol+	1.183	.878	23	.803	1.563
For entire sample		2.412	2.417	46	1.694	3.129

***** ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN *****

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1/2, N = 20)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.53154	15.88522	3.00	42.00	.000
Hotelling's	1.13466	15.88522	3.00	42.00	.000
Wilks	.46846	15.88522	3.00	42.00	.000
Roys	.53154				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Dim. Pct.	Canon Cor.
1	1.13466	100.00000	100.00000	.72907

Univariate F-tests with (1,44) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
TNFA	14.80231	52.18172	14.80231	1.18595	12.48141	.001
IL 1	215.59769	544.79372	215.59769	12.38168	17.41264	.000
IL 8	69.45070	193.41222	69.45070	4.39573	15.79958	.000

Averaged F-test with (3,132) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 3	299.85070	790.38766	99.95023	5.98779	16.69235	.000

***** ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN I*****

EFFECT .. CONSTANT

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1/2, N = 20)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.93019	186.53006	3.00	42.00	.000
Hotelling's	13.32358	186.53006	3.00	42.00	.000
Wilks	.06981	186.53006	3.00	42.00	.000
Roys	.93019				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	13.32358	100.00000	100.00000	.96446

Univariate F-tests with (1,44) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
TNFA	39.07644	52.18172	39.07644	1.18595	32.94953	.000
IL_1	5437.89566	544.79372	5437.89566	12.38168	439.18900	.000
IL_8	267.53939	193.41222	267.53939	4.39573	60.86344	.000

Averaged F-test with (3,132) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 3	5744.51148	790.38766	1914.83716	5.98779	319.79055	.000

PERBEDAAN ANTARA KASUS STROKE DAN KONTROL -

pro if (group(4).

man TNFa IL 1 IL 8 IL 4 TGFB BY group(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

46 cases accepted.

0 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

2 non-empty cells.

1 design will be processed.

CELL NUMBER	
Variable	GROUP
	1 2
	1 2

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. TNFA

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	21.604	22.302	23	11.960	31.248
GROUP	Kontrol-	11.839	3.717	23	10.232	13.447
For entire sample		16.722	16.562	46	11.804	21.640

Variable .. IL 1

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	2.563	.822	23	2.208	2.919
GROUP	Kontrol-	2.025	.882	23	1.644	2.407
For entire sample		2.294	.886	46	2.031	2.557

Variable .. IL 8

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	42.000	32.673	23	27.871	56.129
GROUP	Kontrol-	23.670	20.697	23	14.720	32.619
For entire sample		32.835	28.586	46	24.346	41.324

Variable .. IL 4

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	17.470	4.390	23	15.571	19.368
GROUP	Kontrol-	17.343	5.838	23	14.819	19.868
For entire sample		17.407	5.108	46	15.890	18.923

Variable .. TGFB

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	3.227	2.121	23	2.310	4.144
GROUP	Kontrol-	3.029	2.708	23	1.858	4.200
For entire sample		3.128	2.407	46	2.413	3.843

***** ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN *****

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 19)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.25636	2.75788	5.00	40.00	.031
Hotellings	.34474	2.75788	5.00	40.00	.031
Wilks	.74364	2.75788	5.00	40.00	.031
Roys	.25636				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.34474	100.00000	100.00000	.50632

Univariate F-tests with (1,44) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
TNFA	1096.63389	11246.1237	1096.63389	255.59372	4.29054	.044
IL 1	3.33183	31.96690	3.33183	.72652	4.58602	.038
IL 8	3864.05541	32909.1685	3864.05541	747.93565	5.16629	.028
IL 4	.18283	1173.82522	.18283	26.67785	.00685	.934
TGFB	.45005	260.36208	.45005	5.91732	.07606	.784

Averaged F-test with (5,220) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	4964.65402	45621.44639	992.93080	207.37021	4.78820	.000

***** ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1*****

EFFECT .. CONSTANT

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 19)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.95594	173.57539	5.00	40.00	.000
Hotelling's	21.69692	173.57539	5.00	40.00	.000
Wilks	.04406	173.57539	5.00	40.00	.000
Roys	.95594				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	21.69692	100.00000	100.00000	.97772

Univariate F-tests with (1,44) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
TNFA	12862.3617	11246.1237	12862.3617	255.59372	50.32346	.000
IL_1	242.14547	31.96690	242.14547	.72652	333.29482	.000
IL_8	49593.6556	32909.1685	49593.6556	747.93565	66.30738	.000
IL_4	13937.4020	1173.82522	13937.4020	26.67785	522.43356	.000
TGFB	450.09418	260.36208	450.09418	5.91732	76.06386	.000

Averaged F-test with (5,220) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	77085.65900	45621.44639	15417.13180	207.37021	74.34593	.000

pro if (qgroup(4)).
 dsc group group(1,2)/VAR TNFA IL 1 IL 8 IL 4 TGFB /met rac/PIN=0.5/POUT=0.5/ana all/stat all,

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by GROUP

46 (unweighted) cases were processed.
 0 of these were excluded from the analysis.
 46 (unweighted) cases will be used in the analysis.

Number of Cases by Group

GROUP	Number of Cases		Label
	Unweighted	Weighted	
1	23	23.0	Kasus Stroke
2	23	23.0	Kontrol-
Total	46	46.0	

Group Means

GROUP	TNFA	IL 1	IL 8	IL 4	TGFB
1	21.60435	2.56348	42.00000	17.46957	3.22696
2	11.83913	2.02522	23.66957	17.34348	3.02913
Total	16.72174	2.29435	32.83478	17.40652	3.12804

Group Standard Deviations

GROUP	TNFA	IL 1	IL 8	IL 4	TGFB
1	22.30178	.82174	32.67294	4.39022	2.12136
2	3.71725	.88192	20.69663	5.83795	2.70822
Total	16.56151	.88567	28.58641	5.10775	2.40745

Wilks' Lambda (U-statistic) and univariate F-ratio
 with 1 and 44 degrees of freedom

Variable	Wilks' Lambda	F	Significance
TNFA	.91115	4.291	.0442
IL 1	.90561	4.586	.0378
IL 8	.89492	5.166	.0280
IL 4	.99984	.6853E-02	.9344
TGFB	.99827	.7606E-01	.7840

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by GROUP

Analysis number 1

Stepwise variable selection

Selection rule: Maximize Rao's V
 Maximum number of steps..... 10
 Minimum Tolerance Level..... .00100
 Maximum significance of F to enter..... .50000
 Minimum significance of F to remove..... .50000
 Minimum increase in Rao's V..... .00000

Canonical Discriminant Functions

Maximum number of functions..... 1
 Minimum cumulative percent of variance... 100.00
 Maximum significance of Wilks' Lambda.... 1.0000

Prior probability for each group is .50000

----- Variables not in the analysis after step 0 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
TNFA	1.0000000	1.0000000	.0442	4.290535
IL 1	1.0000000	1.0000000	.0378	4.586017
IL 8	1.0000000	1.0000000	.0280	5.166294
IL 4	1.0000000	1.0000000	.9344	
TGFB	1.0000000	1.0000000	.7840	

At step 1, IL 8 was included in the analysis.

	Wilks' Lambda	Degrees of Freedom	Signif. Between Groups
	.89492	1 1	44.0
	Equivalent F	5.16629	1 44.0 .0280
	RAO'S V	5.166294	1 .0230 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 1 -----

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
IL 8	1.0000000	.0280	

----- Variables not in the analysis after step 1 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
TNFA	.9976724	.9976724	.0732	9.023544
IL 1	.9954061	.9954061	.0371	10.46019
IL 4	.9409151	.9409151	.6529	
TGFB	.9950826	.9950826	.9136	

F statistics and significances between pairs of groups after step 1
 Each F statistic has 1 and 44.0 degrees of freedom.

Group	1
	Kasus Stroke
Group	
2 Kontrol-	5.1663 .0280

At step 2, IL_1 was included in the analysis.

		Degrees of Freedom	Signif.	Between Groups
Wilks' Lambda	.80793	2 1	44.0	
Equivalent F	5.11123	2	43.0	.0102
RAO'S V	10.46019	2		.0054 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 2 -----

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
IL_1	.9954061	.0371	
IL_8	.9954061	.0276	

----- Variables not in the analysis after step 2 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
TNFA	.9926133	.9903586	.1205	13.71723
IL_4	.9373104	.9373104	.7651	
TGFB	.7974395	.7974395	.3778	11.49065

F statistics and significances between pairs of groups after step 2
 Each F statistic has 2 and 43.0 degrees of freedom.

Group	1
	Kasus Stroke
Group	
2 Kontrol-	5.1112 .0102

At step 3, TNFA was included in the analysis.

		Degrees of Freedom	Signif.	Between Groups
Wilks' Lambda	.76234	3 1	44.0	
Equivalent F	4.36457	3	42.0	.0092
RAO'S V	13.71723	3		.0033 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 3 -----

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
TNFA	.9926133	.1205	
IL_1	.9903586	.0606	
IL_8	.9926019	.0434	

----- Variables not in the analysis after step 3 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
IL_4	.9339214	.9339214	.7053	
TGFB	.7955221	.7955221	.3572	14.93812

F statistics and significances between pairs of groups after step 3
 Each F statistic has 3 and 42.0 degrees of freedom.

Group	1	2
Kasus Stroke		
Group		
2 Kontrol-	4.3646	.0092



At step 4, TGFB was included in the analysis.

	Wilks' Lambda	Degrees of Freedom	Signif. Between Groups
	.74655	4 1	44.0
Equivalent F	3.47990	4	41.0 .0155
RAO'S V	14.93812	4	.0048 (APPROX.)

----- Variables in the analysis after step 4 -----

Variable	Tolerance	Signif. of F to remove	Rao's V
TNFA	.9902266	.1182	
IL_1	.7962869	.0385	
IL_8	.9808498	.0386	
TGFB	.7955221	.3572	

----- Variables not in the analysis after step 4 -----

Variable	Tolerance	Minimum Tolerance	Signif. of F to enter	Rao's V
IL_4	.9333280	.7944360	.6947	

F statistics and significances between pairs of groups after step 4
 Each F statistic has 4 and 41.0 degrees of freedom.

Group	1	2
Kasus Stroke		
Group		
2 Kontrol-	3.4799	.0155

F level or tolerance or VIN insufficient for further computation.

Summary Table

Step	Action		Vars	Wilks'			Chance			
	Entered	Removed		In	Lambda	Sig.	Rao's V	Sig.	in V	Sig.
1	IL_8		1	.89492	.0280	5.16629	.0230	5.16629	.0230	
2	IL_1		2	.80793	.0102	10.46019	.0054	5.29389	.0214	
3	TNFA		3	.76234	.0092	13.71723	.0033	3.25704	.0711	
4	TGFB		4	.74655	.0155	14.93812	.0048	1.22089	.2692	

Classification Function Coefficients
(Fisher's Linear Discriminant Functions)

GROUP =	1		2	
	Kasus Stroke		Kontrol-	
TNFA	.6724728E-01	.3283138E-01		
IL_1	3.718121	2.775326		
IL_8	.6280206E-01	.3633638E-01		
TGFB	-.1105951	.3958110E-01		
(constant)	-7.325626	-4.187795		

Canonical Discriminant Functions

Function	Eigenvalue	Percent of Variance	Cumulative Percent	Canonical :		Wilks' Lambda	Chi-squared	D.F.	Significance	
				Correlation :	After Function					
1*	.33950	100.00	100.00	.5034425	:	0	.7465457	12.277	4	.0154

* marks the 1 canonical discriminant functions remaining in the analysis.

Standardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1
TNFA	.48276
IL_1	.70509
IL_8	.63506
TGFB	-.32053

Structure Matrix:

Pooled-within-groups correlations between discriminating variables
and canonical discriminant functions
(Variables ordered by size of correlation within function)

	FUNC 1
IL_8	.58809
IL_1	.55408
TNFA	.53593
IL_4	.14135
TGFB	.07135

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by GROUP

Analysis number 2
 Direct method: All variables passing the tolerance test are entered.
 Minimum Tolerance Level..... .00100

Canonical Discriminant Functions

Maximum number of functions..... 1
 Minimum cumulative percent of variance... 100.00
 Maximum significance of Wilks' Lambda.... 1.0000

Prior probability for each group is .50000

Classification Function Coefficients
 (Fisher's Linear Discriminant Functions)

GROUP =	1	2
	Kasus Stroke	Kontrol-
TNFA	.5474383E-01	.1978165E-01
IL_1	3.923643	2.989827
IL_8	.3355968E-01	.5816394E-02
IL_4	.6490126	.6773682
TGFB	-.7295675E-01	.7886389E-01
(constant)	-12.56961	-9.900011

Canonical Discriminant Functions

Function	Eigenvalue	Percent of Variance	Cumulative Percent	Canonical Correlation	: After Function	Wilks' Lambda	Chi-squared	D.F.	Significance
1*	.34474	100.00	100.00	.5063192	: 0	.7436408	12.292	5	.0310

* marks the 1 canonical discriminant functions remaining in the analysis.

Standardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1
TNFA	.48669
IL_1	.69305
IL_8	.66065
IL_4	-.12752
TGFB	-.32157

----- DISCRIMINANT ANALYSIS -----

On groups defined by GROUP

Analysis number.. 1

Number of Canonical Discriminant Functions.. 1

List of the 4 Variables used..

Variable Label

 TNFA
 IL_1
 IL_3
 TGFB

Classification Results -

Actual Group	No. of Cases	Predicted Group Membership	
		1	2
Group 1 Kasus Stroken	23	14 60.9%	9 39.1%
Group 2 Kontrol-	23	6 26.1%	17 73.9%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 67.39%

Classification Processing Summary

- 46 Cases were processed.
- 0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.
- 0 Cases had at least one missing discriminating variable.
- 46 Cases were used for printed output.

On groups defined by GROUP

Analysis number.. 2

Number of Canonical Discriminant Functions.. 1

List of the 5 Variables used..

Variable Label

TNFA

IL 1

IL 8

IL 4

TGFB

Classification Results -

Actual Group	No. of Cases	Predicted Group Membership	
		1	2
Group 1 Kasus Stroken	23	14 60.9%	9 39.1%
Group 2 Kontrol-	23	7 30.4%	16 69.6%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 65.22%

Classification Processing Summary

46 Cases were processed.

0 Cases were excluded for missing or out-of-range group codes.

0 Cases had at least one missing discriminating variable.

46 Cases were used for printed output.

POLA ANTARA KASUS STROKE DAN KONTROL -

pro if (group<3).

man TNFA IL_1 IL_8 TGFB BY group(1,2)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desiq.

46 cases accepted.

0 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

2 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
                CELL NUMBER
                1   2
Variable
GROUP          1   2
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. TNFA

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	1.453	1.500	23	.804	2.101
GROUP	Kontrol-	.389	.122	23	.336	.441
For entire sample		.921	1.182	46	.570	1.272

Variable .. IL_1

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	9.531	3.055	23	8.210	10.853
GROUP	Kontrol-	5.621	2.448	23	4.562	6.679
For entire sample		7.576	3.377	46	6.573	8.579

Variable .. IL_8

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	2.638	2.052	23	1.750	3.525
GROUP	Kontrol-	.860	.752	23	.535	1.185
For entire sample		1.749	1.773	46	1.222	2.275

Variable .. TGFB

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent Conf. Interval	
GROUP	Kasus Stroke	-.357	.235	23	-.458	-.255
GROUP	Kontrol-	.120	.107	23	.074	.166
For entire sample		-.118	.301	46	-.208	-.029

***** ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1*****

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1, N = 19 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.73135	27.90311	4.00	41.00	.000
Hotelling's	2.72225	27.90311	4.00	41.00	.000
Wilks	.26865	27.90311	4.00	41.00	.000
Roys	.73135				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	2.72225	100.00000	100.00000	.85519

Univariate F-tests with (1,44) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
TNFA	13.02250	49.81017	13.02250	1.13205	11.50348	.001
IL 1	175.87466	337.16950	175.87466	7.66294	22.95132	.000
IL 8	36.33929	105.07153	36.33929	2.38799	15.21752	.000
TGFB	2.61419	1.46374	2.61419	.03327	78.58277	.000

Averaged F-test with (4,176) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 4	227.85064	493.51494	56.96266	2.80406	20.31434	.000

***** ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN *****

EFFECT .. CONSTANT

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1, N = 19 1/2)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.91267	107.12605	4.00	41.00	.000
Hotelling's	10.45132	107.12605	4.00	41.00	.000
Wilks	.08733	107.12605	4.00	41.00	.000
Roys	.91267				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Dum. Pct.	Canon Cor.
1	10.45132	100.00000	100.00000	.95534

Univariate F-tests with (1,44) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
TNFA	38.99915	49.81017	38.99915	1.13205	34.45004	.000
IL 1	2640.19208	337.16950	2640.19208	7.66294	344.54021	.000
IL 8	140.69434	105.07153	140.69434	2.38799	58.91749	.000
TGFB	.64589	1.46374	.64589	.03327	19.41535	.000

Averaged F-test with (4,176) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 4	2820.53145	493.51494	705.13286	2.80406	251.46834	.000

PERBEDAAN ANTARA KONTROL + DAN KONTROL -

man TNFA IL_1 IL_8 IL_4 TGFb BY group(2,3)/pri cell (all)/pri homo (all)/pri signif (all)/disc/desig.

46 cases accepted.

23 cases rejected because of out-of-range factor values.

0 cases rejected because of missing data.

2 non-empty cells.

1 design will be processed.

```

-----
          CELL NUMBER
          1   2
Variable
GROUP    1   2
    
```

Cell Means and Standard Deviations

Variable .. TNFA

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	Kontrol+	11.165	3.071	23	9.837	12.493
GROUP	Kontrol-	11.839	3.717	23	10.232	13.447
For entire sample		11.502	3.389	46	10.496	12.508

Variable .. IL_1

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	Kontrol+	2.117	.657	23	1.833	2.400
GROUP	Kontrol-	2.025	.882	23	1.644	2.407
For entire sample		2.071	.770	46	1.842	2.300

Variable .. IL_8

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	Kontrol+	22.265	16.532	23	15.116	29.414
GROUP	Kontrol-	23.670	20.697	23	14.720	32.619
For entire sample		22.967	18.535	46	17.463	28.472

Variable .. IL_4

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	Kontrol+	17.083	5.760	23	14.583	19.582
GROUP	Kontrol-	17.343	5.838	23	14.819	19.868
For entire sample		17.213	5.746	46	15.507	18.919

Variable .. TGFb

FACTOR	CODE	Mean	Std. Dev.	N	95 percent	Conf. Interval
GROUP	Kontrol+	2.660	2.691	23	1.496	3.824
GROUP	Kontrol-	3.029	2.708	23	1.858	4.200
For entire sample		2.845	2.676	46	2.050	3.639

***** ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN 1*****

EFFECT .. GROUP

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 19)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.02426	.19887	5.00	40.00	.961
Hotellings	.02486	.19887	5.00	40.00	.961
Wilks	.97574	.19887	5.00	40.00	.961
Roys	.02426				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	.02486	100.00000	100.00000	.15574

Univariate F-tests with (1,44) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
TNFA	5.22283	511.50699	5.22283	11.62516	.44927	.506
IL_1	.09587	26.59510	.09587	.60443	.15861	.692
IL_8	22.68023	15436.6611	22.68023	350.83321	.06465	.800
IL_4	.78261	1484.88956	.78261	33.74749	.02319	.880
TGFB	1.56696	320.71339	1.56696	7.28894	.21498	.645

Averaged F-test with (5,220) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	30.34849	17780.36611	6.06970	80.81985	.07510	.996

***** ANALYSIS OF VARIANCE -- DESIGN *****

EFFECT .. CONSTANT

Multivariate Tests of Significance (S = 1, M = 1 1/2, N = 19)

Test Name	Value	Approx. F	Hypoth. DF	Error DF	Sig. of F
Pillais	.97149	272.62492	5.00	40.00	.000
Hotellings	34.07811	272.62492	5.00	40.00	.000
Wilks	.02851	272.62492	5.00	40.00	.000
Roys	.97149				

Eigenvalues and Canonical Correlations

Root No.	Eigenvalue	Pct.	Cum. Pct.	Canon Cor.
1	34.07811	100.00000	100.00000	.98564

Univariate F-tests with (1,44) D. F.

Variable	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
TNFA	6085.80025	511.50699	6085.80025	11.62516	523.50254	.000
IL_1	197.27103	26.59510	197.27103	.60443	326.37317	.000
IL_8	24265.0490	15436.6611	24265.0490	350.83321	69.16406	.000
IL_4	13629.2879	1484.88956	13629.2879	33.74749	403.86079	.000
TGFR	372.21136	320.71339	372.21136	7.28894	51.06522	.000

Averaged F-test with (5,220) D. F.

VARIABLES	Hypoth. SS	Error SS	Hypoth. MS	Error MS	F	Sig. of F
1 to 5	44549.61957	17780.36611	8909.92391	80.81985	110.24426	.000

	IL1	IL8	TNF	LDL
IL1	1,0000 (, 69) P= ,	,0110 (, 69) P= ,929	,1470 (, 69) P= ,228	,1897 (, 68) P= ,121
IL8	,0110 (, 69) P= ,929	1,0000 (, 69) P= ,	,1882 (, 69) P= ,121	,2052 (, 68) P= ,093
TNF	,1470 (, 69) P= ,228	,1882 (, 69) P= ,121	1,0000 (, 69) P= ,	-,0408 (, 68) P= ,741
LDL	,1897 (, 68) P= ,121	,2052 (, 68) P= ,093	-,0408 (, 68) P= ,741	1,0000 (, 68) P= ,

(Coefficient / (Cases) / 2-tailed Significance)

' . " is printed if a coefficient cannot be computed

- - Correlation Coefficients - -

	IL1	IL4	IL8	NEUABS	TGF	TNF
IL1	1,0000 (69) P= ,	-,2211 (69) P= ,068	,0110 (69) P= ,929	,0449 (69) P= ,714	,4200 (67) P= ,000	,1470 (69) P= ,228
IL4	-,2211 (69) P= ,068	1,0000 (69) P= ,	,2394 (69) P= ,048	,1698 (69) P= ,163	-,1012 (67) P= ,415	,0643 (69) P= ,600
IL8	,0110 (69) P= ,929	,2394 (69) P= ,048	1,0000 (69) P= ,	,5478 (69) P= ,000	,0740 (67) P= ,552	,1882 (69) P= ,121
NEUABS	,0449 (69) P= ,714	,1698 (69) P= ,163	,5478 (69) P= ,000	1,0000 (69) P= ,	-,0049 (67) P= ,969	-,0431 (69) P= ,725
TGF	,4200 (67) P= ,000	-,1012 (67) P= ,415	,0740 (67) P= ,552	-,0049 (67) P= ,969	1,0000 (67) P= ,	,0697 (67) P= ,575
TNF	,1470 (69) P= ,228	,0643 (69) P= ,600	,1882 (69) P= ,121	-,0431 (69) P= ,725	,0697 (67) P= ,575	1,0000 (69) P= ,

Coefficient / (Cases) / 2-tailed Significance)

. " is printed if a coefficient cannot be computed

	IL1	IL4	IL8	NIHSS	TGF	TNF
1	1,0000 (23) P= ,	-,4035 (23) P= ,056	-,1527 (23) P= ,487	,4011 (23) P= ,058	,3878 (23) P= ,067	,0721 (23) P= ,744
4	-,4035 (23) P= ,056	1,0000 (23) P= ,	,4211 (23) P= ,045	,1424 (23) P= ,517	-,0069 (23) P= ,975	,1468 (23) P= ,504
8	-,1527 (23) P= ,487	,4211 (23) P= ,045	1,0000 (23) P= ,	,0630 (23) P= ,775	-,0101 (23) P= ,964	-,0034 (23) P= ,988
HSS	,4011 (23) P= ,058	,1424 (23) P= ,517	,0630 (23) P= ,775	1,0000 (23) P= ,	,2092 (23) P= ,338	-,0077 (23) P= ,972
F	,3878 (23) P= ,067	-,0069 (23) P= ,975	-,0101 (23) P= ,964	,2092 (23) P= ,338	1,0000 (23) P= ,	,0448 (23) P= ,839
F	,0721 (23) P= ,744	,1468 (23) P= ,504	-,0034 (23) P= ,988	-,0077 (23) P= ,972	,0448 (23) P= ,839	1,0000 (23) P= ,

coefficient / (Cases) / 2-tailed Significance)

. " is printed if a coefficient cannot be computed