

LUCES Y SOMBRAS DE LA NEUROPROTECCIÓN EN LA ISQUEMIA CEREBRAL

Por *JOSE CASTILLO**

RESUMEN

La neuroprotección farmacológica intenta interferir en las múltiples alteraciones bioquímicas secundarias a la isquemia, con objeto de limitar la lesión cerebral. La disminución del flujo sanguíneo cerebral (FSC) por debajo de 10 mL/ 100g/ min produce una rápida muerte celular; sin embargo, entre este núcleo intensamente isquémico y el parénquima cerebral normalmente perfundido, existe una zona denominada "penumbra isquémica", que es el objetivo del tratamiento neuroprotector. Los procesos bioquímicos asociados a la isquemia cerebral afectan a las neuronas: neuroexcitotoxicidad calcio-dependiente, radicales libres y apoptosis; a la glía: edema astrocítico, disminución de la recaptación de aminoácidos neuroexcitadores y regulación de factores de crecimiento; y a la microcirculación: inflamación, metaloproteasas y endotelinas. Muchos de estos procesos bioquímicos condicionan el deterioro neurológico y el infarto progresivo, con una mayor morbimortalidad. La neuroprotección ha demostrado su eficacia en modelos animales, pero en clínica humana los resultados han sido más modestos. Solamente la citicolina ha demostrado un discreto beneficio en ictus isquémicos tratados en las 6 primeras horas en pacientes con afectación moderada. Se revisan las claves para una utilización más racional de los fármacos neuroprotectores, así como el margen terapéutico de los mismos.

SUMMARY

Pharmacological neuroprotection attempts to interfere with the multiple secondary biochemical changes to the ischemia, with the objective of limiting the cerebral lesion. The reduction in cerebral blood flow (FSC) below 10 mL/ 100g/

* Servicio de Neurología, HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España.

min produces rapid cellular death; however, between this intensely ischemic nucleus and the normally perfused cerebral parenchyma, there is an area called the "ischemic penumbra", which is the target of neuroprotector treatment. The biochemical processes associated with cerebral ischemia affect the neurons: calcium-dependent, free radicals and apoptosis; to the glia: astrocytic edema, reduction in the recapture of neuroexcitatory amino acids and regulation of growth factors; and to the microcirculation: inflammation, metalloproteases and endothelins. Many of these biochemical processes condition neurological deterioration and progressive infarction, with a greater morbimortality. Neuroprotection has shown its efficacy in animal models, but in human clinical studies results have been more modest. Only citicoline has demonstrated reasonable benefits in ischemic stroke treated during the first 6 hours in patients that are moderately affected. The key issues for a more rational utilization of neuroprotector drugs are reviewed, as are their therapeutic margins.

PALABRAS-CLAVE: Isquemia cerebral aguda, neuroprotección.

KEY WORDS : Acute Brain Ischemia. Neuroprotection.

El objetivo del tratamiento agudo del ictus isquémico consiste en la restauración de la perfusión cerebral, en la prevención del desarrollo de complicaciones y en la limitación de la lesión cerebral originada por la isquemia (Brott y Bogousllavsky, 2000). Dada la extraordinaria rapidez con la que se produce la necrosis celular en algunas zonas afectadas, las intervenciones terapéuticas van dirigidas a la denominada "penumbra", una zona de isquemia cerebral incompleta, en la cual las neuronas están funcionalmente inactivas, pero todavía son viables (Astrup *et al*, 1981). La penumbra es una zona tiempo-dependiente, en la que, en el curso de minutos, horas o días, el parénquima cerebral se va destruyendo progresivamente, como consecuen-

cia de una compleja sucesión de alteraciones bioquímicas. Esta destrucción progresiva es uno de los mecanismos responsables del deterioro neurológico que experimentan una tercera parte de los pacientes con ictus isquémico durante las primeras 48 horas (Castillo, 1999 b; Castillo y Leira, 2001).

En diversos modelos experimentales de ictus, algunas medidas terapéuticas no farmacológicas (Auer, 2001) y una gran cantidad de drogas han demostrado interferir en las alteraciones bioquímicas secundarias a la isquemia y limitar la lesión cerebral (Albers *et al*, 2000); sin embargo, pocas de estas medidas farmacológicas han demostrado efecto neuroprotector en clínica humana (De Keyser *et al*, 1999).

A pesar de estos resultados, existe un progresivo convencimiento en el hallazgo de un neuroprotector claramente eficaz para el tratamiento del ictus isquémico: el conocimiento de los mecanismos básicos que conducen a la muerte neuronal es cada vez más exhaustivo, la identificación precoz de los diferentes tipos de isquemia es posible y la apuesta de la industria es abrumadora. El coste necesario para completar el desarrollo de un nuevo neuroprotector se estima en 30-40 millones de dólares USA (Giroux y Scatton, 1996) y, a pesar de ello, el 64% de los ensayos clínicos en fase III realizados para el tratamiento del ictus corresponden a un neuroprotector; estas cifras tienden a aumentar en número y pacientes incluidos, en la calidad del diseño y en la reducción de retraso en la inclusión (Kidwell *et al*, 2001). Todo ello justifica el optimismo y la esperanza de la neuroprotección en el tratamiento del ictus isquémico.

CITOTOXICIDAD EN LA ISQUEMIA CEREBRAL

La obstrucción de una arteria origina un gradiente de presiones en el parénquima afecto. La disminución del flujo sanguíneo cerebral (FSC) en una determinada zona del parénquima cerebral por debajo de 10 mL/100 g/min produce una rápida muerte celular (Pulsinelli, 1992). Sin embargo, entre este núcleo intensamente isquémico y el parénquima cerebral normalmente perfundido (FSC > 50 mL/100 g/min),

existe una zona moderadamente hipoperfundida, cuya extensión depende del mejor o peor funcionamiento de la circulación colateral (Heiss y Graf, 1994; Castillo, 2000). Recientes estudios de tomografía por emisión de positrones (PET) han logrado diferenciar en la zona hipoperfundida dos regiones con pronóstico claramente diferenciado: una ligeramente hipoperfundida (FSC > 22 mL/100 g/min) en la que el riesgo de convertirse en infarto sólo sucede en circunstancias especialmente adversas (zona oligohémica), y otra, denominada de penumbra isquémica, con una perfusión cerebral críticamente disminuida (FSC < 22 mL/100 g/min), pero en la que el consumo de oxígeno es todavía suficiente para preservar la supervivencia tisular (perfusión de miseria) (Fig. 1). La mayor parte de esta zona de penumbra en la fase aguda del ictus isquémico progresará a infarto cerebral si no es adecuadamente controlada (Baron, 2001; Heiss *et al*, 2001).

En esta zona de penumbra, el aporte de oxígeno es insuficiente para mantener un adecuado metabolismo oxidativo de la glucosa, lo que origina la producción de acidosis láctica y la consiguiente disminución de ATP, que es la fuente energética necesaria para mantener en correcto funcionamiento las bombas iónicas de las membranas celulares (Castillo, 1999 c). El ácido láctico formado depende de la cantidad de depósitos tisulares de glucosa y

glucógeno en el momento de instaurarse la isquemia. La persistencia de hiperglucemia después del desarrollo del fallo bioenergético origina una excesiva acidosis (Forbergrová *et al.*, 1992).

A partir de aquí, los procesos bioquímicos conducentes a la destrucción del parénquima cerebral serán diferentes a nivel de las neuronas, de la glia o del componente vascular, por lo que será necesario discutirlos separadamente (Fig. 2).

LA CASCADA ISQUÉMICA NEURONAL

El fallo de las bombas de Na^+ y de K^+ origina una rápida deplección del K^+ intracelular, con la consiguiente despolarización neuronal. Este hecho condiciona la apertura de los canales de Ca^{2+} voltaje-dependientes y el desbloqueo de algunos canales de Ca^{2+} receptores-dependientes (por medio de la extrusión del Mg^{2+}). Estos mecanismos ocasionan un incremento de la concentración del calcio iónico intracelular ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) de, aproximadamente, el doble de su valor inicial, concentración que no es capaz de iniciar el proceso de la muerte neuronal, pero sí de originar una brusca despolarización de la membrana (Pulsinelli, 1992; Heiss y Graf, 1994; Choi, 1988; Ginsberg, 1997).

La intensa despolarización de la membrana neuronal condiciona el au-

mento de la liberación de cantidades excesivas de glutamato y de otros aminoácidos excitadores (Choi, 1988; Ginsberg, 1997; Choi y Rothman, 1990). El glutamato estimula receptores de membrana ionotrópicos, fundamentalmente el AMPA y el NMDA, y receptores metabotrópicos. La estimulación del receptor AMPA consigue una mayor despolarización de la membrana al aumentar la $[\text{Na}^+]_i$, incrementando la liberación de más glutamato, ocasionando edema celular y abriendo nuevos canales no específicos voltaje-dependientes permeables al Ca^{2+} . Además, la activación del receptor AMPA contribuye a sensibilizar a más receptores NMDA, ya que facilita la extrusión de más moléculas de Mg^{2+} (Choi, 1988).

La estimulación de los receptores NMDA es responsable del notable aumento de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ y de la puesta en marcha de la cascada isquémica Ca^{2+} -dependiente, que originará la muerte celular. La activación de los receptores metabotrópicos producirá un mayor incremento de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ por la liberación de depósitos intracelulares de Ca^{2+} (Choi, 1988).

El aumento de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ es un factor clave en los procesos que conducen al daño neuronal irreversible. La elevación de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ activa una serie de enzimas -proteínquinazas, proteasas, endonucleasas, proteínfosfatasa y sintasa del óxido nítrico (NOS)- y condiciona la expresión de varios genes de respuesta inmediata (Castillo, 1999 c).

En la isquemia cerebral, la formación de radicales libres de oxígeno (RLO) puede exceder la capacidad antioxidante de las neuronas, ocasionando alteraciones de algunos constituyentes celulares, como proteínas, ácidos nucleicos y lípidos. Los RLO responsables del estrés oxidativo en las neuronas son el anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo ($\cdot OH$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el óxido nítrico (NO) y el peroxinitrito ($ONOO$) (Dawson y Dawson, 1996).

El O_2^- se genera a través de múltiples vías metabólicas y es el RLO que inicia la cascada del estrés oxidativo en la isquemia cerebral. La activación del receptor NMDA estimula la fosfolipasa A_2 , con la consiguiente liberación de ácido araquidónico, prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos. El O_2^- es formado durante el metabolismo del ácido araquidónico y estimula nuevamente la fosfolipasa A_2 , constituyendo un *feedback* positivo. El O_2^- también resulta de la conversión de la xantina-deshidrogenasa en xantina-oxidasa, reacción igualmente estimulada por el incremento de la $[Ca^{2+}]_i$. El O_2^- actúa en el interior de la neurona donde se produce, ya que es incapaz de atravesar la membrana neuronal. Sin embargo, mediante la acción de la superóxido dismutasa, el O_2^- se transforma en H_2O_2 , que es fácilmente difusible en la célula donde se origina y en las

neuronas situadas en la proximidad (Siesjö, 1994).

El NO es un gas inorgánico, permeable, difusible, con gran capacidad reactiva y constituye el primero de una nueva clase de sustancias moduladoras (Moncada y Higgs, 1993). El NO es sintetizado a partir del aminoácido L-arginina por medio de la acción de la enzima sintasa del óxido nítrico (NOS). En situaciones fisiológicas, el NO actúa como un mensajero neuronal. Sin embargo, en algunas situaciones patológicas, como la isquemia, se origina una elevada producción de NO , que se ha puesto en relación con mecanismos antagónicos de neurotoxicidad y de neuroprotección. La acción diferente del incremento del NO depende del tipo de NOS que intervenga. En la actualidad se conocen tres isoformas de la NOS: la neuronal (nNOS), la endotelial (eNOS) y una forma inmunológicamente inducida (iNOS). El aumento de la producción de NO mediado por la acción de la nNOS origina una lesión neuronal inmediata, y el iNOS contribuye al daño neuronal retardado; sin embargo, la producción de NO mediada por la eNOS actúa como neuroprotector, induciendo la relajación de la fibra muscular lisa y el mantenimiento del FSC regional (Sandami *et al*, 1997).

La toxicidad NMDA en gran parte está mediada por la formación del NO

(Castillo et al, 2000 a; Armengou *et al.* en prensa). En situaciones de isquemia, la activación de los receptores NMDA y la entrada de Ca^{2+} estimula la nNOS y se produce aumento de la síntesis de NO?. La estimulación de la nNOS tiene lugar fundamentalmente a través del Ca^{2+} unido a la calmodulina; además, la calcineurina desfosforila la nNOS y la activa para producir mayores cantidades de NO?

La toxicidad del NO? depende de su reacción con el O_2 ?. La formación de NO? en presencia de un exceso de O_2 ? origina el ONOO?, que es el responsable directo de la lisis neuronal al reaccionar con radicales sulfidrilo, grupos tiólicos, proteínas, lípidos y con los ácidos nucleicos (Zhang *et al.* 1994).

Además del glutamato, otros neurotransmisores aparecen en el espacio extracelular durante la isquemia cerebral, principalmente la glicina y el ácido -aminobutírico (GABA). La glicina es un co-activador necesario del receptor NMDA y su excesiva liberación durante la isquemia origina un aumento de la estimulación del receptor y un mayor daño neuronal (Castillo *et al.* 1996).

El GABA ejerce una neurotransmisión inhibitoria. Los niveles de GABA en el cerebro son controlados por la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD), la cual sintetiza el GABA a partir del glutamato, y por la GABA-

transaminasa (GABA-T), que lo degrada. El efecto inhibitorio del GABA lo ejerce principalmente a través de dos receptores, el GABA_A , especialmente significativo en la sustancia gris, y el GABA_B , más activo en la sustancia blanca. El receptor GABA_A es ionotrópico y su estimulación origina la entrada de Cl^- en el interior de la neurona, facilitando su repolarización; el receptor GABA_B es metabotrópico, actuando en conjunción con la proteína G en la producción de un segundo mensajero.

Durante la isquemia cerebral se produce un aumento de la síntesis del GABA, favorecido por el aumento de la concentración del glutamato, por el aumento de la actividad del GAD (que es independiente del ATP y más activa en presencia de acidosis), y por la inhibición de la enzima GABA-T (más activa con pH elevado). Al mismo tiempo, la despolarización de la membrana neuronal originada por la isquemia, conduce a la liberación del GABA en el espacio extracelular, donde llega a alcanzar niveles 250 veces más elevados que en situaciones fisiológicas (Nishikawa *et al.* 1994). La inhibición de la liberación del GABA, durante o después de la isquemia cerebral puede contribuir a una sobre-estimulación de las neuronas vulnerables por el glutamato, facilitando la muerte neuronal (Sternan *et al.* 1989).

La muerte neuronal en la zona de penumbra isquémica también es, en parte, el resultado de un proceso

apoptótico. La lesión del DNA a través de las endonucleasas o de los RLO, inicia un complejo mecanismo autodestructivo en el que se implica una alteración de la expresión génica (Macmanus y Linnik, 1997). Cada vez existen más evidencias que demuestran el papel de las mitocondrias en la inducción de esta muerte neuronal programada (Green y Reed, 1998). Reducciones moderadas del ATP mitocondrial originan la liberación de caspasas, citocromo-c y de un factor de inducción de la apoptosis, que actúan como iniciadores de la muerte neuronal apoptótica (Richer *et al.* 1995; Susin *et al.* 1999).

La apoptosis es un fenómeno relacionado con el de la tolerancia isquémica. Las neuronas no son uniformemente vulnerables a la isquemia. En aquellas neuronas que sobreviven al insulto isquémico inicial, es decir, en las neuronas situadas en la zona de penumbra isquémica, la estimulación del receptor NMDA y el aumento de la $[Ca^{2+}]_i$ inducen a una familia de genes de respuesta inmediata, capaces de sintetizar nuevos mRNA (c-fos, c-jun), que, a su vez, pueden regular la síntesis proteica en otros genes efectores. Esta síntesis proteica (proteínas de estrés, factores de crecimiento neuronal, factor de necrosis tumoral, etc) puede ejercer un papel promotor de la supervivencia y recuperación neuronal, o bien, activar la muerte programada o apoptosis (AN *et al.* 1993; Lindsay *et al.* 1994).

LA GLIA EN LA ISQUEMIA CEREBRAL

Aunque casi toda la atención del proceso isquémico se ha centrado en las neuronas, los astrocitos desempeñan un papel fundamental en el ictus, tanto en el establecimiento de la lesión definitiva, como en la reparación tisular (Ranson y Sontheimer, 1992).

En situaciones fisiológicas los astrocitos desarrollan una actividad fundamental para controlar la acción neurotransmisora del glutamato. La recaptación del glutamato por parte de los astrocitos es realizada por medio de potentes transportadores (principalmente el GLT-1 y el GLAST), que logran concentraciones de glutamato dentro de los astrocitos entre 3000 y 10000 veces superiores que en el espacio extracelular (Nichols y Attwell, 1990). Estos transportadores utilizan el gradiente de membrana de Na^+ para conducir al glutamato al interior del astrocito. Dentro del astrocito, el glutamato es convertido en glutamina a través de la glutamín-sintetasa; la glutamina será reutilizada nuevamente por las neuronas para la síntesis de glutamato y de GABA.

Durante la isquemia cerebral, el edema de los astrocitos es el primer cambio morfológico observado. El edema astrocítico está condicionado por el fallo energético que origina despolarización y la apertura de varios canales iónicos, dependientes o no del

glutamato, con la consiguiente entrada de Na^+ y agua (Schneider *et al.* 1992). El edema astrocítico es uno de los factores responsables de la disminución de la recaptación de glutamato; otros factores implicados son: la disminución de los transportadores GTL-1 y GLAST , el ácido araquidónico, radicales libres, ácido láctico y la presencia de concentraciones elevadas de $\text{NO}^?$

La microglia, en colaboración con los astrocitos, también contribuye al daño tisular isquémico a través de varios mecanismos, como la producción de citocinas, $\text{NO}^?$ y otros radicales libres (Lees, 1993).

Los oligodendrocitos, como el resto de las células de la glia, no contienen sinapsis, por lo que no son especialmente sensibles al daño por mecanismos de excitotoxicidad (Castillo *et al.* 1997 b). Sin embargo, la entrada de Ca^{2+} es una vía común a todas las células del parénquima cerebral afectadas por la isquemia. En la oligodendroglia la disminución energética origina una pérdida de los gradientes iónicos que revierten el funcionamiento de algunas bombas intercambiadoras de Na^+ y Ca^{2+} , con la consiguiente acumulación de ambos iones en el interior de la célula (Stys *et al.* 1992).

Las células gliales que sobreviven al episodio isquémico sufren un proceso de hipertrofia y proliferación, fundamentalmente de astrocitos, conocido con el nombre de gliosis reactiva, que

se ha puesto en relación con mecanismos de neuroprotección y reparación de la lesión isquémica. Los astrocitos constituyen una de las fuentes más importantes de factores de crecimiento, sobre todo del factor de crecimiento neural (NGF), del factor de crecimiento derivado del cerebro (BDNF) y del factor de crecimiento vasculo-endotelial (VEGF). Este último factor es capaz de aumentar la permeabilidad vascular, y todos ellos pueden desempeñar un papel importante en la tolerancia isquémica (Ijichi *et al.* 1995).

ALTERACIONES MICROCIRCULATORIAS EN LA ISQUEMIA CEREBRAL

La isquemia y la reperfusión posterior inducen una respuesta inflamatoria, iniciada en la microcirculación, que coadyuvará a la destrucción celular (Castillo y Leira, 2001). En la periferia de la zona isquémica, principalmente las células endoteliales, pero también las neuronas, astrocitos y microglia, son activadas para iniciar una respuesta inflamatoria por medio de la liberación de citocinas (Degrabba, 1998; Hallenbeck, 1996). Las citocinas son pequeñas glico -proteínas que poseen una gran capacidad de interactuar entre ellas mismas y con muchas estirpes celulares. La interleucina-1 β (IL-1 β) y el factor de necrosis tumoral " (TNF- α) son las dos citocinas que inician la respuesta inflamatoria (Hallenbeck, 1996). La activación de

estas citocinas en la isquemia cerebral es muy precoz, pero transitoria (Lui *et al.* 1994).

La IL-1 β y el TNF- α inducen una segunda respuesta inflamatoria, mucho más persistente, mediada por otras dos citocinas, la IL-6 y la IL-8. Estas dos últimas desempeñan un importante papel en el desarrollo de reactantes de fase aguda, incluyendo la fiebre, la proteína C reactiva y el fibrinógeno (Rothwell *et al.* 1991), y en la liberación de un grupo de moléculas, genéricamente conocidas como adhesinas, que originan la agregación leucocitaria y posteriormente su adherencia a elementos conjuntivos de la pared vascular. Se conocen tres grupos de adhesinas: las selectinas, miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas y las integrinas (Adams y Shaw, 1994).

Las selectinas son glicoproteínas que contribuyen a la interacción inicial entre leucocitos y células endoteliales en la periferia del infarto. Su acción es transitoria y reversible y conduce a otras interacciones celulares secundarias mediadas por otros grupos de adhesinas. Las principales moléculas de la superfamilia de las inmunoglobulinas son las moléculas de adhesión intracelular-1 (ICAM-1), las moléculas de adhesión vascular-1 (VCAM-1) y las moléculas de adhesión plaquetoen-dotelial-1. Las integrinas también intervienen en la adhesión intracelular, así como en la interacción de estas células

con elementos de la matriz extracelular; estas moléculas se activan por la IL-8 (a diferencia con las selectinas y la superfamilia de la inmunoglobulinas que son activadas por la IL-6), y su acción es mucho más tardía (Smith, 1993).

Como consecuencia de la activación de las adhesinas se origina un reclutamiento de leucocitos y, posteriormente, su agregación y adherencia a la pared vascular. Estas alteraciones son responsables de la obstrucción de la microvascularización y del fenómeno del "no-reflujo". Además, la conversión del endotelio en un estado protrombótico, la producción de radicales libres y el aumento de la permeabilidad vascular, son otros factores responsables del daño celular mediado por la inflamación.

Recientemente se ha demostrado la intervención de algunas metaloproteasas (MMPs) de matriz en la lesión tisular postisquémica. Las MMPs son una familia de enzimas proteolíticas que se encargan del remodelado de la matriz extracelular y que, en conjunto, pueden degradar todos los constituyentes de la misma. Las MMPs son secretadas como proenzimas que requieren ser activadas. Además, en los tejidos existen inhibidores de la acción de éstas, como la α_2 -macroglobulina y los TIMPs.

La MMP-2 (gelatinasa A) y la MMP-9 (gelatinasa B) han sido implicadas en la isquemia cerebral (Rosenberg *et al.*

1996; Romanic et al, 1998; Fujimura *et al.* 1999) y son responsables de la ruptura de la barrera hematoencefálica, que trae como consecuencia el desarrollo del edema vasogénico y la facilitación de la transformación hemorrágica del infarto (Rosemberg *et al.* 1990).

La relación entre la respuesta inflamatoria y la expresión de las MMPs en cada vez más conocida. Tanto la IL-6 como el TNF- α son citocinas capaces de expresar MMP-9. La región promotora del gen de la MMP-9 contiene una zona de unión para la proteína activadora-1 (AP-1) y para el factor de transcripción nuclear (NF- κ B), que responden a una gran cantidad de estímulos inflamatorios. Los genes de respuesta inmediata (c-fos y c-jun) forman heterodímeros que activan la zona de unión con AP-1 del gen MMP-9 (Kusano *et al.* 1998).

Con los conocimientos actuales es posible suponer que la presencia de algunas citocinas, como la IL-6 y el TNF- α estimulan la producción de MMPs, especialmente de la MMP-9. Los leucocitos, acumulados y adheridos por la acción de las citocinas en la isquemia cerebral, utilizarían la producción de las MMPs para migrar a través del endotelio, desestructurar la barrera hematoencefálica y contribuir a la producción del edema (Montaner et al. en prensa).

La endotelina es un péptido liberado principalmente por el endotelio vascular, pero también por las neuronas

y células gliales, responsable de una potente vasoconstricción. Su concentración aumenta en algunas situaciones patológicas, como la isquemia cerebral. Esta potente y mantenida acción vasoconstrictora es el resultado de la activación de un tipo de receptores de la endotelina, denominados ET_A, presentes en los vasos cerebrales (Cardell *et al.* 1994). Otros factores, como los metabolitos del ácido araquidónico y algunos radicales libres, tienen también efectos vasoconstrictores. Además de estos factores bioquímicos, el edema de los astrocitos perivasculares contribuye a la reducción del calibre de la microcirculación (Fischer *et al.* 1977).

MECANISMOS BIOQUÍMICOS DE LA PROGRESIÓN DEL ICTUS ISQUÉMICO

El ictus progresivo supone la conversión de la penumbra isquémica en una zona de lesión irreversible. La mayor demanda metabólica originada por las ondas de despolarización recurrente que aparecen en la zona de la penumbra isquémica, ocasionan una mayor demanda metabólica. Estas mayores exigencias de aporte de nutrientes no pueden ser cumplimentadas ante un FSC muy reducido, por lo que el umbral de perfusión se hace cada vez más crítico, y zonas de penumbra se incorporan progresivamente al parénquima cerebral no viable. Sin embargo, como toda la zona de penumbra isquémica es clínicamente expresiva, es probable que el deterioro neurológico implique tam-

bién el reclutamiento, no sólo de esta zona, sino de la región de oligohemia más periférica (Hossmann, 1994).

Con niveles de FSC inferiores a 22 mL/ 100g / min se produce la liberación de grandes cantidades de glutamato y de otros aminoácidos neuroexcitadores, capaces de inducir ondas de despolarización recurrentes en la zona de penumbra isquémica (Hossmann, 1994). El glutamato es el más potente predictor bioquímico de infarto cerebral progresivo; niveles plasmáticos de glutamato superiores a 200 :M/L en las primeras 24 h desde el inicio de la sintomatología, predicen el deterioro neurológico con una probabilidad del 92% (Castillo *et al.* 1997 a). Concentraciones elevadas de glicina también se han asociado con el aumento de la frecuencia de deterioro neurológico precoz (Castillo *et al.* 1997 a). El aumento de la concentración de glutamato y glicina, y la disminución de la concentración del GABA en plasma, son también importantes predictores de deterioro neurológico en las primeras 48 horas del curso clínico en los infartos lacunares, especialmente en los localizados en los núcleos de la base (Serena *et al.* 2001).

A pesar de estos datos, el glutamato y los otros aminoácidos excitadores o inhibidores, a las concentraciones que se encuentran en la zona de penumbra isquémica, es difícil que por sí solos originen necrosis neuronal (Hossmann, 1994). El desarrollo de otros mecanis-

mos secundarios a la liberación del glutamato pueden permitir sucesivas incorporaciones de zonas no viables, aumentar el volumen del infarto y justificar el deterioro neurológico clínico (Fig. 3).

Experiencias clínicas han demostrado una fuerte relación entre el aumento de los depósitos de hierro (como fuente patrocinadora de radicales libres) y el deterioro neurológico; concentraciones de ferritina plasmática superiores a 285 :g/mL se asocian con frecuencias 33 veces mayores de deterioro neurológico (Dávalos *et al.* 2000). El NO² también es un factor importante en la progresión de la penumbra isquémica y en la muerte neuronal, especialmente en las zonas más periféricas, donde la presencia de oxígeno facilita la producción de peroxinitritos (Castillo *et al.* 2000 a). Los mecanismos inflamatorios también desempeñan un papel fundamental en la progresión del infarto, y concentraciones plasmáticas elevadas de IL-6 son un potente predictor de deterioro neurológico precoz (Vila *et al.* 2000).

La hiperglucemia, la hipertermia, la cefalea, las crisis comiciales en las primeras horas del ictus y la presencia de hipodensidad precoz en las imágenes de la TC, o de hiperseñales en las de RM-DWI, son importantes marcadores de infarto cerebral progresivo. Los mecanismos por el cuales estos marcadores clínicos, analíticos y de

neuroimagen condicionan un deterioro neurológico solo son parcialmente conocidos.

Niveles elevados de glucemia durante la fase aguda del ictus isquémico origina un aumento de la concentración de ácido láctico (Dávalos *et al.* 1999) y el efecto de la hipertermia sobre la progresión del infarto es dependiente de la neurotoxicidad del glutamato (Castillo *et al.* 1999 a) y posiblemente de la IL-6 y del TNF- α (Castillo *et al.* 1999 b). La cefalea durante la presentación del ictus isquémico está mediada por el glutamato, por el NO \cdot y por la IL-6 (Leira *et al.* en prensa). El empeoramiento neurológico asociado a las convulsiones durante la fase aguda del ictus aparece en los infartos corticales, como resultado del aumento de concentración del glutamato extracelular liberado en ésta zona (Tanaka *et al.* 1997). La presencia de hipodensidad precoz en la TC se ha asociado con el ictus progresivo (Dávalos *et al.* 1999; Toni *et al.* 1995). El potencial del glutamato para inducir edema citotóxico es bien conocido (Castillo, 2000; Scheneider *et al.* 1992), lo mismo que el aumento de la permeabilidad vascular y edema vasogénico originado por el NO \cdot y por los mecanismos de inflamación (Castillo y Leira, 2001; Castillo *et al.* 2000 a; Degraba, 1998; Vila *et al.* 2000). La presencia de este edema, citotóxico y vasogénico, justifica la presencia de la hipodensidad precoz en la TC o de la hipers señal, más precoz todavía, en las imágenes de RM-DWI.

FÁRMACOS NEUROPROTECTORES

Durante la última década se ha investigado el efecto de numerosos fármacos en el ictus isquémico. Aunque por el momento no existe evidencia convincente de un tratamiento neuroprotector eficaz para el ictus agudo, algunos fármacos han mostrado, en amplios estudios controlados, resultados contradictorios, parcialmente positivos o beneficiosos en determinados subgrupos de pacientes (Dávalos, 1999) (Tabla 1). La misma falta de evidencia existe en la actualidad para la eficacia de las medidas de neuroprotección no farmacológica (como el control de la hiper o hipoglucemia, hipertermia, hiper o hipotensión arterial, hiper o hipoxemia, o para la regulación del volumen plasmático), a pesar de estar ampliamente recomendadas (Adams *et al.* 1994).

INHIBIDORES DE LA LIBERACIÓN DEL GLUTAMATO

Actúan bloqueando los canales del Na $^{+}$ voltaje-dependientes presinápticos, evitando la despolarización de la membrana y la liberación del glutamato. Entre este grupo farmacológico, la *fosfenitoína*, precursor de la fenitoína, en un estudio en el que se incluyeron 462 pacientes, no demostró beneficio (De Keyser *et al.* 1999). El *lubeluzole* es un compuesto benzotiazólico que también impide el aumento de la concentración extracelular de glutamato. Los estudios en fase II demostraron una

reducción de la mortalidad en los pacientes tratados. Sin embargo, dos estudios en fase III, aplicando un mismo protocolo, obtuvieron resultados contradictorios: el estudio norteamericano (Grotta *et al.* 1997) evidenció una reducción de la mortalidad y una mejoría significativa de la capacidad funcional y dependencia, que no fue observada en el estudio europeo-australiano (Diener *et al.* 1998). Sin embargo, en éste último estudio se observó un efecto favorable en los pacientes con un ictus leve o moderado. Un último ensayo clínico diseñado para clarificar la discrepancia entre estos estudios ha sido negativo. La utilización de la *lifarizina* ha tenido que ser interrumpida en la fase II por hipotensión arterial (Squire *et al.* 1996).

ANTAGONISTAS DE LOS CANALES DEL Ca^{2+} VOLTAJE-DEPENDIENTES

La regulación de la entrada del Ca^{2+} en el interior de las neuronas ha sido una de las estrategias de neuroprotección más ensayadas. El *nimodipino* es un inhibidor de los canales del Ca^{2+} tipo L y la *flunaricina* actúa principalmente sobre los canales tipo T. El metaanálisis del *nimodipino* por vía oral no demostró eficacia, aunque en el subgrupo de pacientes tratados en las primeras horas existió un beneficio significativo (MOHR *et al.* 1994). El VENUS (Very Early Nimodipine Use in Stroke), que fue planificado para confirmar esta hipótesis, fue interrumpido por falta de beneficio

(Horn *et al.* 1999). La administración intravenosa del *nimodipino* fue perjudicial debido a sus efectos hemodinámicos (Wahlgren *et al.* 1994). La utilización de la *flunaricina* tampoco demostró eficacia como neuroprotector en el ictus isquémico (Franke *et al.* 1996).

ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES NMDA

Los inhibidores de los receptores del glutamato, especialmente los que bloquean los receptores NMDA, reducen el tamaño del infarto y el déficit neurológico en modelos de isquemia cerebral focal (De Kayser *et al.* 1999), pero su utilización clínica ha presentado muchos efectos adversos. El *selfotel*, antagonista competitivo de los receptores NMDA, en un estudio en fase III, ha mostrado un incremento no significativo de la mortalidad y una elevada frecuencia de efectos psiquiátricos adversos, por lo que se ha abandonado su investigación clínica (Davis *et al.* 1997). El *dextrorfan* y el *aptiganel*, antagonistas no competitivos del NMDA, se interrumpieron por una relación desfavorable entre el riesgo y el beneficio y un aumento de los efectos adversos.

El *eliprodil* reduce la acción del glutamato por interferir el lugar de la poliamina en el receptor NMDA, pero no demostró una diferencia significativa con el placebo. El *gavestinel*, antagonista de la glicina en el receptor NMDA, en dos extensos y bien diseña-

dos estudios en fase III, evidenció una excelente tolerancia, pero ninguna eficacia en el objetivo principal (capacidad funcional a los tres meses), ni en ningún objetivo secundario analizado (Lees *et al.* 2000; Sacco *et al.* 2001).

HIPERPOLARIZANTES DE LAS MEMBRANAS NEURONALES

El *clometiazol* aumenta la actividad del GABA a través de la estimulación de los receptores GABA_A. La hiperpolarización neuronal originada por el GABA contrarresta la despolarización celular originada por la isquemia. El fármaco fue efectivo en modelos experimentales, pero un gran estudio en fase III que incluyó 1350 pacientes resultó negativo (Wahlgren *et al.* 1999). Un análisis posterior sugiere que el *clometiazol* podría ser beneficioso en pacientes con infartos totales de la circulación anterior.

El *MaxiPost* consigue la hiperpolarización de las neuronas a través de la apertura de los canales del K⁺, disminuyendo asimismo la entrada de Ca²⁺ y la liberación de glutamato. Un estudio en fase III con 1990 pacientes no demostró beneficio (Bozik *et al.* 2000).

INHIBIDORES DE LA PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

El *tirilazad* inhibe la peroxidación de los ácidos grasos de las membranas celulares mediada por radicales libres.

En dos grandes estudios en fase III utilizando una dosis de 6 mg/kg/día no se observó mejoría en pacientes con ictus isquémico (The Ranttas Investigators, 1996). Estudios posteriores con dosis más elevadas fueron suspendidos por problemas de seguridad.

El *ebselen* es un compuesto con actividad antioxidante que inhibe la peroxidación lipídica. En 302 pacientes con ictus isquémico, se percibió una mejoría en el grupo de pacientes tratados, que fue más significativa en aquellos que recibieron el fármaco en las primeras 24 horas, pero no después (Yamaguchi *et al.* 1998).

PROTECTORES DE LAS MEMBRANAS CELULARES

La *citicolina* es un compuesto que estimula la síntesis de fosfatidilcolina, un fosfolípido esencial para el mantenimiento de las membranas celulares. La *citicolina* reduce el volumen del infarto cerebral en modelos experimentales. En un estudio en fase III se observó mejoría en la evolución funcional en los pacientes tratados con *citicolina*, en comparación con los que recibieron placebo. El porcentaje de los pacientes recuperados a los tres meses fue del 47% en los tratados con *citicolina* y del 31% en los del grupo placebo (p=0,02), lo que supuso un incremento relativo del 52% en la probabilidad de recuperación neurológica (Clark *et al.* 1997). El estudio en el subgrupo de pacientes con

una escala NIH>8 evidenció un porcentaje más elevado de beneficio (Clark *et al.* 1998).

El *piracetam* es otro fármaco que actúa sobre las membranas de las neuronas y de los hematíes. Un estudio en fase III resultó negativo, pero un análisis posterior evidenció beneficio en un subgrupo de pacientes tratados en las 7 primeras horas desde el inicio de los síntomas (Dedeyn *et al.* 1997).

ANTIINFLAMATORIOS

El *enlimomab*, un anticuerpo monoclonal contra la ICAM-1, que actúa inhibiendo la adhesión leucocitaria y su migración a través del endotelio vascular, logró disminuir el tamaño del infarto en modelos animales de isquemia focal transitoria. Sin embargo, en un estudio en fase III realizado en 625 pacientes, el *enlimomab* ha resultado negativo (The Enlimomab Acute Stroke Study Investigators, 1997), posiblemente por la respuesta inflamatoria apreciada en los pacientes tratados, lo que puede contrarrestar el beneficio del fármaco.

¿TODAVÍA ES POSIBLE LA NEUROPROTECCIÓN EN LA ISQUEMIA CEREBRAL?

En los últimos años, el conocimiento progresivo de la compleja fisiopatología de la isquemia cerebral, ha condicionado el desarrollo de una gran cantidad de sustancias para blo-

quear, a diferentes niveles, la cascada isquémica. Muchas de estas sustancias han demostrado una considerable eficacia en diversos modelos animales de isquemia cerebral. Sin embargo, como acabamos de exponer, el traslado de estos resultados a la clínica humana no ha sido satisfactorio, por lo que cabe preguntarse si la neuroprotección es todavía un objetivo alcanzable para los pacientes con ictus (Liebeskind y Kasner, 2001).

La esperanza de disponer de un fármaco de uso universal que por sí sólo cure el ictus isquémico es, sin duda, una utopía inalcanzable. Sin embargo, el análisis y la reconsideración de los aciertos, pero también de los múltiples fallos habidos en los ensayos clínicos desarrollados para estudiar la neuroprotección en el ictus isquémico, permiten confiar, con una razonable certeza, en que, en un futuro inmediato, podamos disponer de neuroprotectores eficaces para determinadas situaciones y para determinados pacientes con ictus. Para ello parece necesario la adopción de nuevas estrategias basadas en los siguientes factores.

NECESIDAD DE CUMPLIMENTAR TODAS LAS FASES DEL PROCESO DE DESARROLLO DE UN NUEVO FÁRMACO

La necesidad de conseguir nuevos fármacos, más eficaces y más seguros, es un proceso extraordinariamente caro, que se realiza a expensas de la indus-

tria farmacéutica, de la industria biotecnológica y de los recursos públicos. La necesidad de rentabilizar rápidamente estas inversiones, tanto privadas como públicas, colisiona con la lentitud que en ocasiones es necesaria para el conocimiento exhaustivo de los posibles efectos adversos y beneficiosos de los nuevos fármacos. Debido a ello, para el desarrollo óptimo de nuevas terapéuticas es preciso que los investigadores, y las estructuras que soportan la inversión económica necesaria, sigan estrictas recomendaciones, técnicas y éticas (Stroke Therapy Academic Industry Roundtable I y II, 1999 y 2001).

La investigación de un nuevo fármaco neuroprotector para la isquemia cerebral debe iniciarse con un protocolizado estudio preclínico que incluya conocimientos básicos de la nueva molécula, cómo es metabolizada y bajo qué condiciones penetra en el sistema nervioso central, toxicidad, teratogeneidad y mecanismos de actuación. Debe aplicarse el fármaco en modelos animales que se aproximen lo más posible a la clínica humana y desarrollar estudios farmacocinéticos que permitan orientar sobre las dosis recomendadas para el hombre. Después de alcanzar estos conocimientos, el neuroprotector debe iniciar el largo camino del estudio en el hombre (Degraba y Pettigrew, 2000). La fase I de los ensayos clínicos intenta determinar, en voluntarios sanos, el perfil de dosis y de toxicidad aceptable. La fase II ya se diseña en pacientes, debidamente selec-

cionados, para conocer la dosis y seguridad del fármaco (fase IIa) y estimar la eficacia del mismo (fase IIb). La fase III se diseña para confirmar definitivamente la eficacia y seguridad del neuroprotector, para lo que es necesario la inclusión de un gran número de pacientes. Excepto en la fase I, los estudios deben ser ciegos y controlados con placebo. Por último, la fase IV es necesaria, en ocasiones, para comprobar la eficacia y seguridad del fármaco en la práctica clínica habitual.

El análisis de algunos de los ensayos clínicos llevados a cabo en neuroprotección permite suponer que, para reducir costes y tiempo, algunas compañías diseñaron conjuntamente la fase II y III, y que los estudios preclínicos no fueron suficientemente completos. Un desarrollo más adecuado hubiese evitado muchos estudios en fase III o hubiese permitido desarrollarlos con más posibilidades de éxito (Mohr et al, 1998).

LA VENTANA TERAPÉUTICA

La utilización de un neuroprotector muchas horas después de iniciada la sintomatología no tiene lógica científica y, con seguridad, justifica alguno de los resultados negativos obtenidos en ensayos clínicos. La neuroprotección deberá ser aplicada durante la existencia de una zona de penumbra isquémica, es decir, cuándo exista la posibilidad de limitar la progresión del daño isquémico.

Sin embargo, la duración de la viabilidad tisular, o lo que es lo mismo, la ventana terapéutica, no ha sido establecida con fiabilidad en el cerebro humano (Chamorro, 1999). Es probable que esta ventana terapéutica no va a ser igual en todos los pacientes, ya que el tipo de infarto o el estado de la circulación colateral pueden condicionar variaciones tan importantes, como de menos de una hora hasta pasadas 24 horas de viabilidad tisular (Baron *et al.* 1995; Dávalos *et al.* 1997).

El empleo de nuevas técnicas diagnósticas que permiten diferenciar entre el tejido isquémico viable y la isquemia irreversible, parece imprescindible para seleccionar adecuadamente los pacientes susceptibles para recibir un tratamiento neuroprotector. El estudio de RM de difusión permite identificar, con gran precocidad, lesiones que pueden considerarse ya irreversibles (Fig. 4). La combinación con estudios de RM de perfusión puede ayudar para reconocer la zona de penumbra isquémica; aunque con excepciones, un patrón de una zona de hipoperfusión mayor que la zona de hiperseñal en la RM de difusión equivale a tejido cerebral afectado, pero todavía viable (Barber *et al.* 1998). La PET es el marcador de viabilidad tisular más fiable, aunque la limitada disponibilidad hace que tenga poca aplicabilidad en la práctica clínica (Heiss *et al.* 2001).

DISEÑO DEL ENSAYO CLÍNICO

Uno de los aspectos que se ha relacionado con el mal resultado obtenido en los ensayos clínicos de neuroprotección ha sido el diseño poco apropiado de los mismos.

La selección de los pacientes ha de establecerse de acuerdo con el mecanismo de acción del neuroprotector. No parece aconsejable la utilización de antagonistas o bloqueantes de los canales de los aminoácidos neuroexcitadores en pacientes con infartos localizados preferentemente en la sustancia blanca, ni la recomendación del uso de inhibidores de los radicales libres o antiinflamatorios en infartos en los cuales la reperfusión sea poco probable. Al mismo tiempo es necesario adecuar la sincronización entre el tipo de fármaco y el momento y duración de su administración: una neuroprotección precoz y de breve duración deberá postularse para antagonistas del glutamato, o de los receptores NMDA, o de los canales del Ca^{2+} ; sin embargo, la administración podrá ser más retrasada y más duradera en los inhibidores de los radicales libres o en los antiinflamatorios (Lees, 2000; Dyker y Lees, 1998) (Fig. 5). El uso de marcadores bioquímicos en el plasma de pacientes durante la fase aguda del ictus puede ayudar a establecer el mecanismo involucrado más intensamente en cada caso y, por lo tanto, en la selección del neuroprotector más idóneo.

La intensidad del déficit neurológico es otra variable a tener en cuenta para la adecuada selección de los pacientes. Los enfermos comatosos o con desviación de la mirada conjugada, en los que se supone infartos extensos, difícilmente se van a beneficiar de una terapia neuroprotectora. De la misma forma, pacientes con déficits neurológicos mínimos o transitorios no son candidatos adecuados para este tipo de tratamiento.

Un aspecto habitualmente no contemplado en los ensayos clínicos con neuroprotectores es el adecuado control de variables clínicas o metabólicas asociadas a mal pronóstico. La hipertermia o la hiperglucemia durante la fase aguda de la isquemia cerebral son factores que condicionan un peor pronóstico (Castillo et al, 1994), posiblemente con una capacidad superior al efecto beneficioso del neuroprotector. Protocolizar el control de estas variables para conseguir poblaciones homogéneas, o su introducción como covariables en los análisis que midan la eficacia del fármaco, pueden ayudar a valorar de forma más adecuada el efecto de la neuroprotección farmacológica.

También es necesario adecuar los objetivos primarios y secundarios del ensayo clínico al posible efecto del fármaco. Conseguir la ausencia del déficit neurológico medido con diversas escalas es un objetivo dudosamente alcanzable. El efecto más probable de

un neuroprotector es evitar o disminuir la transformación de la zona de penumbra isquémica en infarto; clínicamente este hecho equivaldrá a la disminución de la probabilidad del deterioro neurológico. Por lo tanto, conseguir una menor probabilidad de infarto progresivo parece un objetivo más adecuado para un neuroprotector, que alcanzar la puntuación 0 de la escala de Rankin (Castillo, 1999 b; DeGrabba et al, 1999).

MARGEN TERAPÉUTICO PARA LA NEUROPROTECCIÓN

La ambición de la industria parece haberse obsesionado en el desarrollo de un fármaco de uso universal y máxima tolerancia (DeGrabba y Pettigrew, 2000). Sin embargo, la complejidad de los mecanismos bioquímicos implicados en el infarto cerebral, la variabilidad de los mismos en los distintos tipos de isquemia cerebral y, posiblemente en cada paciente, parece que obligan a la especificidad en la búsqueda de un determinado fármaco para cada situación clínica. Es razonable pensar que la eficacia dependerá de la especificidad: un inhibidor de los radicales libres en un paciente en el que no exista reperfusión será totalmente ineficaz. La alternativa de un neuroprotector de excelente tolerancia, que pueda administrarse en todo tipo de pacientes, sin pruebas diagnósticas previas, implicará un objetivo de eficacia terapéutica más modesta. La

estrategia “pan para todos” versus “traje a la medida” (Chamorro, 1999) debe ser planteada con claridad cuando se intente evaluar el beneficio esperado de un determinado tipo de neuroprotección.

Una alternativa atractiva sería la utilización de un cocktail de una apropiada selección de varios neuroprotectores que actuasen sinérgicamente o en diferentes fases de la cascada isquémica. Los estudios en modelos animales utilizando diversas combinaciones de antagonistas de los receptores del glutamato, antagonistas de los canales voltaje-dependientes del Ca^{2+} , agonistas de los receptores del GABA, citicolina, tirilazad y factor de crecimiento de los fibroblastos, han dado resultados muy satisfactorios (Lyden y Lonzo, 1994; Onal *et al.* 1997). Sin embargo, este enfoque terapéutico precisaría de la colaboración de diferentes compañías farmacéuticas, más acostumbradas a la competición que a compartir los conocimientos.

El margen terapéutico de los neuroprotectores, ya por sí limitado, recientemente está más cuestionado por el uso simultáneo de la terapéutica trombolítica. En ensayos actuales de neuroprotección, con una ventana terapéutica de 6 horas, la utilización de trombolíticos es de aproximadamente el 25%; con ventanas terapéuticas de 3 horas el porcentaje de utilización de

fármacos trombolíticos superará ampliamente este porcentaje. Es conocido que el tratamiento trombolítico consigue una repermeabilización del vaso obstruido en más de la mitad de los pacientes, y una reversibilidad del cuadro clínico en más del 40% (Castillo, 1999 a).

Ante esta situación cabe preguntarse cuál puede ser el margen terapéutico para la neuroprotección. Las expectativas más razonables sugieren que la neuroprotección tendrá su razón de ser en varias situaciones clínicas: en aquellos pacientes no candidatos a la trombólisis, para mantener viable el tejido isquémico durante más tiempo y alargar la ventana terapéutica para los trombolíticos, y para inhibir o controlar las reacciones adversas derivadas de la reperfusión.

Con estas premisas sólo es aceptable el optimismo. En ningún momento de la historia ha existido la conjunción de tantos factores positivos: conocimiento casi exhaustivo de los mecanismos implicados en la isquemia cerebral, desarrollo biotecnológico abrumador, inversión de la industria en neuroprotección inimaginable en los tiempos del nihilismo terapéutico y una sensibilización sociosanitaria creciente en la consideración del ictus como una urgencia neurológica tratable (Castillo *et al.* 2000 b). Sólo hace falta la chispa que catalice todo este esfuerzo.

TABLA 9

FÁRMACOS NEUROPROTECTORES ENSAYADOS EN CLÍNICA HUMANA

	Beneficio	Efectos adversos
Inhibidores de la liberación del glutamato		
<i>Fosfenitoína</i>	-	-
<i>Lubeluzole</i>	+/-	-
<i>Lifarizina</i>	-	+
Antagonistas de los canales del Ca²⁺ voltaje-dependientes		
<i>Nimodipino</i>	+/-	+ (iv)
<i>Flunaricina</i>	-	-
Antagonistas de los receptores NMDA		
<i>Selfotel</i>	-	+
<i>Dextrofan</i>	-	+
<i>Aptiganel</i>	-	+
<i>Eliprodil</i>	-	-
<i>Gavestinel</i>	-	-
Hiperpolarizantes de las membranas neuronales		
<i>Clometiazol</i>	+/-	-
<i>MaxiPost</i>	-	-
Inhibidores de la peroxidación lipídica		
<i>Tirilazad</i>	-	+
<i>Ebselen</i>	+	-
Protectores de membranas celulares		
<i>Citicolina</i>	+	-
<i>Piracetam</i>	+/-	-
Antiinflamatorios		
<i>Enlimomab</i>	-	+

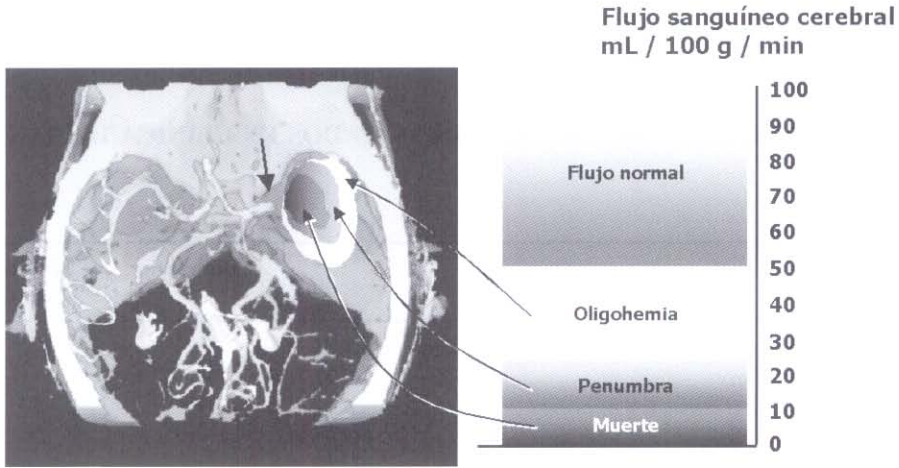


Fig. 1 La obstrucción de la arteria cerebral media (flecha corta) origina un gradiente de presiones. En la zona central, con FSC < 10 mL/100 g/min, se produce una rápida muerte celular. Rodeando a este núcleo intensamente isquémico, existe una zona de "penumbra" con FSC < 22 mL/100 g/min. Más periféricamente en la zona de oligohemia, con FSC > 22 mL/100 g/min, el riesgo de convertirse en infarto sólo sucede en circunstancias adversas.

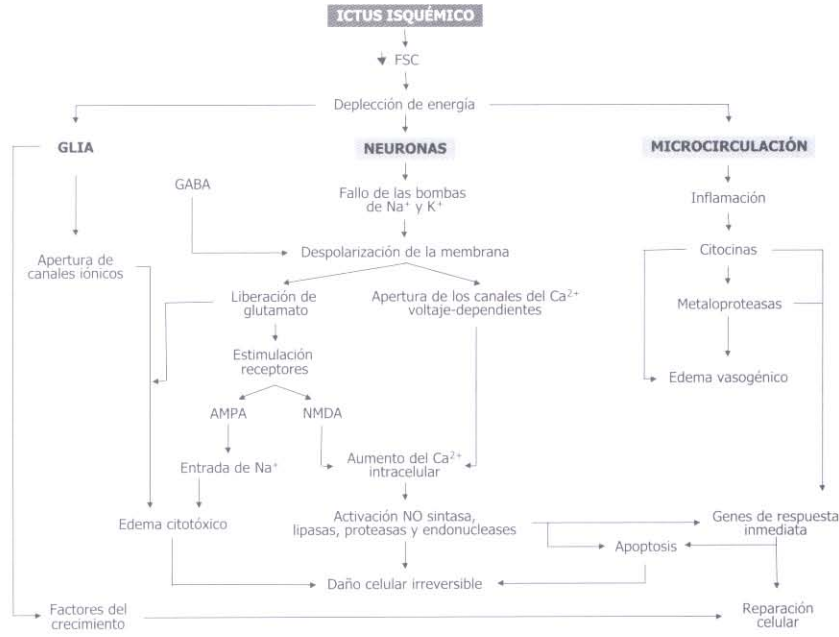


Fig. 2 La cascada isquémica es desencadenada por la depleción energética y, habitualmente, termina en la destrucción celular inmediata o retardada (apoptosis). En algunas circunstancias también se pueden poner en marcha mecanismos de reparación celular.

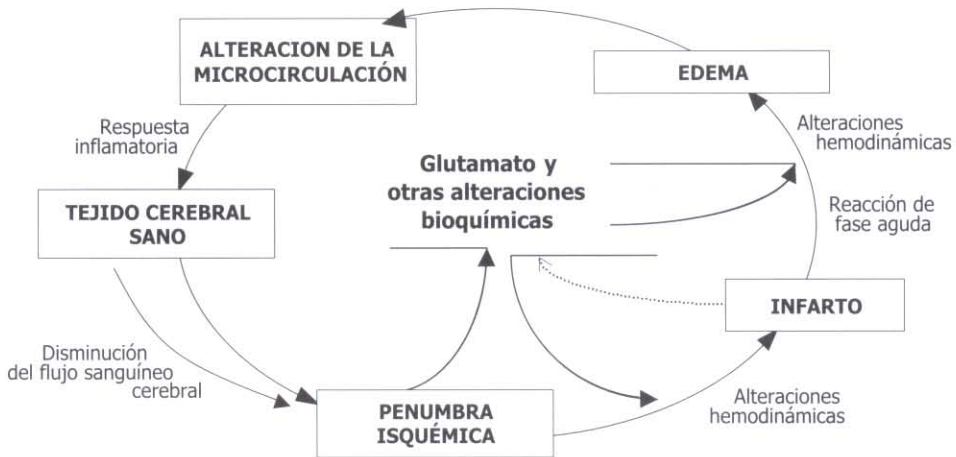


Fig. 3 Mecanismos que justifican la progresiva conversión de la zona de penumbra isquémica en tejido necrosado y el reclutamiento de porciones de tejido oligohémico, responsables del deterioro neurológico que aparece en la tercera parte de los pacientes con ictus isquémicos en las primeras 48 horas.



Fig. 4 Imagen de RM de difusión (DWI) de un paciente de 61 años con déficit neurológico de 2 horas y 15 minutos de evolución. Puede apreciarse una hiperseñal en la totalidad del territorio de la arteria cerebral media, incompatible con un posible beneficio de ningún tipo de tratamiento neuroprotector.

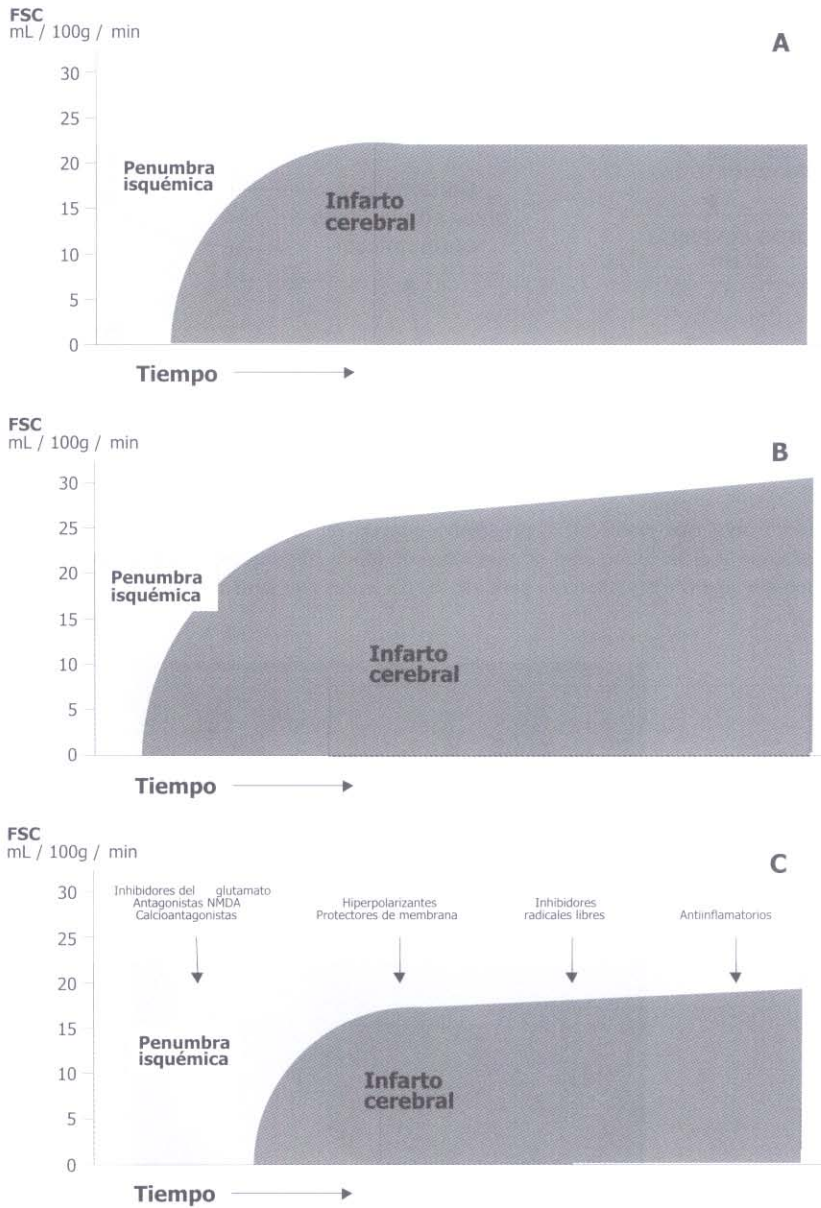


Fig. 5 Modelo teórico del comportamiento de la penumbra isquémica en diferentes situaciones clínicas. **A.** Ictus isquémico estable: la penumbra, de corta duración se transforma en infarto cerebral. **B.** Ictus progresivo: además de la conversión de la penumbra, hay tejido oligohémico que se incorpora a la zona de infarto. **C.** La neuroprotección aumenta la duración de la penumbra isquémica de forma sincronizada con los diferentes tipos de fármacos.

BIBLIOGRAFIA

1. Adams DH, Shaw S. Leukocyte endothelial interactions and regulation of leukocyte migration. *Lancet* 1994; 343:831-836.
2. Adams HP Jr, Brott TG, Crowell RM, et al. Guidelines for the management of patients with acute ischemic stroke. A statement for healthcare professionals from a special writing group of the stroke council, American Heart Association. *Stroke* 1994; 25:1901-1914.
3. Albers GW, Alberts MJ, Broderick JP, Lyden PD, Sacco RL. Recent advances in stroke management. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2000; 9:95-105.
4. An G, Lin TN, Liu JS, Xue JJ, He YY, Hsu CY. Expression of c-fos and c-jun family genes after focal cerebral ischemia. *Ann Neurol* 1993; 33:457-464.
5. Armengou A, Castillo J, Leira R, Obón M, Puig N, Dávalos A. L-arginine and brain injury in acute ischemic stroke: A clinical and experimental study. *Ann Neurol* (en prensa).
6. Astrup J, Siesjö BK, Symon L. Thresholds in cerebral ischemia: the ischemic penumbra. *Stroke* 1981; 12:723-725.
7. Auer RN. Non-pharmacologic (physiologic) neuroprotection in the treatment of brain ischemia. *Ann NY Acad Sci* 2001; 939:271-282.
8. Barber PA, Darby DG, Desmond PM et al. Prediction of stroke outcome with echoplanar perfusion- and diffusion-weighted MRI. *Neurology* 1998; 51:418-426.
9. Baron JC, von Kummer R, del Zoppo GJ. Treatment of acute ischemic stroke. Challenging the concept of a rigid and universal time window. *Stroke* 1995; 26:2219-2221.
10. Baron JC. Mapping the ischaemic penumbra with PET: a new approach. *Brain* 2001; 124:2-4.
11. Bozic ME, Hommel M, Grotta J, Fisher M, Fayad P, Bogousslavsky J. POST-011: Efficacy and safety of MaxiPost in patients with acute stroke. *Cerebrovasc Dis* 11 (supl 4) 2001 :127.
12. Brott T, Bogousslavsky J. Treatment of acute ischemic stroke. *N Eng J Med* 2000; 343:710-722.
13. Cardell LO, Uddman R, Edvinsson L. Endothelins: a role in cerebrovascular disease? *Cephalalgia* 1994; 14:259-265.
14. Castillo J, Martínez F, Leira R, Prieto JM, Lema M, Noya M. Mortality and morbidity of acute cerebral infarction related with temperature and basal analytic parameters. *Cerebrovasc Dis* 1994; 4:66-71.
15. Castillo J, Dávalos A, Naveiro J, Noya M. Neuroexcitatory amino acids and their relation to infarct size and neurological deficit in ischemic stroke. *Stroke* 1996; 27:1060-1065.
16. Castillo J, Dávalos A, Noya M. Progression of ischaemic stroke and excitotoxic amino acids. *Lancet* 1997 a; 349:79-83.
17. Castillo J, Dávalos A, Lema M, Serena J, Noya M. Glutamate is a marker for cerebral ischemia in cortical but not deep infarcts. *Cerebrovasc Dis* 1997 b; 7:245-250.
18. Castillo J. Trombólisis en el ictus isquémico. *Continua Neurológica* 1999 a; 2:83-114.
19. Castillo J. Deteriorating stroke: diagnostic criteria, predictors, mechanisms and treatment. *Cerebrovasc Dis* 9 1999 b; (suppl 3):1-8.
20. Castillo J. Bioquímica de la isquemia cerebral. *Neurología* 14 1999 c; (supl 4):17-23.
21. Castillo J, Dávalos A, Noya M. Aggravation of acute ischemic stroke by hyperthermia is related to an excitotoxic mechanism. *Cerebrovasc Dis* 1999 a; 9:22-27.
22. Castillo J, Chamorro A, Vila N, Dávalos A. Fiebre, citocinas e ictus isquémico. *Neurología* 1999 b; 14:495.
23. Castillo J. Fisiopatología de la isquemia cerebral. *Rev Neurol* 2000; 30:459-464.

24. Castillo J, Rama R, Dávalos A2. Nitric oxide-related brain damage in acute ischemic stroke. *Stroke* 2000 a; 31:852-857.
25. Castillo J, Chamorro A, Dávalos A et al. Conferencia de consenso: Atención multidisciplinaria del ictus cerebral agudo. *Med Clín* 2000 b; 114:101-106.
26. Castillo J, Leira R. Predictors of deteriorating cerebral infarct: role of inflammatory mechanisms. Would its early treatment be useful? *Cerebrovasc Dis* 11 2001; (suppl 1):40-48.
27. Chamorro A. La penumbra isquémica. La ventana terapéutica. *Neurología* 14 1999; (supl 4):35-40.
28. Choi DW. Calcium-mediated neurotoxicity: relationship to specific channel types and role in ischemic damage. *Trends Neurosci* 1988; 11:465-469.
29. Choi DW, Rothman SM. The role of glutamate neurotoxicity in hypoxia-ischemic neuronal death. *Ann Rev Neurosci* 1990; 13:171-182.
30. Clark WM, Warack SJ, Pettigrew LC, Gammans RE, Sabounjian LA, for the Citicoline Stroke Study Group. A randomized dose-response trial of citicoline in acute ischemic stroke patients. *Neurology* 1997; 49:671-678.
31. Clark WM, Williams BJ, Selzer KA, Zweifler RM, Saboundjian LA, for the Citicoline Study Group. Randomized efficacy trial of citicoline in acute ischemic stroke. *Stroke* 1998; 29:287.
32. Dávalos A, Castillo J, Serena J, Noya M. Duration of glutamate release after acute ischemic stroke. *Stroke* 1997; 28:708-710.
33. Dávalos A, Toni D, Iweins F, Lesaffre E, Bastianello S, Castillo J, for the ECASS Group. Neurological deterioration in acute ischemic stroke. Potential predictors and associated factors in the European Cooperative Acute Stroke Study (ECASS) I. *Stroke* 1999; 30:2631-2636.
34. Dávalos A. Fármacos neuroprotectores. *Neurología* 14 1999; (supl 4):49-53.
35. Dávalos A, Castillo J, Marrugat J, et al. Body iron stores and early neurologic deterioration in acute cerebral infarcts. *Neurology* 2000; 54:1568-1574.
36. Davis S, Albers GW, Diener HC, Lees KR, Norris J. Termination of acute stroke studies involving selfotel treatment: ASSIST Steering Committee. *Lancet* 1997; 349:32.
37. Dawson VL, Dawson TM. Free radicals and neuronal cell death. *Cell Death and Differentiation* 1996; 3:71-78.
38. De Deyn PP, De Reuck J, Deberdt W, Vlietinck R, Orgogozo JM, for Members of the Piracetam in Acute Stroke Study (PASS) Group. Treatment of acute ischemic stroke with piracetam. *Stroke* 1997; 28:2347-2352.
39. DeGraba TJ. The role of inflammation after acute stroke. Utility of pursuing anti-adhesion molecule therapy. *Neurology* 51 1998; (supl 3):S62-S68.
40. DeGraba TJ, Hallenbeck JM, Pettigrew KD et al. Progression in acute stroke: Value of the initial NIH stroke scale score on patients stratification in future trials. *Stroke* 1999; 30:1208-1212.
41. DeGraba TJ, Pettigrew LC. Why do neuroprotective drugs work in animals but not humans? *Neurol Clin* 2000; 19:475-493.
42. De Keyser J, Sulter G, Luiten PG. Clinical trials with neuroprotective drugs in acute ischemic stroke: are we doing the right thing? *Trends Neurosci* 1999; 22:535-540.
43. Diener HC, for the European and Australian lubeluzole Ischaemic Stroke Study Group. Multinational randomised controlled trial of lubeluzole in acute ischaemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 1998; 8:172-181.
44. Dyker AF, Lees KR. Duration of neuroprotective treatment for ischaemic stroke. *Stroke* 1998; 29:535-542.
45. Fischer EG, Ames A, Hedley-Whyte ET, O'Gorman S. Reassessment of cerebral capillary changes in acute global ischemia and their relationship to the "no-reflow phenomenon". *Stroke* 1997; 8:36-39.
46. Forbergrová J, Memezawa H, Smith M-L, Siesjö BK. Focal and perifocal changes in tissue energy state during middle cerebral

- artery occlusion in normo- and hyperglycemic rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 1992; 12:25-33.
47. Franke CL, Palm R, Dalby M et al. Flunarizine in stroke treatment (FIST): a double-blind, placebo-controlled trial in Scandinavia and the Netherlands. *Acta Neurol Scand* 1996; 93:56-60.
 48. Fujimura M, Gasche Y, Morita-Fujimura Y, Massengale J, Kawase M, Chan PH. Early appearance of activated matrix metalloproteinase-9 and blood-brain barrier disruption in mice after focal cerebral ischemic and reperfusion. *Brain Research* 1999; 842:92-100.
 49. Ginsberg MD. Injury mechanisms in the ischaemic penumbra. Approaches to neuroprotection in acute ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 7 1997; (supl 2):7-12.
 50. Giroux C, Scatton B. Ischemic stroke: treatment on the horizon. *Eur Neurol* 1996; 36:61-64.
 51. Green DR, Reed JC. Mitochondria and apoptosis. *Science* 1998; 281:1309-1312.
 52. Grotta J, for the US and Canadian Lubeluzole Ischemic Stroke Study Group. Lubeluzole treatment of acute ischemic stroke. *Stroke* 1997; 28:2338-2346.
 53. Hallenbeck JM (1996). Inflammatory reactions at the blood-endothelial interface in acute stroke. *Adv Neurol* 71:281-297.
 54. Heiss WD, Graf R. The ischemic penumbra. *Curr Opin Neurol* 1994; 7:11-19.
 55. Heiss WD, Kracht LW, Thiel A, Ground M, Pawlik G. Penumbra probability thresholds of cortical flumazenil binding and blood flow predicting tissue outcome in patients with cerebral ischaemia. *Brain*. 2001; 124:20-29.
 56. Horn J, Limburg M, Vermeulen M. VENUS-Very Early Nimodipine use in stroke: final results from a randomized, placebo-controlled trial. *Cerebrovasc Dis* 9 1999; (supl 1):127.
 57. Hossmann KA. Viability thresholds and the penumbra of focal ischemia. *Ann Neurol* 1994; 36:557-565.
 58. Ijichi A, Sakuma S, Tofilon PJ. Hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression in normal rat astrocyte cultures. *Glia* 1995; 14:87-93.
 59. Kidwell CS, Liebeskind DS, Starkman S, Saver J. Trends in acute ischemic stroke trials through the 20th century. *Stroke* 2001; 32:1349-1359.
 60. Kusano K, Miyaura C, Inada M, et al. Regulation of matrix metalloproteinases (MMP-2, -3, -9, and -13) by interleukin-1 and interleukin-6 in mouse calvaria: association of MMP induction with bone resorption. *Endocrinology* 1998; 139:1338-1345.
 61. Lees GJ. The possible contribution of microglia and macrophages to delayed neuronal death after ischemia. *J Neurol Sci* 1993; 114:119-122.
 62. Lees KR. Neuroprotection. *Br M Bull* 2000; 56:401-412.
 63. Lees KR, Asplund K, Carolei A, et al for the GAIN International Investigators. Glycine antagonist (gavestinel) in neuroprotection (GAIN International) in patients with acute stroke: a randomized trial. *Lancet* 2000; 355:1949-1954.
 64. Leira R, Dávalos A, Aneiros A, Serena J, Pumar JM, Castillo J. Headache as a surrogate marker of the molecular mechanisms implicated in progressing stroke. Cephalgia (en prensa).
 65. Liebeskind DS, Kasner SE. Neuroprotection for ischaemic stroke: an unattainable goal? *CNS Drugs* 2001; 15:165-174.
 66. Lindsay RM, Wiegand SJ, Altar CA, DiStefano PS. Neurotrophic factors: from molecule to man. *Trends Neurosci* 1994; 17:182-190.
 67. Lui T, Clark RK, McDonnell PC, et al. Tumor necrosis factor-alpha expression in ischemic neurons. *Stroke* 1994; 25:1481-1488.
 68. Lyden PD, Lonzo L. Combination therapy protects ischemic brain in rats. A glutamate antagonist plus a (-aminobutyric acid agonist. *Stroke* 1994; 25:189-196.

69. MacManus JP, Linnik MD. Gene expression induced by cerebral ischemia: an apoptotic perspective. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997; 17:815-852.
70. Mohr JP, Orgogozo JM, Hennerici M, et al. Meta-analysis of oral nimodipine trials in acute ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 1994; 4:197-203.
71. Mohr JP, Mast H, Thompson JLP, Sacco RL. Are more complex study designs needed for future acute stroke trials? *Cerebrovasc Dis* 8 1998; (supl 1):17-22.
72. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Eng J Med* 1993; 329:2002-2012.
73. Montaner J, Álvarez-Sabín J, Barberá G, et al. Correlación entre la expresión de citocinas proinflamatorias y metaloproteinasas de matriz en la fase aguda del ictus isquémico. *Rev Neurol* (en prensa).
74. Nichols D, Attwell D. The release and uptake of excitatory amino acids. *Trends Pharmacol Sci* 1990; 11:462-468.
75. Nishikawa Y, Takahashi T, Ogawa K. Redistribution of glutamate and GABA in the cerebral neocortex and hippocampus of the mongolian gerbil after transient ischemia. *Mol Chem Neuropathol* 1994; 22:25-41.
76. Onal MZ, Li F, Tatlisumak T, Locke KW, Sandage BW, Fisher M. Synergistic effects of citicoline and MK-801 in temporary experimental focal ischemia in rats. *Stroke* 1997; 28:1060-1065.
77. Pulsinelli W. Pathophysiology of acute ischemic stroke. *Lancet* 1992; 339:533-536.
78. Ranson BR, Sontheimer H. The neurophysiology of glial cells. *J Clin Neurophysiol* 1992; 9:224-251.
79. Richer C, Gogvadze V, Laffranchi R, et al. Oxidants in mitochondria: from physiology to diseases. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1271:67-74.
80. Romanic AM, White RF, Arleth AJ, Ohlstein EH, Barone FC. Matrix metalloproteinase expression increases after cerebral focal ischemia in rats. Inhibition of matrix metalloproteinase-9 reduces infarct size. *Stroke* 1998; 29:1020-1030.
81. Rosenberg GA, Mun-Bryce S, Wesley M, Kornfeld M. Collagenase-induced intracerebral hemorrhage in the rat. *Stroke* 1990; 21:801-807.
82. Rosenberg GA, Navratil M, Barone F, Feuerstein G. Proteolytic cascade enzymes increased in focal cerebral ischemia in rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996; 16:360-366.
83. Rothwell NJ, Bersbridge NJ, Lefevre RA, Hardwick AJ, Gauldie J, Hopkins SJ. Interleukin-6 is a centrally acting endogenous pyrogen in the rat. *Can J Physiol Pharmacol* 1991; 69:1465-1469.
84. Sacco RL, De Rosa JT, Haley EC, et al. for the GAIN Americas Investigators. Glycine antagonist in neuroprotection for patients with acute stroke. GAIN Americas: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 285:1719-1728.
85. Samdani AF, Dawson TM, Dawson VL. Nitric oxide synthase in models of focal ischemia. *Stroke* 1997; 28:1283-1288.
86. Scheneider G-H, Baethmann A, Kempfski O. Mechanisms of glial swelling induced by glutamate. *Can J Physiol Pharmacol* 1992; 70:S334-S343.
87. Serena J, Leira R, Castillo J, Pumar JM, Castellanos M, Dávalos A. Neurological deterioration in acute lacunar infarctions. The role of excitatory and inhibitory neurotransmitters. *Stroke* 2001; 32:1154-1161.
88. Siesjö BK. Calcium-mediated processes in neuronal degeneration. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 747:140-161.
89. Squire IB, Lees KR, Pryse-Phillips W, Kertesz A, Bamford J. The effects of lifarizine in acute cerebral infarction. A pilot safety study. *Cerebrovasc Dis* 1996; 6:156-160.
90. Smith CW. Endothelial adhesion molecules and their role in inflammation. *Can J Physiol Pharmacol* 1993; 71:76-87.
91. Sternan L, Lust WD, Ricci AJ, Ratcheson R. Role for (-)aminobutyric acid in selective vulnerability in gerbils. *Stroke* 1989; 20:281-287.

92. Stroke Therapy Academic Industry Roundtable. Recommendation for standards regarding preclinical neuroprotective and restorative drugs. *Stroke* 1999; 30:2752-2758.
93. Stroke Therapy Academic Industry Roundtable II (STAIR-II). Recommendations for clinical trial evaluation of acute stroke therapies. *Stroke* 2001; 32:1598-1606.
94. Stys PK, Waxman SG, Ranson BR. Ionic mechanisms of anoxic injury in mammalian CNS white matter: role of Na⁺ channels and Na⁺-Ca²⁺ exchanger. *J Neurosci* 1992; 12:430-439.
95. Susin SA, Lorenzo HK, Zamzami N, et al. Mitochondrial release of caspase-2 and -9 during the apoptotic process. *J Exp Med* 1999; 189:391-394.
96. Tanaka K, Watase K, Manabe T, et al. Epilepsy and exacerbation of brain injury in mice lacking the glutamate transporter GLT-1. *Science* 1997; 276:1699-1702.
97. The Enlimomab Acute Stroke Trial Investigators. The Enlimomab Acute Stroke Trial: final results. *Cerebrovasc Dis* 7 1997; (supl 4):18.
98. The Ranttas Investigators. A randomized trial of tirilazad mesylate in patients with acute stroke (Ranttas). *Stroke* 1996; 27:1453-1458.
99. Toni D, Fiorelli M, Gentile M, et al. Progressing neurological deficit secondary to acute ischemic stroke. *Arch Neurol* 1995; 52:670-675.
100. Vila N, Castillo J, Dávalos A, Chamorro A. Proinflammatory cytokines and early stroke progression. *Stroke* 2000; 31:2325-2329.
101. Zhang J, Dawson VL, Dawson TM, Snyder SH. Nitric oxide activation of poly (ADP-ribose) synthetase in neurotoxicity. *Science* 1994; 263:687-689.
102. Wahlgren NG, MacMahon DG, De Keyser J, Indredavik B, Ryman T, for the Inwest Study Group. Intravenous Nimodipine West European Stroke Trial (Inwest) of nimodipine in the treatment of acute ischaemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 1994; 4:204-210.
103. Wahlgren NG, Ranasinha KW, Rosolacci T, et al for the Class Study Group. Clomethiazole Acute Stroke Study (Class). Results of a randomized, controlled trial of clomethiazole versus placebo in 1360 acute stroke patients. *Stroke* 1999; 30:21-28.
104. Yamaguchi T, Sano K, Takakuri K et al, for the Ebselen Study Group. Ebselen in acute ischemic stroke. A placebo-controlled, double-blind clinical trial. *Stroke* 1998; 29:12-17.