

Результаты клинко-экспериментального изучения безопасности и эффективности применения Цитофлавина в сочетании с реперфузионной терапией ишемического инсульта

© А.Л. КОВАЛЕНКО¹, Ж.Ю. ЧЕФРАНОВА², Т.В. ХАРИТОНОВА¹, Н.А. ЛЫЧЕВА¹, В.А. КОНДАКОВА¹, Ю.А. ПФАРГЕР¹, О.С. КЕТЛИНСКАЯ¹

¹ООО «НТФФ «ПОЛИСАН», Санкт-Петербург, Россия;

²ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», Белгород, Россия

Резюме

Цель исследования. Изучение эффективности и безопасности применения препарата Цитофлавин в сочетании с реперфузионной терапией (РТ) ишемического инсульта (ИИ).

Материал и методы. На первом доклиническом этапе изучено влияние Цитофлавина (раствор для внутривенного введения) на фибринолитическую активность алтеплазы (Актилизе) *in vitro*. На втором клиническом этапе оценены безопасность и эффективность применения Цитофлавина в течение 10 дней в сочетании с реперфузионной терапией у пациентов с ИИ в первые 24 ч от дебюта острого ИИ. Сто пациентов основной группы получали реперфузионную терапию в сочетании с препаратом Цитофлавин; 100 пациентов группы сравнения — реперфузионную терапию в сочетании с другими нейропротекторами в рамках рутинной клинической практики.

Результаты. На этапе доклинического исследования показано, что алтеплаза в изучаемых концентрациях приводит к снижению массы тромба на 21—31%. Статистически значимых отличий в снижении массы тромба при добавлении в среду инкубации, содержащую алтеплазу и Цитофлавин в различных концентрациях, выявлено не было. Добавление Цитофлавина в различных концентрациях к среде инкубации тромба с различными концентрациями алтеплазы не оказывало влияния на концентрацию D-димера в плазме крови крыс. На этапе клинического исследования статистически значимых различий частоты внутричерепных кровоизлияний различных типов между группами выявлено не было. Значимыми предикторами внутричерепного кровоизлияния оказались исходный балл по шкале NIHSS и уровень систолического артериального давления, наличие сахарного диабета и приема антикоагулянтов в анамнезе, результаты исходной оценки КТ по шкале ASPECTS, но не характер терапии.

Заключение. Применение Цитофлавина в сочетании с реперфузионной терапией безопасно. Современная комплексная терапия инсульта, включающая своевременную реперфузию и нейрометаболическую поддержку, приводит к быстрому и выраженному регрессу неврологического дефицита, повышению степени функционирования и жизнедеятельности пациентов с ИИ.

Ключевые слова: инфаркт мозга, Цитофлавин, тромболитическая терапия.

Информация об авторах:

Коваленко А.Л. — <https://orcid.org/0000-0003-3695-2671>

Чефранова Ж.Ю. — <https://orcid.org/0000-0002-2106-7461>

Харитонов Т.В. — <https://orcid.org/0000-0003-4021-9421>

Лычева Н.А. — <https://orcid.org/0000-0002-5842-5728>

Автор, ответственный за переписку: Харитонов Т.В. — e-mail: tvh2001@mail.ru

Кондакова В.А. — <https://orcid.org/0009-0000-4927-5556>

Пфаргер Ю.А. — <https://orcid.org/0000-0002-3304-6190>

Кетлинская О.С. — <https://orcid.org/0009-0009-7495-4150>

Как цитировать:

Коваленко А.Л., Чефранова Ж.Ю., Харитонов Т.В., Лычева Н.А., Кондакова В.А., Пфаргер Ю.А., Кетлинская О.С.

Результаты клинко-экспериментального изучения безопасности и эффективности применения Цитофлавина в сочетании с реперфузионной терапией ишемического инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2023;123(8):1–7.

<https://doi.org/10.17116/jnevro20231230811>

Results of a clinical and experimental study of the safety and efficacy of Cytoflavin in combination with reperfusion therapy for ischemic stroke

© A.L. KOVALENKO¹, ZH.YU. CHEFRANOVA², T.V. KHARITONOVA¹, N.A. LYCHEVA¹, V.A. KONDAKOVA¹, I.U.A. PFARGER¹, O.S. KETLINSKAYA¹

¹STPF «POLYSAN», St-Petersburg, Russia;

²Belgorod Regional Clinical Hospital of Saint Josaph, Belgorod, Russia

Abstract

Objective. To study the efficacy and safety of Cytoflavin in combination with thrombolytic therapy.

Material and methods. At the first preclinical stage, the effect of Cytoflavin, solution for intravenous administration, on the fibrinolytic activity of alteplase (Actilyse) was studied *in vitro*. At the second, clinical stage, the safety and efficacy of Cytoflavin treat-

ment, initiated within in the first 24 hours from the stroke onset and continued for 10 days, was evaluated in patients with acute stroke who received reperfusion therapy. At the clinical stage of the study, 200 patients were examined: 100 subjects of the main group who received reperfusion therapy in combination with Cytoflavin; 100 control subjects who received reperfusion therapy in combination with other drugs from the neuroprotective group as part of routine clinical practice.

Results. The preclinical study has demonstrated that alteplase in the studied concentrations debulks the mass of a thrombus by 2131%. There were no statistically significant differences in the reduction of thrombus weight with addition of Cytoflavin at various concentrations combined with alteplase to the incubation medium. The addition of Cytoflavin to the incubation medium with alteplase had no effect on the concentration of D-dimer in the rat's plasma. In the clinical study, there were no statistically significant differences in the frequencies of intracranial hemorrhages of various types between the study groups. In the multivariable analysis, significant predictors of intracranial hemorrhage were baseline NIHSS score, systolic blood pressure, history of diabetes and anticoagulant use, baseline CT ASPECTS score, but not the treatment group.

Conclusion. The use of Cytoflavin in combination with thrombolytic therapy is safe. Up-to-date treatment of stroke which includes timely reperfusion and neurometabolic support of recovery leads to the rapid manifest regression of the neurological deficit and to the improvement in functioning and activity of patients with cerebral infarction.

Keywords: cerebral infarction, Cytoflavin, thrombolytic therapy.

Information about the authors:

Kovalenko A.L. — <https://orcid.org/0000-0003-3695-2671>

Chefranova Zh.Yu. — <https://orcid.org/0000-0002-2106-7461>

Kharitonova T.V. — <https://orcid.org/0000-0003-4021-9421>

Lycheva N.A. — <https://orcid.org/0000-0002-5842-5728>

Corresponding author: Kharitonova T.V. — e-mail: tvh2001@mail.ru

Kondakova V.A. — <https://orcid.org/0009-0000-4927-5556>

Pfarger Iu.A. — <https://orcid.org/0000-0002-3304-6190>

Ketlinskaya O.S. — <https://orcid.org/0009-0009-7495-4150>

To cite this article:

Kovalenko AL, Chefranova ZhYu, Kharitonova TV, Lycheva NA, Kondakova VA, Pfarger IuA, Ketlinskaya OS. Results of a clinical and experimental study of the safety and efficacy of Cytoflavin in combination with reperfusion therapy for ischemic stroke. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry = Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2023;123(8):1–7. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro20231230811>

Ишемический инсульт (ИИ) является одной из основных причин инвалидности и смерти [1], поэтому совершенствование его профилактики и терапии имеет высокую клиническую и социальную значимость. Это состояние характеризуется каскадом патологических изменений, приводящих к некрозу или апоптозу нейронов. Ключевую роль в гибели нейронов играют избыточная генерация активных форм кислорода вследствие развития окислительного стресса, повышение внутриклеточной концентрации кальция и оксида азота, а также эксайтотоксичность [2, 3].

Наиболее высокий потенциал предотвращения неблагоприятных исходов при ИИ имеет реперфузионная терапия в сочетании с нейропротективными препаратами [3, 4]. К нейропротекторам относится комбинированный препарат Цитофлавин, содержащий янтарную кислоту, инозин, никотинамид и рибофлавин. Цитофлавин обладает стимулирующим действием на клеточное дыхание, биосинтез белка, способствует утилизации глюкозы и жирных кислот, восстанавливает активность антиоксидантных ферментов и синтез гамма-аминомасляной кислоты в нейронах [5]. Препарат входит в стандарт специализированной медицинской помощи при инфаркте мозга (приказ Минздрава России №1740н от 29.12.12). Эффективность Цитофлавина была показана в ряде клинических исследований [6–9], однако отдельные аспекты безопасности его применения в сочетании с реперфузионной терапией были изучены недостаточно. В связи с этим производителем ООО «НТФФ «ПОЛИСАН» была инициирована стратегия изучения совместного применения препарата Цитофлавин и тромболитической терапии (ТЛТ) и/или внутрисосудистой тромбэкстракции (ВСТЭ).

Цель исследования — оценить безопасность и эффективность препарата Цитофлавин в сочетании с реперфузионной терапией при ИИ.

Материал и методы

Исследование проводили в два этапа — доклинический эксперимент и клиническая наблюдательная программа. На доклиническом этапе исследовано влияние препарата Цитофлавин на фибринолитическую активность Актилизе *in vitro*. Исследование *in vitro* проведено на тромбах и бедной тромбоцитами плазме, полученных из крови здоровых крыс-самцов линии Sprague-Dawley. Поставщик животных: отдел биомоделей НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга. Содержание крыс осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986); Principles of Good Laboratory Practice (OECD, ENV/MC/CUEM (98)17, 1997); ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами (Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях).

В исследовании *in vitro* использовали Актилизе, лиофилизат для приготовления раствора для инфузий, 50 мг («Boehringer Ingelheim International», Германия) и Цитофлавин (раствор для внутривенного введения, ООО «НТФФ «ПОЛИСАН», Россия). Согласно инструкции по медицинскому применению (ИМП) препарата Актилизе и Клиническим рекомендациям по проведению тромболитической терапии при ИИ, в остром периоде ИИ пациентам вводят 0,9 мг alteplazy на 1 кг массы тела в виде раствора концентрацией 1 мг/мл. Если объем циркулирующей крови (ОЦК) составляет ≈5 л, гематокрит — ≈40%, тогда объем плазмы — ≈3 л, то в 1 мл плазмы содержится 0,021 мг alteplazy. В исследовании были выбраны 5 концентраций alteplazy: 0,015; 0,03; 0,06; 0,09 и 0,12 мг/мл. С учетом дополнительного разведения в 1 мл 0,9% раствора натрия хло-

рида конечная концентрация алтеплазы составила от 0,0075 до 0,06 мг/мл, т.е. рабочая концентрация алтеплазы, достигаемая в крови больных, попадает в середину исследуемого диапазона: в 3,5 раза выше минимальной исследуемой концентрации (0,0075 мг/мл) и в 3 раза меньше максимальной исследуемой концентрации (0,06 мг/мл).

Согласно ИМП препарата Цитофлавин, при терапии ИИ пациентам вводят 20—40 мл препарата, разведенного в 100—200 мл 0,9% раствора натрия хлорида или 5% раствора декстрозы. Если ОЦК человека массой 65 кг равен 4500 мл, то при введении Цитофлавина в объеме 20 мл в 1 мл крови содержится 0,004 мл Цитофлавина, а в объеме 40 мл — 0,008 мл Цитофлавина. Если ОЦК человека массой 100 кг равен 7000 мл, то при введении Цитофлавина в объеме 20 мл в 1 мл крови содержится 0,002 мл Цитофлавина, а в объеме 40 мл — 0,008 мл Цитофлавина. Расчетные количества Цитофлавина очень малы, что представляет определенные неудобства в проведении исследования, поэтому было принято решение об исследовании препарата Цитофлавин в 3 концентрациях: 0,03, 0,09 и 0,15 мл на 1 мл плазмы крови животных, что превышает расчетные концентрации и позволяет с большей вероятностью выявить эффекты воздействия препарата Цитофлавина на интенсивность течения фибринолиза при их наличии.

В пробирку с тромбом вносили 1 мл бедной тромбоцитами плазмы и 1 мл 0,9% раствора натрия хлорида с различными концентрациями алтеплазы либо алтеплазы и Цитофлавина. Пробирки закрывали и инкубировали на водяной бане при температуре 37 °С в течение 3 ч [10]. Сразу после окончания инкубации определяли массу тромба и забирали супернатант для определения концентрации D-димера. Супернатанты замораживали при температуре –20 °С до момента измерения концентрации D-димера. Бедную тромбоцитами плазму использовали в составе среды для тромба и для определения содержания фибриногена. Ее получали из 5 мл цельной крови, стабилизированной 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1.

Определение концентрации фибриногена проводили в соответствии с инструкцией к набору Тех-Фибриноген-тест («Технология-Стандарт», Россия) на коагулометре Cormay KG-4 («Seiko Instruments Inc.», Польша). Концентрацию D-димера определяли методом иммуноферментного анализа на анализаторе АИФР-01 Униплан («Пикон», Россия) с использованием набора СЕА506Ra ELISA Kit for D-Dimer (D2D) («Cloud-Clone», США).

На втором клиническом этапе проведено наблюдательное исследование в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта», Конституции Российской Федерации; Федерального закона (ФЗ) от 21.11.11 №323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», ФЗ от 27.07.06 №152-ФЗ «О персональных данных», применимыми принципами Надлежащей клинической практики (Национальный стандарт РФ «Надлежащая клиническая практика», ГОСТ Р 52379–2005), всеми применимыми требованиями административных инстанций и государственного законодательства и протоколом исследования (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT05297851). Исследование одобрено локальным Этическим комитетом (ЛЭК), пациенты подписывали информированное согласие, образцы которого были одобрены ЛЭК, прежде чем документ предоставлялся пациентам.

Клиническая часть исследования проводилась в период с 10.04.2022 по 30.01.2023 в 8 исследовательских центрах (ИЦ)

в РФ. В общей сложности в исследование были включены 200 пациентов, у которых установлен диагноз «инфаркт мозга» и уже назначена терапия, включающая Цитофлавин, либо терапия, не предусматривающая назначение Цитофлавина.

Критерии включения: возраст от 18 до 85 лет включительно; сроки от дебюта до поступления не более 6 ч, выраженность неврологического дефицита по шкале инсульта Национальных институтов здоровья (National Institute of Health stroke scale, NIHSS) при поступлении в ИЦ от 5 до 24 баллов; проведение реперфузионной терапии в день поступления в ИЦ; оценка размера очага ишемии по ASPECTS не ниже 6; для основной группы — начало терапии Цитофлавином в течение 24 ч от дебюта ИИ.

Критерии не включения: геморрагический инсульт; противопоказания к проведению КТ; исходная тяжелая инвалидизация, требующая посторонней помощи в повседневной жизни, до развития настоящего инсульта; любое острое нарушение мозгового кровообращения с резидуальным неврологическим дефицитом в анамнезе, тяжелая коморбидность с ожидаемой продолжительностью жизни не более 6 мес; клинические или лабораторные признаки инфекционного заболевания при поступлении; беременность или кормление грудью.

Пациенты основной группы (ОГ) получали реперфузионную терапию в сочетании с Цитофлавином, раствор для внутривенного введения, 10 мл (ООО «НТФФ «ПОЛИСАН», Россия). Препарат применялся по назначению лечащего врача в соответствии с рутинной практикой внутривенно капельно в объеме 10 мл в разведении на 100—200 мл 0,9% раствора натрия хлорида с интервалом 8—12 ч в течение 10 дней; скорость введения препарата 3—4 мл/мин. При тяжелом течении заболевания разовую дозу увеличивали до 20 мл.

Лечение группы сравнения (ГС) включало реперфузионную терапию в сочетании с другими препаратами из группы нейтропротекторов. Наблюдательный характер исследования не предусматривал запрет на использование каких-либо препаратов, в том числе любых других нейтропротекторов.

Длительность периода наблюдения составила 90 дней, из них 21 — в стационаре. При поступлении согласно рутинной практике центров всем пациентам проводили мониторинг артериального давления, ЭКГ, КТ или МРТ головного мозга. Оценка неврологического статуса по шкале NIHSS осуществлялась при поступлении в ИЦ, через 1, 7, 10 и 21 (или при выписке) день. Также на 21-й день (или при выписке) выполнялась оценка уровня повседневной активности по шкале Бартел, оценка функционального состояния по шкале реабилитационной маршрутизации, оценка индекса мобильности по шкале Ривермид. На 90-й день после поступления оценивалась степень инвалидизации по модифицированной шкале Рэнкина (мШР). Внутричерепные кровоизлияния классифицировались согласно заключению локального радиолога в соответствии с расширенной Гейдельбергской классификацией [11].

На протяжении всего исследования регистрировались нежелательные реакции (НР), результаты физикального осмотра и значения жизненно важных показателей при поступлении, через 1, 7—10 и 21 (или при выписке) день. При анализе безопасности были учтены данные всех пациентов, получивших хотя бы одну дозу препарата исследования или стандартной терапии.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы JatoVi версии 2.3.18. Для оценки распределения данных использовался критерий Шапиро—Уилка. Для сравнения количественных данных, распределенных

по нормальному закону распределения, использовались стандартные параметрические критерии: *t*-критерий Стьюдента для независимых выборок, дисперсионный анализ (ANOVA) для повторных измерений. Для сравнения данных, не соответствующих нормальному распределению, использовался U-критерий Манна—Уитни. Сравнение частот показателей между группами лечения проводилось с помощью критерия χ^2 Пирсона или точного критерия Фишера. Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$. Для анализа связи развития внутричерепного кровоизлияния как осложнения реперфузионной терапии, выступающего в роли зависимого показателя, и клинических параметров и группы терапии, выступающих в роли независимых предикторов, использовался однофакторный и многофакторный логистический регрессионный анализ. Пороговым значением статистической значимости для включения прогностических факторов в итоговую модель многофакторной логистической регрессии считалось $p < 0,1$.

Результаты

В ходе доклинического исследования статистически значимых различий в содержании фибриногена в опытных образцах плазмы крови крыс, содержащих алтеплазу в сочетании с Цитофлавином в различных концентрациях, по сравнению с контрольными образцами, содержащими только алтеплазу, выявлено не было (табл. 1). Алтеплаза в изучаемых концентрациях приводила к снижению массы тромба на 21—31%. Статистически значимых отличий в снижении массы тромба при добавлении к опытным образцам алтеплазы в сочетании с Цитофлавином в различных концентрациях по сравнению с контрольными образцами, содержащими только алтеплазу, выявлено не было (табл. 1). Таким образом, Цитофлавин в концентрациях 0,03, 0,09 и 0,15 мл/мл плазмы крови крыс не ослаблял лизис тромба, вызванный алтеплазой в концентрациях 0,015, 0,03, 0,06, 0,09 и 0,12 мг/мл плазмы крови *in vitro*.

Добавление к среде инкубации тромба препарата Цитофлавин в исследуемых концентрациях не приводило к изменению концентрации D-димера — маркера активации фибринолиза, вызванного алтеплазой (см. табл. 1). Таким образом, в доклиническом исследовании *in vitro* показано, что Цитофлавин в исследуемых концентрациях не изменял фибринолитическую активность алтеплазы.

Из 200 пациентов, включенных в неинтервенционное проспективное наблюдательное исследование, 171 (89 — в ОГ и 82 — в ГС) полностью прошел все процедуры и завершил исследование согласно протоколу. Один пациент был исключен из исследования в связи с НР, 2 — по собственному желанию, 3 — были потеряны для наблюдения, 23 — были исключены из исследования в связи с летальным исходом, однако их данные были включены в анализ эффективности и безопасности.

ОГ состояла из 57 мужчин и 43 женщин (медиана (Ме) возраста 68 лет, межквартильный интервал (МКИ) 58,75—74; Ме балла по NIHSS при поступлении 8,5 (МКИ 6—14)). ГС состояла из 53 мужчин и 47 женщин (Ме возраста 65 лет, МКИ 57—74,25; Ме балла по NIHSS при поступлении 9 (МКИ 7—14)). ТЛТ выполнена 165 (82,5%) пациентам (79 — в ОГ и 86 — в ГС), ВСТЭ — 62 (31%) (38 — в ОГ и 24 — в ГС), из них комбинация этих методов имела место у 28 (14%; 17 — в ОГ и 11 — в ГС). При изучении не-

Таблица 1. Результаты изучения влияния Цитофлавина на активность алтеплазы в плазме крови крыс (n=10), Ме [Q₁; Q₃]
Table 1. Results of studying the effect of Cytoflavin on the activity of alteplase in the blood plasma of rats (n=10), Me [Q₁; Q₃]

Концентрация алтеплазы (мг/мл плазмы)	Цитофлавин, 0,0 мл/мл плазмы			Цитофлавин, 0,03 мл/мл плазмы			Цитофлавин, 0,09 мл/мл плазмы			Цитофлавин, 0,15 мл/мл плазмы		
	лизис тромба (%)	фибриноген (г/л)	D-димер (нг/мл)	лизис тромба (%)	фибриноген (г/л)	D-димер (нг/мл)	лизис тромба (%)	фибриноген (г/л)	D-димер (нг/мл)	лизис тромба (%)	фибриноген (г/л)	D-димер (нг/мл)
0,015	21 [20; 24]	1,40 [1,37; 1,45]	96,7 [87,7; 118,2]	24 [22; 27]	1,37 [1,37; 1,38]	99,8 [95,9; 104,5]	25 [20; 28]	1,55 [1,40; 1,65]	98,6 [93,5; 105,5]	24 [20; 27]	1,55 [1,40; 1,57]	105,2 [101,9; 114,7]
0,03	26 [23; 28]	1,68 [1,63; 1,70]	99,4 [86,7; 103,1]	29 [23; 31]	1,57 [1,45; 1,57]	88,8 [81,8; 97,3]	29 [27; 31]	1,59 [1,59; 1,63]	100,6 [87,7; 116,7]	26 [20; 29]	1,57 [1,45; 1,75]	96,5 [86,3; 100,9]
0,06	27 [23; 29]	1,42 [1,38; 1,43]	102,8 [88,5; 123,9]	29 [26; 31]	1,57 [1,47; 1,59]	105,8 [97,9; 111,0]	26 [24; 28]	1,55 [1,38; 1,59]	108,0 [103,5; 121,0]	26 [24; 29]	1,42 [1,42; 1,57]	113,5 [110,5; 127,1]
0,09	28 [25; 32]	1,55 [1,51; 1,61]	103,9 [91,7; 113,4]	28 [23; 35]	1,59 [1,55; 1,68]	105,3 [94,1; 114,2]	32 [26; 34]	1,47 [1,45; 1,49]	90,1 [83,0; 114,2]	32 [28; 35]	1,55 [1,45; 1,63]	140,9 [117,6; 163,2]*
0,12	31 [25; 32]	1,55 [1,37; 1,61]	104,9 [93,3; 165,5]	34 [25; 39]	1,68 [1,38; 1,75]	132,1 [109,9; 140,0]	28 [26; 43]	1,55 [1,53; 1,59]	140,4 [118,5; 150,7]	29 [27; 37]	1,61 [1,40; 1,62]	161,9 [152,4; 167,4]

Примечание. * — статистически значимое различие по сравнению с пробами, не содержащими препарат Цитофлавин, $p < 0,05$ (критерий Манна—Уитни).
Note. * — statistically significant difference compared to samples not containing Cytoflavin, $p < 0,05$ (Mann—Whitney test).

врологического дефицита по шкале NIHSS было отмечено, что в обеих группах исследования общий балл снижался на 2, 7, 10 и 21-е сутки по сравнению с исходным уровнем (табл. 2). При этом между ОГ и ГС не было выявлено статистически значимых различий во всех временных точках.

По результатам оценки значений по шкалам Бартел и Ривермид на 21-е сутки/при выписке не было выявлено статистически значимых различий между ОГ и ГС. При оценке баллов по шкале реабилитационной маршрутизации на 21-е сутки/при выписке отличия также отсутствовали (табл. 3). Значения по мШР на 90-е сут составили 2 [1–3] ($n=99$) и 2 [1–4,75] балла ($n=86$) в ОГ и ГС соответственно.

У большинства пациентов не было обнаружено внутричерепных кровоизлияний и симптомных внутричерепных кровоизлияний при контрольном (на 2-е сутки госпитализации) инструментальном обследовании (табл. 4). Статистически значимых различий по частоте внутричерепных кровоизлияний различных типов между группами исследования выявлено не было. При однофакторном анализе в качестве потенциальных предикторов внутричерепного кровоизлияния были выявлены возраст ($p=0,08$), значения по шкалам NIHSS ($p<0,001$) и ASPECTS ($p=0,04$) при поступлении, си-

столеческое артериальное давление на момент выполнения реперфузии ($p=0,049$), предшествующий прием антикоагулянтов ($p=0,006$) и сахарный диабет ($p=0,015$). В итоговой модели (табл. 5) значимыми предикторами внутричерепного кровоизлияния были исходный балл по NIHSS и уровень систолического артериального давления, сахарный диабет и прием антикоагулянтов, исходная оценка КТ по шкале ASPECTS, но не характер терапии.

В ходе исследования было зафиксировано 10 (10%) летальных исходов в ОГ и 13 (13%) — в ГС ($p>0,05$). У 5 (5%) пациентов ОГ были зарегистрированы 15 НР, у 3 (3%) пациентов ГС — 4 НР (табл. 6). При этом 18 НР имели легкую степень выраженности, а 1 — умеренную. Наиболее часто встречающимися осложнениями были нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта.

Обсуждение

В результате двухэтапного изучения совместного применения Цитофлавина и реперфузионной терапии ИИ (ТЛТ и/или ВСТЭ) показано, что применение препарата в пер-

Таблица 2. Динамика неврологического дефицита по шкале NIHSS в группах исследования, баллы, Ме [Q₁; Q₃]

Table 2. Dynamics of neurological deficit according to the NIHSS scale in the study groups, points, Me [Q₁; Q₃]

Срок наблюдения (сут)	ОГ		ГС	
	<i>n</i>	значение	<i>n</i>	значение
1-е	100	8,5 [6; 14]	100	9 [7; 14]
2-е	100	4 [2; 10]	99	4 [2; 12]
7-е	55	3 [1,5; 6]	54	2,5 [2; 5]
10-е	55	4 [2; 7]	57	3 [2; 12]
21-е/при выписке	91	3 [1; 7]	84	3 [1; 7]

Таблица 3. Результаты оценки состояния больных на 21-е сутки исследования, баллы, Ме [Q₁; Q₃]

Table 3. Results of assessing the condition of patients on the 21st day of the study, points, Me [Q₁; Q₃]

Показатель	ОГ		ГС	
	<i>n</i>	значение	<i>n</i>	значение
Шкала Бартел	75	90 [55; 100]	82	90 [55; 100]
Шкала Ривермид	89	12 [7; 14]	84	12 [5; 14]
Шкала реабилитационной маршрутизации	90	2,5 [1; 3]	83	2 [1; 4]

Таблица 4. Частота внутричерепных кровоизлияний (локальных и на отдалении) [11] в двух группах

Table 4. Frequency of intracranial hemorrhages (local and distant) [11] in two groups

Показатель	ОГ ($n=95$)		ГС ($n=91$)	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Нет	85	90	79	87
Единичные петехии на периферии инфаркта	2	2	4	4
Сливные петехии в глубине зоны ишемии, но без масс-эффекта	5	5	1	1
Скопление крови, по объему не превышающее 30% зоны ишемии, с минимальным масс-эффектом	3	3	6	7
Скопление крови небольшого объема вне зоны инфаркта с минимальным масс-эффектом	1	1	1	1
Субарахноидальное кровоизлияние	—	—	1	1

Таблица 5. Коэффициенты уравнения множественной логистической регрессии для потенциальных предикторов внутричерепного кровоизлияния в исследуемой группе

Table 5. Coefficients of the multiple logistic regression equation for potential predictors of intracranial hemorrhage in the study group

Параметр	Коэффициент	Стандартная ошибка	z	p	95% доверительный интервал	
Возраст	0,0261546	0,0265496	0,99	0,325	-0,0258817	0,078191
Исходный балл NIHSS	0,1440959	0,0484701	2,97	0,003	0,0490963	0,2390955
Систолическое артериальное давление	0,0203227	0,0104552	1,94	0,052	-0,000169	0,0408145
Сахарный диабет	0,9962697	0,5537516	1,80	0,072	-0,0890634	2,081603
Исходная оценка по ASPECTS	-0,2812163	0,1667361	-1,69	0,092	-0,608013	0,0455804
Предшествующий прием антикоагулянтов	1,574405	0,8262393	1,91	0,057	-0,0449945	3,193804
Группа терапии	-0,0772285	0,5276304	-0,15	0,884	-1,111365	0,956908

Таблица 6. Зарегистрированные НР у пациентов двух групп, n/%

Table 6. Registered AEs in patients of two groups, n/%

Группа	Число пациентов с любой НР	Число пациентов с любой несерьезной НР	Число пациентов с любой серьезной НР
ОГ	5/5	5/5	0
ГС	3/3	3/3	0
p (критерий Фишера)	>0,05	>0,05	>0,05

вые часы заболевания не препятствует тромболитической активности тромболитика *in vitro*, не ухудшает клинический исход и не приводит к увеличению доли осложнений по сравнению с пациентами, не получавшими Цитофлавин. Таким образом, доказана безопасность включения Цитофлавина в схему раннего лечения пациентов с ишемическим инсультом, которым проводилась реперфузионная терапия.

Эффективность нейропротекции, проводимой параллельно с реперфузионной терапией, ранее изучалась в нескольких исследованиях различных нейротропных препаратов [4, 12, 13], ни в одном из которых не удалось продемонстрировать существенное улучшение функционального исхода ИИ по стандартным критериям. Возможными причинами могут быть небольшой размер выборки, а также мощное искажающее воздействие успеха либо неуспеха реперфузионной терапии, которое в преобладающей степени определяет исход ИИ. Аналогичным образом на клиническом этапе данного исследования улучшение показателей функционального исхода в группе пациентов, получавших Цитофлавин, не достигло статистической значимости при сравнении с пациентами, не получавшими его. Тем не менее важным преимуществом проведенной работы по исследованию взаимодействия двух терапевтических стратегий (реперфузия и нейропротекция) является ее акцент на безопасности, подтвержденной как на доклиническом этапе, так и в реальной клинической практике.

Двухэтапный подход, заключающийся в комбинировании исследования *in vitro* и клинического исследования, примененный в описанной стратегии, содержит определенную научную новизну. Совместное действие нейропротекторов и ТЛТ изучалось в моделях ИИ у животных [14–18], но крайне редко — в ходе фармакологического прямого эксперимента [19–21], что не позволяет с уверенностью исключить модулирующее влияние большинства клинически используемых нейропротекторов на фармакологические эффекты алтеплазы. Результаты проведенного исследования позволяют утверждать, что у Цитофлавина такое модулирующее влияние отсутствует, что дополнительно под-

тверждает безопасность его применения в сочетании с реперфузионной терапией ИИ и повышает достоверность результата наблюдений в реальной клинической практике.

Применение препарата Цитофлавин, как и других нейропротекторов, в сочетании с реперфузионной терапией у пациентов с ИИ приводило к быстрому и выраженному регрессу неврологического дефицита, что имеет важное значение для последующей реабилитации. При изучении значений шкал реабилитационной маршрутизации, Ривермид и Бартел в обеих группах была отмечена положительная тенденция к полной независимости в самообслуживании без статистически значимых различий между двумя группами. Степень инвалидизации по мШР на 90-е сутки от дебюта ИИ в большинстве случаев соответствовала легкой степени нарушения жизнедеятельности как в ОГ, так и в ГС. Показатели частоты внутричерепных и симптомных внутричерепных кровоизлияний, доли летальных исходов и окончательного объема инфаркта в обеих группах не отличались. Все вышперечисленное свидетельствует о том, что Цитофлавин в сочетании с реперфузионной терапией характеризуется не меньшими, чем другие нейропротекторы, эффективностью и безопасностью.

Ограничения проведенного исследования обусловлены его наблюдательным дизайном, однако следует отметить, что сбор данных был проспективным, проводился в контролируемых условиях, выполнялся в соответствии с протоколом, одобренным ЛЭК.

Заключение

Результаты проведенного исследования продемонстрировали безопасность и эффективность сочетанного применения Цитофлавина и реперфузионной терапии у пациентов с ИИ.

Спонсор исследования ООО «НТФФ «ПОЛИСАН», Санкт-Петербург, Россия.

Sponsor of the study LLC STFF POLYSAN, St. Petersburg, Russia.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. GBD 2019 Stroke Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Neurol.* 2021;20(10):795–820. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00252-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00252-0)
2. Radak D, Katsiki N, Resanovic I, et al. Apoptosis and Acute Brain Ischemia in Ischemic Stroke. *Curr Vasc Pharmacol.* 2017;15(2):115–122. <https://doi.org/10.2174/157016115666161104095522>
3. Tuttolomondo A, Di Sciacca R, Di Raimondo D, et al. Neuron protection as a therapeutic target in acute ischemic stroke. *Curr Top Med Chem.* 2009;9(14):1317–1334. <https://doi.org/10.2174/156802609789869646>
4. Чедранова Ж.Ю., Макотрова Т.А., Удачин В.А., Колединцева Е.В. Оценка эффективности применения мексидола в сочетании с тромболитической терапией у больных с ишемическим инсультом. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2012;112(4):49–52. Chedranova ZhYu, Makotrova TA, Udachin VA, Koledintseva EV. Efficacy of mexidol in the combination with thrombolytic therapy in patients with ischemic stroke. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii im. S.S. Korsakova.* 2012;112(4):49–52. (In Russ.).
5. Завалий Л.Б., Петриков С.С., Шеголев А.В. Метаболическая терапия при ишемическом инсульте. *Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная Медицинская Помощь».* 2018;7(1):44–52. Zavaliy LB, Petrikov SS, Shchegolev AV. Metabolicheskaya terapiya pri ishemicheskom insul'te. *Zhurnal im. N.V. Sklifosovskogo «Neotlozhnaya Meditsinskaya Pomoshch'».* 2018;7(1):44–52. (In Russ.).
6. Каракулова Ю.В., Селянина Н.В., Желнин А.В. и др. Влияние антиоксидантной терапии на нейротрофины и процессы реабилитации после инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2016;116(8):36–39. Karakulova YV, Selyanina NV, Zhelnin AV, et al. Effect of antioxidant therapy on neurotrophins and processes of rehabilitation after stroke. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii im. S.S. Korsakova.* 2016;116(8):36–39. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro20161168136-39>
7. Румянцева С.А., Коваленко А.Л., Силина Е.В. и др. Эффективность комплексной антиоксидантной энергокоррекции разной длительности при лечении инфаркта головного мозга (результаты многоцентрового рандомизированного исследования). *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2015;115(8):45–52. Rumyantseva SA, Kovalenko AL, Silina EV, et al. Clinical and morphologic efficacy of a complex antioxidant and energy correction therapy of different duration in brain infarction (results of a multicentre clinical trial). *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii im. S.S. Korsakova.* 2015;115(8):45–52. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro20151158145-52>
8. Сазонов И.Э., Лаврентьева И.В., Головина Н.П. Применение цитофлавина при реперфузионной терапии ишемического инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2016;116(3):25–28. Sazonov IE, Lavrent'eva IV, Golovina NP. The use of cytoflavin in reperfusion in ischemic stroke. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii im. S.S. Korsakova.* 2016;116(3):25–28. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro20161163125-28>
9. Чичановская Л.В., Цукурова Л.А., Коваленко А.Л. и др. Оценка эффективности комплексной цитопротекторной терапии разной длительности у больных инфарктом мозга. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2015;78(1):21–26. Chichanovskaya LV, Tsukurova LA, Kovalenko AL, et al. Performance evaluation of integrated cytoprotective therapy of different duration in patients with cerebral infarction. *Ekspierimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya.* 2015;78(1):21–26. (In Russ.). <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2015-78-1-21-26>
10. Elnager A, Hassan R, Idris Z, et al. Fibrinolytic Activity and Dose-Dependent Effect of Incubating Human Blood Clots in Caffeic Acid Phenethyl Ester: In Vitro Assays. *BioMed Res Int.* 2015;2015:627471. <https://doi.org/10.1155/2015/627471>
11. von Kummer R, Broderick JP, Campbell BCV, et al. The Heidelberg Bleeding Classification: Classification of Bleeding Events After Ischemic Stroke and Reperfusion Therapy. *Stroke.* 2015;46(10):2981–2986. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.115.010049>
12. Lang W, Stadler CH, Poljakovic Z, Fleet D, Lyse Study Group. A prospective, randomized, placebo-controlled, double-blind trial about safety and efficacy of combined treatment with alteplase (rt-PA) and Cerebrolysin in acute ischaemic hemispheric stroke. *Int J Stroke.* 2013;8(2):95–104. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4949.2012.00901.x>
13. Vos EM, Geraedts VJ, van der Lugt A, et al. Systematic Review — Combining Neuroprotection With Reperfusion in Acute Ischemic Stroke. *Front Neurol.* 2022;13:840892. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.840892>
14. Deuchar GA, van Kralingen JC, Work LM, et al. Preclinical Validation of the Therapeutic Potential of Glasgow Oxygen Level Dependent (GOLD) Technology: a Theranostic for Acute Stroke. *Transl Stroke Res.* 2019;10(5):583–595. <https://doi.org/10.1007/s12975-018-0679-y>
15. Fan M, Xu H, Wang L, et al. Tissue Plasminogen Activator Neurotoxicity is Neutralized by Recombinant ADAMTS 13. *Sci Rep.* 2016;6:25971. <https://doi.org/10.1038/srep25971>
16. Ji Y, Adeola O, Strawn TL, et al. Recombinant Soluble Apyrase APT102 Inhibits Thrombosis and Intimal Hyperplasia in Vein Grafts without Adversely Affecting Hemostasis or Re-endothelialization. *J Thromb Haemost.* 2017;15(4):814–825. <https://doi.org/10.1111/jth.13621>
17. Mayor-Nunez D, Ji Z, Sun X, et al. Plasmin-resistant PSD-95 inhibitors resolve effect-modifying drug-drug interactions between alteplase and nerinetide in acute stroke. *Sci Transl Med.* 2021;13(588):eabb1498. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abb1498>
18. Mei T, Kim A, Vong LB, et al. Encapsulation of tissue plasminogen activator in pH-sensitive self-assembled antioxidant nanoparticles for ischemic stroke treatment — Synergistic effect of thrombolysis and antioxidant. *Biomaterials.* 2019;215:119209. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.05.020>
19. David HN, Haelewyn B, Rizzo JJ, Abbraini JH. Modulation by the noble gas argon of the catalytic and thrombolytic efficiency of tissue plasminogen activator. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2013;386(1):91–95. <https://doi.org/10.1007/s00210-012-0809-0>
20. Haelewyn B, David HN, Colloc'h N, et al. Interactions between nitrous oxide and tissue plasminogen activator in a rat model of thromboembolic stroke. *Anesthesiology.* 2011;115(5):1044–1053. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e3182342860>
21. Haelewyn B, David HN, Blatteau JE, et al. Modulation by the Noble Gas Helium of Tissue Plasminogen Activator: Effects in a Rat Model of Thromboembolic Stroke. *Crit Care Med.* 2016;44(6):e383–9. <https://doi.org/10.1097/ccm.0000000000001424>

Поступила 16.06.2023

Received 16.06.2023

Принята к печати 02.08.2023

Accepted 02.08.2023