

UDC 616.831-005.1+616.8-009.12-07:616.153.961.1-07 <http://dx.doi.org/10.15407/animbiol18.02.068>

**COMPARISON OF EXCITATORY AND INHIBITORY AMINO ACIDS PLASMA SPECTRUM
IN PATIENTS WITH PRIMARY CEREBRAL ISCHEMIC STROKE
DEPENDING ON THE POSTAPOPLECTIC SPASTICITY DEVELOPMENT
IN THE RECOVERY PERIOD**

A. V. Payenok¹, M. S. Bilobryn¹, N. V. Kuzmina², I. M. Mitelman¹
m.iryana.bh@gmail.com

¹ Danylo Halytsky Lviv National Medical University,
69 Pekarska str., Lviv 79010, Ukraine

² Institute of Animal Biology NAAS,
38 V. Stus St., Lviv 79034, Ukraine

Post-stroke spasticity is one of the most common post-stroke conditions that survivors face during their recovery. Spasticity can be painful and significantly impact a survivor's life. The reasons of its phenomenon are not completely understood.

We investigated plasma concentrations of the excitatory and inhibitory neuro amino acid's during first 72 hours of the first-ever ischemic cerebral stroke survivors (45 patients) depending on the development of post-stroke spasticity in those patients on the 6th month after stroke onset. Plasma level of the same neuro amino acids in people with chronic cerebral ischemia served as a control.

We have found that the joint characteristic for both groups of stroke survivors (those who developed spasticity and those who did not) was significantly increased level of excitatory neuro amino acids compared to control. In the group of patients without post-stroke spasticity an elevated excitatory neuro amino acid level was accompanied by an increased concentration of inhibitory neuromediators. But there was a distinguishing feature for stroke survivors with spastic limbs which was characterized by decreased or unchanged levels of inhibitory neuro amino acids.

Thus, such result suggests that an insufficiency of inhibitory neuro amino acid system activation is some acute ischemic stroke patients who are subsequently prone to an emergence of post-stroke spasticity. This study needs further investigations in order to determine the metabolic or neuro-biochemical reasons of the observed difference between two groups of patients. Besides, we can use obtained results for creating the post-stroke spasticity predictive model for ischemic cerebral stroke survivors.

Keywords: FIRST-EVER ACUTE CEREBRAL ISCHEMIC STROKE, POST-STROKE SPASTICITY, EXCITATORY AND INHIBITORY NEURO AMINO ACIDS

**ПОРІВНЯННЯ РІВНЯ ЗБУДЛИВИХ ТА ГАЛЬМІВНИХ НЕЙРОАМІНОКИСЛОТ
У ПЛАЗМІ КРОВІ ХВОРИХ З ПЕРВИННИМ ЦЕРЕБРАЛЬНИМ ІШЕМІЧНИМ ІНСУЛЬТОМ
В НАЙГОСТРІШОМУ ПЕРІОДІ ЗАЛЕЖНО ВІД НАЯВНОСТІ
ПІСЛЯІНСУЛЬТНОЇ СПАСТИЧНОСТІ НА ШОСТОМУ МІСЯЦІ ПІСЛЯ ІНСУЛЬТУ**

A. B. Паєнок¹, М. С. Білобрин¹, Н. В. Кузьміна², І. М. Мітельман¹
m.iryana.bh@gmail.com

¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна

² Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

Післяінсультна спастичність є одним з найчастіших станів, з якими стикаються пацієнти у відновному періоді інсульту. Вона може спричиняти больові відчуття та значно впливати на життя таких пацієнтів. Причини виникнення цього феномена не є повністю зрозумілими.

Була досліджена концентрація збудливих та гальмівних нейроамінокислот у плазмі крові у перші 72 години 45-ти пацієнтів із первинним ішемічним церебральним інсультом залежно від наявності у них післяінсультної спастичності на шостому місяці після ішемічної події. Контрольну групу становили 11 пацієнтів з діагностованою хронічною церебральною ішемією.

В результаті проведеного дослідження ми виявили, що спільною ознакою для двох груп хворих (тих, у кого виявлялась спастичність на 6-ому місяці, та пацієнтів без неї), порівняно з контролем, було вірогідне підвищення рівня збудливих нейроамінокислот. У пацієнтів без спастичності підвищений рівень збудливих нейромедіаторів у найгострішому періоді ішемічного мозкового інсульту супроводжувався підвищеним рівнем гальмівних нейроамінокислот. Відмінною ознакою для хворих із післяінсультною спастичністю було зниження або незмінний рівень нейромедіаторів гальмівної дії.

Таким чином, отримані результати дозволяють припустити наявність недостатньої активності системи гальмівних нейроамінокислот у певній категорії пацієнтів, які в майбутньому схильні до розвитку спастики після перенесеного інсульту. Це дослідження потребує подальшого вивчення та виявлення можливих метаболічних чи нейробиохімічних причин такої різниці, яка спостерігалась між двома групами пацієнтів. Окрім того, результати дослідження можуть бути використані для розроблення прогностичної моделі розвитку післяінсультної спастичності після перенесеного первинного церебрального ішемічного інсульту.

Ключові слова: ПЕРВИННИЙ ЦЕРЕБРАЛЬНИЙ ІШЕМІЧНИЙ ІНСУЛЬТ, ПІСЛЯІНСУЛЬТНА СПАСТИЧНІСТЬ, ЗБУДЛИВІ ТА ГАЛЬМІВНІ НЕЙРОАМІНОКИСЛОТИ

СРАВНЕНИЕ УРОВНЯ ВОЗБУЖДАЮЩИХ И ТОРМОЗЯЩИХ НЕЙРОАМИНОКИСЛОТ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ В ОСТРЕЙШЕМ ПЕРИОДЕ ПЕРВИЧНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО МОЗГОВОГО ИНСУЛЬТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЫЯВЛЕНИЯ ПОСЛЕИНСУЛЬТНОЙ СПАСТИЧНОСТИ НА ШЕСТОМ МЕСЯЦЕ ПОСЛЕ ИНСУЛЬТА

А. В. Паенок¹, М. С. Билобрин¹, Н. В. Кузьмина², И. Н. Мительман¹
m.iryana.bh@gmail.com

¹Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого,
ул. Пекарская, 69, Львов, 79010, Украина

²Институт биологии животных НААН,
ул. В. Стуса, 38, г. Львов, 79034, Украина

Послеинсультная спастичность является одним с самых частых состояний, с которыми сталкиваются пациенты в восстановительном периоде инсульта. Она может вызывать боль и значительно влиять на жизнь таких пациентов. Причины возникновения этого феномена остаются понятными не до конца.

Было проведено исследование концентрации в плазме крови нейроамінокислот возбуждающего и тормозящего действия у 45 пациентов на протяжении первых 72 часов первичного ишемического церебрального инсульта в зависимости от наличия послеинсультной спастичности на шестом месяце после ишемического события. Контрольной группой были 11 пациентов с диагностированной хронической церебральной ишемией.

В результате проведенного исследования мы обнаружили, что общей чертой для двух групп больных (тех, у которых выявлялась спастичность на 6-ом месяце и тех, у кого ее не было), в сравнении с контрольной группой, было статистически значительное повышение уровня возбуждающих нейроамінокислот. У пациентов без спастичности повышенный уровень возбуждающих нейромедіаторов сопровождался повышенным уровнем тормозящих нейроамінокислот. Отличительным признаком больных с послеинсультной спастичностью было понижение или неизменный уровень нейромедіаторов тормозящего действия.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать предположение о недостаточной активации системы тормозящих нейроамінокислот у определенной категории пациентов, которые в будущем склонны к развитию спастичности после перенесенного инсульта. Проведенное исследование нуждается в дальнейшем изучении и выявлении возможных метаболических или нейробиохимических причин такого выявленного различия, которое наблюдается между двумя группами пациентом. Кроме того, результаты исследования могут быть использованные для разработки прогностической модели развития послеинсультной спастичности после перенесенного первичного церебрального ишемического инсульта.

Ключевые слова: ПЕРВИЧНЫЙ ЦЕРЕБРАЛЬНЫЙ ИШЕМИЧЕСКИЙ ИНСУЛЬТ, ПОСЛЕІНСУЛЬТНАЯ СПАСТИЧНОСТЬ, ВОЗБУЖДАЮЩИЕ И ТОРМОЗЯЩИЕ НЕЙРОАМИНОКИСЛОТЫ

During the last several years excitatory amino acids appear to be the subject of a great

interest in neuroscience as a substance that play role in acute and deferred neuronal damage [1].

We have discovered scarcity of information about plasma levels of neuro amino acids in patients with acute ischemic stroke, and these data are very controversial [7]. Some scientists showed decreased plasma level of glutamate which they elucidate by compensatory increase of GABA (gamma-amino butyric acid) and accompanying increased level of aspartate [2]. Other authors have claimed about increased concentrations of glutamic acid and decreased levels of glycine and proline in acute stroke patients [3–5]. Some other research has revealed permanent decreased plasma levels of glutamic acid and glycine in acute stroke survivors [6]. Butter Th. et al. [6] discovered an increased plasma level of glutamate during the first 24 hours of acute ischemic stroke with subsequent gradual decrease.

Considering divergence of previously presented data regarding the levels of excitatory and inhibitory neuro amino acids in acute stroke survivors and absence the information about its concentration in patients according to development the spasticity subsequently, we found the aim of our study: to determine and to compare the plasma levels of neuro amino acids in stroke survivors during first 72 hours depending the existence of post-stroke spasticity on the 6th month after cerebral ischemic stroke.

The methods

We examined 45 patients (21 women and 25 men) during 72 hours after the first-ever ischemic stroke and 11 patients (6 women and 5 men) with chronic cerebral ischemia who served as a control group. Mean age for patients was 60.13 ± 0.92 years (60.62 ± 1.38 years for men and 59.58 ± 1.21 years for women). Mean age of people from control group was 60.23 ± 1.82 years. Diagnosis of acute ischemic stroke was confirmed using Computed Tomography. All patients were examined on the 6th month after stroke using Modified Ashworth Scale (MAS) to determine whether or not they had developed spasticity, $MAS \geq 1$ was considered as a spastic muscle tone. We found increased muscle tone in 24 patients (53 %), 17 of them had spastic hemiparesis and 7 — focal spasticity only in the hand. We drew 5 ml of blood from patients who have been ad-

mitted to the Lviv City Emergency Hospital, 1st and 2nd neurological departments, during first 72 hours after stroke onset. Plasma levels of excitatory (glutamate, aspartate, glutamic acid, aspartic acid, tyrosine) and inhibitory (GABA, glycine, taurine) neuro amino acids were determined at the Institute of Animal Biology, Department of molecular biology and clinical biochemistry (Lviv) by automatic aminoacid analyzer *LC 6001 Biotronic* (Germany).

The data are presented as median, upper and lower quartiles Me [UQ; LQ]. Nonparametric Mann-Whitney U test was used to define significant differences between the groups. $P < 0.05$ was determined as a considerable level. We used *Statistica 10.0* software for all analyses.

The results

After comparison of plasma levels of neuro amino acids we detected common feature for both groups (patients with spasticity and without it) was significantly increase in glutamate ($P < 0.01$) and aspartate ($P < 0.01$) concentrations in relation to the control group. Furthermore, in acute period of stroke, patients who suffered from spasticity on the 6th month, in comparison with those who did not, had higher levels of previously mentioned aminoacids: glutamate concentration exceed 32 % and aspartate — 33 %. Conjoint characteristic for both groups also was significant decrease in tyrosine's level ($P < 0.01$) in relation to control group. Distinguishing feature of patients from the group with post-stroke spasticity was much higher level of glutamine and unlike patients with normal muscle tone it was significantly different from the control group ($P < 0.01$). An interesting distinction was found in a group of patients without spasticity who had higher plasma concentration of asparagine that was significantly different from the control group ($P < 0.05$).

It should be noted that in the acute phase of the first-ever ischemic stroke between patients who suffered from spasticity on the 6th month and those who did not was divergence also between inhibitory amino acid levels. Hence, GABA concentration in plasma of patients without post-stroke spasticity was 2.9 times higher comparing to

Table 1

Plasma concentrations of neuro amino acids during the first 72 hours of acute stroke depending on the existence of post-stroke spasticity on the 6th month

Indicator	Group of patients		
	Control	Without post-stroke spasticity	With post-stroke spasticity
Glutamate, mcM/L	82.1 [75.5; 87.7]	173.3 [144.3; 210.0] $P_0 < 0.01$	240.8 [205.0; 285.1] $P_0 < 0.01$ $P_1 < 0.01$
Glutamine, mcM/L	487.9 [430.3; 510.8]	505.3 [480.1; 520.4] $P_0 > 0.05$	1087.9 [950.1; 1309.8] $P_0 < 0.01$ $P_1 < 0.01$
Aspartate, mcM/L	153.2 [143.1; 168.2]	215.7 [197.5; 235.1] $P_0 < 0.01$	321.2 [287.5; 342.7] $P_0 < 0.01$ $P_1 < 0.01$
Asparagine, mcM/L	53.6 [49.6; 57.9]	66.8 [58.3; 75.6] $P_0 < 0.05$	56.6 [54.5; 58.7] $P_0 > 0.05$ $P_1 < 0.01$
Tyrosine, mcM/L	54.7 [50.1; 59.9]	49.6 [41.2; 52.4] $P_0 < 0.01$	46.7 [40.3; 50.8] $P_0 < 0.01$ $P_1 > 0.05$
GABA, mcM/L	2.8 [2.5; 3.4]	10.0 [8.7; 11.7] $P_0 < 0.01$	3.4 [2.6; 4.1] $P_0 > 0.05$ $P_1 < 0.01$
Glycine, mcM/L	185.0 [178.3; 189.9]	277.8 [245.7; 301.7] $P_0 < 0.05$	70.1 [55.8; 81.1] $P_0 < 0.01$ $P_1 < 0.01$
Taurine, mcM/L	27.9 [24.7; 30.3]	17.0 [16.2; 18.7] $P_0 < 0.05$	13.6 [12.1; 15.6] $P_0 < 0.05$ $P_1 < 0.05$
Glutamate / GABA	30.0 [21.9; 34.1]	17.1 [14.7; 19.9] $P_0 < 0.01$	74.5 [55.7; 102.7] $P_0 < 0.01$ $P_1 < 0.01$

Note: P_0 — reliability of the difference comparing to the control group; P_1 — reliability of the difference comparing to group of the patients without post-stroke spasticity

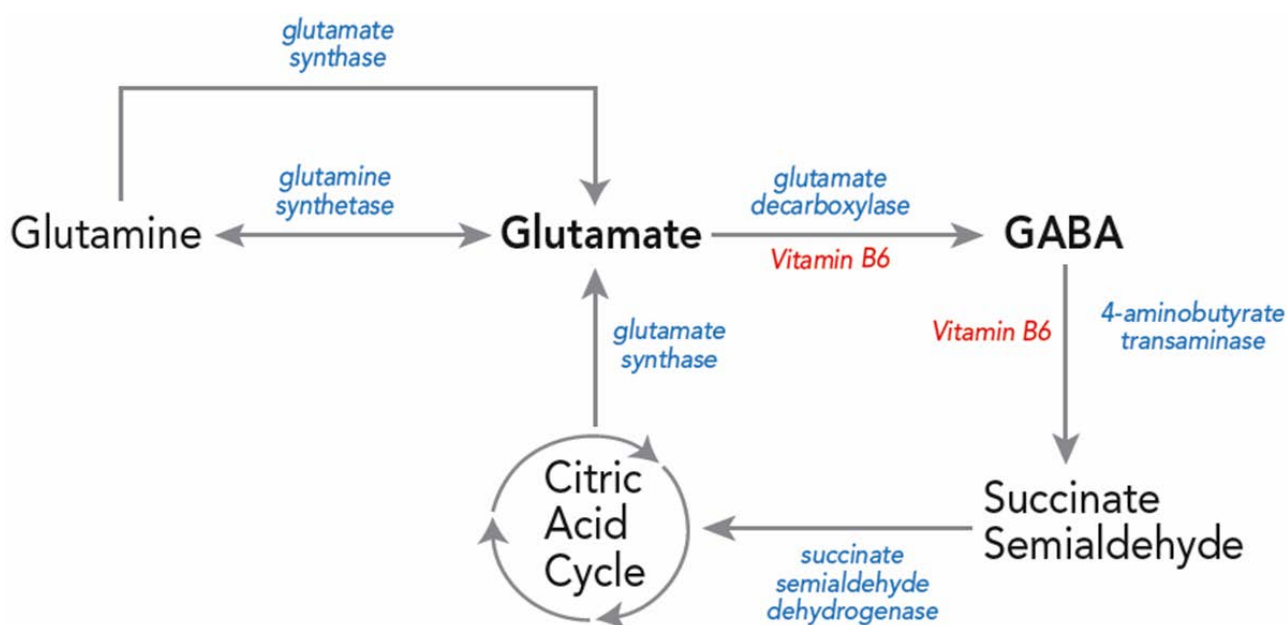


Fig.1 GABA-shunt

the control group ($P < 0.01$), while in the group without spasticity it exceeded control's group level only in 1.3 times, which had no statistical significance ($P > 0.05$). An interesting finding was difference in glycine concentration between groups. So, glycine level was observed to be 49 % higher in group with spasticity comparing to the control group ($P > 0.05$), but in patients without spasticity it's concentration decreased and was significantly lower comparing to the control group ($P < 0.01$). During the first 72 hours of acute ischemia stroke taurine's concentration was observed to be significantly lower comparing to the control level in both groups of patients ($P < 0.05$).

Thus, analysis of the obtained data showed activation of the excitatory amino acid system in both groups of patients (those who have developed a post-stroke spasticity until the 6th month after stroke onset and those who have not) and accompanying decrease in inhibitory amino acid's system in group of patients who have got spastic increase of the muscle tone. In patients who did not show increased muscle tone we observed an increase in both inhibitory amino acid's levels in response to an excessive amount of excitatory neuro amino acids. Taking into consideration our findings and biochemical features of GABA-shunt (Fig. 1) [8] we can presume the existence of some compensatory mechanisms of biotransformation of excess glutamate into GABA in some group of patients and somehow this mechanism protects them from post-stroke spasticity. Thus, if we calculate the ratio glutamate/GABA we have got 30.0 [21.9; 34.1] in control group, and 74.5 [55.7; 102.7], 17.1 [14.7; 19.9] in group of patients with spasticity and without, respectively.

Conclusions

The found insufficiency of inhibitory amino acid system in acute phase of ischemic

stroke in some group of patients, who are prone to post-stroke spasticity subsequently, can be used for screening such patients for their early rehabilitation. This study needs more attention in order to find possibility for pharmaceutical correction of the poor inhibitory amino acid pool.

Perspectives for further research. Further investigations need to be done in order to determine the metabolic or neuro-biochemical reasons of the observed difference between two groups of patients. Besides, we can use study results for creating the post-stroke spasticity predictive model for ischemic cerebral stroke survivors.

1. Skvortzova V. I., Raevskiy K. S., Kovalenko A. V. Contents of neurotransmitter amino acids in cerebrospinal fluid of ischemic stroke patients. *Korsakov journal of neurology and psychiatry*, 1999, 99 (2), pp. 34–38.

2. Grigorova I. A. Role of neurotransmitter amino acids in cerebral ischemic stroke pathogenesis. *Medical practice*, 2001, 1, pp. 21–25.

3. Barhatov D. U., Dgibladze D. N., Barhatova V. P. Link between clinical and biochemical deviations associated with carotid arteries atherosclerosis. *Journal of neurology and psychiatry*, 1981, 9, pp. 1308–1313.

4. Castillo J., Davalos A., Naveiro J., Noya M. Neuroexcitatory amino acids and their relation to infarct size and neurological deficit in ischemic stroke. *Stroke*, 2006, 22, pp. 1060–1065.

5. Gusev E. I., Skvortzova V. I. Neurotransmission of glutamate and Ca^{2+} metabolism in normal condition and associated with cerebral ischemia. *Progress of physiological sciences*, 2002, 33 (4), pp. 80–93.

6. Butter Th., Meves S., Schute W. Temporal profile of excitotoxic amino acids plasma concentrations following acute ischemic infarction. Abstracts of 7th European stroke conference, May 27–30, 2008, Edinburgh, UK, *Cerebrovasc. Diseases*, 2009, 8 (4), p. 79.

7. Payenok A. V., Tsiumrak I. M., Kurulyk S. Y. Post-stroke spasticity: pathophysiology and methods of assessment. *Ukrainian neurological journal*, 2014, 2, pp. 18–24.

8. Donald P., George S., Scott B. Basic neurochemistry. American society for neurochemistry, Elsevier, 2012, p. 1016.