



Лаборатория клеточной терапии сосудистых заболеваний

Заведующий д.м.н., профессор Белкин А.А.

**Алашеев А.М., Белкин А.А., Лейдерман И.Н., Рогов Д.Ю., Исакова Т.М.,
Фечина Л.Г., Иванов Р.А., Леонтьев С.Л.**

Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор в остром периоде ишемического инсульта: рандомизированное контролируемое исследование безопасности и эффективности (СТЕМТЕР)

Инсульт – вторая по распространенности в мире причина инвалидности и смертности [1]. Поэтому ученые не прекращают искать способы защиты уцелевших и возмещения погибших клеток мозга. Одним из решений этой проблемы может стать применение гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) [2]. Г-КСФ обладает рядом полезных эффектов [3]: антиапоптотическим, противовоспалительным, эксайтопротекторным, нейротрофическим, стимулирующим ангио- и нейрогенез. Введение Г-КСФ мобилизует гемопоэтические стволовые CD34+ клетки из костного мозга в периферическую кровь [4], что также способствует репарации нейронов и восстановлению функции мозга [5]. Мета-анализ исследований применения Г-КСФ на модели фокальной ишемии у животных показал, что препарат уменьшает объем инфаркта мозга и улучшает функциональный исход [6].

Ишемический инсульт или инфаркт миокарда запускают мобилизацию гемопоэтических стволовых CD34+ клеток из костного мозга в периферическую кровь [7]. Поэтому введение экзогенного Г-КСФ для усиления механизма защиты и репарации, заложенного природой, кажется разумным, но необходимо помнить о возможных осложнениях терапии [8]. По данным мета-анализа [9], применение Г-КСФ при остром инфаркте миокарда было безопасным, но не эффективным. В известных нам (но неизвестных на момент планирования нашего исследования) рандомизированных клинических исследованиях Г-КСФ при остром ишемическом инсульте [10, 11, 12] доказана безопасность препарата, но при этом также получены противоре-

чивые результаты по его эффективности, что делает наше исследование по-прежнему актуальным.

Материалы и методы

Мы провели проспективное одноцентровое открытое рандомизированное контролируемое клиническое исследование безопасности и эффективности Г-КСФ при остром ишемическом инсульте. Протокол одобрен Комитетом по этике при федеральном органе контроля качества лекарственных средств (Протокол №85 от 27 февраля 2007), имеет разрешение Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (Разрешение №209 от 21 мая 2007) и соответствует Хельсинской декларации и Национальному стандарту Российской Федерации «Надлежащая клиническая практика» (ГОСТ Р 52379-2005). Исследование зарегистрировано в базе клинических исследований www.clinicaltrials.gov под номером NCT00901381.

Пациенты

Больные в возрасте от 40 до 70 лет с односторонним ишемическим инсультом в каротидном бассейне (до 48 часов от начала), нарушением сознания (шкала комы Глазго [ШКГ] менее 15, но более 8 баллов) и гемипарезом (движения в руке и ноге не более 4 баллов по шкале Medical Research Council [MRC]) включались в исследование при поступлении в Городскую клиническую больницу №40. Основными критериями исключения были: преморбидная зависимость от посторонней помощи (балл по модифицированной шкале Рэнкина больше нуля), геморрагический инсульт, коагулопатия, онкологические заболевания и беременность. До рандомизации пациент или его законные представители подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

Рандомизация

Для проведения рандомизации было подготовлено 20 конвертов, внутри каждого из которых находился один лист с указанием группы: экспериментальной или контрольной. После получения письменного согласия от больного врач вытягивал и открывал один из конвертов.

Маскировка

Врач, оценивающий неврологический статус и функциональный исход, и пациенты знали о результатах рандомизации. Только врач-рентгенолог (И.Т.М.), оценивающий результаты магниторезонансной томографии (МРТ), не знал о распределении больных по группам.

Терапия

Мы использовали получаемый методами генной инженерии рекомбинантный человеческий Г-КСФ Лейкостим* (ЗАО «Биокад», Россия), который по физико-химическим характеристикам и специфической биологической активности является аналогом широко используемого препарата Ней-

поген[®] («Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд», Швейцария; международное непатентованное название: Filgrastim).

Согласно рандомизации, пациенты группы Г-КСФ в дополнение к общепринятому лечению инсульта получали рекомбинантный человеческий Г-КСФ подкожно в дозе 10 мкг/кг один раз в сутки (утром) в течение пяти дней. Курс инъекций прекращался досрочно в случае: (1) лейкоцитоза свыше 50×10^9 клеток/л; (2) геморрагической трансформации инфаркта; (3) серьезных побочных реакций. Вторая группа пациентов получала только общепринятое лечение инсульта, которое проводилось в объеме приказа Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации №513 от 01 августа 2007 года.

Цель и гипотеза

Цель исследования: сравнить безопасность и эффективность Г-КСФ (Лейкостим[®]) в сочетании с общепринятым медикаментозным лечением с безопасностью и эффективностью общепринятого медикаментозного лечения при остром ишемическом инсульте.

До начала исследования мы предположили, что применение Г-КСФ при остром ишемическом инсульте: (1) уменьшит зависимость пациентов от посторонней помощи, (2) уменьшит объем инфаркта мозга, (3) будет безопасным.

Клиническая оценка

Эффективность лечения оценивалась, прежде всего, по степени зависимости от посторонней помощи на сто восьмидесятый день от заболевания по модифицированной шкале Рэнкина. При неврологическом осмотре подсчитывались баллы шкалы MRC для конечностей на стороне гемипареза, шкалы инсульта Национального института здоровья (NIHSS), индекса Бартела (ИБ) и шкалы исходов Глазго (ШИГ) на 0, 1, 3, 5, 7, 14, 30, 90 и 180-й день от включения пациента в исследование. Сознание оценивалось по ШКГ на 0, 1, 3, 5, 7 и 14-й день.

Безопасность оценивалась по летальности, частоте геморрагической трансформации и серьезных побочных эффектов. Регистрировалась информация о наличии боли в мышцах, суставах или костях, повышении температуры тела, болезненности на месте инъекции, тромбоцитопении, увеличении селезенки, наджелудочковой тахикардии, васкулита, диффузных отеков, одышки, перикардального выпота, тошноты и рвоты.

Определение объема инфаркта мозга

MPT (0, 1, 3, 14, 90 и 180-й день) проводилась на томографе Magnetom Symphony 1.5 T (Siemens, Германия) с использованием последовательностей: T1W-взвешенных изображений в сагиттальной плоскости, PDW-, T2W-взвешенных, FLAIR изображений в аксиальной плоскости. Для оценки объема инфаркта мозга использовалась последовательность FLAIR в

аксиальной плоскости (TR 9000, TE 115, FOV 230, matrix 224×256, толщина среза 6 мм), с последующей математической обработкой. В спорных случаях для выявления острой стадии инсультов на фоне множественно очаговой энцефалопатии, использовали DWI-изображения, карты диффузии. Выраженность валлеровской дегенерации оценивалась в баллах: 0 – нет; 1 – на ограниченном участке ствола мозга около зоны инсульта; 2 – средней распространенности; 3 – весь ствол мозга.

Лабораторное обследование

Общий анализ крови (0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 14, 30, 90 и 180-й день) проводился с помощью стандартного гематологического анализатора.

Определение количества CD34-позитивных клеток в периферической крови (0, 1, 3, 5, 7-й день) производилось методом двухцветной проточной цитометрии на приборах “FACS Canto” и “FACS Canto II” (Becton & Dickinson, США [BD]). Использовались моноклональные антитела (MoAb) к антигенам CD45 (2D1, BD) и CD34 (8G12, BD), меченые флюоресцеинизотиоцианатом (FITC) и R-фикоэритрином (PE) соответственно. Окрашивание MoAb осуществлялось согласно инструкции производителя. После инкубации суспензии клеток с MoAb взвесь обрабатывалась лизирующим раствором («FACS Lysing solution» BD), а затем отмывалась фосфатно-солевым буфером (PBS), («Cell Wash», BD). Ресуспендированные в 1 мл PBS клетки анализировались на проточном цитометре не позднее, чем через два часа после окрашивания. Настройка проточных цитометров и мониторинг стабильности работы приборов осуществлялись при помощи калибровочной системы “7-color Setup Beads” (BD). В каждом образце анализировалось не менее 150000 CD45-позитивных клеток. Результаты иммунофенотипирования оценивались в соответствии с международными рекомендациями [13] при помощи программного обеспечения FACS Diva 4.0-6.1 (BD). Результат рассчитывался в виде процентного содержания CD34-позитивных клеток от общего числа лейкоцитов (CD45-позитивных клеток).

Биохимические показатели: билирубин, аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартаминотрансфераза (АСТ), гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ), креатинин, мочевина, мочевая кислота, общий белок, альбумин, глюкоза, холестерин, триглицериды, кальций, калий, натрий, хлор – исследовались (0, 3, 5, 7, 14 и 180-й день) на стандартном биохимическом анализаторе.

Свертывание крови (0, 1, 3, 5, 7, 14 и 90-й день) оценивалось методом тромбозластографии на аппарате ROTEM Gamma (Pentapharm, Германия).

Статистические методы

Для статистического анализа данных использовалась программа SPSS (for Windows[®], version 16; SPSS Inc.). Исследуемые признаки не подчиня-

лись нормальному распределению, кроме того, группы пациентов были малочисленны, поэтому применялись точные непараметрические критерии. Количественные данные представлены в виде медианы и, в скобках, межквартильного интервала (МКИ). Качественные признаки описывались простым указанием количества и доли (в процентах) для каждой категории. Сравнительный анализ количественных признаков между группами проводился с помощью критерия Манна-Уитни, для качественных признаков использовался критерий Фишера. Для всех сравнений ошибка первого рода устанавливалась равной 0.05. Нулевая гипотеза об отсутствии различий между группами отвергалась, если вероятность ошибки (α) отклонить эту нулевую гипотезу не превышала 0.05.

Результаты

С июня 2007 по август 2008 года в исследование было включено 20 пациентов (см. рисунок). Шесть пациентов получили полный курс Г-КСФ. Четверо больных получили неполный курс (у трёх выявлен гиперлейкоцитоз и у одного – геморрагическая трансформация инфаркта). Четыре пациента выбыли из исследования на этапе наблюдения (не ранее 14 дней от начала заболевания): три из контрольной и один из экспериментальной группы. Данные всех пациентов включены в анализ безопасности лечения, однако в анализ эффективности лечения включены только те пациенты, которые наблюдались до окончания исследования (180 дней).

Клинические данные

Исходные данные о пациентах представлены в Таблице 1. Неврологический дефицит (ШКГich, MRC, NIHSS), инвалидность (ИБ, ШИГ) и зависимость от посторонней помощи (mRS) между группами не различались (Табл. 2).

Лабораторные данные

Г-КСФ увеличивал количество CD34+ клеток в периферической крови с максимальным подъемом на пятый день от начала терапии (Таблица 3). В экспериментальной группе регистрировался лейкоцитоз, который был вызван преимущественно увеличением количества нейтрофилов (данные не приведены). При терапии Г-КСФ количество эритроцитов не изменялось. Мы выявили снижение тромбоцитов в экспериментальной группе на седьмой день, но оно не сопровождалось нарушением свертываемости, как по данным коагулограммы, так и клинически.

На фоне терапии Г-КСФ уровень билирубина на 3, 5, 7-й день и уровень ГГТ на третий день были ниже, чем в контрольной группе (Таблица 4). По другим показателям биохимического состава крови группы не различались.

Таблица 1
Исходные характеристики пациентов

Признак	Г-КСФ n=10	Контроль n=10	p
Мужской пол	8 (80%)	7 (70%)	1.000
Возраст	50 (46–57)	54 (45–57)	0.643
Левосторонний инсульт	7 (70%)	7 (70%)	1.000
Шкала ком Глазго	14 (13–14)	14 (13–14)	0.759
NIHSS	14 (12–19)	13 (8–15)	0.223
MRC для руки	0 (0–0)	1 (0–2)	0.034
MRC для ноги	1 (0–3)	3 (1–3)	0.193
Индекс Бартеля	5 (0–14)	13 (0–29)	0.272
mRS	5 (4–5)	4 (4–5)	0.465
Шкала исходов Глазго	5 (5–5)	5 (5–6)	0.458

NIHSS – шкала инсульта Национального института здоровья; MRC – шкала Medical Research Council; mRS – модифицированная шкала Рэнкина.

Таблица 2
Данные об эффективности и безопасности препарата

Признак	Г-КСФ	Контроль	p
Эффективность			
mRS	2 (1–3)	2 (2–3)	0.889
mRS ≥ 2	5 (50%)	5 (50%)	1.000
Шкала ком Глазго	15 (14–15)	15 (15–15)	0.642
NIHSS	4 (1–7)	2 (2–5)	0.425
MRC для руки	3 (3–5)	4 (3–4)	0.457
MRC для ноги	4 (4–5)	4 (4–5)	1.000
Индекс Бартеля	90 (85–98)	100 (85–100)	0.233
Шкала исходов Глазго	7 (7–8)	7 (7–7)	0.890
Безопасность			
Летальность	1 (10%)	1 (10%)	1.000
ГТ	1 (10%)	1 (10%)	1.000
Лейкоцитоз $> 50 \times 10^9$ клеток/л	3 (30%)	0 (0%)	0.105
Другие СПЭ	0 (0%)	0 (0%)	1.000

NIHSS – шкала инсульта Национального института здоровья; MRC – шкала Medical Research Council scale; mRS – модифицированная шкала Рэнкина; ГТ – геморрагическая трансформация; СПЭ – серьезные побочные эффекты.

Таблица 3
Картина периферической крови

Параметр	Группа	День 0	День 1	День 3	День 5	День 7	День 14
CD34+	Г-КСФ	0.02 (0.01–0.03)	0.01 (0.00–0.02)	0.05 (0.02–0.08)	0.09 (0.04–0.15)*	0.04 (0.01–0.14)	Н/А
	Контроль	0.02 (0.01–0.02)	0.01 (0.01–0.02)	0.02 (0.01–0.04)	0.02 (0.01–0.04)	0.03 (0.01–0.03)	Н/А
WBC	Г-КСФ	8.6 (6.8–10.3)	25.2 (16.8–38.8)*	39.4 (35.8–42.3)*	31.7 (18.4–36.6)*	15.9 (14.1–24.9)*	6.5 (5.5–7.2)
	Контроль	8.0 (6.8–10.6)	7.9 (7.3–9.2)	8.2 (5.7–9.5)	6.7 (5.8–9.1)	6.9 (5.7–8.2)	7.2 (6.2–8.0)
RBC	Г-КСФ	4.46 (4.06–5.15)	4.30 (4.04–4.97)	4.62 (3.78–5.14)	4.67 (4.24–5.30)	4.63 (4.24–4.98)	4.28 (3.88–4.70)
	Контроль	4.51 (4.09–4.96)	4.48 (4.29–4.88)	4.42 (4.01–4.88)	4.14 (4.00–4.59)	4.45 (4.25–4.63)	4.29 (4.11–4.96)
PLT	Г-КСФ	141 (123–149)	142 (118–146)	135 (105–148)	140 (105–156)	144 (114–153)*	129 (111–143)
	Контроль	151 (117–156)	147 (140–153)	151 (121–156)	132 (110–146)	143 (124–151)	138 (127–161)

* статистически значимое различие между группами ($p < 0.05$)

WBC – количество лейкоцитов (в 10⁹ клеток/л); RBC – количество эритроцитов (в 10¹² клеток/л); PLT – количество тромбоцитов (в 10⁹ клеток/л); Н/А – не анализировались.

Таблица 4
Биохимия крови (отдельные параметры)

Параметр	Группа	День 0	День 3	День 5	День 7	День 14	День 180
Об, моль/л	Г-КСФ	10.8 (9.1–11.6)	6.9 (6.3–10.6)*	7.7 (6.4–9.5)*	6.9 (5.5–9.7)*	8.8 (7.2–14.6)	10.5 (7.5–15.6)
	Контроль	11.2 (9.7–27.8)	13.5 (11.6–32.5)	11.6 (9.0–17.2)	11.1 (9.3–14.1)	9.4 (8.8–11.6)	10.1 (7.5–12.0)
ГТТ, Ед/л	Г-КСФ	43.2 (28.9–71.2)	42.5 (26.6–53.0)*	64.0 (46.1–115.3)	54.8 (48.7–119.5)	38.1 (31.3–81.0)	19.1 (15.0–70.6)

Параметр	Группа	День 0	День 3	День 5	День 7	День 14	День 180
	Контроль	77.2 (34.4– 127.5)	72.0 (52.7– 90.0)	66.8 (54.3– 90.6)	63.6 (33.8– 106.4)	55.0 (36.5– 93.2)	17.5 (11.6– 38.0)
АЛТ, Ед/л	Г-КСФ	31.4 (13.5– 65.8)	26.5 (17.0– 51.0)	55.8 (26.9– 73.5)	63.8 (35.8– 79.1)	36.6 (24.7– 59.4)	26.4 (14.3– 51.9)
	Контроль	25.6 (20.7– 30.0)	36.6 (23.0– 77.0)	41.0 (32.6– 103.0)	59.0 (30.5– 90.0)	46.4 (26.0– 60.1)	19.2 (11.7– 30.0)
АСТ, Ед/л	Г-КСФ	31.0 (18.0– 66.6)	28.3 (25.7– 49.7)	52.0 (36.0– 59.0)	50.6 (39.2– 59.5)	37.3 (21.6– 39.9)	25.8 (20.2– 42.8)
	Контроль	29.9 (26.8– 47.2)	43.0 (32.2– 58.0)	51.8 (33.9– 69.1)	40.1 (39.0– 50.3)	34.0 (30.1– 44.6)	25.8 (20.4– 34.4)

* статистически значимое различие между группами ($p < 0.05$)

ОБ – общий билирубин; Ед./л – единиц на литр; ГГТ – гамма-глутамилтрансфераза; АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартаминотрансфераза.

Объем инфаркта

По объему инфаркта мозга группы достоверно не различались (Таблица 5). С третьего дня инсульта наблюдалось парадоксальное, но статистически недостоверное увеличение относительного (в процентах от исходного уровня) размера зоны инфаркта в группе Г-КСФ. Выраженность валлеровской дегенерации по данным МРТ на сто восьмидесятый день была приблизительно равной: 0 (0–3) в группе G-CSF и 0 (0–0.5) в группе контроля, что статистически недостоверно ($p = 0.574$).

Таблица 5
Объем инфаркта мозга

День	Абсолютные значения, мм ³			Относительные значения, %		
	Г-КСФ	Контроль	p	Г-КСФ	Контроль	p
0	69.5 (13.0– 138.8)	51.4 (14.5– 109.2)	0.780	100	100	Н/А
1	115.6 (66.1–165.8)	49.4 (33.8– 157.0)	0.573	133.0 (110.8– 315.0)	134.5 (116.0– 150.3)	0.915
3	97.0 (58.7– 246.1)	56.2 (35.5– 133.9)	0.278	181.5 (95.8–392.3)	120.0 (101.0– 156.0)	0.530
14	85.5 (44.4– 219.2)	35.4 (24.3– 101.5)	0.211	184.0 (81.3–323.0)	86.0 (79.8–118.0)	0.315

День	Абсолютные значения, мм ³			Относительные значения, %		
	Г-КСФ	Контроль	p	Г-КСФ	Контроль	p
90	100.7 (30.9– 183.4)	60.9 (20.8– 136.6)	0.408	198.0 (75.0–416.5)	88.0 (76.0–104.0)	0.392
180	86.4 (31.6– 145.8)	72.2 (14.4– 142.5)	0.694	180.5 (80.0–510.0)	66.0 (66.0–109.0)	0.279

Н/А – не анализировалось.

Побочные действия и осложнения.

Летальность, частота геморрагической трансформации и побочных эффектов в группах были сопоставимы (Табл. 2). В контрольной группе единственный летальный исход на восьмой день от рандомизации был связан с прогрессированием ишемии. В экспериментальной группе единственный летальный исход наступил после выписки из стационара и не был связан с проведенной терапией (на двадцать восьмой день, причина смерти – острая сердечная недостаточность).

Случаев боли в мышцах, суставах или костях, повышения температуры тела, болезненности в месте инъекции, увеличения селезенки, наджелудочковой тахикардии, васкулита, диффузных отеков, одышки, перикардialного выпота, тошноты и рвоты, связанных с курсом терапии Г-КСФ, не зарегистрировано.

Обсуждение

Между группами не было найдено различий по функциональному исходу и объему инфаркта, или исследование оказалось недостаточно мощным, чтобы их выявить. Тем не менее, мы подтвердили, что при остром ишемическом инсульте Г-КСФ в исследованной дозе безопасен и способен мобилизовать CD34+ стволовые клетки из костного мозга в кровотоки. Наши результаты согласуются с данными других авторов [10, 11, 12], которые также подтвердили безопасность Г-КСФ, но два исследования из трех не доказали эффективность препарата.

Как можно объяснить отсутствие эффективности Г-КСФ в остром периоде инсульта? Возможно, требуются более высокие дозы препарата. В исследовании W.R. Schäbitz et al. [10] в одной из подгрупп применялась суммарная доза 180 мкг/кг, введенная в течение трех дней, но преимуществ перед плацебо получено не было (неопубликованные данные). В своем новом исследовании AXIS-2 (NCT00927836) они планируют оценить эффективность суммарной дозы в 135 мкг/кг, которая будет введена в течение трех дней. Поэтому говорить о неэффективности более высоких доз Г-КСФ преждевременно. Вторая причина неэффективности Г-КСФ в нашем исследовании может быть связана с однократным введением препарата. Показано,

что двукратная стимуляция предпочтительнее однократной стимуляции в одинаковых суммарных дозах [14]. Третья причина, возможно, заключается в относительно позднем введении Г-КСФ. И, в-четвертых, вероятно, требуется подбор больных, у которых данное лечение будет эффективным. Так, например, в исследовании AXIS-2 планируется включать больных только с объемом инфаркта не менее 15 см³.

Неожиданным оказался тот факт, что в группе Г-КСФ билирубин и ГГТ были ниже, чем в контрольной, так как ГГТ повышается при ишемическом инсульте [3], а уровень билирубина снижается только к 10-м суткам заболевания [15]. Также известно, что Г-КСФ может повышать уровень печеночных ферментов у здоровых доноров [8], но нет информации о влиянии препарата на уровень билирубина и ГГТ.

Как можно объяснить наши данные? Во-первых, причиной может быть артефакт. Относительно ГГТ можно предположить случайность полученных данных, поскольку различие по этому показателю между группами выявлено однократно, но в случае с билирубином присутствует явная закономерность, поскольку различие по билирубинемии выявлено на трех этапах. Во-вторых, возможно, Г-КСФ снижает токсическое влияние на печень других препаратов. Но в таком случае в контрольной группе должно было наблюдаться повышение уровня АЛТ и АСТ. В-третьих, мы не исключаем, что выявили некий биохимический след протективного действия Г-КСФ. В одном из современных исследований освещается связь билирубина с оксидантным стрессом [16]. На его основании можно предположить существование зависимости между протективным действием Г-КСФ и уровнем билирубина как компонента церебральной защиты и/или маркера не только печеночного повреждения. ГГТ, как и билирубин, может быть маркером не только печеночного повреждения, но и церебрального [17]. Возможно, Г-КСФ снижает степень церебрального повреждения и/или системную реакцию на это повреждение, что проявляется меньшей реакцией таких маркеров, как билирубин и ГГТ.

Сегодня мы не можем объяснить тенденцию к увеличению относительного размера зоны инфаркта с третьего дня инсульта в группе Г-КСФ. Наше наблюдение статистически недостоверно, но мы акцентируем на нём внимание для уточнения этого факта в будущих исследованиях.

Результаты нашего исследования подтвердили, что Г-КСФ в стандартной гематологической дозе мобилизует стволовые клетки из костного мозга в периферическую кровь у пациентов с острым ишемическим инсультом. Г-КСФ хорошо переносится и безопасен, но его эффективность остается недоказанной. Требуется дальнейшее изучение терапии более высокими дозами этого препарата.

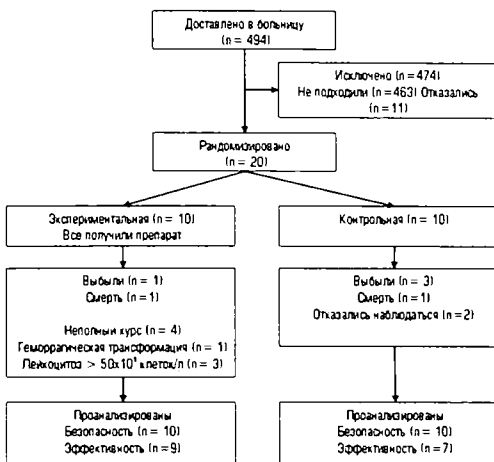


Рисунок. Дизайн исследования

Литература

1. Donnan G.A., Fisher M., Macleod M., Davis S.M. Stroke // Lancet. 2008. № 371. P. 1612-1623.
2. Borlongan C.V., Hess D.C. New hope for stroke patients: mobilization of endogenous stem cells // Can. Med. Assoc. J. 2006. № 174. P. 954-955.
3. Solaroglu I., Cahill J., Jadhav V., Zhang J.H. A novel neuroprotectant granulocyte-stimulating factor // Stroke. 2006. № 37. P. 1123-1128.
4. Grigg A.P., Roberts A.W., Raunow H. et al. Optimizing dose and scheduling of filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) for mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells in normal volunteers // Blood. 1995. № 86. P. 4437-4445.
5. Shyu W., Lee Y., Liu D.D. et al. Homing genes, cell therapy and stroke // Frontiers in bioscience. 2006. № 11. P. 899-907.
6. England T.J., Gibson C.L., Bath P.M. Granulocyte-colony stimulating factor in experimental stroke and its effects on infarct size and functional outcome: a systematic review // Brain Res Rev. 2009. № 62. P.71-82.
7. Paczkowska E., Larysz B., Rzeuski R. et al. Human hematopoietic stem/progenitor-enriched CD34(+) cells are mobilized into peripheral blood during stress related to ischemic stroke or acute myocardial infarction. // Eur. J. Haematol. 2005. № 75. P.461-467.
8. D'Souza A., Jaiyesimi I., Trainor L., Venuturumili P. Granulocyte colony-stimulating factor administration: adverse events. // Transfus. Med. Rev. 2008. № 22. P.280-290.
9. Zohlnhöfer D., Dibra A., Koppa T. et al. Stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor for myocardial recovery after acute myocardial infarction: a meta-analysis. // J. Am. Coll. Cardiol. 2008. № 51. P.1429-1437.
10. Schäbitz W.R., Laage R., Vogt G., et al. AXIS. A Trial of Intravenous Granulocyte Colony-Stimulating Factor in Acute Ischemic Stroke // Stroke. 2010. №11. P.2545-2551.
11. Shyu W.C., Lin S.Z., Lee C.C. et al. Granulocyte colony-stimulating factor for acute ischemic stroke: a randomized controlled trial // Can. Med. Assoc. J. 2006. № 174. P. 927-933.

-
12. Sprigg N., Bath P.M., Zhao L. et al. Granulocyte-colony-stimulating factor mobilizes bone marrow stem cells in patients with subacute ischemic stroke: the Stem cell Trial of recovery EnhanceMent after Stroke (STEMS) pilot randomized, controlled trial (ISRCTN 16784092). // *Stroke* 2006. № 37. P.2979-2983.
 13. Gratama J.W., Sutherland D.R., Keeney M., Papa S. Flow cytometric enumeration and immunophenotyping of hematopoietic stem and progenitor cells // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*. 2001. № 15. P. 14-22.
 14. Kröger N., Renges H., Krüger W. et al. A randomized comparison of once versus twice daily recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (filgrastim) for stem cell mobilization in healthy donors for allogeneic transplantation. // *Br. J. Haematol.* 2000. № 111. P.761-765.
 15. Kurzepa J., Bielewicz J., Stelmasiak Z., Bartosik-Psujek H. Serum bilirubin and uric acid levels as the bad prognostic factors in the ischemic stroke. // *Int. J. Neurosci.* 2009. № 119. P.2243-2249.
 16. Pineda S., Bang O.Y., Saver J.L. et al. Association of serum bilirubin with ischemic stroke outcomes. // *J. Stroke Cerebrovasc Dis.* 2008. № 17. P.147-152.
 17. D'Erasmio E., Acca M., Medici F., Pisani D. Clinical aspects of early increase in serum gamma-glutamyl transferase in cerebral infarction. // *Biomed. Pharmacother.* 1993. № 47. P.89-92.