

HLORINIŠUĆA AKTIVNOST SERUMSKE MIJELOPEROKSIDAZE U AKUTNOM ISHEMIČNOM MOŽDANOM UDARU

AUTORI

Mirić M.¹, Dragojević I.¹, Kisić B.¹, Biševac B.¹, Filipović S.¹, Marjanović J.², Dejanović M.¹

¹ Medicinski Fakultet Univerziteta u Prištini, Kosovska Mitrovica, Srbija

² Zdravstveni centar Kosovska Mitrovica

KORESPONDENT

MARKO MIRIĆ

Medicinski Fakultet Univerziteta u Prištini, Kosovska Mitrovica, Srbija

✉ marko.miric@gmail.com

SAŽETAK

Uz tradicionalne faktore rizika smatra se da i inflamacija doprinosi nastanku ishemičnog moždanog udara (IMU). U toku inflamacije neutrofilni leukociti se degranulišu, kada može doći do oslobađanja njihovog enzima mijeloperoksidaze (MPO) u ekstracelularni prostor. Osim peroksidazme MPO poseduje i hlorinišuću aktivnost kojom stvara hipohlornu kiselinu i dugoživeće oksidanse hloramine. U ovoj studiji je određivana hlorinišuća aktivnost MPO i koncentracija ukupnih hloramina u serumu. U studiju je bilo uključeno 29 pacijenata sa akutnim IMU, starosti 69.0 godina (64.2-78.0), i 25 ispitanika kontrolne grupe bez IMU, starosti 69.0 godina (67.0-72.0). Nađeno je da je u grupi sa IMU broj neutrofilnih leukocita u perifernoj krvi značajno veći od kontrolnih vrednosti (4.56 ± 1.76 vs. $7.74 \pm 3.35 \times 10^9/L$, u kontrolnoj grupi i kod pacijenata; $p < 0.05$). Takođe je i hlorinišuća aktivnost MPO seruma bila veća u grupi sa IMU (67.2 U/L vs. 92.3 U/L, kod kontrole i kod pacijenata; $p < 0.05$). Iako je koncentracija ukupnih hloramina bila nešto veća kod IMU nego u kontrolnoj grupi, razlika nije bila statistički značajna ($p = 0.178$). Aktivnost MPO je značajno korelirala sa koncentracijom triglicerida ($p < 0.05$). Korelacija između hlorinišuće aktivnosti MPO i ukupnih hloramina nije bila značajna ($p = 0.402$), dok su korelacije MPO aktivnosti i broja neutrofila ($p = 0.071$) odnosno MPO aktivnosti i prisustva aritmije ($p = 0.094$) bile nešto veće. Rezultati ove studije ukazuju da MPO verovatno ima ulogu u patogenezi IMU, što se delimično može zasnivati na hlorinaciji biološki značajnih molekula vaskularnog kompartmana.

Ključne reči: ishemični moždani udar, mijeloperoksidaza, hlorinišuća aktivnost, hloramini, inflamacija

UVOD

Moždani udar označava naglo nastali, fokalni, nekonvulzivni neurološki poremećaj, koji traje duže od 60 minuta i sem vaskularnih uzroka (vaskularnog oštećenja) ne može se otkriti drugi razlog njegovog nastanka. Na osnovu patološkog procesa koji dovodi do njegovog razvoja moždani udar se može klasifikovati kao ishemički i hemoragični [1]. Ishemički moždani udar (IMU) je češći od hemoragičnog i javlja se u oko 80% obolelih [2]. Iako se u patogenetskoj osnovi IMU nalazi akutni poremećaj u dopremanju krvi u moždano tkivo usled embolije ili okluzije cerebralnog krvnog suda trombom, patofiziološki procesi koji mu prethode ili nastaju kao njegova posledica su daleko složeniji [3].

Tradicionalno se IMU povezuje sa starenjem, dijabetesom, kardiovaskularnim bolestima, hiperlipidemijom, lošim navikama i nekim drugim faktorima rizika. Međutim, novije studije pokazuju da i inflamatorni odgovor igra značajnu ulogu u patogenezi IMU [4,5]. Inflamacija ograničava cerebralni protok krvi otpuštanjem vazokonstriktornih ili smanjenjem koncentracije vazodilatatornih medijatora, dovodi do oštećenja krvno-moždane barijere oslobađanjem hidrolitičkih enzima, medijatora lipidne

peroksidacije ili produkcijom radikala kiseonika, i inicira trombozu [6].

Jedan od najranijih sistemskih odgovora kod IMU je porast broja leukocita u krvi u prva 24h, naročito neutrofilnih leukocita, dok broj monocita dostiže svoj maksimum 3 - 4 dana bolesti [7]. Citoplazmatske granule fagocita sadrže enzim mijeloperoksidazu (MPO), koja igra značajnu ulogu u patogenezi kardiovaskularnih bolesti [8]. MPO poseduje dve vrste aktivnosti, oksidišuću, kojom dolazi do produkcije slobodnih radikala kiseonika i hlorinišuću čiji je produkt hipohlorna kiselina [9]. Pojačana aktivnost MPO se povezuje sa početkom procesa ateroskleroze i njenim daljim razvojem [8] kao i sa oštećenjem tkiva u kojima je došlo do ishemijske. Zbog toga je MPO ključna komponenta inflamacije i može imati značajnu ulogu u oštećenju tkiva u IMU i posthipoksičnom inflamatornom odgovoru [6].

Epidemiološke studije pokazuju da sistemska inflamacija ima značajan uticaj na ishod cerebrovaskularnih bolesti [10,11]. Hlorinišuća aktivnost MPO je vezana za baktericidno dejstvo fagocita, ali stvorena hipohlorna kiselina lako reaguje sa aminokiselinama, aminima i proteinima gradeći hloramine. Iako su hloramini dugoživeći sekundarni toksični medijatori, pa prema tome i potencijalni učesnici u mehanizmu ošte-

ćenja tkiva, o ekstracelularnoj hlorinišućoj aktivnosti MPO kod pacijenata sa IMU se malo zna. U ovoj studiji je ispitivana hlorinišuća aktivnost MPO u serumu pacijenata sa IMU, i njen odnos sa tradicionalnim faktorima rizika.

MATERIJAL I METODE

ISPITANICI

U studiji su učestvovali pacijenti stariji od 18 godina, primljeni na Kliniku za neuropsihijatriju KBC Priština (Laplje Selo) i Neuropsihijatrijsko odeljenje Zdravstvenog centra Kosovska Mitrovica, sa simptomima koji su upućivali na akutni moždani udar. U studiju su bili uključeni samo pacijenti kod kojih je neurološkim, radiološkim i drugim metodama postavljena konačna dijagnoza IMU. Pacijenti kod kojih je dijagnostikovano tranzitorni ishemijski atak, hemoragijski šlog i drugi vaskularni poremećaji, zatim pacijenti sa tumorom, inflamatornim, degenerativnim ili autoimunim oboljenjem nisu bili uključeni u studiju. Nisu bili uključeni ni pacijenti sa recidivom šloga, kao ni pacijenti hospitalizovani nakon 2 ili više dana od nastanka prvih simptoma bolesti. Klinička težina IMU je kvantifikovana na prijemu pomoću NIHSS skora, izračunatog bodovanjem 11 različitih kliničkih parametara oštećenja svesti, senzorijskih i motorike izazvanih insultom [12].

Kontrolnu grupu su činile osobe oba pola, slične starosti, bez pozitivnih kliničkih i anamnestičkih nalaza cerebrovaskularne bolesti, kod kojih je pregledom ustanovljena diskusivna, lumbalgija, isijalgija ili glavobolja nepoznate etiologije.

Usmeni pristanak za učešće u studiji dobijen je od ispitanika ili njihovih pratilaca. Ovo je istraživanje izvršeno u skladu sa Deklaracijom iz Helsinkija, i odobreno od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Prištini (Kosovskoj Mitrovici).

UZIMANJE UZORAKA

Krv je uzimana prvog dana hospitalizacije, ne kasnije od 36 sati od pojave prvih simptoma bolesti. Za hematološke analize krv je uzimana sa antikoagulansom. Za rutinske i druge biohemijske analize krv je uzimana bez antikoagulansa, a serum je dobijen centrifugovanjem na 3000 obrt/ min.

BIOHEMIJSKE METODE

Određivanje hlorinišuće aktivnosti MPO u serumu

Hlorinišuća aktivnost MPO u serumu je određivana spektrofotometrijski, u sistemu koji sadrži hloride, taurin, vodonik peroksid i tio-nitrobenzoat, merenjem promene apsorbanse na talasnoj dužini od 412 nm [13]. Rezultati su izraženi u jedinicama aktivnosti na litar seruma (U/ L).

Merenje koncentracije hloramina u serumu

Koncentracija hloramina u serumu je određivana u reakciji sa tio-nitrobenzoatom, merenjem apsorbanse na 412 nm [14]. Rezultati su izraženi na litar seruma (μmol/ L).

Ostale biohemijske i hematološke metode

Krvna slika i diferencijalna krvna slika je određivana na hematološkom analizatoru (Beckman Coulter, Krefeld, Germany). Sedimentacija eritrocita (SE) je određivana manuelno, po Vestergrinu. Koncentracije uree, kreatinina, glukoze, holesterola, triglicerida i C-reaktivnog proteina (CRP) su određivane rutinski, na automatskom analizatoru Hitači 902 (Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, Germany), upotrebom originalnih reagensa.

STATISTIČKE METODE

Za statističku analizu je korišćen softverski paket MedCalc, verzija 9.0.1.1. Homogenost i distribucija frekvencije uzorka je testirana Kolmogorov-Smirnov testom. Rezultati su prikazani kao medijana i 95% interval poverenja medijane, srednja vrednost ± standardna devijacija, ili kao frekvencija. Razlike između grupa su testirane Mann-Whitney U-testom, Studentovim t-testom za nezavisne uzorke ili hi-kvadrat testom. Korelaciona analiza je sprovedena izračunavanjem Spirmanovog koeficijenta korelacije (ρ). Statistički značajnim se smatrao nalaz pri verovatnoći pogreške p<0.05.

REZULTATI

U studiju je bilo uključeno ukupno 54 ispitanika oba pola, od kojih je kod 29 ispitanika starosti 69.0 godina

Tabela 1. Osnovni demografski, klinički i biohemijski parametri ispitanika

Parametri	Kontrolna grupa (n=25)	Ishemički moždani udar (n=29)	p-vrednost
Starost (godine)	69.0 (67.0 - 72.0)	69.0 (64.2 - 78.0)	0.467
Pol (muški /ženski; f)	12/ 13	13/ 16	0.968
NIHSS	/	9.36 ± 6.38	/
Hipertenzija (da/ ne; f)	17/ 8	24/ 5	0.344
Dijabetes (da/ ne; f)	4/ 21	10/ 19	0.217
Pušač (da/ ne; f)	18/ 7	19/ 10	0.828
Urea (mmol/ L)	6.41 ± 2.44	7.42 ± 3.34	0.217
Kreatinin (μmol/ L)	110 (93 - 125)	109 (94 - 121)	0.840
Glukoza (mmol/ L)	5.47 (4.77 - 6.18)	6.17 (5.69 - 8.69)	< 0.05
Trigliceridi (mmol/ L)	1.26 (1.09 - 1.47)	1.56 (1.16 - 2.12)	0.047
Holesterol (mmol/ L)	5.23 ± 1.17	5.48 ± 1.08	0.429

Prikazane su medijana i 95% interval poverenja medijane (u zagradi), srednja vrednost ± standardna devijacija, ili kao frekvencija (f). Razlike između grupa su testirane Mann-Whitney U-testom, Studentovim t-testom za nezavisne uzorke ili hi-kvadrat testom.

Tabela 2. Markeri inflamacije kod ispitivanih grupa

Markeri inflamacije	Kontrolna grupa (n = 25)	Ishemički moždani udar (n = 29)	p-vrednost
SE (mm/ h)	13.9 ± 9.7	23.9 ± 11.9	< 0.05
Leukociti (× 10 ⁹ / L)	7.18 ± 2.33	9.76 ± 4.57	< 0.05
Neutrofili (× 10 ⁹ / L)	4.56 ± 1.76	7.74 ± 3.35	< 0.05
Monociti (× 10 ⁹ / L)	0.41 ± 0.22	0.52 ± 0.33	0.163
Limfociti (× 10 ⁹ / L)	2.03 ± 0.74	1.83 ± 0.86	0.368
Trombociti (× 10 ⁶ / L)	189 ± 67	214 ± 61	0.157
LogCRP (mg/ L)	0.582 ± 0.194	0.776 ± 0.220	< 0.05

Prikazane su srednje vrednosti ± standardna devijacija. Razlike između grupa su testirane Studentovim t-testom za nezavisne uzorke. Pre upoređivanja koncentracija CRP-a svakog uzorka je logaritmovana (LogCRP).

Tabela 3. Korelacija hlorinišuće aktivnosti MPO seruma i pojedinih faktora rizika kod ishemičnog moždanog udara

Faktori rizika	Spirmanov koeficijent (ρ)	p-vrednost
Starost (godine)	0.220	0.245
Pol (muški vs. ženski)	-0.139	0.463
Dijabetes (da vs. ne)	0.271	0.151
Aritmija/ fibrilacija (da vs. ne)	0.316	0.094
Hipertenzija (da vs. ne)	0.285	0.132
NIHSS	0.212	0.235
Glukoza (mmol/ L)	-0.201	0.275
Holesterol (mmol/ L)	0.168	0.375
Trigliceridi (mmol/ L)	0.430	0.023
LogCRP (mg/ L)	0.258	0.173
Neutrofili (× 10 ⁹ / L)	0.341	0.071
Hloramini (μmol/ L)	0.161	0.402

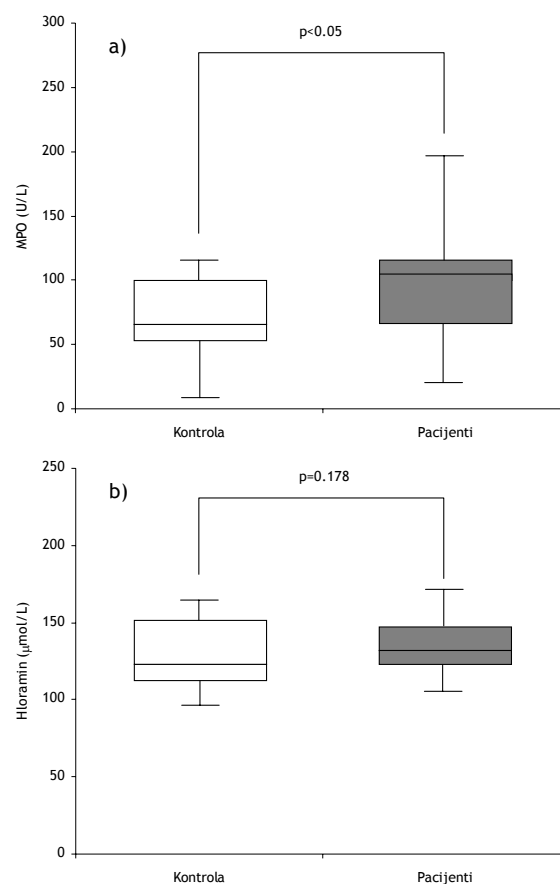
(64.2 - 78.0) dijagnostikovao IMU dok je ostalih 25 ispitanika starosti 69.0 godina (67.0 - 72.0) činilo kontrolnu grupu. Njihovi osnovni demografski, klinički i biohemijski parametri su prikazani u Tabeli 1.

Kao što je i očekivano, pacijenti sa IMU su imali statistički značajno veće vrednosti biomarkera inflamacije u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 2), i to povećanu sedimentaciju eritrocita, ukupan broj leukocita, ukupan broj neutrofila kao i povećanu koncentraciju CRP-a ($p < 0.05$). Broj monocita, limfocita i trombocita se nije razlikovao u odnosu na kontrolnu grupu.

Grafik 1 prikazuje hlorinirajuću aktivnost MPO i koncentraciju hloramina u serumu ispitanika. Hlorinirajuća aktivnost MPO je kod pacijenata sa IMU bila oko 50% veća u odnosu na kontrolne vrednosti (67.2 U/L vs. 92.3 U/L, u kontrolnoj grupi i kod pacijenata sa IMU; $p < 0.05$). Koncentracija hloramina u serumu pacijenata sa IMU je bila nešto veća nego u kontrolnoj grupi ali razlika nije bila statistički značajna (119.2 μmol/L vs. 129.6 μmol/L, u kontrolnoj grupi i kod pacijenata sa IMU; $p = 0.400$).

Zatim je korelacionom analizom ispitivana povezanost hlorinišuće aktivnosti MPO seruma sa nekim od tradicionalnih faktora rizika (starost, hipertenzija, aritmija, dijabetes, pušenje, koncentracija holesterola, triglicerida, glukoze), kao i markerima inflamacije, težinom bolesti (NIHSS skor) i koncentracijom ukupnih hloramina (Tabela 3). Od svih ispitivanih faktora, hlorinišuća aktivnost MPO je bila značajno povezana jedino sa koncentracijom triglicerida ($r = 0.430$; $p = 0.023$) i u znatno manjoj meri sa brojem neutrofilnih leukocita u krvi ($r = 0.341$; $p = 0.071$), odnosno prisustvom aritmije ($r = 0.316$; $p = 0.094$). Koeficijenti korelacije hlorinišuće aktivnosti MPO i ostalih faktora rizika, kao ni NIHSS skora odnosno koncentracije hloramina, nisu bili statistički značajni (Tabela 3).

Grafikon 1. Mijeloperoksidaza i hloramini u serumu



Hlorinišuća aktivnost mijeloperoksidaze (a) i koncentracija hloramina (b) u kontrolnoj grupi i kod pacijenata sa ishemičnim moždanim udarom. Razlike između grupa su testirane Studentovim t-testom za nezavisne uzorke.

DISKUSIJA

Rezultati ove studije pokazuju da kod IMU postoji pojačani sistemski inflamatorni odgovor, koji se manifestovao kao povećani broj leukocita sa dominacijom neutrofila, veća brzina SE, i veća koncentracija CRP-a u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 2). Klinička studija Aleksandrove i saradnika je pokazala da se za vreme IMU u perifernoj krvi povećava broj neutrofilnih leukocita, da ove ćelije pojačano atheriraju na zid krvnog suda, aktivnišu se i stvaraju oksidanse [15]. Uopšte, veći broj studija ukazuje da je inflamatorni odgovor na hipoksične promene u mozgu važna karika u lancu mehanizma nastanka IMU [4-7].

Nakon pobuđivanja neutrofilni leukociti se degranulišu, tako da se sadržaj njihovih citoplazmatskih granula može osloboditi u cirkulaciju, zbog čega je i korišćen serum za određivanje hlorinišuće aktivnosti MPO. Nađeno je (Grafik 1a) da je aktivnost MPO u serumu za oko 50% veća u grupi sa IMU u odnosu na kontrolnu grupu (67.2 U/L vs. 92.3 U/L, kod kontrole i kod pacijenata; $p < 0.05$). Iako za sada u literaturi ne postoje podaci o hlorinišućoj aktivnosti ekstracelularne MPO kod pacijenata sa IMU, Cójocar i saradnici su našli za oko 30% veće koncentracije proteina MPO u serumu u akutnoj fazi IMU [11], dok je u jednoj drugoj studiji koncentracija MPO bila dvostruko veća od kontrolnih vrednosti [16].

Malo se međutim zna o uzrocima i posledicama povećanja aktivnosti MPO u serumu pacijenata sa IMU. Aleksandrova i saradnici su pokazali da iako je broj neutrofila bio proporcionalan težini IMU, sposobnost aktivacije, degranulacije i stvaranja oksidanasa nisu odgovarali kliničkoj težini bolesti [15]. U studiji Dominguez i saradnika nije bilo nikakve korelacije koncentracije MPO sa NIHSS skorom, kao pokazateljem kliničke težine bolesti [16]. Ni u našoj studiji nije postojala statistički značajna korelacija između NIHSS skora i MPO aktivnosti, kao ni između MPO aktivnosti i koncentracije hloramina (Tabela 3).

Hloramini su dugoživeći oksidansi koji nastaju dejstvom hipohlorne kiseline na slobodne i proteinski vezane aminokiseline seruma, tako da mogu nastati i pre nastajanja klinički manifestnog IMU. U našoj je studiji određivana koncentracija ukupnih hloramina, premda je od naročitog značaja hlorinacija aminokiseline taurin. Eksperimentalne studije pokazuju da taurin ispoljava anti-inflamatorno dejstvo i u ishemiji štiti tkivo mozga od oštećenja [17]. Nedavno je pokazano da se taurin u serumu višestruko povećava u prvih 24 sata nakon insulta [18], zbog čega je moguće očekivati i porast koncentracije taurin hloramina kod IMU. U našoj studiji je koncentracija hloramina kod IMU bila veća od kontrolnih vrednosti, ali razlika nije dostigla statističku značajnost (Grafik 1b). Ovi rezultati upućuju da se u akutnoj fazi IMU intenzivira hlorinacija molekula prisutnih u cirkulaciji. Teško je, međutim, proceniti da li je i u kojoj meri došlo do promene koncentracije taurina, zato što su određivani samo ukupni hloramini.

Ispitivali smo zatim odnos hlorinišuće aktivnosti MPO i tradicionalnih faktora rizika za IMU (Tabela 3). Poznato je da su dugotrajna dis- i hiperlipidemija faktori rizika za nastanak cerebrovaskularnog insulta. Eksperimentalne studije pokazuju da ishrana bogata holesterolom i hiperholesterolemija pojačavaju stvaranje oksidanasa, tako da čak i u odsustvu aterosklerotičnih lezija izazivaju endotelnu disfunkciju cerebralnih arteriola [19]. Ateroskle-

rotične lezije i endotelna disfunkcija su primarni patofiziološki supstrat IMU. Pri formiranju aterosklerotičnih lezija se iz fagocitnih ćelija koje migriraju u zid krvnog suda oslobađa MPO u ekstracelularni prostor. Prospektivne studije pokazuju da je kod naizgled zdravih osoba povećana koncentracija MPO u serumu prognostički faktor rizika nastanka kardiovaskularnog ili cerebrovaskularnog insulta u naredne 3 godine [20]. Koncentracija MPO u serumu je povećana kod klinički manifestnih kardiovaskularnih bolesti, naročito u slučajevima kod kojih postoji genski polimorfizam ovog enzima [21].

Kod genskog polimorfizma postoji zamena guanina adeninom na položaju 463 proteinskog lanca MPO, što dovodi do pojačane sinteze i visoke aktivnosti enzima, a kod eksperimentalnih životinja izaziva i porast koncentracije glukoze, holesterola i triglicerida u serumu [22]. U našoj studiji je postojala statistički značajna povezanost aktivnosti MPO u serumu i koncentracije triglicerida (Tabela 3), što možda ukazuje na veće prisustvo polimorfnog enzima među pacijentima sa IMU. U jednoj skorijoj kohortnoj studiji nađena je skoro dva puta veća učestalost polimorfne ekspresije MPO kod IMU nego kod zdravih osoba [23], dok je druga studija pokazala povezanost genskog polimorfizma MPO i povećane koncentracije ukupnog holesterola, LDL holesterola i triglicerida [24].

Osim sa koncentracijom triglicerida u serumu, hlorinišuća aktivnost MPO je pokazivala određeni stepen korelacije sa brojem neutrofila u perifernoj krvi ($p=0.341$; $p=0.071$) i kliničkim podatkom o prisustvu aritmije/fibrilacije ($p=0.316$; $p=0.094$). Od svih fagocitnih ćelija MPO je najviše prisutna upravo u neutrofilima, što verovatno objašnjava korelaciju nađenu u ovoj studiji. Poznato je da se neutrofili lako aktivnišu i degranulišu u uslovima mehaničkog i „shear“ stresa, a takvi uslovi postoje u cirkulaciji za vreme aritmije i fibrilacije [5, 25]. Iako je povezanost aktivnosti MPO sa poremećajem srčanog ritma u našoj studiji bila slabija, dobijeni rezultati ukazuju da postoje multiple uzročno-posledične veze između tradicionalnih faktora rizika za IMU i hlorinišuće aktivnosti MPO. Naša pilot-studija je bila ograničena na mali broj ispitanika. S obzirom da rezultati ukazuju na moguću ulogu MPO i hlorinacije u patogenezi IMU, potrebno je istraživanje proširiti na veći broj ispitanika.

ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da inflamatorni odgovor deluje u sklopu fizičkih, hemijskih i bioloških faktora i doprinosi patogenezi IMU. Aktivnost ekstracelularne MPO mogla bi da predstavlja rezultantu postojanja većeg broja tradicionalnih faktora rizika kod pacijenata sa IMU.

LITERATURA

1. Kostić V. Neurologija. Medicinski fakultet u Beogradu - CIBID, Beograd 2009.
2. Donnan GA, Fisher M, Macleod M, Davis M. Stroke. *Lancet* 2008; 371: 1612 - 1623.
3. Anderson D, Larson D, Bluhm J, Charipar R, Fiscus L, Hanson M, Larson J, Rabinstein A, Wallace G, Zinkel A. Diagnosis and initial treatment of ischemic stroke. Bloomington (MN): Institute for Clinical Systems Improvement. (ICSI); 10th Edition; 2012. 122pp.
4. Breckwoldt MO, Chen JW, Stangenberg L, Aikawa E, Rodriguez E, Qiu S, Moskowitz MA, Weissleder R. Tracking inflammatory response in stroke in vivo by sensing the enzyme myeloperoxidase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 18584 - 18589.
5. Jin R, Yang G, Li G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells. *J Leukoc Biol* 2010; 87: 779 - 789.
6. Kochanek PM, Hallenbeck JM. Polymorphonuclear leukocytes and monocytes/ macrophages in the pathogenesis of cerebral ischemia and stroke. *Stroke* 1992; 23:1367 - 1379.
7. Denes A, Thornton P, Rothwell NJ, Allan SM. Inflammation and brain injury: Acute cerebral ischemia, peripheral and central inflammation. *Brain Behav Inflamm* 2010; 24:708 - 723.
8. Brennan ML, Penn MS, Van Lente P, et al. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. *N Engl J Med* 2003; 349: 1595 - 1604.
9. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol* 2005; 77: 598 - 625.
10. Elkind MS, Cheng J, Rundek T, Boden-Albala B, Sacco RL. Leukocyte count predicts outcome after ischemic stroke: The Northern Manhattan Stroke Study. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2004; 13: 220 - 227.
11. Cojocaru IM, Cojocaru M, Iliescu J, Bontaru L, Gruban CV, Sfrijan F, Tanasescu R. Plasma myeloperoxidase levels in patients with acute ischemic stroke. *Rom J Intern Med* 2010; 48: 101 - 104.
12. Brott T, Adams HP Jr, Olinger CP, Marler JR, Barsan WG, Biller J, Spikler J, Holleran R, Eberle R, Hertzberg V. Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination scale. *Stroke* 1989; 20: 864-870.
13. Dyptbukt JM, Bishop C, Brooks WM, Thong B, Eriksson H, Kettle AJ. A sensitive and selective assay for chloramines production by myeloperoxidase. *Free Radic Biol Med* 2005; 39: 1468-1477.
14. Hawkins CL, Morgan PE, Davies MJ. Quantification of protein modifications by oxidants. *Free Radic Biol Med* 2009; 46: 965-988.
15. Alexandrova ML, Bochev PG, Markova VI, Bechev BG, Popova MA, Danovska MP, Simeonova VK. Changes in phagocyte activity in patients with ischemic stroke. *Luminescence* 2001; 16: 357 - 365.
16. Dominguez C, Delgado P, Vilches A, Martin-Gallan P, Ribo M, Santamarina E, Molina C, Corbeto N, Rodriguez-Sureda V, Rosell A, Alvarez-Sabin J, Montaner J. Oxidative stress after thrombolysis-induced reperfusion in human stroke. *Stroke* 2010; 41: 653-660.
17. Sun M, Zhao Y, Gu Y, Xu C. Anti-inflammatory mechanism of taurine against ischemic stroke is related to down-regulation of PARP and NF- κ B. *Amino Acids* 2012; 42: 1735 - 1747.
18. Ghandforoush-Sattari M, Mashayekhi SO, Nemati M, Ayromlou H. Changes in plasma concentration of taurine in stroke. *Neurosci Lett* 2011; 496: 172 - 175.
19. Kitayama J, Faraci FM, Lentz SR, Heistad DD. Cerebral vascular dysfunction during hypercholesterolemia. *Stroke* 2007; 38: 2136 - 2141.
20. Meuwese MC, Strokes ES, Hazen SL, van Miert JN, Kuivenhoven JA, Schaub RG, Wareham NJ, Luben R, Kastelein JJ, Khaw KT, Boekholdt M. Serum myeloperoxidase levels are associated with future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 159-165.
21. Asselbergs FW, Reynolds WF, Cohen-Tervaert JW, Jessurun GA, Tio RA. Myeloperoxidase polymorphism related to cardiovascular events and coronary heart disease. *Am J Med* 2004; 116: 429 - 430.
22. Castellani LW, Chang JJ, Lusis AJ, Reynolds WF. Transgenic mice express human MPO -463G/A alleles at atherosclerotic lesions, developing hyperlipidemia and obesity in -463G males. *J Lipid Res* 2006; 47: 1366 - 1377.
23. Manso H, Krug T, Sobral J, Albergaria I, Gaspar G, Ferro JM, Oliveira SA, Vicente AM. Variants in the inflammatory IL6 and MPO genes modulate stroke susceptibility through main effects and gene-gene interactions. *J Cerebral Blood Flow Metabol* 2011; 31: 1751-1759.
24. Hoy A, Tregouet D, Leininger-Muller B, Poirier O, Maurice M, Sass C, Siest G, Tiret L, Visvikis S. Serum myeloperoxidase concentration in a healthy population: biological variations, familial resemblance and new genetic polymorphisms. *Eur J Hum Genet* 2001; 9: 780 -786.
25. Mitchell MJ, Lin KS, King MR. Fluid shear stress increases neutrophil activation via platelet-activating factor. *Biophys J* 2014; 106: 2243-2253.

SERUM MYELOPEROXIDASE CHLORINATING ACTIVITY IN ACUTE ISCHEMIC STROKE

Mirić M.¹, Dragojević I.¹, Kisić B.¹, Biševac B.¹, Filipović S.¹, Marjanović J.², Dejanović M.¹¹ Faculty of Medicine Priština (Kosovska Mitrovica)² Health Center Kosovska Mitrovica

SUMMARY

Beyond traditional risk factors, inflammation is believed to play a role in the development of ischemic stroke (IS). During inflammation neutrophil leukocytes degranulate, thereby releasing the enzyme myeloperoxidase (MPO) into extracellular space. In addition to peroxidase activity, MPO expresses also a chlorinating activity, and catalyzes the formation of hypochlorous acid and long-lived oxidants - chloramines. In this study we assessed serum chlorinating MPO activity and concentration of total chloramines. We included 29 patients with acute IS, aged 69.0 years (64.2 - 78.0) and 25 control subjects without IS, aged 69.0 years (67.0 - 72.0). It was found that neutrophil cell count was higher in IS than in controls (4.56 ± 1.76 vs. $7.74 \pm 3.35 \times 10^9/L$, in control and IS group, respectively; $p < 0.05$). Serum chlorinating MPO activity was also higher in IS group than in controls (67.2 U/L vs. 92.3 U/L, in controls and in patients, respectively; $p < 0.05$). Concentration of total chloramines was higher in IS group than in controls, but the difference did not reach statistical significance ($p=0.178$). MPO activity was significantly correlated with serum triglycerides ($p<0.05$). There was no statistically significant correlation between chlorinating MPO activity and chloramines ($p=0.402$), while correlations between MPO activity and neutrophil cell count ($p=0.071$), and MPO activity and the presence of arrhythmia ($p=0.094$) were both of borderline significance. These results indicate that MPO may be implicated in pathogenesis of IMU, which could be partly due to chlorination of biologically important molecules within vascular compartment.

Keywords: ischemic stroke, myeloperoxidase, chlorinating activity, chloramines, inflammation
