

---

# La inflamación como diana terapéutica en la isquemia cerebral

---

A.M. Planas<sup>1</sup> y E. Vila<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departament d'Isquemia Cerebral i Neurodegeneració, IIBB-CSIC, IDIBAPS, Barcelona;

<sup>2</sup>Departament de Farmacologia, Terapèutica i Toxicologia, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.

---

**Resumen:** *La inflamación contribuye al progreso de la lesión isquémica y al deterioro neurológico en el ictus, una enfermedad aguda en la cual se interrumpe o disminuye la irrigación del cerebro. En esta respuesta inflamatoria intervienen señales extracelulares (como citocinas, quimiocinas y proteinasas de la matriz extracelular), se activan células gliales y vasculares, e infiltran leucocitos. Los neutrófilos son los primeros leucocitos infiltrantes que aparecen en las primeras horas después del inicio de la isquemia, y liberan enzimas citotóxicas y proteinasas de la matriz extracelular, generando estrés oxidativo. La posterior infiltración de monocitos y linfocitos también contribuye a la exacerbación de la isquemia. Además, la lesión cerebral provoca la liberación de catecolaminas y corticosteroides al torrente circulatorio, que pueden afectar al sistema inmunitario y favorecer una respuesta antiinflamatoria de tipo Th2. Dicha respuesta podría frenar la inflamación cerebral al limitar el proceso inflamatorio local al tejido isquémico, a expensas de inducir un síndrome de inmunodepresión que favoreciera que los sujetos isquémicos fueran más susceptibles a contraer infecciones. El estrés oxidativo y la inflamación se han identificado como posibles dianas para el tratamiento del ictus y puede intervenir farmacológicamente, aunque aún queda por aclarar de qué modo el estado de inmunosupresión inducido por la respuesta antiinflamatoria podría aumentar el riesgo de contraer infecciones en los pacientes de ictus.*

**Palabras clave:** Ictus – Inflamación – Estrés oxidativo – Inmunosupresión.

---

## Ictus y lesión isquémica

---

El ictus es una enfermedad aguda en la cual se interrumpe o disminuye la irrigación normal del cerebro o de una zona de él, y a menudo es causa de discapacidad permanente o muerte. El ictus es muy frecuente en nuestra sociedad y es la enfermedad neurológica que causa mayor número de ingresos hospitalarios. A pesar de que el ictus se produce generalmente en personas de edad avanzada, también puede afectar a personas más jóvenes en función de diversos factores de riesgo. El ictus isquémico es el

más frecuente y en él nos centraremos en este trabajo. Se han desarrollado modelos animales que principalmente se basan en ocluir la arteria cerebral media accediendo directamente a ella (craneotomía),<sup>1</sup> por oclusión mecánica introduciendo un filamento por la carótida interna (intraluminal),<sup>2</sup> o generando trombos (tromboembólico).<sup>3</sup> Estos modelos se asemejan en gran medida a la enfermedad en cuanto inducen una interrupción brusca del flujo sanguíneo cerebral, pero aun así están lejos de la patología humana porque frecuentemente se realizan en animales jóvenes y sanos, desprovistos de

los factores de riesgo que suelen acompañar al ictus. A modo de ejemplo, la hiperglucemia en fase aguda de la isquemia aumenta la infiltración de neutrófilos, el estrés oxidativo, la liberación de corticosteroides y la glucosilación de proteínas, factores que exacerbaban la lesión isquémica;<sup>4</sup> y la lesión es más grave en los animales hipertensos.<sup>5</sup> De todos modos, los modelos animales de isquemia cerebral permiten obtener una información valiosísima sobre los mecanismos moleculares implicados en la muerte neuronal y en el desarrollo del infarto.

La isquemia es un fenómeno agudo, pero la lesión cerebral es un proceso dinámico que se genera de forma progresiva en las horas y días que siguen al inicio de la isquemia.<sup>6</sup> El núcleo isquémico, la zona más afectada que va a sufrir necrosis, está rodeado por la penumbra, que se asocia a tejido en riesgo de desarrollar muerte neuronal. En la penumbra, la muerte neuronal tiene un componente apoptótico<sup>7,8</sup> y progresa de forma más lenta. Este concepto tiene relevancia clínica no sólo porque se cree que la penumbra puede responder a tratamientos farmacológicos y es una diana terapéutica, sino también porque esta zona se puede identificar mediante técnicas de diagnóstico por imagen. La isquemia induce fallo metabólico, liberación masiva de glutamato, aumento de calcio intracelular, excitotoxicidad y fallo en las bombas de membrana, lo que provoca edema citotóxico.<sup>9</sup> Las células no pueden mantener el potencial de membrana, afectando a la viabilidad celular y provocando necrosis. En los animales este proceso se puede prevenir o atenuar administrando antagonistas de los receptores del glutamato o inhibiendo la entrada de calcio, entre otras estrategias. Sin embargo, éstas sólo son efectivas cuando se administran antes o inmediatamente después del inicio del proceso isquémico, y por ello en la práctica clínica es muy difícil detener esta cascada inicial de señales.

### **Reperusión, trombólisis y papel del estrés oxidativo**

Actualmente el único tratamiento aprobado en Europa y Estados Unidos para el ictus es la

trombólisis con activador tisular del plasminógeno (rtPA, alteplasa), con una ventana terapéutica de tres horas. Efectivamente, la reperusión del tejido isquémico es la mejor forma de proteger el cerebro. Sin embargo, la reperusión comporta riesgos, como la hemorragia, y puede tener efectos no deseados. En otros órganos, como el corazón, existe el denominado daño por reperusión que está mediado por el estrés oxidativo, pero en el cerebro la posible magnitud y contribución de este efecto no están bien identificadas. Estudios experimentales han mostrado la eficacia de diversos agentes antioxidantes en la isquemia/reperusión cerebral. Sin embargo, en ensayos clínicos no se han obtenido resultados favorables con antioxidantes. El ejemplo más reciente es el ensayo clínico SAINT II con NXY-059, secuestrador de radicales libres, que ha dado un resultado neutro<sup>10</sup> a pesar de estar avalado por un ensayo clínico previo (SAINT I)<sup>11</sup> y por datos preclínicos sólidos. Basándonos en un estudio preclínico que realizamos<sup>3</sup> y en datos clínicos, nuestro equipo de investigación clínica ha llevado a cabo recientemente un ensayo de fase II con un antioxidante endógeno, el ácido úrico, combinado con rtPA, que ha demostrado seguridad.<sup>12</sup> Próximamente se iniciará un estudio académico multicéntrico de fase III para determinar la eficacia de este tratamiento combinado. La combinación de antioxidantes con trombolíticos podría reducir la tasa de eventos no deseables (hemorragia y muerte) inducidos por estos últimos, y alargar la ventana terapéutica para poder tratar un mayor número de pacientes.

### **Contribución de la inflamación a la lesión isquémica**

La necrosis provoca la liberación del contenido celular al medio extracelular y una respuesta inflamatoria que induce activación de las células gliales del entorno e infiltración leucocitaria.<sup>13,14</sup> Este proceso se puede monitorizar *in vivo* mediante técnicas de imagen.<sup>15</sup> Los primeros leucocitos infiltrantes son los neutrófilos, que aparecen en las prime-

ras horas después del inicio de la isquemia y presentan un pico a las 24-48 horas.<sup>13-15</sup> Los neutrófilos liberan enzimas citotóxicas, como la mieloperoxidasa, y proteinasas de la matriz extracelular, como la MMP-9,<sup>16</sup> y generan estrés oxidativo. En una segunda fase (3-4 días) infiltran monocitos y linfocitos. Los monocitos activados adquieren propiedades fagocíticas de células macrofágicas y eliminan detritus celulares. La infiltración de células T CD4+ y CD8+ también tiene relevancia en la isquemia cerebral y participa en la lesión.<sup>17</sup> Por tanto, la inflamación contribuye a la progresión de la lesión y exacerba el efecto de la isquemia.<sup>9,14</sup>

### *Citocinas*

La isquemia aumenta la expresión de citocinas proinflamatorias y quimiocinas capaces de inducir reactividad glial y atraer diferentes tipos de leucocitos hacia la zona de lesión. Ya en las primeras horas después del inicio de la isquemia se libera factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), interleucinas (IL) y distintos tipos de interferón (IFN),<sup>18</sup> así como quimiocinas. Los títulos de citocinas también aumentan en la sangre y en el líquido cefalorraquídeo, según se ha demostrado en animales de experimentación y en pacientes de ictus. Así, concentraciones sanguíneas elevadas de IL-6 y de TNF- $\alpha$  se correlacionan con deterioro neurológico.<sup>19</sup> Sin embargo, la administración intracerebral de IL-6 tiene efectos neuroprotectores en animales,<sup>20</sup> y también se reconoce el papel dual del TNF- $\alpha$ <sup>21</sup> en función del receptor sobre el cual actúa. La concentración, el lugar y el tiempo de acción de las citocinas pueden desempeñar un papel determinante en estos efectos aparentemente contradictorios. En cambio, concentraciones bajas de la citocina antiinflamatoria IL-10 en pacientes se relaciona con mal pronóstico,<sup>22</sup> lo que concuerda con resultados experimentales que muestran efectos beneficiosos de la IL-10.<sup>23</sup>

### *Vías de señalización intracelular*

Las citocinas se unen a receptores de membrana y activan vías de señalización intracelular

múltiples y complejas, que interactúan provocando una respuesta celular. Mencionaremos dos vías que tienen un papel destacado en la isquemia: el NF- $\kappa$ B<sup>24</sup> y la JAK/STAT<sup>25</sup>. Ambas tienen en común el ser rápidamente activables por un estímulo extracelular, ya que los factores implicados están frecuentemente presentes en el citoplasma, y responden a proteínas cinasas acopladas a receptores de membrana que inducen la liberación de factores proinflamatorios. La activación del NF- $\kappa$ B induce TNF- $\alpha$  y moléculas de adhesión, entre otras. En el caso de JAK/STAT, las cinasas JAK fosforilan en residuos tirosina proteínas de la familia STAT, que después forman homodímeros o heterodímeros, translocan el núcleo y activan la transcripción génica. La JAK/STAT se activa tras la isquemia,<sup>25-28</sup> pero el mecanismo molecular subyacente no se conoce. En cultivos de astrocitos hemos podido comprobar la función fundamental del estrés oxidativo y de ciertas citocinas en la activación de la JAK/STAT.<sup>29,30</sup> Estas vías de señalización también se activan en respuestas de inmunidad innata mediadas por los receptores del tipo Toll-like (TLR) y por varios de sus agonistas (Gorina et al., observaciones no publicadas), como por ejemplo el lipopolisacárido bacteriano, que actúa por vía de TLR-4. Recientemente se ha demostrado que la isquemia cerebral produce lesiones menores en animales deficientes en TLR-4.<sup>31</sup> Por tanto, en la isquemia, la inflamación y la inmunidad innata están íntimamente relacionadas.

### *Moléculas de adhesión*

La infiltración leucocitaria está mediada por la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio vascular cerebral, y dichas moléculas se han propuesto como diana de intervención terapéutica. Algunas de estas moléculas son inducibles y responden a señales intracelulares proinflamatorias. Así, la ICAM-1, a la cual se reconoce un papel importante en la infiltración de neutrófilos, responde a la activación del NF- $\kappa$ B. En animales, el bloqueo de la ICAM-1 mediante anticuerpos impide la infiltración de neutrófilos al tejido después de

la isquemia<sup>15</sup> y ejerce un efecto beneficioso en la isquemia/reperfusión.<sup>32</sup> Estos resultados preclínicos positivos promovieron un ensayo clínico en pacientes de ictus con enlimomab, un anticuerpo anti-ICAM-1. Sin embargo, este estudio resultó negativo.<sup>33</sup>

En nuestro laboratorio bloqueamos otra molécula de adhesión inducible, la VCAM-1, que participa en la infiltración de monocitos. La administración de anticuerpos bloqueantes contra VCAM-1 redujo la infiltración de macrófagos al tejido, pero no impidió de forma global la infiltración leucocitaria.<sup>2</sup> Más aún, esta estrategia no disminuyó el volumen del infarto ni atenuó el déficit neurológico.<sup>2</sup> Tales resultados muestran que la regulación de la infiltración leucocitaria es compleja y que la intervención sobre un único proceso es insuficiente, o puede alterar el equilibrio preexistente entre señales y tener consecuencias negativas.

### **Alteración del sistema inmunitario**

El SNC y el sistema inmunitario están estrechamente conectados.<sup>34</sup> Así, una situación de estrés o una lesión cerebral aguda provocan liberación de corticosteroides y catecolaminas al torrente sanguíneo.<sup>34</sup> Los linfocitos tienen receptores adrenérgicos, y las catecolaminas promueven la apoptosis de linfocitos T *naïve* y Th1, mientras que potencian una respuesta antiinflamatoria de tipo Th2. Este efecto induce un estado de inmunosupresión que se ha demostrado que ocurre en la isquemia cerebral en animales de experimentación,<sup>35,36</sup> y datos obtenidos por nuestro equipo apoyan la existencia de dicho efecto también en los pacientes de ictus.<sup>37,38</sup> La inmunosupresión es causa de que los ratones isquémicos adquieran infecciones y mueran,<sup>35</sup> y se cree que puede ser la causa del elevado riesgo de contraer infecciones que tienen los pacientes de ictus.<sup>38-40</sup> Las citocinas plasmáticas también pueden tener un papel en este fenómeno, puesto que contribuyen a modular las respuestas Th1/Th2. Se ha propuesto que la respuesta antiinflamatoria asociada a un estado

de inmunosupresión podría ser beneficiosa al limitar el proceso inflamatorio local al tejido isquémico, a expensas de que los sujetos isquémicos fueran más susceptibles a contraer infecciones, e incluso que si la infección se pudiera detectar precozmente, y tratar o incluso prevenir, el efecto global podría ser beneficioso.<sup>38,40</sup> Sin embargo, en pacientes no se ha podido demostrar el beneficio de la profilaxis con antibióticos para prevenir las infecciones tras un ictus.<sup>41</sup>

### **Efectos vasculares: citocinas y estrés oxidativo**

La isquemia/reperfusión genera una respuesta inflamatoria local y sistémica asociada a la liberación de citocinas y radicales libres<sup>9</sup> que pueden influir en la reactividad vascular. Tanto las citocinas como los radicales libres se han relacionado con las disfunciones endoteliales observadas en diversas enfermedades cardiovasculares.<sup>42,43</sup> Tras el ictus se produce un aumento de la presión arterial, que aproximadamente en un tercio de los pacientes se mantiene hasta 10 días después del inicio de los síntomas neurológicos.<sup>44</sup> Los mecanismos implicados en la hipertensión observada después de un accidente vascular cerebral no están del todo dilucidados, aunque se ha sugerido la implicación del sistema nervioso simpático. Las arterias mesentéricas de resistencia participan de manera importante en la regulación del tono vascular y, en consecuencia, de la presión arterial. Por ello, las alteraciones en el tono vascular de estas arterias podrían desempeñar un papel importante en la progresión y en la patogenia de las enfermedades vasculares,<sup>45</sup> entre ellas el ictus. El tono de las arterias de resistencia depende de la relación entre diversos factores (vasoconstrictores y vasodilatadores) liberados por las células endoteliales y la noradrenalina liberada por estimulación simpática, que a su vez actúa sobre los receptores adrenérgicos de las células musculares lisas, produciendo vasoconstricción.

En nuestro laboratorio hemos observado que la incubación con citocinas afecta las

respuestas vasoconstrictoras y vasodilatadoras en las arterias mesentéricas de resistencia.<sup>5,45,46</sup> Puesto que el ictus produce cambios en la presión arterial, nos planteamos si la isquemia/reperfusión cerebral podría afectar las respuestas vasoconstrictoras y vasodilatadoras en las arterias mesentéricas de resistencia. Así, en ratas observamos que tras un periodo de oclusión (90 minutos) de la arteria cerebral media, seguido de reperfusión (24 horas), se produce un aumento de las citocinas circulantes acompañado por una clara disfunción endotelial, sin que se afecten las respuestas vasoconstrictoras mediadas por los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos. Estos cambios se asocian a aumentos en la producción de aniones superóxido y en la expresión de ciclooxigenasa-2. La disfunción endotelial fue revertida por la superóxido dismutasa y por la indometacina. Estos resultados nos llevan a proponer que una producción excesiva de aniones superóxido en las arterias mesentéricas de resistencia

media la disfunción endotelial observada tras la isquemia cerebral, y que en este efecto podría estar involucrado un aumento de las citocinas circulantes.<sup>47</sup> Todo ello contribuiría a las alteraciones de la presión arterial observadas tras el ictus. Estos trabajos abren la puerta a nuevas investigaciones con fármacos que puedan modificar alguna de las dianas alteradas en el sistema nervioso periférico y contribuir, en un futuro, a paliar algunos de los efectos vasculares sistémicos tras el ictus.

### Dianas terapéuticas

Basándonos en gran medida en estudios realizados por nuestros equipos de investigación, identificamos el estrés oxidativo y la inflamación como dianas terapéuticas para combatir la lesión isquémica (Fig. 1), y que avalan la combinación de trombolíticos y otros fármacos para tratar el ictus. La base

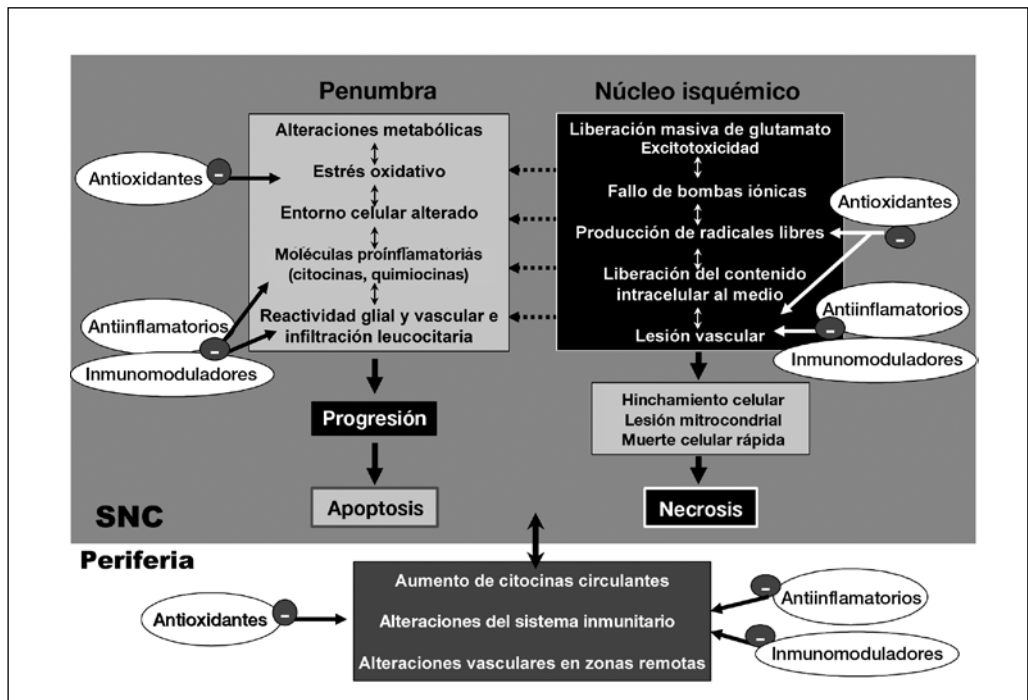


Figura 1. Posibles dianas de acción terapéutica en la isquemia cerebral.

de este planteamiento es que la reperfusión puede rescatar el tejido en riesgo (penumbra), pero puede inducir estrés oxidativo, activar vías proinflamatorias e inducir reactividad glial y vascular, y favorecer la infiltración de leucocitos. Se tienen datos que apoyan el uso de trombolíticos y antioxidantes, y muestran el efecto nocivo de la inflamación. Además, se han identificado respuestas sistémicas, vasculares e inmunitarias, que contribuyen al proceso patológico desencadenado por el ictus. Combatir la inflamación cerebral parece ser beneficioso para el tejido lesionado y para prevenir diversas alteraciones vasculares, pero queda por aclarar de qué modo potenciar las respuestas antiinflamatorias podría inducir o exacerbar la condición de inmunodepresión generada tras el ictus, y si este fenómeno podría incrementar el riesgo de infección y muerte en los pacientes.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Planas AM, Soriano MA, Rodríguez-Farré E, Ferrer I. Induction of COX-2 mRNA and protein following transient focal ischemia in the rat brain. *Neurosci Lett*. 1995; 200:187-90.
2. Justicia C, Martín A, Rojas S, Gironella M, Cervera A, Panés J, et al. Anti-VCAM-1 antibodies did not protect against ischemic damage either in rats or in mice. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2006;26:421-32.
3. Romanos E, Planas AM, Amaro S, Chamorro A. Uric acid reduces brain damage and improves the benefits of rt-PA in a rat model of thromboembolic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2007;27:14-20.
4. Martín A, Rojas S, Chamorro A, Falcón C, Bargalló N, Planas AM. Why does acute hyperglycemia worsen the outcome of transient focal cerebral ischemia? Role of corticosteroids, inflammation, and protein O-glycosylation. *Stroke*. 2006;37:1288-95.
5. Jiménez-Altayó F, Martín A, Rojas S, Justicia C, Briones AM, Giraldo J, et al. Transient middle cerebral artery occlusion causes different structural, mechanical, and myogenic alterations in normotensive and hypertensive rats. *Am Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293:H628-35.
6. Rojas S, Martín A, Justicia C, Falcón C, Bargalló N, Chamorro A, et al. Modest MRI signal intensity changes precede delayed cortical necrosis after transient focal ischemia in the rat. *Stroke*. 2006;37:1525-32.
7. Ferrer I, Friguls B, Dalfó E, Justicia C, Planas AM. Caspase-dependent and caspase-independent signalling of apoptosis in the penumbra following middle cerebral artery occlusion in the adult rat. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2003;29:472-81.
8. Ferrer I, Planas AM. Signaling of cell death and survival following focal cerebral ischemia: life and death struggle in the penumbra. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2003;62:329-39.
9. Hossmann KA. Pathophysiology and therapy of experimental stroke. *Cell Mol Neurobiol*. 2006; 26:1057-83
10. [www.astrazeneca.com/pressrelease/5279.aspx](http://www.astrazeneca.com/pressrelease/5279.aspx)
11. Lees KR, Zivin JA, Ashwood T, Davalos A, Davis SM, Diener HC, et al. Stroke-Acute Ischemic NXY Treatment (SAINT I) Trial Investigators. NXY-059 for acute ischemic stroke. *N Engl J Med*. 2006; 354:588-600.
12. Amaro S, Soy D, Obach V, Cervera A, Planas AM, Chamorro A. A pilot study of dual treatment with recombinant tissue plasminogen activator and uric acid in acute ischemic stroke. *Stroke*. 2007;38:2173-5.
13. García JH, Liu KF, Yoshida Y, Lian J, Chen S, del Zoppo GJ. Influx of leukocytes and platelets in an evolving brain infarct (Wistar rat). *Am J Pathol*. 1994;144:188-99.
14. Hallenbeck JM. Significance of the inflammatory response in brain ischemia. *Acta Neurochir. Suppl* 1996; 66:27-31.
15. Rojas S, Martín A, Arranz MJ, Pareto D, Purroy J, Verdaguer E, et al. Imaging brain inflammation with [(11)C]PK11195 by PET and induction of the peripheral-type benzodiazepine receptor after transient focal ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2007;27:1975-86.
16. Justicia C, Panés J, Solé S, Cervera A, Deulofeu R, Chamorro A, et al. Neutrophil infiltration increases matrix metalloproteinase-9 in the ischemic brain after occlusion/reperfusion of the middle cerebral artery in rats. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2003;23:1430-40.
17. Yilmaz G, Arumugam TV, Stokes KY, Granger DN. Role of T lymphocytes and interferon-gamma in ischemic stroke. *Circulation*. 2006;113:2105-12.
18. Li HL, Kostulas N, Huang YM, Xiao BG, van der Meide P, Kostulas V, et al. IL-17 and IFN-

- gamma mRNA expression is increased in the brain and systemically after permanent middle cerebral artery occlusion in the rat. *J Neuroimmunol.* 2001;116:5-14.
19. Vila N, Castillo J, Dávalos A, Esteve A, Planas AM, Chamorro A. Levels of anti-inflammatory cytokines and neurological worsening in acute ischemic stroke. *Stroke.* 2003; 34:671-5.
  20. Loddick SA, Turnbull AV, Rothwell NJ. Cerebral interleukin-6 is neuroprotective during permanent focal cerebral ischemia in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1998;18:176-9.
  21. Hallenbeck JM. The many faces of tumor necrosis factor in stroke. *Nat Med.* 2002;8:1363-8.
  22. Vila N, Castillo J, Dávalos A, Esteve A, Planas AM, Chamorro A. Levels of anti-inflammatory cytokines and neurological worsening in acute ischemic stroke. *Stroke.* 2003;34:671-5.
  23. Ooboshi H, Ibayashi S, Shichita T, Kumai Y, Takada J, Ago T, et al. Postischemic gene transfer of interleukin-10 protects against both focal and global brain ischemia. *Circulation.* 2005;111:913-9.
  24. Mattson MP, Camandola S. NF-kappaB in neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *J Clin Invest.* 2001;107:247-54.
  25. Planas AM, Gorina R, Chamorro A. Signalling pathways mediating inflammatory responses in brain ischaemia. *Biochem Soc Trans.* 2006;34:1267-70.
  26. Planas AM, Soriano MA, Berrueto M, Justicia C, Estrada A, Pitarch S, et al. Induction of Stat3, a signal transducer and transcription factor, in reactive microglia following transient focal cerebral ischaemia. *Eur J Neurosci.* 1996;8:612-8.
  27. Planas AM, Justicia C, Ferrer I. Stat1 in developing and adult rat brain. Induction after transient focal ischemia. *Neuroreport.* 1997;8:1359-62.
  28. Justicia C, Gabriel C, Planas AM. Activation of the JAK/STAT pathway following transient focal cerebral ischemia: signaling through Jak1 and Stat3 in astrocytes. *Glia.* 2000;30:253-70.
  29. Gorina R, Petegnief V, Chamorro A, Planas AM. AG490 prevents cell death after exposure of rat astrocytes to hydrogen peroxide or proinflammatory cytokines: involvement of the Jak2/STAT pathway. *J Neurochem.* 2005;92:505-18.
  30. Gorina R, Sanfeliu C, Galitó A, Messeguer A, Planas AM. Exposure of glia to pro-oxidant agents revealed selective Stat1 activation by H2O2 and Jak2-independent antioxidant features of the Jak2 inhibitor AG490. *Glia.* 2007;55:1313-24.
  31. Caso JR, Pradillo JM, Hurtado O, Lorenzo P, Moro MA, Lizasoain I. Toll-like receptor 4 is involved in brain damage and inflammation after experimental stroke. *Circulation.* 2007;115:1599-608.
  32. Zhang RL, Chopp M, Jiang N, Tang WX, Probst J, Manning AM, et al. Anti-intercellular adhesion molecule-1 antibody reduces ischemic cell damage after transient but not permanent middle cerebral artery occlusion in the Wistar rat. *Stroke.* 1995;26:1438-42.
  33. Enlimomab Acute Stroke Trial Investigators. Use of anti-ICAM-1 therapy in ischemic stroke: results of the Enlimomab Acute Stroke Trial. *Neurology.* 2001;57:1428-34.
  34. Meisel C, Schwab JM, Prass K, Meisel A, Dirnagl U. Central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome. *Nat Rev Neurosci.* 2005;6:775-86.
  35. Prass K, Meisel C, Höflich C, Braun J, Halle E, Wolf T, et al. Stroke-induced immunodeficiency promotes spontaneous bacterial infections and is mediated by sympathetic activation reversal by poststroke T helper cell type 1-like immunostimulation. *J Exp Med.* 2003;198:725-36.
  36. Offner H, Subramanian S, Parker SM, Wang C, Afentoulis ME, Lewis A, et al. Splenic atrophy in experimental stroke is accompanied by increased regulatory T cells and circulating macrophages. *J Immunol.* 2006;176:6523-31.
  37. Chamorro A, Amaro S, Vargas M, Obach V, Cervera A, Torres F, et al. Interleukin 10, monocytes and increased risk of early infection in ischaemic stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2006;77:1279-81.
  38. Chamorro A, Urra X, Planas AM. Infection after acute ischemic stroke: a manifestation of brain-induced immunodepression. *Stroke.* 2007;38:1097-103.
  39. Chamorro A, Amaro S, Vargas M, Obach V, Cervera A, Gómez-Choco M, et al. Catecholamines, infection, and death in acute ischemic stroke. *J Neurol Sci.* 2007;252:29-35.
  40. Dirnagl U, Klehmet J, Braun JS, Harms H, Meisel C, Ziemssen T, et al. Stroke-induced immunodepression: experimental evidence and clinical relevance. *Stroke.* 2007;8(2 Suppl):770-3.
  41. Vargas M, Horcajada JP, Obach V, Revilla M, Cervera A, Torres F, et al. Clinical consequences of infection in patients with acute stroke: is it prime time for further antibiotic trials? *Stroke.* 2006;37:461-5.

42. Dandona P, Ghanim H, Broops DP. Antioxidant activity of carvedilol in cardiovascular disease. *J Hypert.* 2007;25:731-41.
43. Xu S, Touyz RM. Reactive oxygen species and vascular remodelling in hypertension: still alive. *Can J Cardiol.* 2006; 22:947-51.
44. Varon J, Marik PE. The diagnosis and management of hypertensive crises. *Chest.* 2000;118:214-27.
45. Vila E, Salaices M. Cytokines and vascular reactivity in resistance arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005; 288:H1016-21
46. Briones AM, Salaices M, Vila E. Ageing alters the production of nitric oxide and prostanoids after IL-1 $\beta$  exposure in mesenteric resistance arteries. *Mech Ageing Dev.* 2005;126:710-21.
47. Martínez-Revelles S, Jiménez-Altayó F, Caracuel L, Pérez-Asensio FJ, Planas AM, Vila E. Endothelial dysfunction in rat mesenteric resistance artery after transient middle cerebral artery occlusion. *J Pharmacol Exp Ther.* 2008;325:363-9. Epub 2008 Feb 7.

## DISCUSIÓN

**M.I. COLADO:** ¿Tenéis experiencia en la utilización de inhibidores de la activación de la microglía sobre el volumen de infarto?

**A.M. PLANAS:** Con inhibidores directos no tenemos datos.

**M.I. COLADO:** Has mostrado los resultados de administrar tPA tres horas después de la lesión. ¿Qué sucede si se administra más tarde?

**A.M. PLANAS:** A las cinco horas todavía se observan efectos protectores, pero normalmente van acompañados de más hemorragias y mortalidad. Por lo tanto, cuando no aparecen estos efectos negativos, el daño es menor.

**S. ERILL:** ¿Funciona el preconditionamiento isquémico en el cerebro?

**A.M. PLANAS:** Es un campo muy amplio y muy interesante, pero nosotros no lo abarcamos.

**J.M. VELA:** Si la inhibición de la infiltración de neutrófilos no disminuye el área infartada, pensando en una terapia antiinflamatoria, ¿cuál sería la diana celular?

**A.M. PLANAS:** Se han publicado resultados muy controvertidos sobre los neutrófilos. Al trabajar con animales neutropénicos, más susceptibles de morir, resulta difícil demostrar

su posible beneficio. Además, los neutrófilos también desempeñan un papel sobre el sistema inmunitario. Éste es un nuevo campo en el cual ahora estamos entrando para estudiar de qué manera el daño cerebral afecta al sistema inmunitario.

**C. GOICOECHEA:** ¿Qué correlación existe entre la participación de la microglía y los astrocitos?

**A.M. PLANAS:** En una lesión isquémica muere tanto la microglía como los astrocitos. A medida que pasan los días, la microglía se activa mucho en el núcleo isquémico, donde adquiere una morfología indistinguible de los macrófagos que están infiltrando. La astrogliosis se sitúa alrededor de esta zona repleta de macrófagos y allí se genera la cicatriz glial. Si en el curso del tiempo se activan primero unas u otras... Probablemente ambas están respondiendo ante una lesión.

**J.A. ARMILLO:** ¿Los antiglutamérgicos serían válidos en la neuroprotección en un modelo de isquemia cerebral? ¿Podrían interaccionar con la inflamación?

**A.M. PLANAS:** Sí, para mí la combinación de fármacos es una buena estrategia. Lo que sucede es que es difícil trasladar a la clínica la prevención de la cascada de señales en que interviene el glutamato. Precisamente,



un estudio de un antagonista de NMDA en humanos se tuvo que interrumpir porque producía importantes efectos psicológicos no detectados previamente en animales.

**M.J. RAMÍREZ:** Nosotros tenemos experiencia con la utilización de MK801, un antagonista de NMDA, en el animal de experimentación, y ciertamente produce problemas cognitivos terribles acompañados de un síndrome motor imposible de discernir del cognitivo, de modo que en la prueba del laberinto acuático de Morris no se logra diferenciar si el animal no alcanza la plataforma porque no la distingue o porque está tan incoordinado que es incapaz de nadar correctamente.

**A.M. PLANAS:** Creo que lo que acabas de mencionar es un ejemplo muy claro de uno de los problemas que tenemos en experimentación. A veces observamos efectos a los que no damos importancia y luego tienen una gran repercusión en otra investigación. Es obligatorio estar bien alerta ante aspectos que a lo mejor no nos convienen para publicar el artículo, pero que no dejan de ser muy relevantes para la investigación en general.

**J.M. BAEYENS:** Si existen cambios motores muy evidentes y otros cognitivos muy sutiles, la utilización de la escala para valorar la eficacia funcional parece ser clave.

**A.M. PLANAS:** Sí, la alteración motora es tan importante que enmascara los problemas cognitivos. Puede ser que las pruebas de resonancia funcional sean una forma más objetiva de valoración, pero todavía no se ha estudiado convenientemente.

**J. LLENAS:** ¿Las ratas que utilizáis tienen el polígono de Willis preservado?

**A.M. PLANAS:** Sí, está preservado, pero esto no impide que se induzca isquemia focal cuando se ocluye la arteria cerebral media. En cambio, para realizar isquemia global utilizamos jerbos porque tienen poca comunicación entre las arterias vertebrales y las carótidas, de modo que ocluyendo únicamente las carótidas se produce una isquemia global de la parte anterior del cerebro. Si no fuese así, gracias al polígono de Willis existiría irrigación suficiente y no se produciría la isquemia, por lo que en la rata, para inducir isquemia global, es necesario ocluir las arterias vertebrales además de las carótidas.