



Уровень эндотелиальных прогениторных клеток у больных с ишемическим инсультом и эффективность реабилитации

Белова Ю.А. • Чуксина Ю.Ю. • Шевелев С.В. • Яздовский В.В. • Котов С.В.

Белова Юлианна Алексеевна – канд. мед. наук, науч. сотр. неврологического отделения¹

✉ 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2–10, Российская Федерация.
Тел.: +7 (917) 573 03 25.

E-mail: juliannabelova@mail.ru

Чуксина Юлия Юрьевна – канд.

мед. наук, ст. науч. сотр. лаборатории клинической иммунологии и тканевого типирования¹

Шевелев Сергей Владимирович –

канд. мед. наук, науч. сотр. лаборатории клинической иммунологии и тканевого типирования¹

Яздовский Виктор Владимирович –

д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией клинической иммунологии и тканевого типирования¹

Котов Сергей Викторович – д-р

мед. наук, профессор, руководитель неврологического отделения, заведующий кафедрой неврологии факультета усовершенствования врачей¹

Актуальность. Ранняя диагностика инсульта, лечение и реабилитация больных отнесены к приоритетным направлениям государственной политики в области здравоохранения. В качестве стратегии защиты нейронов зоны «ишемической полутени» используется фармакологическая интервенция.

Цель – оценить у больных с ишемическим инсультом динамику их функционального состояния и уровня циркулирующих эндотелиальных клеток-предшественников (ЭКП) при назначении цитиколина.

Материал и методы. Обследованы 11 пациентов в раннем восстановительном периоде ишемического инсульта (из них 9 мужчин и 2 женщины, средний возраст – 58,4 ± 9,2 года). Пациенты 1-й группы (n = 7) получали препарат цитиколин в дозе 2000 мг/сут в течение 14 дней, пациентам 2-й группы (n = 4) проводилась базисная терапия. Двое здоровых добровольцев составили контрольную группу. С помощью метода многоцветной лазерной проточной цитометрии и набора моноклональных антител был изучен фенотип циркулирующих ЭКП. Оценка тяжести инсульта и функционального состояния пациентов проводилась по шкалам NIHSS, Рэнкина и индексу мобильности Ривермид.

Результаты. У больных с ишемическим инсультом отмечено снижение содержания ранних ЭКП по сравнению со здоровыми лицами. Через 7 суток лечения у пациентов 1-й группы зарегистрировано значительное повышение количества циркулирующих ЭКП, экспрессирующих VEGFR2⁺, – до 25,5 ± 20,9%, а также увеличение числа ранних ЭКП (CD117⁺/CD133⁺) – до 18,8 ± 14,6% – по сравнению с исходным уровнем (21,9 ± 19,2 и 9,4 ± 5,4% соответственно) и по сравнению с пациентами 2-й группы (8,1 ± 2,7 и 5,5 ± 3,4% соответственно). В 1-й группе оценка тяжести инсульта и функционального состояния исходно и на 7-е сутки составляла по шкале NIHSS 5,8 ± 4,9 и 3,5 ± 0,7 балла, по шкале Рэнкина 2,7 ± 1,3 и 2,3 ± 0,5 балла, индекс мобильности Ривермид 8,8 ± 4,9 и 9,4 ± 4,8 соответственно; во 2-й группе – 4,5 ± 2,3 и 3,3 ± 0,5; 2,5 ± 0,6 и 2,5 ± 0,4; 12,5 ± 1,3 и 12,7 ± 0,7 соответственно.

Заключение. Терапия цитиколином в остром периоде ишемического инсульта способствовала повышению содержания ранних предшественников ЭКП почти вдвое. Отмечены снижение уровня неврологического дефицита и улучшение функционального состояния пациентов с ишемическим инсультом.

Ключевые слова: ишемический инсульт, эндотелиальные клетки, васкулогенез, неоваскулогенез.

¹ ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация

Церебральный инсульт представляет собой серьезную медицинскую и социальную проблему вследствие высокой летальности, значительной инвалидизации и социальной дезадаптации перенесших его пациентов [1, 2]. По данным Всемирной организации здравоохранения, среди причин смерти взрослого населения планеты инсульт занимает третье место – после кардиологических и онкологических заболеваний. Заболеваемость инсультом в индустриальных странах составляет 2,5 случая на 1000 населения в год, в отдельных регионах Российской Федерации этот показатель фиксируют на уровне 7,1 на 1000 населения в год [3]. Особенно высок риск возникновения инсульта у пациентов, достигших 55-летнего возраста. В течение первого месяца после развития ишемического инсульта смертность от него может колебаться от 8 до 20% [4, 5]. Степень, характер и длительность восстановления функций, утраченных вследствие инсульта, переменны. Наиболее существенное улучшение в состоянии больного отмечается в первые 6 месяцев, в ряде случаев положительная динамика может наблюдаться в течение года. Ранняя диагностика инсульта, лечение и реабилитация больных, перенесших нарушение мозгового кровообращения, отнесены к приоритетным направлениям государственной политики в области здравоохранения [3].

Теоретические аспекты развития ишемического каскада при инсульте подробно представлены в научной литературе [6, 7]. При критическом снижении кровотока нервные клетки погибают в течение 5–6 минут. В первые часы после развития ишемического инсульта в пострадавшей области мозга присутствуют нейроны с разной степенью структурно-функциональных изменений, выраженность которых снижается по направлению от ядра инфаркта к периферическим зонам «ишемической полутени». Закономерности процессов распространения структурно-функциональных изменений внутри зоны пенумбры определяют окончательный размер инфаркта мозга на 3–5-е сутки заболевания.

Генеральным направлением терапии при ишемическом инсульте считается реперфузия. Спектр технологий, используемых при этой стратегии, постоянно расширяется. По мере накопления знаний о развитии церебральной ишемии стало понятно, что этот процесс динамичен. Однако провести точное разграничение временных периодов невозможно, поскольку у каждого пациента снижение мозгового кровотока, предшествующее цереброваскулярной катастрофе,

занимает длительный период времени. Это подтверждает целесообразность применения методов реперфузии на разных этапах. Так, ряд исследователей выявили существенное улучшение речевых функций у пациентов, перенесших инсульт, при использовании различных реперфузионных технологий не только в остром, но и в восстановительном периоде [8, 9]. Мы также наблюдали положительное влияние ревааскуляризации на восстановление двигательной функции после инсульта [10].

Еще одно весьма привлекательное направление в лечении больных с инсультом – нейропротекция, защита нейронов зоны «ишемической полутени». Предположительно, останавливать патологическую цепь нейробиохимических реакций, а следовательно, осуществлять нейропротекцию способны препараты с антиоксидантными свойствами – средства, уменьшающие активность возбуждающих медиаторов, блокаторы кальциевых каналов, биологически активные полипептиды и аминокислоты. Применение нейропротекторов на практике, как и тромболитика, ограничено «терапевтическим окном». Одним из немногих результативных исследований нейропротекторов на догоспитальном этапе у больных с инсультом является FAST-MAG (Field Administration of Stroke Therapy – Magnesium), в котором изучали применение сульфата магния [11].

Эффективным препаратом для защиты мозга оказался естественный метаболит синтеза фосфатидил холина цитиколин (цитидин-5-дифосфохолин), проявивший нейропротективное действие как в экспериментальных, так и в клинических исследованиях [12, 13]. Цитиколин участвует в биосинтезе фосфолипидов клеточных мембран, повреждение которых при ишемии мозга приводит к высвобождению жирных кислот и образованию свободных радикалов, восстанавливает активность митохондриальной аденозинтрифосфатазы и мембранной Na^+/K^+ -аденозинтрифосфатазы, ингибирует активацию фосфолипазы A₂, а также ускоряет резорбцию отека мозга, действуя таким образом на нескольких уровнях ишемического каскада [14, 15, 16].

Основные механизмы нейропротективного действия цитиколина хорошо известны. Тем не менее появляются публикации, описывающие новые пути влияния этого вещества на восстановление пораженных функций. Интересны данные о воздействии цитиколина на уровень эндотелиальных клеток-предшественников (ЭКП) – циркулирующих кровяных клеток, способных дифференцироваться в зрелые эндотелиальные



клетки и тем самым влиять на восстановление капиллярного и артериального кровотока в зонах ишемии. ЭКП представляют собой популяцию прогениторных клеток, выделяемых из крови и костного мозга. Они экспрессируют поверхностные маркеры, специфичные как для незрелых гемопоэтических клеток, так и для эндотелия (рис. 1) [17]. При этом маркер CD34 характерен для всех стволовых клеток крови, CD133 – для эндотелиальных клеток и роста эндотелия сосудов. Обнаруживается также VEGFR-2 – рецептор фактора роста эндотелия. Все еще неизвестно, какая из популяций прогениторных клеток вносит основной вклад в развитие лечебного эффекта при терапевтическом ангиогенезе. ЭКП способствуют высвобождению ростовых факторов нейронов, что активизирует нейрогенез. Увеличение ЭКП в крови после ишемического инсульта ассоциируется с хорошим функциональным исходом, ограничением размера инфаркта мозга и регрессом неврологических нарушений. Исследования показали, что применение цитиколина у больных с ишемическим инсультом сопровождается ростом количества ЭКП и повышением уровня восстановления [18, 19].

В последние годы особое внимание уделяется использованию цитиколина в острейшем периоде ишемического инсульта в сочетании с различными методами реперфузии – системной тромболитической терапией, внутриартериальным тромболитизмом и тромбэмболектомией, поскольку предварительные результаты выявили улучшение функционального исхода при такой стратегии [20, 21, 22].

Целью работы было оценить динамику функционального состояния и уровня циркулирующих ЭКП у больных с ишемическим инсультом при назначении цитиколина.

Материал и методы

Обследованы 11 пациентов в раннем восстановительном периоде ишемического инсульта: 9 мужчин и 2 женщины в возрасте от 47 до 76 лет (средний возраст составил $58,4 \pm 9,2$ года). С помощью метода многоцветной лазерной проточной цитометрии и набора моноклональных антител (проточный цитофлуориметр FACSCalibur компании Becton Dickinson и набор моноклональных антител к антигенным детерминантам CD45, CD34, CD117, CD133, CD309 компаний Becton Dickinson и Miltenyi Biotec) был изучен фенотип циркулирующих ЭКП. Исследование проводилось на образцах периферической крови. Клетки CD34⁺ выделялись при анализе не менее

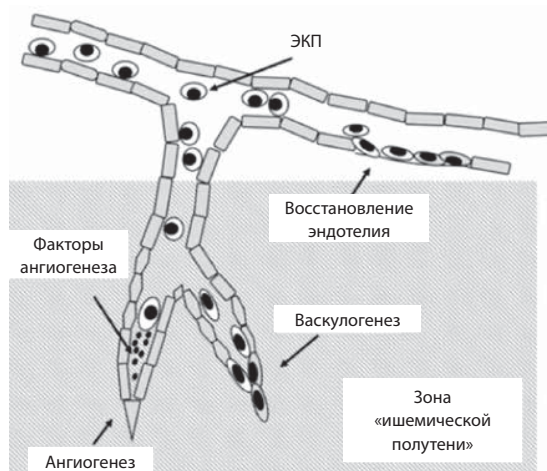


Рис. 1. Схематическое представление потенциальной функции эндотелиальных клеток-предшественников (ЭКП) в восстановлении эндотелия, ангиогенезе и васкулогенезе (Источник [17])

2 млн событий, оценка экспрессии маркеров ранних ЭКП (CD117⁺/CD133⁺) и клеток, позитивных по рецептору фактора роста эндотелия сосудов (CD117⁺/VEGFR-2⁺), проводилась в пределах гейта CD34⁺ клеток. Тяжесть инсульта и функциональное состояние оценивали по шкале NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale – Шкала инсульта Национального института здоровья), по шкале Рэнкина, индексу мобильности Ривермид. Пациенты 1-й группы (n=7) получали внутривенные введения цитиколина в дозе 2000 мг/сут, пациенты 2-й группы (n=4) – базисную терапию ишемического инсульта. Контрольную группу составили 2 здоровых волонтера.

Результаты

У пациентов с ишемическим инсультом до лечения наблюдалось снижение содержания ранних ЭКП по сравнению со здоровыми донорами:

Таблица 1. Содержание эндотелиальных клеток-предшественников у больных с ишемическим инсультом до лечения по сравнению со здоровыми донорами, %

Фенотип ЭКП	Пациенты с инсультом (n = 11)	Контроль (n = 2)
CD117 ⁺ /CD309 ⁺ (CD117 ⁺ /VEGFR-2 ⁺)	17,9 ± 16,4	23,7
CD117 ⁺ /CD309 ⁺	13,8 ± 20,6	
CD117 ⁺ /CD133 ⁺	7,1 ± 5,4	16,6
CD117 ⁺ /CD133 ⁺	19,6 ± 16,9	

ЭКП – эндотелиальные клетки-предшественники

Данные представлены как среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (± m)

**Таблица 2.** Содержание эндотелиальных клеток-предшественников у пациентов с ишемическим инсультом в зависимости от вида проводимой терапии, %

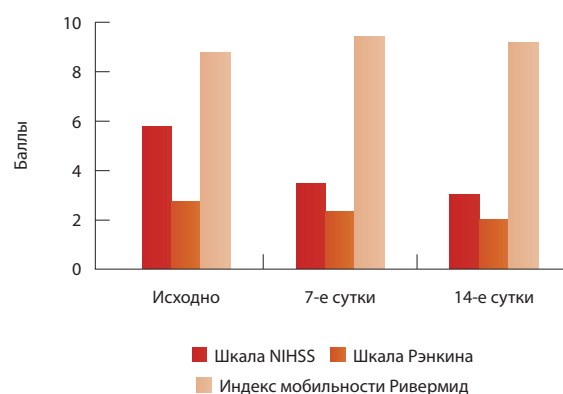
Фенотип ЭКП	Группа 1 (n=7)			Группа 2 (n=4)		
	исходно	7-е сутки	14-е сутки	исходно	7-е сутки	14-е сутки
CD117 ⁺ /CD309 ⁺ (CD117 ⁺ /VEGFR-2 ⁺)	21,9±19,2	25,5±20,9	12,3±15,1	10,9±7,1	8,1±2,7	9,1±5,6
CD117 ⁺ /CD309 ⁺	19,3±24,7	22,5±29,8	28,6±22,6	4,2±2,7	4,7±6,9	4,9±4,8
CD117 ⁺ /CD133 ⁺	9,4±5,4	18,8±14,6	9,5±9,4	3,3±1,9	5,5±3,4	4,9±1,1
CD117 ⁺ /CD133 ⁺	23,7±16,4	25,1±24,5	43,2±14,6	12,3±17,5	11,3±10,6	10,9±9

ЭКП – эндотелиальные клетки-предшественники

Данные представлены как среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (± m)

относительное количество CD117⁺/CD133⁺ составило 7,1±5,4% против 16,6% и CD117⁺/CD309⁺ – 17,9±16,4% против 23,7% соответственно (табл. 1). Через 7 суток после назначения цитиколина у пациентов из 1-й группы наблюдалось значительное увеличение содержания циркулирующих предшественников эндотелиальных клеток, экспрессирующих VEGFR-2⁺, а также ранних ЭКП (CD117⁺/CD133⁺) по сравнению с исходным уровнем и уровнем ЭКП у пациентов 2-й группы (табл. 2). На 14-е сутки наблюдения отмечена дальнейшая тенденция увеличения количества исследуемых фенотипов ЭКП в 1-й группе. Во 2-й группе содержание циркулирующих предшественников эндотелиальных клеток, в том числе и самых ранних (CD117⁺/CD133⁺ и CD117⁺/CD309⁺), по отношению к исходному уровню не изменилось.

Исходно у обследованных больных 1-й группы тяжесть состояния по шкале NIHSS составляла 5,8±4,9 балла, оценка по шкале Рэнкина – 2,7±1,3 балла, индекс мобильности Ривермид – 8,8±4,9. На 7-е сутки лечения препаратом цитиколин неврологический дефицит, оцененный по шкале NIHSS, уменьшился до 3,5±0,7 балла, функциональный статус по шкале Рэнкина был оценен в 2,3±0,5 балла, двигательные возможности согласно индексу мобильности Ривермид – 9,4±4,8. На 14-е сутки существенной динамики в функциональном состоянии не отмечено (рис. 2). У пациентов 2-й группы до лечения тяжесть состояния по шкале NIHSS составляла 4,5±2,3 балла, оценка по шкале Рэнкина – 2,5±0,6 балла, индекс мобильности Ривермид – 12,5±1,3. На 7-е сутки наблюдения зарегистрирована положительная динамика в неврологическом статусе (шкала NIHSS), однако менее выраженная по сравнению с пациентами

**Рис. 2.** Динамика в неврологическом статусе и функциональном состоянии пациентов с ишемическим инсультом, получавших цитиколин дополнительно к базисной терапии (n = 7)

1-й группы, что приводило к большей функциональной зависимости (шкала Рэнкина, индекс мобильности Ривермид) у больных, получавших только базисную терапию.

Выводы

1. У больных в остром периоде ишемического инсульта отмечено уменьшение количества ЭКП. Это может указывать на дисфункцию эндотелия при этом критическом состоянии, а также отражать недостаточность репарации эндотелия и замедление процессов васкулогенеза.
2. Терапия цитиколином в дозе 2000 мг/сут способствовала повышению содержания ранних ЭКП почти вдвое, что, предположительно, свидетельствует об увеличении активности процессов ангиогенеза и васкулогенеза.
3. Отмечен параллелизм между увеличением концентрации ЭКП и улучшением функционального состояния у больных в раннем восстановительном периоде ишемического инсульта. ☺



Литература

- Hachinski V, Donnan GA, Gorelick PB, Hacke W, Cramer SC, Kaste M, Fisher M, Brainin M, Buchan AM, Lo EH, Skolnick BE, Furie KL, Hankey GJ, Kivipelto M, Morris J, Rothwell PM, Sacco RL, Smith SC Jr, Wang Y, Bryer A, Ford GA, Iadecola C, Martins SC, Saver J, Skvortsova V, Bayley M, Bednar MM, Duncan P, Enney L, Finklestein S, Jones TA, Kalra L, Kleim J, Nitkin R, Teasell R, Weiller C, Desai B, Goldberg MP, Heiss WD, Saarela O, Schwamm LH, Shinohara Y, Trivedi B, Wahlgren N, Wong LK, Hakim A, Norrving B, Prudhomme S, Bornstein NM, Davis SM, Goldstein LB, Leys D, Tuomilehto J. Stroke: working toward a prioritized world agenda. *Stroke*. 2010;41(6):1084–99.
- Стулин ИД, Мусин РС, Белоусов ЮБ. Инсульт с точки зрения доказательной медицины. Качественная клиническая практика. 2003;(4):100–18.
- Гусев ЕИ, Скворцова ВИ, Стаховская ЛВ, Киликовский ВВ, Айриян НЮ. Эпидемиология инсульта в России. Материалы 1-го Российского международного конгресса «Цереброваскулярная патология и инсульт». Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. 2003;103(59):114.
- Feigin VL, Lawes CM, Bennett DA, Anderson CS. Stroke epidemiology: a review of population-based studies of incidence, prevalence, and case-fatality in the late 20th century. *Lancet Neurol*. 2003;2(1):43–53.
- Козьякин ВВ, Котов СВ, Исакова ЕВ, Кель НВ, Белова ЮА. Распространенность артериальной гипертонии как одного из ведущих факторов риска развития инсульта в Московской области на примере малого городского поселения. Альманах клинической медицины. 2013;29:45–51.
- Гусев ЕИ, Скворцова ВИ. Ишемия головного мозга. М.: Медицина; 2001. 328 с.
- Liebeskind DS. Imaging the future of stroke: I. Ischemia. *Ann Neurol*. 2009;66(5):574–90.
- Hillis AE, Kleinman JT, Newhart M, Heidler-Gary J, Gottesman R, Barker PB, Aldrich E, Llinas R, Wityk R, Chaudhry P. Restoring cerebral blood flow reveals neural regions critical for naming. *J Neurosci*. 2006;26(31):8069–73.
- Ochfeld E, Newhart M, Molitoris J, Leigh R, Cloutman L, Davis C, Crinon J, Hillis AE. Ischemia in Broca area is associated with Broca aphasia more reliably in acute than in chronic stroke. *Stroke*. 2010;41(2):325–30.
- Козлова ИА, Попов ВА, Ларьков РН, Есаян АВ, Котов СВ, Казанчян ПО. Результаты хирургического лечения атеросклеротических стенозирующих поражений внутренних сонных артерий у пациентов, перенесших ишемический инсульт. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2010;4(4):4–9.
- Saver JL, Kidwell C, Eckstein M, Starkman S; FAST-MAG Pilot Trial Investigators. Prehospital neuroprotective therapy for acute stroke: results of the Field Administration of Stroke Therapy-Magnesium (FAST-MAG) pilot trial. *Stroke*. 2004;35(5):e106–8.
- Adibhatla RM, Hatcher JF. Cytidine 5'-diphosphocholine (CDP-choline) in stroke and other CNS disorders. *Neurochem Res*. 2005;30(1):15–23.
- Dávalos A, Castillo J, Alvarez-Sabín J, Secades JJ, Mercadal J, López S, Cobo E, Warach S, Sherman D, Clark WM, Lozano R. Oral citicoline in acute ischemic stroke: an individual patient data pooling analysis of clinical trials. *Stroke*. 2002;33(12):2850–7.
- Dávalos A, Secades J. Citicoline preclinical and clinical update 2009–2010. *Stroke*. 2011;42(1 Suppl):S36–9.
- Secades JJ. Citicoline: pharmacological and clinical review, 2010 update. *Rev Neurol*. 2011;52 Suppl 2:S1–S62.
- Gutiérrez-Fernández M, Rodríguez-Frutos B, Fuentes B, Vallejo-Cremades MT, Alvarez-Grech J, Expósito-Alcaide M, Díez-Tejedor E. CDP-choline treatment induces brain plasticity markers expression in experimental animal stroke. *Neurochem Int*. 2012;60(3):310–7.
- Liman TG, Endres M. New vessels after stroke: postischemic neovascularization and regeneration. *Cerebrovasc Dis*. 2012;33(5):492–9.
- Sobrinho T, Hurtado O, Moro MA, Rodríguez-Yáñez M, Castellanos M, Brea D, Moldes O, Blanco M, Arenillas JF, Leira R, Dávalos A, Lizasoain I, Castillo J. The increase of circulating endothelial progenitor cells after acute ischemic stroke is associated with good outcome. *Stroke*. 2007;38(10):2759–64.
- Sobrinho T, Rodríguez-González R, Blanco M, Brea D, Pérez-Mato M, Rodríguez-Yáñez M, Leira R, Castillo J. CDP-choline treatment increases circulating endothelial progenitor cells in acute ischemic stroke. *Neurol Res*. 2011;33(6):572–7.
- Hurtado O, Lizasoain I, Moro MÁ. Neuroprotection and recovery: recent data at the bench on citicoline. *Stroke*. 2011;42(1 Suppl):S33–5.
- Alvarez-Sabín J, Román GC. The role of citicoline in neuroprotection and neurorepair in ischemic stroke. *Brain Sci*. 2013;3(3):1395–414.
- Overgaard K. The effects of citicoline on acute ischemic stroke: a review. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2014;23(7):1764–9.

References

- Hachinski V, Donnan GA, Gorelick PB, Hacke W, Cramer SC, Kaste M, Fisher M, Brainin M, Buchan AM, Lo EH, Skolnick BE, Furie KL, Hankey GJ, Kivipelto M, Morris J, Rothwell PM, Sacco RL, Smith SC Jr, Wang Y, Bryer A, Ford GA, Iadecola C, Martins SC, Saver J, Skvortsova V, Bayley M, Bednar MM, Duncan P, Enney L, Finklestein S, Jones TA, Kalra L, Kleim J, Nitkin R, Teasell R, Weiller C, Desai B, Goldberg MP, Heiss WD, Saarela O, Schwamm LH, Shinohara Y, Trivedi B, Wahlgren N, Wong LK, Hakim A, Norrving B, Prudhomme S, Bornstein NM, Davis SM, Goldstein LB, Leys D, Tuomilehto J. Stroke: working toward a prioritized world agenda. *Stroke*. 2010;41(6):1084–99.
- Stulin ID, Musin RS, Belousov YuB. Insult s točki zreniya dokazatel'noy meditsiny [Stroke in terms of evidence-based medicine]. *Good Clinical Practice*. 2003;(4):100–18 (in Russian).
- Gusev EI, Skvortsova VI, Stakhovskaya LV, Kilirovskiy VV, Ayriyan NYU. Epidemiologiya insul'ta v Rossii. Materialy 1-go Rossiyskogo mezhdunarodnogo kongressa "Tserebrovaskulyarnaya patologiya i insul't" [Stroke epidemiology in Russia. Materials of the 1st Russian International Congress "Cerebrovascular Pathology and Stroke"]. *Zhurnal neurologii i psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2003;103(59):114 (in Russian).
- Feigin VL, Lawes CM, Bennett DA, Anderson CS. Stroke epidemiology: a review of population-based studies of incidence, prevalence, and case-fatality in the late 20th century. *Lancet Neurol*. 2003;2(1):43–53.
- Kozyaikin VV, Kotov SV, Isakova EV, Kel NV, Belova YuA. Rasprostranennost' arterial'noy gipertonii kak odnogo iz vedushchikh faktorov riska razvitiya insul'ta v Moskovskoy oblasti na primere malogo gorodskogo poseleniya [The prevalence of arterial hypertension as one of the leading factors of the stroke risk in the Moscow Region on the example of the small regional settlement]. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny*. 2013;29:45–51 (in Russian).
- Gusev EI, Skvortsova VI. Ishemiya golovnogo mozga [Brain ischemia]. Moscow: Meditsina; 2001. 328 p. (in Russian).
- Liebeskind DS. Imaging the future of stroke: I. Ischemia. *Ann Neurol*. 2009;66(5):574–90.
- Hillis AE, Kleinman JT, Newhart M, Heidler-Gary J, Gottesman R, Barker PB, Aldrich E, Llinas R, Wityk R, Chaudhry P. Restoring cerebral blood flow reveals neural regions critical for naming. *J Neurosci*. 2006;26(31):8069–73.
- Ochfeld E, Newhart M, Molitoris J, Leigh R, Cloutman L, Davis C, Crinon J, Hillis AE. Ischemia in Broca area is associated with Broca aphasia more reliably in acute than in chronic stroke. *Stroke*. 2010;41(2):325–30.



10. Kozlova IA, Popov VA, Lar'kov RN, Esayan AV, Kotov SV, Kazanchyan PO. Rezul'taty khirurgicheskogo lecheniya ateroskleroticheskikh stenoziruyushchikh porazheniy vnutrennikh sonnykh arteriy u patsientov, perenessikh ishemicheskoy insul't [Results of surgical treatment of atherosclerotic stenosis of carotid arteries in patients after ischemic stroke]. *Annals of clinical and experimental neurology*. 2010;4(4):4–9 (in Russian).
11. Saver JL, Kidwell C, Eckstein M, Starkman S; FAST-MAG Pilot Trial Investigators. Prehospital neuroprotective therapy for acute stroke: results of the Field Administration of Stroke Therapy-Magnesium (FAST-MAG) pilot trial. *Stroke*. 2004;35(5):e106–8.
12. Adibhatla RM, Hatcher JF. Cytidine 5'-diphosphocholine (CDP-choline) in stroke and other CNS disorders. *Neurochem Res*. 2005;30(1):15–23.
13. Dávalos A, Castillo J, Alvarez-Sabín J, Secades JJ, Mercadal J, López S, Cobo E, Warach S, Sherman D, Clark WM, Lozano R. Oral citicoline in acute ischemic stroke: an individual patient data pooling analysis of clinical trials. *Stroke*. 2002;33(12):2850–7.
14. Dávalos A, Secades J. Citicoline preclinical and clinical update 2009–2010. *Stroke*. 2011;42(1 Suppl):S36–9.
15. Secades JJ. Citicoline: pharmacological and clinical review, 2010 update. *Rev Neurol*. 2011;52 Suppl 2:S1–S62.
16. Gutiérrez-Fernández M, Rodríguez-Frutos B, Fuentes B, Vallejo-Cremades MT, Alvarez-Grech J, Expósito-Alcaide M, Díez-Tejedor E. CDP-choline treatment induces brain plasticity markers expression in experimental animal stroke. *Neurochem Int*. 2012;60(3):310–7.
17. Liman TG, Endres M. New vessels after stroke: postischemic neovascularization and regeneration. *Cerebrovasc Dis*. 2012;33(5):492–9.
18. Sobrino T, Hurtado O, Moro MA, Rodríguez-Yáñez M, Castellanos M, Brea D, Moldes O, Blanco M, Arenillas JF, Leira R, Dávalos A, Lizasoain I, Castillo J. The increase of circulating endothelial progenitor cells after acute ischemic stroke is associated with good outcome. *Stroke*. 2007;38(10):2759–64.
19. Sobrino T, Rodríguez-González R, Blanco M, Brea D, Pérez-Mato M, Rodríguez-Yáñez M, Leira R, Castillo J. CDP-choline treatment increases circulating endothelial progenitor cells in acute ischemic stroke. *Neurol Res*. 2011;33(6):572–7.
20. Hurtado O, Lizasoain I, Moro MÁ. Neuroprotection and recovery: recent data at the bench on citicoline. *Stroke*. 2011;42(1 Suppl):S33–5.
21. Alvarez-Sabín J, Román GC. The role of citicoline in neuroprotection and neurorepair in ischemic stroke. *Brain Sci*. 2013;3(3):1395–414.
22. Overgaard K. The effects of citicoline on acute ischemic stroke: a review. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2014;23(7):1764–9.

Levels of endothelial progenitor cells in patients with ischemic stroke and efficacy of rehabilitation

Belova Yu.A. • Chuksina Yu.Yu. • Shevelev S.V. • Yazdovskiy V.V. • Kotov S.V.

Background: Early diagnosis of stroke, its treatment and rehabilitation are considered priorities in the state health care policy. Pharmacological intervention is used as a strategy to protect the neurons from the ischemic penumbra.

Aim: To evaluate changes of functional state and levels of endothelial progenitor cells (EPC) in the circulation in ischemic stroke patients under administration of citicoline.

Materials and methods: We assessed 11 patients in their early rehabilitation period of ischemic stroke (9 men and 2 women, mean age 58.4±9.2 years). Patients from group 1 (n=7) were given citicoline at dose 2000 mg/daily for 14 days, whereas patients from group 2 (n=4) received regular treatment. Two healthy volunteers served as a control group. Circulatory EPC phenotype was assessed by multi-color laser flow cytometry and monoclonal antibody assay. Stroke severity and functional abilities were measured with NIHSS, Rankin scale and Rivermead mobility index.

Results: Patients with ischemic stroke had decreased levels of early EPC, compared to healthy subjects.

After 7 days of treatment in the group 1, there was a significant increase of circulatory EPC expressing VEGFR2⁺ up to 25.5±20.9%, as well as an increase of early EPC numbers (CD117⁺/CD133⁺) up to 18.8±14.6%, compared to their respective baseline levels (21.9±19.2 and 9.4±5.4%) and compared to respective parameters in the group 2 (8.1±2.7 and 5.5±3.4%). In the group 1, severity of stroke and functional ability at baseline and at day 7 were as follows: NIHSS scores, 5.8±4.9 and 3.5±0.7, Rankin scale scores, 2.7±1.3 and 2.3±0.5, Rivermead mobility index, 8.8±4.9 and 9.4±4.8, respectively. In the group 2 corresponding parameters scored as 4.5±2.3 and 3.3±0.5, 2.5±0.6 and 2.5±0.4, 12.5±1.3 and 12.7±0.7, respectively.

Conclusion: Treatment with citicoline in acute ischemic stroke promoted almost a 2-fold increase in early EPC levels. A decrease in neurologic deficiency and an improvement of functional status of patients with ischemic stroke were observed.

Key words: ischemic stroke, endothelial cells, vasculogenesis, neovasculogenesis.

Belova Yulianna Alekseevna – PhD, Research Fellow, Department of Neurology¹
✉ 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation. Tel.: +7 (917) 573 03 25.
E-mail: juliannabelova@mail.ru

Chuksina Yuliya Yur'evna – PhD, Senior Research Fellow, Laboratory of Clinical Immunology and Tissue Typing¹

Shevelev Sergey Vladimirovich – PhD, Research Fellow, Laboratory of Clinical Immunology and Tissue Typing¹

Yazdovskiy Viktor Vladimirovich – MD, PhD, Professor; Head of Laboratory of Clinical Immunology and Tissue Typing¹

Kotov Sergey Viktorovich – MD, PhD, Professor; Head of Department of Neurology; Head of Chair of Neurology, Postgraduate Training Faculty¹

¹ Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation