

Citicoline Preclinical and Clinical Update 2009–2010

Antoni Dávalos and Julio Secades

Stroke. 2011;42:S36-S39; originally published online December 16, 2010;

doi: 10.1161/STROKEAHA.110.605568

Stroke is published by the American Heart Association, 7272 Greenville Avenue, Dallas, TX 75231

Copyright © 2010 American Heart Association, Inc. All rights reserved.

Print ISSN: 0039-2499. Online ISSN: 1524-4628

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:

http://stroke.ahajournals.org/content/42/1_suppl_1/S36

Data Supplement (unedited) at:

<http://stroke.ahajournals.org/content/suppl/2012/02/26/STROKEAHA.110.605568.DC1.html>

Permissions: Requests for permissions to reproduce figures, tables, or portions of articles originally published in *Stroke* can be obtained via RightsLink, a service of the Copyright Clearance Center, not the Editorial Office. Once the online version of the published article for which permission is being requested is located, click Request Permissions in the middle column of the Web page under Services. Further information about this process is available in the [Permissions and Rights Question and Answer](#) document.

Reprints: Information about reprints can be found online at:
<http://www.lww.com/reprints>

Subscriptions: Information about subscribing to *Stroke* is online at:
<http://stroke.ahajournals.org/subscriptions/>

Citicoline Preclinical and Clinical Update 2009–2010

Antoni Dávalos, MD, PhD; Julio Secades, MD, PhD

Abstract—Citicoline is a neuroprotectant and neurorestorative drug that is used in the treatment of acute ischemic stroke in some countries. The research with this compound continues. In this review, we focus on the latest publications or communications or both and on the major ongoing experimental and clinical projects involving citicoline in stroke recovery. (*Stroke*. 2011;42[suppl 1]:S36-S39.)

Key Words: acute stroke ■ brain repair ■ citicoline ■ neuroprotection

Cytidine-5'-diphosphocholine (CDP-choline or citicoline) is an essential intermediate in the synthesis of phosphatidylcholine, a major brain phospholipid. Exogenous CDP-choline is hydrolyzed and absorbed as cytidine and choline, and CDP-choline is resynthesized by CTP-phosphocholine cytidyltransferase, which is the rate-limiting enzyme in phosphatidylcholine synthesis.^{1–4} CDP-choline also serves as a choline donor in the biosynthesis of the neurotransmitter acetylcholine. CDP-choline has been studied in >11 000 volunteers and patients and has shown beneficial effects in cerebral ischemia, traumatic brain injury, and memory disorders. The tolerance of CDP-choline is excellent and side effects are rare, never severe, and consist mainly of digestive intolerance, gastrointestinal discomfort, and restlessness.^{1–4}

The research on citicoline continues to explore new mechanisms of action and its neuroprotectant/neurorestorative potential. We focus on the results with citicoline communicated last year.

Basic Research

Lee et al⁵ investigated whether citicoline can attenuate white matter lesions and cognitive decline caused by chronic hypoperfusion in the rat by conducting a histopathologic investigation and cognitive behavior test. Animals were divided into immediate and delayed treatment groups. Those in the immediate treatment group received a sham operation, citicoline (500 mg/kg per day), or phosphate-buffered saline treatment for 21 days after occluding the bilateral common carotid arteries. In the delayed treatment group, rats received either citicoline 500 mg/kg per day or phosphate-buffered saline for 21 days beginning on day 8 after the operation. Citicoline or phosphate-buffered saline was administered intraperitoneally. From the day 17 of administration, the rats were placed in an 8-arm radial maze to examine their cognitive abilities. In the immediate treatment group, cognitive functions were preserved in the citicoline-treated group,

and white matter damage and TUNEL-positive cells differed significantly between the citicoline-treated and phosphate-buffered saline-treated animals. In the delayed treatment group, there was no decrease in white matter damage and TUNEL-positive cells, but cognitive improvement was evident for citicoline treatment relative to phosphate-buffered saline treatment. The authors concluded that citicoline can prevent white matter damage and aid cognitive improvement, even after a certain extent of disease progression.

During the last European Stroke Conference (Barcelona, May 2010), there were 2 new presentations on citicoline basic research. Giralt et al⁶ used for the first time to our knowledge a systematic review and meta-analysis methodology to assess the evidence for a protective effect of citicoline in animal stroke models. Forty-two studies of citicoline treatment in animal models of cerebral ischemia were identified. Fifteen studies on focal ischemia were analyzed describing procedures involving 313 animals and reporting the effect of citicoline on infarct size (n=313) or functional outcome (n=104). The quality of the studies ranged from 0 to 10 based on good laboratory practice recommendations. Overall, citicoline reduced infarct volume by 28% (95% CI, 19–38; $P<0.001$), and the reduction was greater in transient ischemia (30%; 95% CI, 15–45) than in permanent ischemia models (25%; 95% CI, 17–33). There was no improvement in neurological outcome (13%; 95% CI, 4–30; $P=0.2$). The quality of the studies was modest (score=5; interquartile range, 4–8). However, when stratifying by quality scores (0–4 [low-quality] vs 5–10 [high-quality]), studies with better quality showed the same effect of citicoline on infarct size reduction (30%; 95% CI, 25–34) than those with low-quality scores (29%; 95% CI, 25–33). Comparing doses, animals treated with higher doses (300–500 mg/kg) had greater improvement (27%; 95% CI, 9–46) than animals treated with lower doses (100–300 mg/kg; 18%; 95% CI, 5–32; $P<0.001$). The authors concluded that this meta-anal-

Received October 11, 2010; accepted November 3, 2010.

From the Department of Neurosciences (A.D.), Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain; Medical Department (J.S.), Ferrer Group, Barcelona, Spain.

Correspondence to Dr Antoni Dávalos, Department of Neurosciences, Hospital Germans Trias i Pujol, Ctra de Canyet s/n, 08916 Badalona, Barcelona, Spain. E-mail adavalos.germanstrias@gencat.cat

© 2010 American Heart Association, Inc.

Stroke is available at <http://stroke.ahajournals.org>

DOI: 10.1161/STROKEAHA.110.605568

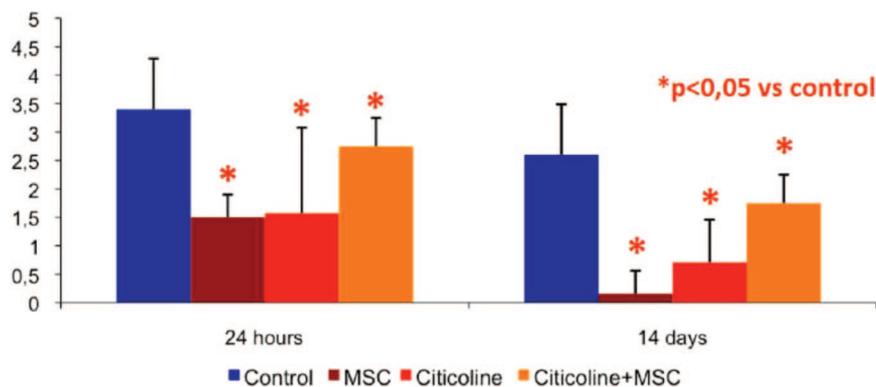


Figure 1. Functional evaluation scores. At 24 hours and 14 days, all treatment groups showed better functional evaluation score than control groups ($P < 0.05$). There were no differences between treatment groups.

ysis provides further evidence of the beneficial effect of citicoline in reducing infarct volume, indicating doses of 300 to 500 mg/kg as optimal to translate into a candidate neuroprotective drug for human stroke.

It is known that the stimulation of endogenous trophic factors or exogenous administration of mesenchymal stem cells (MSC) can enhance neurological repair and recovery. In another communication, Gutiérrez et al⁷ analyzed the therapeutic effects of citicoline, MSC, and their combination on repair and functional recovery after permanent middle cerebral artery occlusion. Sprague-Dawley male rats (Harland Ibérica SL, Barcelona; $n=35$) were distributed in 5 groups: 1, sham; 2, control; 3, citicoline (intraperitoneal, 500 mg/kg); 4, MSC (intravenous, 2×10^6 cells); 5, combination (MSC+citicoline). Treatment effect was evaluated by functional scales, infarct volume measured on MR, and tissue slices with hematoxylin and eosin staining, neuronal death by TUNEL staining, cellular proliferation by BrdUrd immunohistochemistry, vascular endothelial growth factor expression by immunofluorescence, and plasmatic levels of IL-6 and tumor necrosis factor- α by enzyme-linked immunosorbent assay. Rats were euthanized at 14 days. All treatment groups at 24 hours and 14 days showed significantly better neurological score than control groups, but there were no differences between them (Figure 1). No treatment reduced infarct volume, but citicoline and MSC decreased the TUNEL⁺ cells ($P < 0.05$) and increased BrdUrd⁺ cells and vascular endothelial growth factor expression in peri-infarct zone compared to the control group. The authors concluded that citicoline and MSC administration show equal efficacy in neurological recovery, decrease of neuronal death, and increase of signatures of neurogenesis and angiogenesis.

It has been shown that increased iron stores are independently associated with poor outcome in patients with acute stroke.⁸ In this way, Gregorio-Rocasolano et al⁹ demonstrated that citicoline is able to protect neurons against iron toxicity. They incubated primary cultured neurons with iron 48 hours before a 90-minute period of oxygen glucose deprivation. Cell death was determined 15 minutes and 24 hours after returning to normoxia (reperfusion). Pretreatment with 20 and 50 $\mu\text{mol/L}$ iron increased early neuronal cell death compared to nontreated cultures. The net difference in the percentage of cell death between 15 minutes and 24 hour after reperfusion was maximal in controls and decreased in an iron concentration-dependent manner. The authors concluded that

iron overload increases early cell death after reperfusion and decreases the percentage of cells alive than can be saved after returning to normoxia (Figure 2).

Clinical Research

Saver¹⁰ published a formal study-level meta-analysis including 10 trials of citicoline in stroke, both ischemic and hemorrhagic. The aim of this meta-analysis was to analyze if citicoline confers a treatment benefit. Among the 2279 patients enrolled across all trials, assignment to citicoline compared to placebo was associated with a substantial reduction in the frequency of death or disability at long-term follow-up (57.0% vs 67.5%; OR, 0.64; 95% CI, 0.54–0.77; $P < 0.001$). The analysis confined to the 4 largest ($n > 100$) ischemic stroke patient trials yielded a homogenous group of well-reported trials and obtained similar results. A safety analysis of all trials reporting mortality outcomes at the end of follow-up showed no adverse effect of citicoline: citicoline 179/1235 (14.5%) vs placebo 135/966 (14.0%; OR, 0.99; 95% CI, 0.77–1.21; $P = 0.94$).

Recently, a postmarketing surveillance study has been published.¹¹ The aim was to determine the efficacy and safety

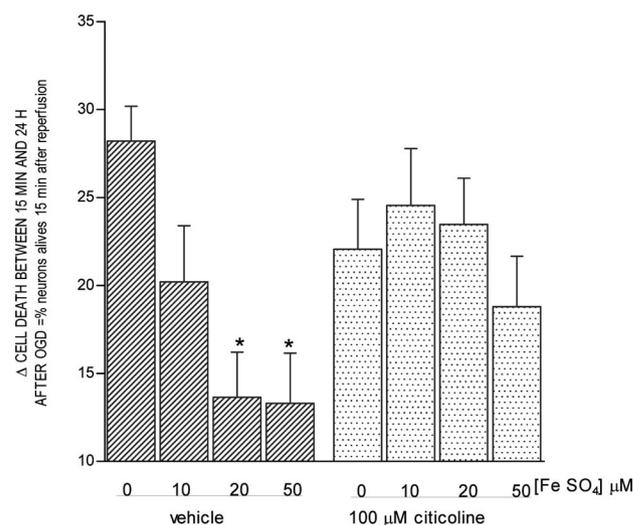


Figure 2. Protective effects of citicoline on cultured neurons exposed to iron at different concentrations. Bars show the proportion of neurons alive after oxygen glucose deprivation (OGD) for 90 minutes and 15 minutes of reperfusion and show the proportion of the total neurons dead 24 hours after reperfusion. Note that neurons exposed to iron and treated with citicoline show resistance to early death after reperfusion.

of oral citicoline in 4191 Korean patients with acute ischemic stroke. Oral citicoline (500–4000 mg/d) was administered within the first 24 hours from symptoms onset in 3736 patients (early group) and >24 hours after stroke onset in 455 patients (late group) for at least 6 weeks. All outcome measures, including a short version of the NIHSS, Barthel Index, and modified Rankin Scale, were improved after 6 weeks of therapy ($P<0.05$). Citicoline safety was excellent; only 37 side effects were observed in 31 patients (0.73%). The most frequent were headache ($n=3$), gastrointestinal symptoms ($n=5$), systemic bleeding ($n=4$), and stroke-related complications ($n=8$).

It has been demonstrated that an increase of circulating endothelial progenitor cells (EPC) after acute ischemic stroke is associated with good functional outcome, reduced infarct growth, and neurological improvement.¹² In this way, Sobrino et al¹³ investigated if the administration of citicoline, started in the acute phase of stroke, could increase the EPC concentration in blood. Forty-eight patients with a first-ever nonlacunar ischemic stroke were prospectively included in the study within 12 hours of symptoms onset. Patients received treatment ($n=26$) or no treatment ($n=22$) with oral citicoline (2000 mg/d for 6 weeks). EPC colonies were quantified as early outgrowth colony-forming-unit endothelial cells (CFU-EC). The EPC increment during the first week was defined as the difference in the number of CFU-EC between day 7 and admission. CFU-EC were similar at baseline between patients treated and not treated with citicoline (7.7 ± 6.1 vs 9.1 ± 7.3 CFU-EC; $P=0.819$). However, patients treated with citicoline and recombinant tissue-plasminogen activator had a higher EPC increase compared to patients treated only with citicoline or those not treated (35.4 ± 15.9 vs 8.4 ± 8.1 vs 0.9 ± 10.2 CFU-EC; $P<0.001$). In a logistic regression model, citicoline treatment (OR, 17.6; 95% CI, 2.3–137.5; $P=0.006$) and co-treatment with citicoline and recombinant tissue-plasminogen activator (OR, 108.5; 95% CI, 2.9–1094.2; $P=0.001$) were independently associated with an EPC increment ≥ 4 CFU-EC. The authors concluded that the administration of citicoline and the co-administration of citicoline and recombinant tissue plasminogen activator increase EPC concentration in acute ischemic stroke.

Focusing on the neuroreparative effects of citicoline, Ortega et al¹⁴ presented the results of a clinical trial assessing safety and efficacy of citicoline on preservation of neurocognitive functions after stroke. The authors included 347 patients with a first-ever stroke in whom cognitive functions were evaluated by a complete neuropsychological battery 6 weeks (± 3 days) and 6 months (± 7 days) after the event. All of them received citicoline (2 g/d) during 6 weeks and then were randomly assigned either to continue citicoline treatment (1 g/d) up to month 6 ($n=172$) or to stop citicoline therapy ($n=175$). Cognitive decline was assessed in each neurocognitive function using logistic regression models. The mean age of the patients was 67.2 and mean time of education was 5.7 years. Baseline characteristics were comparable between groups. Thirty patients died during the follow-up. Four patients had adverse events related to citicoline but continued with the treatment. At 6 months, patients not

Table. ICTUS Trial Update by May 2010 (n=1497)

Baseline NIHSS ≥ 8 and ≤ 14	689	46.03%
Baseline NIHSS ≥ 15 and ≤ 22	740	49.43%
Baseline NIHSS > 22	68	4.54%
Therapeutic window ≤ 12 hr	1233	82.36%
Therapeutic window > 12 hr	264	17.64%
Subject is not using recombinant tissue plasminogen activator	855	57.11%
Subject is using recombinant tissue plasminogen activator	642	42.89%
Right side	823	54.98%
Left side	674	45.02%
Age ≤ 70	537	35.87%
Age > 70	960	64.13%

Clinical characteristics at baseline used for the minimization process of randomization.

treated with citicoline showed significantly higher cognitive impairment in attention, executive functions (OR, 1.7; 95% CI, 1.09–2.73; $P=0.019$), and temporal orientation (OR, 1.73; 95% CI, 1.02–2.93; $P=0.042$). The authors concluded that citicoline treatment during 6 months after a first ischemic stroke is safe and effective to improve neurocognitive impairment.

Two major clinical trials with citicoline are ongoing. The citicoline brain injury treatment trial (COBRIT), conducted in United States, is a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial to analyze the effects of 90 days of citicoline (1000 mg twice per day) or placebo on functional outcome in patients with complicated mild, moderate, or severe traumatic brain injury.¹⁵ In total, 1292 patients will be recruited over an estimated period of 32 months. The primary outcome consists of a set of scales that will be analyzed as a composite measure using a global test procedure at 90 days. The measures comprise the following core battery: the California Verbal Learning Test II; the Controlled Oral Word Association Test; Digit Span; Extended Glasgow Outcome Scale; the Processing Speed Index; Stroop Test part 1 and Stroop Test part 2; and Trail-Making Test parts A and B. Secondary outcomes include survival, toxicity, and rate of recovery. After an interim analysis, the sample size has been increased to close to 1500 patients, and the results are expected during 2011.

In Europe, we are developing the ICTUS trial.¹⁶ This is a multicenter, randomized (under minimization), double-blind, placebo-controlled trial. The study will follow a sequential analysis (triangular model),¹⁷ and the upper limit has been established in 2600 patients. This design has 80% power to establish a treatment effect of 1.26 (common OR). Primary end point will consist of a global score test combining 3 measures of success evaluated 12 weeks after treatment on the basis of intention-to-treat criteria: neurological (NIHSS score ≤ 1), disability (modified Rankin scale score ≤ 1), and activities of daily life (Barthel Index score ≥ 95), all averaged using a global test. ICTUS trial update was presented in the last European Stroke Conference; by May 3, 2010, 1497 patients had been included in 50 active centers in Spain,

Portugal, and Germany. Table shows the characteristics of the patients according to the 5 factors used in the minimization process of randomization. Note that 54% of the patients have a baseline NIHSS score ≥ 15 and that 43% were treated with recombinant tissue plasminogen activator.

In summary, evolving basic research is enhancing the evidence of the role of citicoline in brain protection and repair. Ongoing pivotal clinical trials might confirm the findings of smaller studies that suggest a benefit of citicoline in brain trauma and in cerebral ischemia.

Disclosures

A.D. is the principal investigator of the ICTUS trial and has received consultancy fees from Ferrer Grupo. J.S. is a member of the Medical Department of Ferrer Grupo.

References

- Secades JJ, Lorenzo JL. Citicoline: Pharmacological and clinical review, 2006 Update. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2006;28(Suppl B):1–56.
- Adibhatla RM, Hatcher JF, Larsen EC. Cytokine biology, lipid metabolism and citicoline in stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2007;27(Suppl 1):B06–B02.
- Adibhatla RM, Hatcher JF. Role of lipids in brain injury and diseases. *Future Lipidol*. 2007;2:403–422.
- Adibhatla RM, Hatcher JF. Lipid oxidation and peroxidation in CNS health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal*. 2010;12:125–169.
- Lee HJ, Kang JS, Kim YI. Citicoline protects against cognitive impairment in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. *J Clin Neurol*. 2009;5:33–38.
- Giralt D, García-Bonilla L, Campos M, Sosti V, Rosell A, Montaner J. Selecting the optimal dose of citicoline treatment in animal models of focal cerebral ischemia through a meta-analysis. *Cerebrovasc Dis*. 2010;29(Suppl 2):165.
- Gutiérrez M, Rodríguez-Frutos B, Alvarez-Grech J, Exposito-Alcaide M, Vallejo-Cremades M, Merino J, Díez-Tejedor E. Effects of citicoline and mesenchymal stem cells in acute cerebral infarct. Experimental study in rats. *Cerebrovasc Dis*. 2010;29(Suppl 2):317–318.
- Pérez de la Ossa N, Sobrino T, Silva Y, Blanco M, Millán M, Gomis M, Agulla J, Araya P, Reverté S, Serena J, Dávalos A. Iron-related brain damage in patients with intracerebral hemorrhage. *Stroke*. 2010;41:810–813.
- De Gregorio-Rocasolano N, Ponce J, Guirao V, Pérez de la Ossa N, Dávalos A, Gasull T. Iron overload increases early death of neurons during hypoxia and lowers the opportunity to save neurons after reperfusion. *Cerebrovasc Dis*. 2009;27(suppl 6):114.
- Saver JL. Citicoline: update on a promising and widely available agent for neuroprotection and neurorepair. *Rev Neurol Dis*. 2008;5:167–177.
- Cho HJ, Kim YJ. Efficacy and safety of oral citicoline in acute ischemic stroke: drug surveillance study in 4,191 cases. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2009;31:171–176.
- 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;38:2759–2764.
- 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*. 2010; in press.
- Ortega G, Jacas C, Quintana M, Ribó M, Santamarina E, Maisterra O, Molina C, Montaner J, Roman G, Alvarez-Sabín J. Citicoline treatment prevents neurocognitive decline after a first ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis*. 2010;29(Suppl 2):268.
- Zafonte R, Friedewald WT, Lee SM, Levin B, Diaz-Arrastia R, Ansel B, Eisenberg H, Timmons SD, Temkin N, Novack T, Ricker J, Merchant R, Jallo J. The citicoline brain injury treatment (COBRIT) trial: design and methods. *J Neurotrauma*. 2009;26:2207–2216.
- Dávalos A. Protocol 06PRT/3005: ICTUS study: International Citicoline Trial on acUte Stroke (NCT00331890) oral citicoline in acute ischemic stroke. *Lancet Protocol Reviews* 2007. Available at: <http://www.thelancet.com/journals/lancet/misc/protocol/protocolreviews>. Accessed April 10, 2008.
- Bolland K, Whitehead J, Cobo E, Secades JJ. Evaluation of a sequential global test of improved recovery following stroke as applied to the ICTUS trial of citicoline. *Pharm Stat*. 2009;8:136–149.

Результаты доклинических и клинических исследований эффективности цитиколина 2009 и 2010 гг.

Источник: A. Dávalos, J. Secades. Citicoline preclinical and clinical update 2009–2010. Stroke 2011;42: suppl 1:S36–S39

Department of Neurosciences, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain; Medical Department, Fener Group, Barcelona, Spain.

Абстракт. Цитиколин является нейротрофикатором и обладает способностью восстанавливать нервные клетки, в некоторых случаях его используют в лечении острого и хронического инсульта. Проведены исследования по изучению эффективности этого лекарственного препарата. В данном обзоре мы обрели особое внимание на последние публикации и данные об основных методах экспериментальной и клинической практики, в которых используют цитиколин для восстановления после инсульта.

Ключевые слова: острый инсульт (acute stroke), восстановление головного мозга (brain repair), цитиколин (citicoline), нейротрофикатор (neuroprotection)

Цитидин-5'-дифосфохолин (ЦДФ-холин, или цитиколин) является важным промежуточным звеном в синтезе фосфатидилхолина, основного фосфолипида головного мозга. Экзогенный ЦДФ-холин подвергается гидролизу и абсорбируется в виде цитидина и холина, затем происходит повторный синтез ЦДФ-холина под действием СТР-фосфохолинцитидилтрансферазы, являющейся ферментом, который ограничивает скорость синтеза фосфатидилхолина [1–4]. ЦДФ-холин также является донором холина в биосинтезе нейромедиатора ацетилхолина. Эффективность ЦДФ-холина изучали среди более 11 тыс. добровольцев и пациентов, при этом наблюдали положительный эффект при ишемии головного мозга, черепно-мозговых травмах и нарушениях памяти. Лечение ЦДФ-холином прекрасно переносится, побочные эффекты встречаются редко, никогда не бывают тяжелыми и проявляются в основном в виде нарушения пищеварения, дискомфорта со стороны желудочно-кишечного тракта и возбуждения [1–4].

В исследованиях цитиколина продолжают изучать новые механизмы его действия, способность оказывать нейротропное действие и восстанавливать нервные клетки. Мы уделили основное внимание результатам исследований цитиколина, опубликованным в прошлом году.

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

H.J. Lee и соавт. [5] с помощью гистопатологических исследований и тестов на познавательное поведение изучали у крыс влияние цитиколина на динамику объема поражения белого вещества головного мозга и улучшение сниженных когнитивных способностей, предельно вызванных хронической гиперперфузией. Животных разделили на группы немедленного и отсроченного лечения. Крысам в группе немедленного лечения проводили локальную операцию, вводили цитиколин (500 мг/кг/сут) или фосфатно-солевой буфер в течение 21 дня после двусторонней окклюзии общей сонной

артерии. В группе отсроченного лечения крысам вводили цитиколин 500 мг/кг/сут или фосфатно-солевой буфер в течение 21 дня, начиная с 8-го дня после проведения оперативного вмешательства. Цитиколин или фосфатно-солевой буфер вводили интратеритонально. С 17-го дня лечения крыс помещали в радиальный лабиринт с 8 ответвлениями для изучения когнитивных способностей. В группе немедленного лечения когнитивные функции сохранились у крыс, получавших цитиколин, а объем пораженного белого вещества головного мозга и число TUNEL-положительных клеток значительно отличались между группами животных, получавших цитиколин и фосфатно-солевой буфер. В группе отсроченного лечения не произошло снижения объема пораженного белого вещества головного мозга и уменьшения числа TUNEL-положительных клеток, однако улучшение когнитивных функций было очевидным в группе животных, получавших цитиколин по сравнению с группой, получавшей фосфатно-солевой буфер. Авторы пришли к выводу, что цитиколин позволяет предотвращать прогрессирование поражения белого вещества головного мозга и способствует улучшению когнитивных функций даже на фоне отсроченного начала лечения.

На последней Европейской конференции по инсульту (Барселона, май 2010 г.) прозвучали два новых доклада о фундаментальных исследованиях цитиколина. D. Gilà и соавт. [6] впервые представили нашему вниманию систематический обзор и методологию мета-анализа для оценки доказательства протекторного влияния цитиколина в моделях инсульта на животных. Были выполнены 42 исследования эффективности лечения цитиколином на моделях ишемии головного мозга у животных. Провелись пятнадцать исследований с использованием модели очаговой ишемии, описанных процедуры с участием 313 животных и представивших данные о влиянии цитиколина на размер зоны инфаркта ($n=313$) или функциональный исход ($n=104$). Качество исследований варьировалось в диапазоне от 0 до 10 баллов согласно рекомендациям по надлежащей лабораторной практике. В целом введение цитиколина привело к уменьшению объема инфаркта на 28% (95% доверительный интервал [ДИ] от 19 до 38; $p<0,001$), и этот эффект был более выражен при транзиторной

© American Heart Association, Inc., 2011.

Адрес для корреспонденции: Dr Antoni Dávalos, Department of Neurosciences, Hospital Germans Trias i Pujol, Ctra de Canyet s/n, 08916 Badalona, Barcelona, Spain. E-mail: adavalos.germanstrias@gencat.cat

ишемии (30% при 95% ДИ от 15 до 45) по сравнению с моделями перманентной ишемии (25% при 95% ДИ от 17 до 33). Улучшений в неврологических исходах не зарегистрировали (13% при 95% ДИ от 4 до 30; $p=0,2$). Качество исследований было невысоким (5 баллов; межкартельный размах от 4 до 8). Однако при стратификации по оценке качества (0–4 балла – низкое качество, 5–10 баллов – высокое качество), результаты высококачественных исследований продемонстрировали влияние цитиколина на уменьшение размера зоны инфаркта (30% при 95% ДИ от 25 до 34), аналогичное таковому в исследованиях низкого качества (29% при 95% ДИ от 25 до 33). При сравнении доз обнаружили, что у животных, получивших высокие дозы (300–500 мг/кг) цитиколина, улучшение проходило более интенсивно (27% при 95% ДИ от 9 до 46), чем у животных, получивших низкие дозы препарата (100–300 мг/кг; 18% при 95% ДИ от 5 до 32; $p<0,001$). Авторы пришли к выводу, что результаты этого мета-анализа в очередной раз подтвердили позитивное влияние цитиколина на уменьшение объема инфаркта, свидетельствуя, что доза цитиколина от 300 до 500 мг/кг является оптимальной в качестве возможного нейропротектора для лечения инсульта у человека.

Известно, что стимуляция эндогенных трофических факторов и экзогенное введение мезенхимальных стволовых клеток (МСК) может привести к улучшению репаративных процессов и неврологического восстановления. В докладе M. Gutiérrez и соавт. [7] проанализировали терапевтический эффект цитиколина, МСК и их сочетания на репаративные процессы и функциональное восстановление после перманентной окклюзии средней мозговой артерии. Самцов крыс Sprague-Dawley (Harland Ibérica SL, Барселона; $n=35$) разделили на 5 групп: группа 1 – ложная операция, группа 2 – контрольная, группа 3 – введение цитиколина (500 мг/кг интравентрикулярно), группа 4 – введение МСК (2×10^6 клеток внутривенно), группа 5 – комбинированное введение цитиколина и МСК.

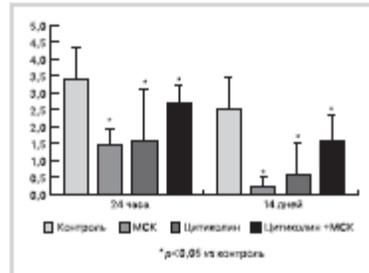


Рисунок 1. Динамика функциональной оценки на фоне лечения. Через 24 часа и 14 дней после гиста лечения отметили улучшение по всем показателям функционального статуса по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$). Различий между группами не было.

Эффект лечения оценивали по функциональным шкалам, измерению объема инфаркта по результатам МРТ, окрашиванию срезов тканей мозга гематоксилином и эозином, гибель нейронов оценивали с помощью TUNEL-окрашиванием, клеточную пролиферацию – с помощью BrdUrd иммуногистохимического анализа, экспрессию сосудистого эндотелиального фактора роста изучали методом иммунофлуоресценции, а уровни ИЛ-6 и фактора некроза опухоли- α в плазме крови оценивали с помощью иммуноферментного анализа. Крысы забиты через 14 дней. Во всех группах лечения через 24 часа и 14 дней отметили значительное улучшение неврологической оценки, чем в контрольной группе (рис. 1). Ни в одной группе лечения не произошло уменьшения объема инфаркта, но при введении цитиколина и МСК снизилось число TUNEL-положительных клеток ($p<0,05$), увеличилось число BrdUrd-положительных клеток и возрос уровень экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста в перифарктной зоне по сравнению с контрольной группой. Авторы пришли к выводу, что введение цитиколина и МСК оказывает одинаковый положительный эффект на неврологическое восстановление, уменьшение гибели нейронов и стимулирует нейро- и ангиогенез.

Было показано, что повышение содержания железа независимо ассоциировано с неблагоприятным исходом у пациентов с острым инсультом [8]. В связи с этим N. De Gregorio-Roccolano и соавт. [9] показали, что цитиколин позволяет защитить нейроны от токсического действия железа. Они инкубировали первично культивированные нейроны с железом в течение 48 часов, а затем в течение 90 минут подвергли их кислородно-глюкозной депривации. Гибель клеток оценивали через 15 минут и 24 часа после восстановления нормоксии (реперфузии). Предварительная обработка культур клеток железом в концентрации 20 и 50 ммоль/л привела к ранней гибели нейронов по сравнению с необработанными культурами. Различия в числе погибших клеток (в %) через 15 минут и 24 часа после реперфузии было максимальным в контрольной группе и снижалось в зависимости от концентрации железа. Авторы пришли к выводу, что избыточное содержание железа приводит к ранней гибели клеток после реперфузии и снижению числа жизнеспособных клеток, сохраняющихся после восстановления нормоксии (рис. 2).

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

J.L. Savet [10] опубликовал формальный мета-анализ исследований, включающих результаты 10 испытаний цитиколина при лечении ишемического и геморрагического инсульта. Цель этого мета-анализа заключалась в оценке положительного терапевтического влияния цитиколина. В группе из 2279 пациентов, включенных во все испытания, применение цитиколина по сравнению с плацебо было ассоциировано с существенным снижением частоты развития летального исхода или потери трудоспособности в течение длительного периода последующих наблюдений (57,0 и 67,5%, отношение шансов [ОШ]–0,64 при 95% ДИ

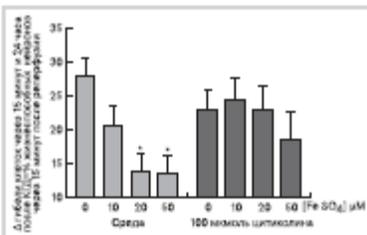


Рисунок 2. Препаратное действие цитиколина на цитилированное нейроны, подвигнулось воздействием железа и различных концентраций. Столбчатая диаграмма показывает длину жизнеспособных нейронов после ислородно-глюкозной депривации (ИД) и течение 90 минут и через 15 минут после реперфузии и длину погибших нейронов через 24 часа после реперфузии. Заметно, что нейроны, подвигнулось воздействием железа и обработанные цитиколином, были жизнеспособны и ранней гибели после реперфузии.

от 0,54 до 0,77; $p < 0,001$). Анализ, ограниченный данными 4 крупнейших ($n > 100$) испытаний с участием пациентов с ишемическим инсультом, выдал однородную группу испытаний с надежными данными, в которых получили аналогичные результаты. Анализ безопасности во всех испытаниях, содержащих данные об уровне летальности по окончании периода наблюдений, продемонстрировал отсутствие побочных эффектов цитиколина: цитиколин 179/1235 (14,5%) по сравнению с плацебо 135/966 (14,0%; ОШ=0,99 при 95% ДИ от 0,77 до 1,21; $p = 0,94$).

Недавно были опубликованы результаты исследования по контролю клинического использования препарата [11]. Цель исследования заключалась в оценке эффективности и безопасности перорального применения цитиколина у 4191 пациента с острым ишемическим инсультом в Корее. Цитиколин назначали перорально (500–4000 мг/сут) в течение первых 24 часов от момента появления симптомов инсульта 3736 пациентам (группа раннего лечения) и спустя 24 часа от начала инсульта 455 пациентам (группа отсроченного лечения) курсом не менее 6 недель. Через 6 недель лечения произошло улучшение по всем показателям исходов, таким как оценка по сокращенному варианту шкалы NIH, индексу Бартел и оценка по модифицированной шкале Рэнкина ($p < 0,05$). Безопасность цитиколина была отличной, зарегистрировали только 37 побочных эффектов у 31 пациента (0,73%). Наиболее частыми побочными эффектами были: головная боль ($n = 3$), желудочно-кишечные расстройства ($n = 5$), системные кровотечения ($n = 4$) и осложнения, связанные с инсультом ($n = 8$).

Было показано, что увеличение числа циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК) после острого ишемического инсульта ассоциировано с хорошим функциональным исходом, уменьшением роста зоны инфаркта и неврологическим улучшением

[12]. В связи с этим Т. Sobrino и соавт. [13] изучали влияние цитиколина в остром периоде инсульта на увеличение концентрации ЭПК в крови. В исследовании проспективно включили 48 пациентов с впервые возникшим ислородно-гемическим инсультом, поступивших в течение 12 часов от момента появления симптомов заболевания. Пациентов включили в группу лечения, в которой цитиколин применяли в дозе 2000 мг/сут в течение 6 недель ($n = 26$) и в группу контроля, в которой цитиколин не применяли ($n = 22$). Колонии ЭПК количественно определяли по прорастающим колониям-формирующим эндотелиальным клеткам (CFU-EC). Прирост ЭПК в течение первой недели рассчитали как разницу в числе CFU-EC при поступлении и на 7-й день. Исходное число CFU-EC у пациентов, получавших цитиколин и не получавших его, практически не отличалось ($7,7 \pm 6,1$ и $9,1 \pm 7,3$ CFU-EC; $p = 0,819$). Однако у пациентов, получавших цитиколин и рекомбинантный тканевый активатор плазминогена, прирост ЭПК был больше, чем у пациентов, получавших только цитиколин или не получавших этот препарат вовсе ($35,4 \pm 15,9$, $8,4 \pm 8,1$ и $0,9 \pm 10,2$ CFU-EC; $p < 0,001$). В модели логистической регрессии лечение цитиколином (ОШ=17,6 при 95% ДИ от 2,3 до 137,5; $p = 0,006$) и комбинированное лечение цитиколином и рекомбинантным тканевым активатором плазминогена (ОШ=108,5 при 95% ДИ от 2,9 до 1094,2; $p = 0,001$) были независимо ассоциированы с приростом ЭПК на > 4 CFU-EC. Авторы пришли к выводу, что применение цитиколина и комбинированная терапия цитиколином и рекомбинантным тканевым активатором плазминогена при остром ишемическом инсульте приводит к повышению содержания ЭПК.

Сосредоточив внимание на репаративных эффектах цитиколина, G. Olega и соавт. [14] представили результаты клинического исследования по оценке безопасности и эффективности цитиколина в отношении сохранения когнитивных функций после инсульта. Авторы включили в исследование 347 пациентов с впервые возникшим инсультом, у которых оценку когнитивных функций проводили с помощью полного набора нейропсихологических тестов через 6 недель (± 3 дня) и 6 месяцев (± 7 дней) после учебного события. Все пациенты получали цитиколин (2 г/сут) в течение 6 недель, а затем были рандомизированы в группы продолжения лечения цитиколином (1 г/сут) до 6 месяцев ($n = 172$) или прекращения лечения цитиколином ($n = 175$). Снижение когнитивных способностей по каждому домену оценивали с использованием модели логистической регрессии. Средний возраст пациентов составил 67,2 года, среднее время наблюдения – 5,7 года. Исходные характеристики были сопоставимы между группами. Тридцать пациентов умерли в течение периода наблюдений. У четырех пациентов развились побочные эффекты, связанные с приемом цитиколина, но они продолжили лечение. Через 6 месяцев у пациентов, не получавших цитиколина, зарегистрировали более значительные когнитивные нарушения в сфере внимания, исполнительной функции (ОШ=1,7 при 95% ДИ от 1,09 до 2,73; $p = 0,019$) и ориентации во вре-

мени (ОШ=1,73 при 95% ДИ от 1,02 до 2,93; $p=0,042$). Авторы пришли к выводу, что лечение цитиколином в течение 6 месяцев после впервые возникшего ишемического инсульта является безопасным и эффективным в отношении улучшения когнитивных функций.

В настоящее время продолжается проведение двух крупных клинических исследований цитиколина. Испытание Citicoline Brain Injury Treatment Trial (COBRIT), проводимое в США, является рандомизированным двойным слепым плацебо-контролируемым многоцентровым исследованием, посвященным анализу влияния лечения цитиколином (по 100 мг 2 раза/сут) в течение 90 дней по сравнению с плацебо на функциональный исход у пациентов с травматическим повреждением головного мозга легкой, средней и тяжелой степеней тяжести [15]. В общей сложности планируется набрать 1292 пациента в течение расчетного периода продолжительностью 32 месяца. Первичная конечная точка включает оценки по множеству шкал, которые будут проанализированы как комплексный показатель методом общего тестирования через 90 дней. Показатели включают оценки по следующим ключевым группам тестов: Калифорнийский тест вербального научения II (California Verbal Learning Test II); тест Controlled Oral Word; тест на выявление ассоциаций (Association Test); тест Digit Span; расширенная шкала исходов Glasgow (Extended Glasgow Outcome Scale); индекс скорости обработки информации (Processing Speed Index); Струп-тест часть 1 и часть 2 (Stroop Test part 1, Stroop Test part 2); тест с построением маршрута в части А и части В (Trail-Making Test, parts A and B). К вторичным конечным точкам относятся вживаемость, точечность и скорость восстановления. После промежуточного анализа размер выборки был увеличен почти до 1500 пациентов. Первые результаты этого исследования мы ожидаем увидеть в 2011 г.

В Европе мы продолжаем исследований ICTUS [16]. Это многоцентровое рандомизированное (при минимизации) двойное слепое плацебо-контролируемое исследование. Оно будет сопровождаться последовательным анализом (треугольная модель) [17] с верхним пределом в 2600 пациентов. У этого дизайна мощьность в отношении определения эффекта лечения в 1,26 (общее ОШ) составляет 80%. Первичная конечная точка будет состоять из глобального теста, включающего три показателя успешности лечения, которые будут оценивать через 12 недель после лечения на основе критериев в зависимости от времени, прошедшего от четного события до начала лечения: неврологический исход (оценка по шкале NIH <1 балла), инвалидизация (оценка по модифицированной шкале Рэнкина <1 балла)

и активность в повседневной жизни (индекс Бартел >95), все показатели усредняются с помощью общего теста. Обновленные данные по исследованию ICTUS были представлены на последней Европейской конференции по инсульту. К 3 мая 2010 г. в 50 активных центрах в Испании, Португалии и Германии в иссле-

Таблица. Обновленные данные испытания ICTUS по состоянию на май 2010 г. (n=1497)

Параметры	Показатели	
	n	%
Исходная оценка по шкале NIH ≥ 18 и ≤ 14 баллов	629	46,02
Исходная оценка по шкале NIH ≥ 15 и ≤ 22 баллов	740	49,42
Исходная оценка по шкале NIH > 22 баллов	68	4,54
Терапевтическое окно ≤ 12 часов	1223	82,36
Терапевтическое окно > 12 часов	264	17,64
Лиды, которым не проводились системный тромболитический и/или активатор плазминогена	865	57,11
Число лидов, которым проводили системный тромболитический	642	42,89
Правая сторона	822	54,98
Левая сторона	674	45,02
Возраст ≤ 70 лет	527	35,87
Возраст > 70 лет	960	64,13

Примечание. Исходные исследования в Европе проводились, и использовались для включения в этот анализ рандомизированные.

дование включили 1497 пациентов. В таблице представлены характеристики пациентов в соответствии с 5 факторами, используемыми в процессе минимизации рандомизации. Отметим, что у 54% пациентов исходная оценка по шкале NIH составляла более 15 баллов, а 43% пациентам проводили системный тромболитический.

Таким образом, проведение фундаментальных исследований способствует увеличению числа доказательств, свидетельствующих о роли цитиколина в защите и восстановлении головного мозга. Продолжающиеся ключевые клинические испытания могут подтвердить результаты небольших исследований, в которых указывается на эффективность цитиколина при травматическом повреждении головного мозга и церебральной ишемии.

ЛИТЕРАТУРА

- Secades J.I., Llanusa J.L. Cilicofline: Pharmacological and clinical review, 2006 Update. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2006;28(Suppl 3):1-56.
- Adibhatla R.M., Hatcher J.F., Lanen E.C. Cytokine biology, lipid metabolism and cilicofline in stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2007;27(Suppl 1):806-808.
- Adibhatla R.M., Hatcher J.F. Role of lipids in brain injury and disease. *Future Lipids*. 2007;2:403-422.
- Adibhatla R.M., Hatcher J.F. Lipid oxidation and peroxidation in CNS health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal*. 2010;12:125-169.
- Lee H.J., Kang J.S., Kim Y.I. Cilicofline protects against cognitive impairment in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. *J Clin Neurosci*. 2009;5:33-38.
- Giralt D., Garcia-Bonilla L., Camps M., Sotil V., Rosell A., Montaner J. Selecting the optimal dose of cilicofline treatment in animal models of focal cerebral ischemia through a meta-analysis. *Cerebrovasc Dis*. 2010;29(Suppl 2):165.
- Gutiérrez M., Rodríguez-Frutos B., Álvarez-Grech J., Espósito-Alcaide M., Vallejo-Cremades M., Merino J., Díaz-Tejedor E. Effects of cilicofline and mefenamic acid on cells in acute cerebral infarct. *Experimental study in rats*. *Cerebrovasc Dis*. 2010;29(Suppl 2):317-318.
- Pérez de la Ossa N., Sobrino T., Silva Y., Blanco M., Millán M., Gómez M., Aguilá J., Araña P., Revuelto S., Serena J., Dávalos A. Iron-related brain damage in patients with intracerebral hemorrhage. *Stroke*. 2010;41:810-813.
- De Gregorio-Rocasciano N., Ponce J., Guiso V., Pérez de la Ossa N., Dávalos A., Gasull T. Iron overload increases early death of neurons during hypoxia and lowers the opportunity to save neurons after reperfusion. *Cerebrovasc Dis*. 2009;27(Suppl 6):154.
- Saver J.L. Cilicofline: update on a promising and widely available agent for neuroprotection and neurorepair. *Rev Neurol Dis*. 2008;5:167-177.
- Cho H.J., Kim Y.J. Efficacy and safety of oral cilicofline in acute ischemic stroke: drug surveillance study in 4,191 cases. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2009;31:171-176.
- Sobrino T., Hurtado O., Moro M.A., Rodríguez-Yáñez M., Castellanos M., Bras D., Moldes O., Blanco M., Arenillas J.F., 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;38:2759-2764.
- Sobrino T., Rodríguez-González R., Blanco M., Bras D., Pérez-Melo M., Rodríguez-Yáñez M., Leira R., Castillo J. CDP-choline treatment increases circulating endothelial progenitor cells in acute ischemic stroke. *Neurosci Res*. 2010; in press.
- Ortega G., Jacas C., Quintana M., Ribó M., Santamarina F., Meléram D., Molina G., Montaner J., Roman G., Álvarez-Sabín J. Cilicofline treatment prevents neurocognitive decline after a first ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis*. 2010;29(Suppl 2):268.
- Zafonte R., Friedewald W.T., Lee S.M., Levin B., Diaz-Armas R., Ansel B., Eisenberg H., Timmons S.D., Tomkin N., Novack T., Ricker J., Merchant R., Jallo J. The cilicofline brain injury treatment (COBRIT) trial: design and methods. *J Neurotrauma*. 2009;26:2207-2216.
- Dávalos A. Protocol 06PRT/3005: ICTUS study: International Cilicofline Trial on acute Stroke (NCT00331890) oral cilicofline in acute ischemic stroke. *Lancet Protocol Reviews* 2007. Available at: <http://www.thelancet.com/journals/lanct/ misc/protocol/ protocols.htm>. Accessed April 10, 2008.
- Bollard K., Whitehead J., Cobo E., Secades J.I. Evaluation of a sequential global trial of improved recovery following stroke as applied to the ICTUS trial of cilicofline. *Pharm Stat*. 2009;8:136-149.