

Universidade Lisboa
Faculdade de Farmácia



Novas abordagens farmacológicas no tratamento de doentes com diagnóstico de AVC isquémico com contra-indicação para terapêutica trombolítica.

Maria de Sá Lourenço

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2019

Universidade Lisboa
Faculdade de Farmácia



Novas abordagens farmacológicas no tratamento de doentes com diagnóstico de AVC isquémico com contraindicação para terapêutica trombolítica.

Maria de Sá Lourenço

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de
Farmácia**

Orientador: Doutor João Pedro Fidalgo Rocha, Professor Auxiliar

2019

1. Resumo

O AVC isquêmico é uma das principais causas de morte no mundo, estando inserido nas doenças cardiovasculares. O AVC isquêmico agudo é a maior causa de mortalidade e incapacidade dos adultos e a sua importância tendencialmente será maior à medida que a população envelhece. Caracteriza-se pela perda de circulação sanguínea em determinada área do cérebro, levando a perda de função neurológica na zona correspondente. Atualmente a única terapêutica aprovada é a trombólise, nomeadamente a administração de alteplase (rt-PA), num intervalo até 3 horas após o início dos sintomas. No entanto, o número de doentes elegíveis para este tratamento é diminuto, tendo em conta as várias contraindicações existentes. Nesta monografia será abordada a investigação em torno da procura de novas abordagens farmacológicas para o tratamento de doentes com diagnóstico de AVC isquêmico, para os quais está contraindicada a terapêutica preconizada. Devido à complexidade da fisiopatologia desta doença têm sido propostos vários alvos terapêuticos, em que a inflamação surge como o principal alvo. Têm sido analisadas várias possibilidades de atuação, sendo que a área do *repurposing* aparenta ser mais promissora. Fármacos como a minociclina, fingolimod, candesartan entre outros demonstraram ação neuroprotetora, tornando-se potenciais fármacos para esta patologia. As terapias baseadas em células estaminais têm emergido como nova direção no tratamento protetor e regenerativo do AVC isquêmico. Importa avaliar os modelos animais atualmente utilizados, visto que ainda há um longo caminho a percorrer dado que a transposição da investigação pré-clínica para clínica tem sido alvo de inúmeros insucessos e nenhum fármaco demonstrou capacidade similar à terapêutica trombolítica. De futuro, fármacos como as Estatinas, ARAs, minociclina e fatores de crescimento, como a eritropoietina podem ser utilizados na prática clínica. Para além disso, o futuro do tratamento desta doença recai, mais provavelmente, em terapia combinada do que em monoterapia. A combinação de terapias e os esforços realizados para alargar a janela terapêutica da trombólise poderá acarretar mais benefícios em doentes que sofreram AVC isquêmico agudo.

Palavras-chave: AVC isquêmico, neuroprotecção, alteplase, reposicionamento de fármacos

2. Abstract

Ischemic stroke, a cardiovascular disease, is one of the leading causes of death in the world. The acute ischemic stroke is the major cause of disability in adults and its relevance will be increasingly bigger as the population ages. This disease is described as a loss of blood flow in a certain brain area, leading to loss of neurological function in said zone. Currently, the only approved drug is alteplase, a thrombolytic therapy, and must be given in the first three hours after onset of symptoms. However, the number of eligible patients is quite short given its strict criteria of eligibility. In this document it will be made an approach to current research regarding new pharmacological strategies for the treatment of ischemic stroke, for patients where it isn't possible to give thrombolysis. Due to the complexity of stroke pathophysiology, it has been proposed several therapeutic targets, in which inflammation has emerged as main target. The most promising approach seems to be repurposing of drugs. Drugs such as minocline, fingolimod, candesartan amongst others have demonstrated neuroprotective action, making them possible drugs for the treatment. Stem cells based therapy has emerged as a new direction for the protective and regenerative treatment of ischemic stroke. It is important to evaluate the currently used animal models, considering that there is a long way to go, specially regarding translation of preclinical to clinical research, which has been suffering several failures and nothing seems to be as effective as alteplase. In the future, drugs such as statins, minocline, growth factors such as erythropoietin can be used in the clinical practice. Clearly, the future of the treatment of ischemic stroke is in combined therapy rather than monotherapy. The combination of therapies and the efforts to broaden the therapeutic time window for thrombolysis will bring more benefits to patients who have suffered acute ischemic stroke.

Keywords: Ischemic stroke, neuroprotection, alteplase, drug repurposing

3. Agradecimentos

Em primeiro lugar, um agradecimento ao Professor João Rocha por todo o apoio e motivação prestados e por fazer desta monografia, mais do que uma simples revisão, mas algo que indique um caminho para o futuro da investigação.

Aos meus pais, à Teresa, ao Tiago e ao Pedro por serem mais do que eu pedi, por estarem lá quando eu não estava e por me aturarem todas as ausências. Um obrigado nunca será suficiente por me permitirem terminar esta etapa.

Aos meus verdadeiros amigos que encontrei nesta faculdade, por terem estado sempre ao meu lado. Não seria a mesma sem vocês, obrigada por terem sido tão compreensivos e por dizerem sempre a palavra certa no momento certo.

À AEFFUL, à Missão País e a todos os que eu encontrei durante este percurso porque fizeram de mim a pessoa que sou hoje e me fizeram crescer como mais ninguém conseguiu.

A ti, por absolutamente tudo.

4. Índice

1. Resumo.....	3
2. Abstract	4
3. Agradecimentos.....	5
5. Índice de figuras	7
6. Introdução.....	8
a. Definição	8
b. Epidemiologia	10
i. Contexto europeu	10
ii. Contexto Português	12
c. Fisiopatologia	13
d. Terapêutica	17
e. Contraindicações absolutas e relativas a terapêutica trombolítica	23
7. Objetivos	27
8. Materiais e Métodos	27
9. Resultados e Discussão	27
10. Conclusões.....	38
11. Referências bibliográficas	40

5. Índice de figuras

Figura 1- Taxa de novos AVC e morte devido a AVC por cada 100000 habitantes, ajustada ao sexo e idade, em 1995 e 2015 (12)	11
Figura 2- Taxa de trombólise em unidades auditadas nacionais/regionais ou estimativas nacionais no ano referido (12)	11
Figura 3 - Taxa de mortalidade e morbilidade para o Acidente Vascular Cerebral, em 2011 e 2015 (11).....	12
Figura 4 - Acidente Vascular Cerebral Doentes sujeitos a fibrinólise (11).....	12
Figura 5- Efeitos da isquémia cerebral nas citoquinas inflamatórias e nas células imunitárias e o seu contributo para a neurotoxicidade (17)	16
Figura 6- Interações multifásicas cerebrais após o AVC e oportunidades de tratamento (24)	17
Figura 7- Tratamento geral do AVC isquémico - Recomendações da ESO 2008 (27)..	19
Figura 8 - Tratamento específico do AVC isquémico - Recomendações da ESO 2008 (27)	19

6. Introdução

No âmbito do término do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com vista a obtenção do grau de Mestre, pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, surge a redação desta Monografia, sob o tema “Novas abordagens farmacológicas no tratamento de doentes com diagnóstico de AVC isquémico com contra-indicação para terapêutica trombolítica”.

Segundo a OCDE, as doenças cardiovasculares são a principal causa de morte na União Europeia, ainda que a mortalidade por este motivo tenha vindo a decrescer (1). Em Portugal, a tendência europeia concretiza-se, sendo as doenças do aparelho circulatório (nas quais se inserem as doenças cardiovasculares), também a principal causa de morte, contribuindo com 29.4% para a mortalidade, segundo o Instituto Nacional de Estatística (2).

O Acidente Vascular Cerebral (AVC) Isquémico insere-se na categoria das doenças cardiovasculares (3). Nesse sentido, torna-se clara e premente a necessidade de procurar combater a mortalidade desta patologia. Como poderá ser constatado ao longo deste documento, será foco desta monografia procurar fazer uma análise ao panorama atual do AVC Isquémico e avaliar novas abordagens farmacológicas para o tratamento desta doença em utentes que não se encontram elegíveis para o tratamento preconizado e aceite atualmente pelas normas, no que à investigação diz respeito. Com vista a uma contextualização clara que facilite a compreensão das descobertas obtidas durante a elaboração desta monografia, apresenta-se primeiramente uma introdução sobre o AVC isquémico, o seu panorama epidemiológico, fisiopatologia e terapêutica atualmente prevista, juntamente com as suas contra-indicações que darão o mote para as principais conclusões a apresentar nesta monografia.

a. Definição

A definição atual de Acidente Vascular Cerebral (em inglês *stroke*) da Organização Mundial de Saúde, primeiramente introduzida em 1970 e ainda utilizada, está descrita como o rápido desenvolvimento de sinais clínicos focais ou globais de um distúrbio na função cerebral de duração superior a 24 horas ou que leve à morte, sem causa aparente de outra origem vascular (3). Através desta definição, o acidente vascular cerebral isquémico transitório tipicamente caracterizado por ter uma duração inferior a 24 horas ou doentes com sintomas de AVC com hemorragias subdurais, tumores, envenenamento ou trauma estão excluídos desta definição (4). Naturalmente, volvidos mais de 40 anos desde a primeira definição, o desenvolvimento do conhecimento e as descobertas no que concerne à fisiopatologia, sintomatologia, etiologia e a evolução na imagem levam a que tenha havido necessidade de atualizar esta definição (3). Destaca-se a definição do AVC isquémico transitório, amplamente discutido ao longo do tempo, dado que envolvia a problemática da duração do evento (24 horas), aparentemente arbitrária e sem dados que o suportassem na primeira definição.

Perante um conceito obsoleto, surgia a urgência de uma melhor categorização e sistematização do conceito de AVC. Nesse sentido, em 2013, a *American Heart Association* (AHA) publicou o artigo “*An updated definition of Stroke for the 21st century: a statement for Healthcare professionals from the American Heart*

Association/American Stroke Association”. Neste documento, os autores consideravam que o termo AVC deveria ser um conceito abrangente englobando um conjunto de definições que caracterizam um deficit neurológico devido a lesão aguda, de causa vascular. Na lista de termos descritos é possível encontrar o conceito de AVC isquémico, que o definem como “um episódio de disfunção neurológica causado por enfarte retinal, espinal ou cerebral focal (3). Estes mesmos autores defendem que o conceito de AVC isquémico deveria ser limitado a isquémia focal e excluir a isquémia global, maioritariamente pelas diferenças de patologia e mecanismo, sendo que a isquémica focal ocorre numa área de perfusão da artéria em estenose ou que se encontre ocluída e a morte celular ocorre nessa mesma área, ao passo que a isquemia global resulta da diminuição da perfusão cerebral como resultado da diminuição da pressão arterial afetando áreas mais sensíveis e não é restrito a zonas particulares, podendo ser generalizada.

Assim, para efeitos desta monografia considera-se o Acidente Vascular Cerebral como sendo caracterizado enquanto perda de circulação sanguínea em determinada área do cérebro, levando a perda de função neurológica na zona correspondente. Este pode ser classificado em AVC isquémico ou hemorrágico. O AVC isquémico agudo é provocado, normalmente, por oclusão trombótica ou embólica de uma artéria cerebral, ao passo que o AVC hemorrágico (não abordado nesta monografia) deriva de rutura de vasos, com consequente hemorragia (5).

Neste sentido, foram desenvolvidos ao longo do tempo vários sistemas de classificação etiológica do AVC. O sistema de classificação mais utilizado em doentes é o sistema TOAST. Este baseia-se numa análise clínica aplicada aos resultados obtidos no exame neurológico, imagem cerebral, eletrocardiograma padrão nas 24 horas, ecocardiograma e ultrassons das artérias extra e intracranianas, que permite determinar a etiologia mais provável. Em particular, o sistema TOAST classifica os AVC isquémicos nas seguintes categorias: devido a aterosclerose de grandes vasos, de origem cardioembólica, de doença de pequenos vasos, outras causas “determinadas” ou de etiologia indeterminada (6,7).

Para além deste sistema, existem outros, nomeadamente o *Causative Classification of Stroke* (CCS) e a classificação ASCO. O sistema CCS está a evoluir a exatidão da evidência do diagnóstico do subtipo de AVC isquémico, a partir do nível de evidência existente de forma a atingir o mecanismo mais provável, em situações de múltiplas causas possíveis. O processo avalia para além dos testes etiológicos e padroniza o processo de decisão clínica, através da substituição do algoritmo pelo julgamento individual do médico, para atingir a causa do AVC(7,8).

O sistema de classificação ASCO (A= aterosclerose, S= doença dos pequenos vasos, C= patologia cardíaca, O=outras causas) não determina a causa final do AVC propriamente dita, mas tem em conta a combinação de todos os potenciais mecanismos avaliados pelo seu impacto. Esta abordagem é mais descritiva, tendo sido acrescentada mais uma letra, D, na sua revisão em 2013, que representa a disseção, comum nesta tipologia de doentes (7,9).

Para além dos sistemas de classificação etiológica do AVC, foram também desenvolvidas ferramentas para avaliar o estado neurológico do doente. Nesse sentido,

surgiu uma ferramenta de avaliação sistemática, a *National Institutes of Health Stroke Scale* (NIHSS). Esta ferramenta permite medir quantitativamente o défice neurológico relacionado com o AVC. Inicialmente desenvolvida para a medição em ensaios clínicos, atualmente é amplamente utilizada na prática clínica como forma de avaliar a acuidade dos doentes de AVC, determinar a terapêutica apropriada e prever o resultado do doente(10).

A NIHSS é uma escala de avaliação composta por 15 itens, que analisa o efeito do enfarte cerebral agudo a nível de consciência, linguagem, negligência, perda do campo visual, movimento extraocular, força motora, ataxia, disartria e perda sensorial. O examinador experiente classifica a capacidade do doente de resposta às questões e atividades. A análise requer menos de 10 minutos para ficar completa. Neste sentido, a avaliação da gravidade do AVC depende da capacidade do examinador de avaliar corretamente e consistentemente o doente (10).

b. Epidemiologia

i. Contexto europeu

A OCDE refere que as doenças cardiovasculares são a principal causa de morte nos estados membros da União Europeia, representando cerca de 36% das mortes na região em 2010. Elas abrangem um leque alargado de doenças relacionadas com o sistema circulatório, incluindo a Doença Isquémica Cardíaca e as Doenças Cérebro Vasculares (11). Destas, o AVC aparece como a segunda principal causa de morte no mundo.

A nível europeu, a mortalidade tem vindo a diminuir nas últimas décadas, como é possível constatar na figura 1. Para além disso, o número de novos casos tem também diminuído. Aponta-se como principal razão o maior e melhor controlo dos fatores de risco que levaram a uma menor incidência do AVC. No entanto, mantém-se como sendo uma doença de elevada mortalidade (12,13).

A evidência demonstra que as taxas de incidência de AVC estão a diminuir, no entanto, este facto é contrabalançado pelo envelhecimento da população. A taxa de sobrevivência também tem vindo a aumentar, o que significa que o número de pessoas a viver após um evento de AVC será maior. Prevê-se que, em 2035, haja um aumento de 34% do número anual de AVC, a nível europeu. Esta informação aliada a uma maior sobrevivência leva a que se preveja que em 2035 haja um aumento de cerca de 25% de pessoas a viver com AVC enquanto condição crónica. Em Portugal, prevê-se que o número de AVC aumente, acompanhando a tendência europeia (12).

Importa aferir o impacto da terapêutica padrão, abordada mais à frente, isto é, o recurso à trombólise. Nesse sentido, os dados europeus revelam que a percentagem de doentes que é sujeito a esta abordagem é ainda inferior ao esperado, quer seja pelas próprias contraindicações que a terapêutica estabelece como por constrangimentos do próprio sistema de saúde. Na figura 2 é possível analisar a percentagem de doentes trombolisados (12).

Figura 1- Taxa de novos AVC e morte devido a AVC por cada 100000 habitantes, ajustada ao sexo e idade, em 1995 e 2015 (12)

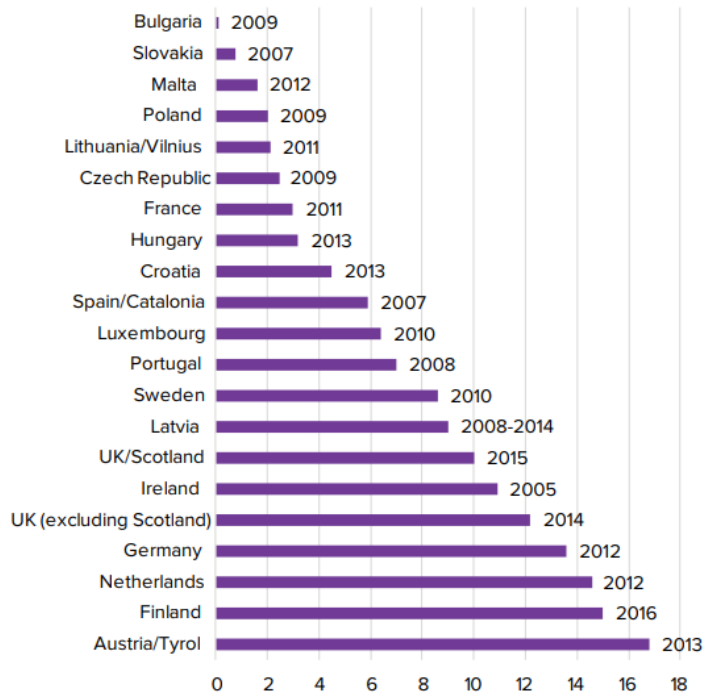
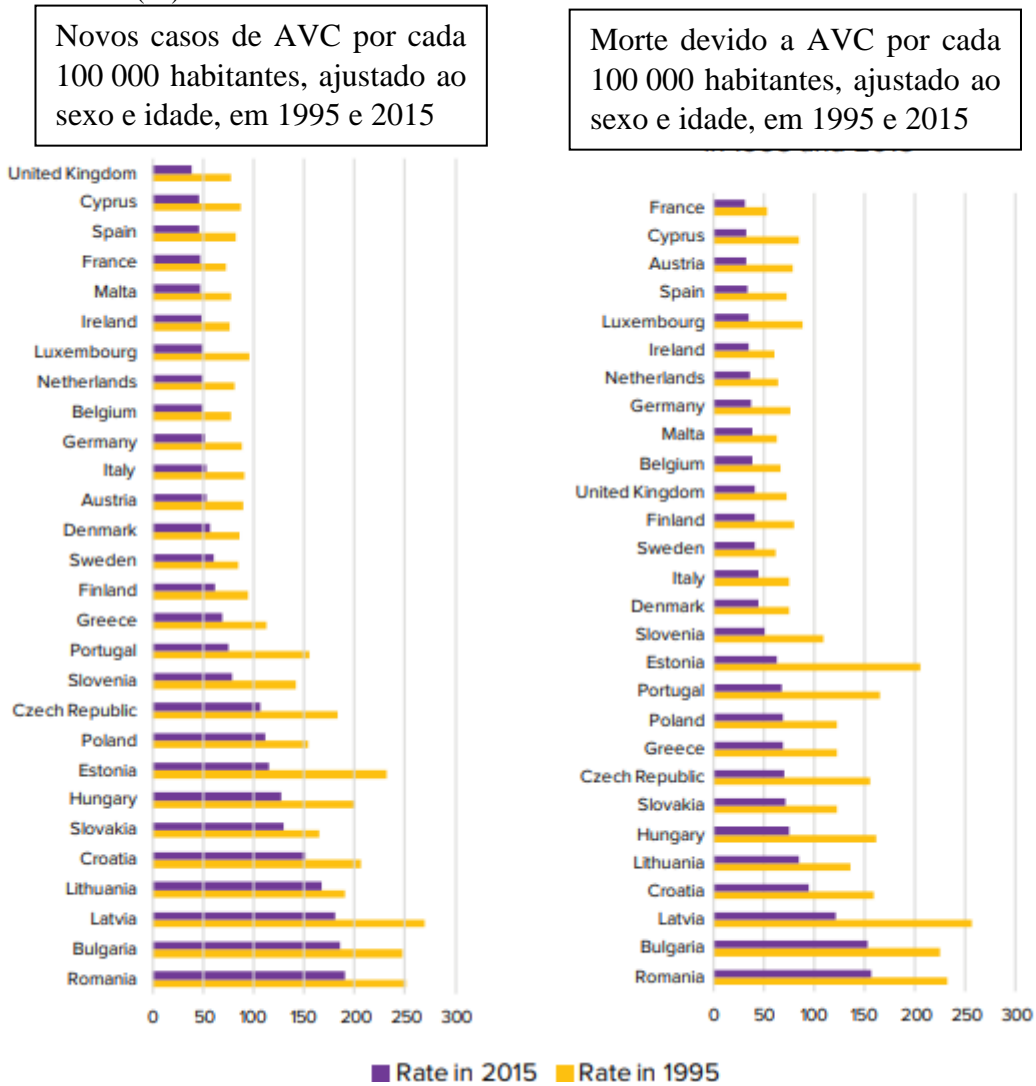


Figura 2- Taxa de trombólise em unidades auditadas nacionais/regionais ou estimativas nacionais no ano referido (12)

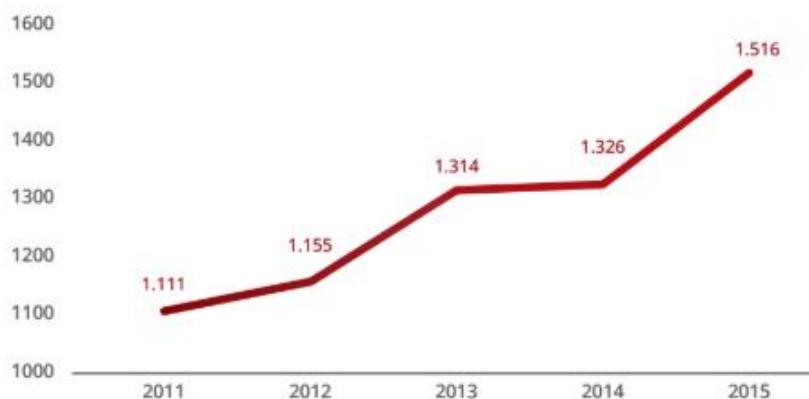
ii. Contexto Português

Em Portugal, o panorama vai de encontro ao espelhado no contexto europeu. Em 2017, foi publicado um relatório no âmbito do Programa para as Doenças Cérebro-Cardiovasculares que descreve o atual estado de saúde dos portugueses nesta área (11). Na figura 3 é possível constatar a elevada mortalidade por AVC, sendo de 49,7%, em 2015. Apesar da descida da mortalidade, confirma-se que os resultados no que diz respeito à morbilidade não são positivos, tendo havido pouca alteração, nem toda ela benéfica (11).



Figura 3 - Taxa de mortalidade e morbilidade para o Acidente Vascular Cerebral, em 2011 e 2015 (11)

Na figura 4 é possível observar a evolução, em Portugal, no que diz respeito à utilização da trombólise como opção terapêutica no tratamento do AVC isquémico. Constata-se o aumento ao longo dos anos, mas a baixa percentagem de doentes sujeito a este tratamento mantém-se, dado que o número de internamentos por AVC isquémico, em 2015 foi de 20 095 (11).



Fonte: Inquérito Unidades de Saúde - PNDCC/DGS

Figura 4 - Acidente Vascular Cerebral | Doentes sujeitos a fibrinólise (11)

c. Fisiopatologia

Importa compreender que o AVC isquémico pode ser provocado por diferentes etiologias, sendo possível uma subcategorização desta patologia. Tal como a sua definição indica, o processo subjacente ao AVC é a isquémia, podendo ela ser de etiologia cardioembólica, mediante embolização de um coágulo proveniente do coração ou do cérebro, como seja a fibrilhação auricular; ateroembólica, por embolia entre artérias provocada por existência de placas ateroscleróticas; aterotrombótica, através de oclusão por aterosclerose intracranial, ou, ainda, mista (5,14).

A fisiopatologia do AVC isquémico, ainda que seja simples de definir o evento iniciador, é complexa. Neste sentido, facilmente se compreende que o desencadear do evento deve-se à oclusão de um vaso sanguíneo, na zona intra cranial ou do pescoço, provocando, na maioria dos casos, uma alteração no fluxo sanguíneo em determinada zona do cérebro, levando ao enfarte do tecido abastecido por esse vaso (14).

A complexidade do processo de isquémia numa lesão cerebral deve-se ao facto de as consequências celulares provenientes da redução ou ausência de fluxo sanguíneo cerebral serem bastantes e diferentes entre si. A primeira principal diferença começa no tipo de tecido, nomeadamente entre a substância cinzenta e branca e respetiva evolução temporal.

Nos AVC isquémicos, o principal evento, estando presente em 85-90% dos casos, é o aporte sanguíneo comprometido do cérebro, independentemente da causa do AVC. A reserva respiratória baixa aliada a uma completa dependência de um metabolismo aeróbico faz do tecido cerebral algo extremamente vulnerável aos efeitos da isquémia (15). Nesse sentido, o parênquima cerebral inicia morte celular imediata (denominado de *core* em inglês) enquanto que o restante tecido sofre lesão parcial, possuindo potencial para a recuperação (denominado de *penumbra* em inglês) (15).

Existe uma série de mecanismos associados ao AVC isquémico, tal como patente na figura 4, os quais serão descritos sucintamente. Segundo alguns autores, estes mesmos mecanismos não atuam isoladamente, podendo, em alguns casos, estar interligados, contribuindo para a cascata da isquémia. O processo isquémico provoca lesão cerebral através da ativação da cascata isquémica, que progride para depleção local de oxigénio e/ou glucose, levando à falência da produção de compostos fosfatados de alto rendimento energético, como seja a adenina trifosfato (ATP). Assim, os processos energia-dependentes necessários à sobrevivência do tecido celular são afetados, o que despoleta uma série de eventos, todos eles correlacionados, que culminam em lesão celular e morte. Importa referir que a extensão do dano, normalmente, é dependente de um conjunto de fatores decisivos para o prognóstico, nomeadamente a duração do processo, a gravidade e a localização da isquémia (15).

Prabal e colegas descreveram os vários mecanismos de fisiopatologia do AVC isquémico. Os neurónios requerem um aporte de glucose e oxigénio constante, dado o seu papel na transmissão de um impulso e de forma a manter os gradientes iónicos ao longo da membrana. Assim, estes são extremamente suscetíveis à hipoxia. Os principais mecanismos destacados por estes autores são os seguintes: depleção do armazenamento

celular de energia devido a falência da mitocôndria, perda de função na bomba iônica da membrana e os seus efeitos nocivos, libertação de neurotransmissores excitatórios (glutamato, proteína SNAP25), produção de radicais livres de oxigênio e outras espécies reativas de oxigênio, apoptose e neuroproteção (15).

Ultrapassando o nível celular, os mesmos autores destacam três áreas relacionadas com o mecanismo do AVC, sendo elas a aterosclerose, a inflamação e a genética. No que diz respeito à aterosclerose, o processo de formação do coágulo, proveniente do processo da formação das placas ateroscleróticas e consequente ativação da cascata da coagulação, é o principal foco na relação com o AVC. Neste caso, o AVC é de causa aterotrombótica, no entanto, há possibilidade destas placas levarem à formação de um êmbolo.

A doença aterosclerótica intracranial (ICAD) pode despoletar o AVC isquémico através de vários mecanismos, nomeadamente, embolismo artéria-artéria, hipoperfusão e doença ateromatosa ramificada. Estes mecanismos, naturalmente, levam a prognósticos diferentes, taxas de ocorrência e resposta à terapêutica médica e endovascular diferentes. De forma a aprofundar alguns mecanismos mais específicos é necessário recorrer a imagem neurológica (16).

Todos estes mecanismos levam ao desenvolvimento da morte celular, através de um conjunto de processos, nomeadamente: excitotoxicidade, stress oxidativo e azotado, inflamação e apoptose. Estes processos fisiopatológicos são extremamente prejudiciais aos neurónios, glia e células endoteliais, estando interligados, despoletando um feedback positivo que termina em destruição neuronal (17).

Tal como referido, perante um AVC conseguimos delimitar duas zonas, o *core* e a penumbra. Esta última é de particular destaque dado que é uma zona parcialmente perfundida ainda que a uma taxa reduzida. Os neurónios nessa zona estão funcionalmente comprometidos, no entanto, há hipótese de recuperação se o fluxo sanguíneo for repostado. Ainda assim, a sobrevivência é diminuta, dado que enfrenta alguns desafios, nomeadamente, já referidos, a excitotoxicidade e inflamação. Esta última, é iniciada pelo fluxo sanguíneo estagnado, a ativação de leucócitos intravasculares e a libertação de mediadores proinamatórios por parte do endotélio isquémico e do parênquima cerebral, o que aumenta a possibilidade de dano no tecido. Enquanto que a maioria dos processos da inflamação são maioritariamente benéficos e com o objetivo de restaurar a homeostasia, é possível que a resposta inflamatória aguda contribua para o dano da isquemia.

O processo inflamatório durante o AVC envolve um conjunto elevado e variado de células, relacionadas com a resposta inata, nomeadamente, microglia, macrófagos derivados de monócitos, células dendríticas, através de função protetora; os neutrófilos, das primeiras células encontradas no cérebro após AVC, diminuindo rapidamente posteriormente; os mastócitos, que contribuem para o colapso da barreira hematoencefálica e edema cerebral, através da produção de gelatinase; por fim, os linfócitos, células NK, envolvidos na produção de algumas substâncias.

No que diz respeito à resposta adaptativa, destacam-se os linfócitos T e B, sendo que os primeiros não aparentam exercer a resposta típica, e os segundos demonstraram

atividade benéfica e prejudicial no processo. Destaca-se a ação de *isotype switching*, expressão de marcadores celulares e secreção de imunoglobulinas com vista a recuperação a longo termo da função cerebral (18).

É necessário abordar, naturalmente, a componente genética associada a esta patologia e eventuais fatores de risco associados a uma maior propensão a esta doença.

Os principais fatores de risco associados ao AVC isquémico são a hiperlipidemia (por promover a aterosclerose), fibrilação auricular, entre outros. Os fatores de risco podem classificar-se em modificáveis e não modificáveis, para além do fator genético. Tendo por base estudos efetuados, destaca-se que para o AVC isquémico consideram-se os seguintes fatores de risco modificáveis (19):

- Hipertensão
- Hábitos tabágicos
- Razão anca-cintura
- Dieta
- Inatividade física
- Hiperlipidemia
- *Diabetes mellitus*
- Consumo de álcool
- Causas cardíacas
- Apolipoproteína B a A1

Para o AVC isquémico consideram-se os seguintes fatores de risco não modificáveis:

- Idade
- Sexo
- Raça

Para além destes fatores, é importante considerar as situações de infeção e inflamação que predis põem a ocorrência deste tipo de episódios. Ainda assim, surgiu a necessidade de avaliar e categorizar o risco de AVC através de escalas que têm em conta os vários fatores de risco. Uma escala amplamente conhecida é a *Frammingham Stroke Risk Profile*, que introduz alguns fatores de risco para além dos mencionados, como o estado depressivo, estado civil e deficiências físicas (20).

Mais do que considerar os fatores de risco associados, importa compreender as situações desencadeantes de um AVC. Estudos revelam que as infeções e consequente hospitalização são um fator a curto prazo que leva a AVC. Há ainda evidência que a vacina para o vírus *influenza* afeta o *outcome* cardiovascular, podendo ser recomendada a vacinação anual nos doentes de risco moderado a elevado (21).

Devido a heterogeneidade desta patologia é ainda controverso o envolvimento da componente genética no processo. No entanto, têm vindo a ser desenvolvidos estudos neste âmbito, podendo destacar quatro eixos potencialmente envolvidos no desenrolar desta doença. Em primeiro lugar, deficiências específicas em genes isolados que podem contribuir para síndromes familiares nos quais o AVC é a única e primeira manifestação

(por exemplo, arteriopatia dominante autossomal cerebral com enfartes subcorticais e leucoencefalopatia, vulgo CARASIL). Em segundo lugar, deficiências em genes isolados pode levar a transtornos multisistêmicos, nas quais o AVC é mais uma manifestação (por exemplo anemia falciforme). Em terceiro lugar encontram-se as variantes comuns de polimorfismos genéticos que estão associados a fatores de risco de AVC (por exemplo variantes na 9p21). Por último, as causas genéticas convencionais de fatores de risco associados a AVC e amplamente conhecidos, como a fibrilação auricular, *diabetes mellitus* e hipertensão (20,22,23).

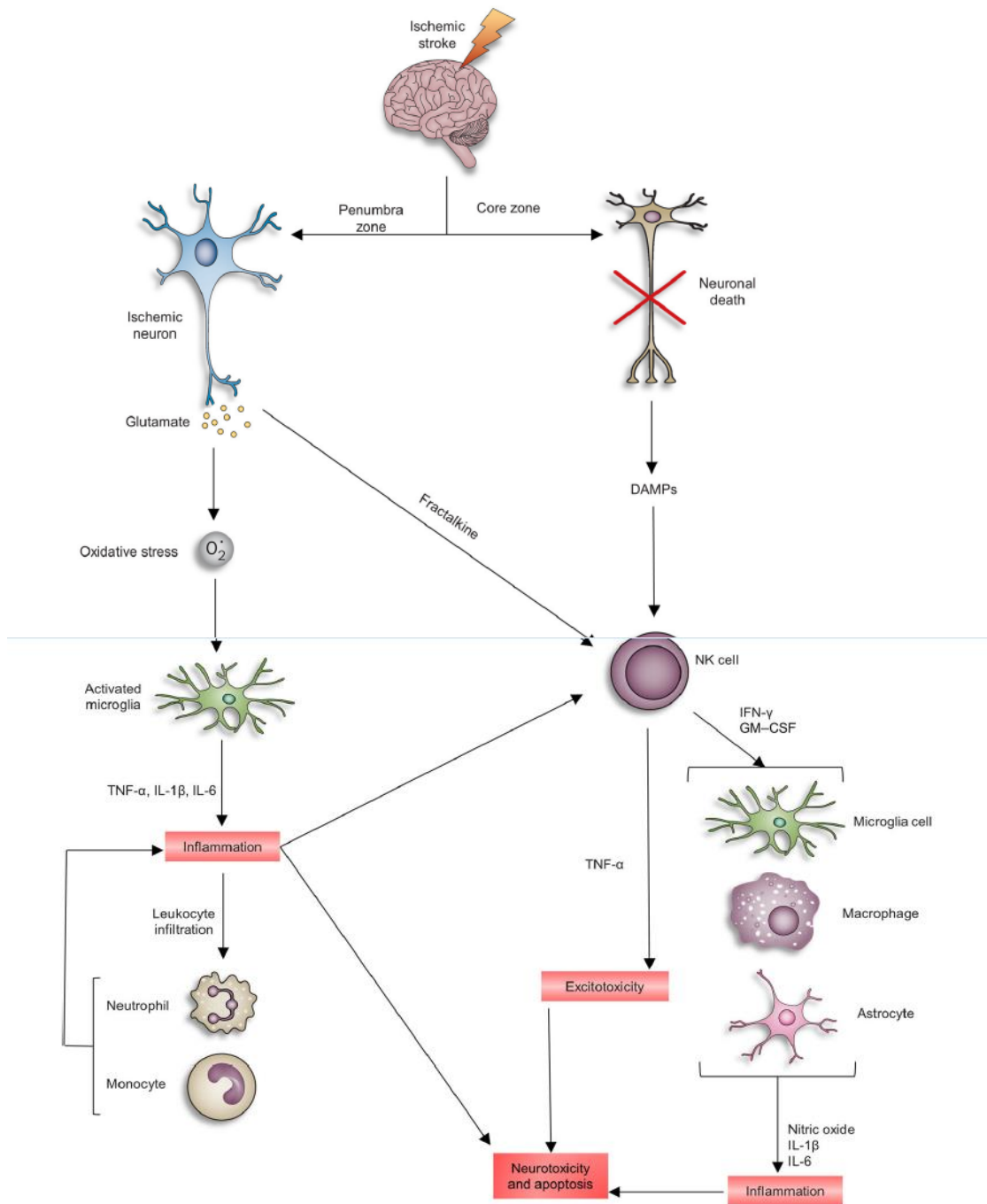


Figura 5- Efeitos da isquemia cerebral nas citocinas inflamatórias e nas células imunitárias e o seu contributo para a neurotoxicidade (17)

d. Terapêutica

No que diz respeito ao tratamento do AVC isquêmico, este envolve várias vertentes, desde a sua prevenção à recuperação após o evento. Nesta monografia iremos abordar principalmente a área do tratamento propriamente dito.

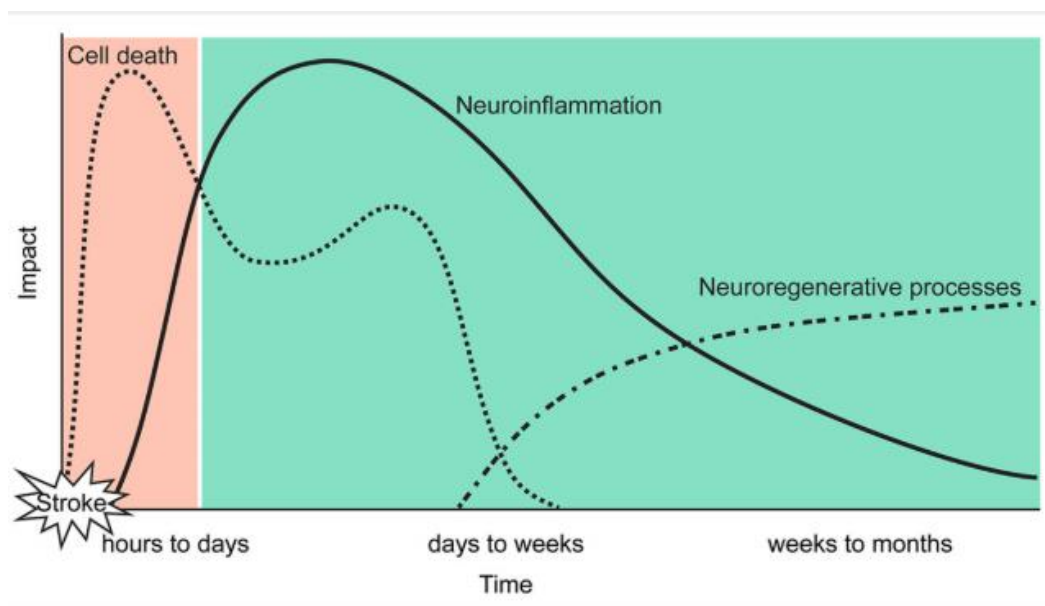


Figura 6- Interações multifásicas cerebrais após o AVC e oportunidades de tratamento (24)

As oportunidades de tratamento são vastas e envolvem várias fases. A gestão do AVC isquêmico é feita através de um processo encadeado, iniciando-se pela tentativa de diagnóstico, recorrendo a várias técnicas, passando por uma avaliação rigorosa do estado clínico e dos antecedentes pessoais. Todo este processo está previsto nas linhas orientadoras e normas até agora descritas, sendo que a abordagem farmacológica é apenas uma fase no processo de tratamento. O tratamento e cuidado do AVC isquêmico assenta em três princípios, nomeadamente, atingir, atempadamente, a recanalização das artérias obstruídas e a reperfusão do tecido isquêmico. Por outro lado, otimizar o fluxo colateral e por último evitar dano cerebral secundário(25).

O fator tempo é crucial no tratamento do AVC isquêmico, tal como se pode constatar na figura 6, que demonstra as várias fases do processo e as suas oportunidades de tratamento.

O objetivo principal da prevenção primária é reduzir o risco de AVC isquêmico em doentes assintomáticos e focar a gestão de fatores de risco bem conhecidos como a hipertensão arterial, *diabetes mellitus* e dislipidemias.

Este risco pode ser concretizado numericamente, em indivíduos assintomáticos, através de normogramas a partir do projeto *Systemic Coronary Risk Evaluation (SCORE)* que avalia a idade, género, pressão arterial sistólica, hábitos tabágicos e níveis de colesterol total, sendo que um valor superior a 5% é considerado risco elevado (26).

Os doentes com historial de AVC são considerados de alto risco para futuros eventos, em comparação com a população geral, assim, é necessária uma prevenção

secundária reforçada. O momento para iniciar o tratamento para a prevenção secundária depende do cenário clínico. Em doentes com AVC ligeiro, a maioria das medidas de prevenção secundária podem ser iniciadas praticamente de imediato após apresentação sintomática.

O tratamento de fatores de riscos como a hipertensão, hiperlipidemia, fibrilação auricular, gestão da *diabetes mellitus* e estenose carotídea é importante para a prevenção secundária. Este tratamento implica recorrer a estratégias neuroprotetoras e uma abordagem farmacológica, com vista a redução da resposta inflamatória.

Os protocolos atuais e as normas orientadoras no tratamento do AVC primário e respetiva prevenção focam-se principalmente nos fatores de risco vasculares modificáveis, como por exemplo, a hipertensão, hábitos tabágicos, estenose carotídea, fibrilação auricular, inatividade física, *diabetes mellitus* e dislipidemia, através da utilização de fármacos antiplaquetários, antihipertensores, antidislipidémicos e anticoagulantes. No entanto, foi desenvolvida uma nova abordagem terapêutica, sendo a sua utilização consensual. Trata-se da utilização do ativador do plasminogénio tecidual, por via intravenosa, denominado de rtPA. Este está indicado para o tratamento do AVC isquémico agudo. A eficácia deste tratamento, no entanto, é muitas vezes limitada por alguns fatores, nomeadamente o grau de gravidade do AVC, idade avançada, hipertensão sistólica, a localização da obstrução, o aporte sanguíneo, o tempo desde o início do AVC ao tratamento e a inflamação associada à reperfusão (15).

No âmbito do AVC isquémico destacam-se determinadas entidades que têm vindo a desenvolver as principais normas que regem e orientam a prática terapêutica, de entre elas, a *American Stroke Association* (ASA) e a *European Stroke Organization* (ESO). A nível nacional, cabe à Direção-Geral da Saúde (DGS) gerir a aplicação destas mesmas normas com o devido ajuste à realidade portuguesa. A nível europeu, a ESO, em 2008, redigiu um documento denominado “*Guidelines for Management of Ischaemic Stroke and Transient Ischaemic Attack 2008*” (27). Neste documento são delineadas estratégias e recomendações no âmbito da educação, referenciação e transferência do doente, tratamento no serviço de urgência, serviços de AVC e unidades de AVC, diagnóstico, prevenção primária, terapêutica antitrombótica, cirurgia carotídea e angioplastia, prevenção secundária, tratamento geral do AVC, tratamento específico, prevenção e tratamento de complicações e reabilitação. Nas imagens abaixo é possível enumerar as principais recomendações no que diz respeito ao tratamento geral e específico do AVC. A ESO tem publicado algumas *guidelines* no âmbito da prevenção, tratamento e reabilitação do AVC isquémico, mas esta publicação mantém-se como a mais recente desta organização.

A nível do tratamento específico do AVC isquémico destaca-se a administração de rt-PA intravenoso nas primeiras 3 horas após o evento. A nível do tratamento geral, recomenda-se a oxigenoterapia, a monitorização do estado neurológico, pulso, pressão arterial, temperatura e saturação de oxigénio e o balanço hídrico e dos electrólitos, para além de algumas inibições terapêuticas mencionadas na figura 6.

Recomendações

- Recomenda-se monitorização intermitente do estado neurológico, pulso, pressão arterial, temperatura e saturação de oxigénio durante 72 horas em doentes com défices neurológicos persistentes significativos (**Classe IV, GCP**)
- Recomenda-se oxigenoterapia se a saturação de oxigénio estiver abaixo de 95% (**Classe IV, GCP**)
- Recomenda-se uma monitorização regular do balanço hídrico e dos electrólitos em doentes com AVC grave ou disfagia (**Classe IV, GCP**)
- Recomenda-se soro fisiológico (0,9%) para aporte de fluidos durante as primeiras 24 horas após AVC (**Classe IV, GCP**)
- Não se recomenda uma diminuição por rotina da pressão arterial após AVC agudo (**Classe IV, GCP**)
- Recomenda-se uma diminuição cautelosa da pressão arterial em doentes com pressões arteriais extremamente elevadas (> 220/120 mmHg) em medições repetidas, com insuficiência cardíaca grave, dissecção aórtica ou encefalopatia hipertensiva (**Classe IV, GCP**)
- Recomenda-se que seja evitada uma diminuição abrupta da pressão arterial (**Classe II, Nível C**)
- Recomenda-se que uma diminuição da pressão arterial secundária a hipovolémia ou associada a deterioração neurológica num AVC agudo seja tratada com expansores de volume (**Classe IV, GCP**)
- Recomenda-se monitorização da glicemia (**Classe IV, GCP**)
- Recomenda-se o tratamento de glicemias > 180 mg/dl (> 10 mmol/l) com titulação de insulina (**Classe IV, GCP**)
- Recomenda-se que a hipoglicémia grave (<50 mg/dl [<2,8 mmol/l]) seja tratada com dextrose intravenosa ou administração de glicose 10-20% (**Classe IV, GCP**)
- Recomenda-se que a presença de febre (temperatura > 37,5°C) desencadeie a pesquisa de infecção concomitante (**Classe IV, GCP**)
- Recomenda-se o tratamento da febre (temperatura > 37,5°C) com paracetamol e arrefecimento (**Classe III, Nível C**)
- Não se recomenda antibioterapia profilática em doentes imunocompetentes (**Classe II, Nível B**)

Figura 7- Tratamento geral do AVC isquémico - Recomendações da ESO 2008 (27)

Figura 8 - Tratamento específico do AVC isquémico - Recomendações da ESO 2008 (27)

Recomendações

- Recomenda-se nas primeiras 3 horas após a instalação de AVC isquémico, rtPA intravenoso (0,9 mg/kg peso corporal, máximo 90 mg), com 10% da dose administrada como bólus, seguido por uma infusão durante 60 minutos (**Classe I, Nível A**)
- O rtPA intravenoso pode ser também benéfico além de 3 horas após a instalação do AVC (**Classe I, Nível B**), mas tal não é recomendado na prática clínica habitual.
- A utilização de critérios de imagem multimodais pode ser útil na selecção de doentes para trombolise, mas não é recomendada para a prática clínica habitual (**Classe III, Nível C**)
- Recomenda-se que pressões arteriais de 185/110 mmHg ou superiores sejam diminuídas antes da trombolise (**Classe IV, GCP**)
- Recomenda-se que o rtPA intravenoso possa ser utilizado em doentes com convulsões na instalação do AVC, se o défice neurológico estiver relacionado com a isquémia cerebral aguda (**Classe IV, GCP**)
- Recomenda-se que o rtPA intravenoso possa ser também administrado em doentes seleccionados com menos de 18 anos e mais de 80 anos, apesar de esta possibilidade se encontrar fora da aprovação Europeia actual (**Classe III, Nível C**)
- Recomenda-se, como uma opção, o tratamento intra-arterial da oclusão aguda da ACM, dentro de uma janela temporal de 6 horas (**Classe II, Nível B**)
- Recomenda-se trombolise intra-arterial na oclusão aguda da basilar em doentes seleccionados (**Classe III, Nível B**). A trombolise intravenosa na oclusão basilar é uma alternativa aceitável mesmo depois de 3 horas (**Classe III, Nível B**)
- Recomenda-se que a aspirina (160-325 mg dose de carga) seja administrada dentro de 48 horas após o AVC isquémico (**Classe I, Nível A**)
- Recomenda-se que se estiver planeada ou se for administrada terapêutica trombolítica, não seja iniciada aspirina ou outra terapêutica antiagregante dentro de 24 horas (**Classe IV, GCP**)
- Não se recomenda o uso de outro agente antiagregante plaquetário (isolado ou combinado) no contexto de AVC isquémico agudo (**Classe III, Nível C**)
- Não se recomenda a administração de inibidores da glicoproteína IIb-IIIa (**Classe I, Nível A**)
- Não se recomenda a administração precoce de heparina não fraccionada, heparina de baixo peso molecular ou heparinoides para o tratamento de doentes com AVC isquémico agudo (**Classe I, Nível A**)
- Actualmente, não existe recomendação para tratar os doentes com AVC isquémico com substâncias neuroprotectoras (**Classe I, Nível A**)

Por outro lado, a ASA tem vindo a desenvolver um trabalho exaustivo na produção de matéria e atualização de conteúdo no que diz respeito aos mesmos temas. A mais recente atualização das normas americanas está patente no documento “*2018 Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke - A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association*” (28). A ASA dividiu as suas recomendações em cinco áreas de envolvimento, nomeadamente a gestão do AVC antes da hospitalização e sistemas de cuidados, avaliação e tratamento de urgência, tratamento de urgência e cuidados de apoio gerais, gestão do AVC isquémico agudo no hospital em cuidados de apoio gerais e tratamento de complicações agudas.

No que diz respeito à utilização da alteplase (rtPA), a ASA tece dezasseis recomendações nos tópicos já abordados, sendo elas as seguintes:

1. É recomendada a utilização de alteplase (0.9 mg/kg, sendo a dose máxima 90mg ao longo de 60 minutos com 10% da dose inicial administrada por um bólus de 1 minuto) para doentes selecionados que podem ser tratados nas primeiras três horas do início do sintoma do AVC isquémico ou o último momento conhecido pelo utente de bem-estar. É necessária a revisão dos critérios para determinar a elegibilidade do doente.
2. A mesma posologia é recomendada para doentes selecionados que podem ser tratados entre as 3 e as 4.5 horas do início do sintoma do AVC isquémico ou o último momento conhecido pelo utente de bem-estar. É necessária a revisão dos critérios para determinar a elegibilidade do doente.
3. Para doentes elegíveis com AVC moderado que se apresentem na janela temporal entre as 3 e 4.5 horas, é razoável ponderar o tratamento com alteplase. Os riscos do tratamento devem ser analisados e contrabalançados perante os possíveis benefícios.
4. Para doentes elegíveis que demonstraram previamente um número baixo (1-10) de CMB (microhemorragias cerebrais) na ressonância magnética é razoável ponderar a utilização de alteplase IV.
5. Para doentes elegíveis que demonstraram previamente um número elevado de CMB, o tratamento com alteplase pode ser associado a um risco aumentado de hemorragia intracranial sintomática e os benefícios do tratamento são incertos. O tratamento pode ser adequado se houver potencial para um benefício substancial.
6. Alteplase IV para adultos que apresentam AVC isquémico agudo com anemia perniciosa pode ser benéfico.
7. Abciximab não deve ser administrado concomitantemente com alteplase IV.
8. A alteplase IV não deve ser administrada a doentes que tenham recebido tratamento de heparina de baixo peso molecular (LMWH) nas 24 horas anteriores ao evento.
9. Durante a deliberação da elegibilidade para a trombólise devem ser discutidos os potenciais riscos e ponderados os eventuais benefícios passíveis de se antecipar e que auxiliam o processo de decisão.
10. Dado o risco extremamente baixo de contagens anormais de plaquetas ou estudos de coagulação na população, é razoável que o tratamento urgente de alteplase IV

não seja atrasada enquanto se espera resultados hematológicos ou testes de coagulação se não houver razão de suspeita de anormalidade.

11. Os médicos devem estar conscientes que a hipoglicemia e a hiperglicemia podem mimetizar apresentações de AVC agudo e por isso devem determinar os níveis de glicemia antes de iniciar a alteplase IV. Esta não está indicada para condições não vasculares.
12. Dado que o tempo desde o início dos sintomas ao tratamento tem tanto impacto no resultado, o tratamento com alteplase IV não deve ser atrasado para esperar melhoria através de monitorização.
13. Em doentes submetidos a terapia fibrinolítica, os médicos devem estar preparados para tratar potenciais efeitos adversos emergentes, incluindo complicações hemorrágicas e angioedema que podem causar obstrução parcial das vias aéreas.
14. A pressão arterial deve manter-se <180/105 mmHg, pelo menos nas 24 horas seguintes ao tratamento com alteplase IV.
15. O risco de terapia antitrombótica nas primeiras 24 horas após o tratamento com alteplase IV é incerto. A sua utilização pode ser considerada na presença de condições concomitantes nas quais o tratamento dado na ausência de alteplase é conhecido por providenciar benefício substancial ou a ausência desse mesmo tratamento ser conhecido o seu risco substancial.
16. Em doentes elegíveis para alteplase IV, o benefício da terapêutica é tempo dependente e o tratamento deve ser iniciado assim que possível (28).

Ainda que esteja já estabelecida a existência de algumas alternativas terapêuticas na abordagem antitrombolítica, o rtPA mantém-se como a única recomendação de Nível de Evidência 1, Classe A aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento até três horas após o início dos sintomas em doentes com AVC isquémico (29). Esta mesma recomendação mantém-se no contexto europeu (27).

Por fim, o tratamento foca-se também na reabilitação e na promoção do atraso da progressão da doença vascular e, simultaneamente, na prevenção de futuros AVC.

No que diz respeito à terapêutica aprovada, a tPA recombinante (rtPA) é uma molécula de tPA geneticamente sintetizada que funciona pelo mesmo processo que a tPA endógena. Esta molécula catalisa a clivagem do plasminogénio para dar origem à enzima ativa plasmina. Esta, por sua vez, é responsável pela degradação dos monómeros interligados de fibrina, que constituem o coágulo de fibrina em produtos solúveis. Normalmente, a tPA endógena está presente em quantidades relativamente baixas e regula a separação dos tampões de fibrina nos vasos e mantém a coagulação regulada. Por outro lado, o inibidor do ativador do plasminogénio 1 (PAI-1) regula a ativação do tPA, dificultando, assim, a degradação do coágulo de fibrina. No entanto, quando ocorre administração de rtPA por infusão, não existe PAI-1 suficiente para controlar a ação do tPA, permitindo que a quantidade de plasmina ativa produzida seja suficiente para desintegrar os coágulos de fibrina existentes (5).

De acordo com a maioria das normas orientadoras, a trombólise via rtPA intravenosa é altamente recomendada nos doentes elegíveis. Os critérios de elegibilidade, abordados mais à frente, são longos e estritos o que leva a que menos de 10% dos doentes

sejam elegíveis para este tratamento. O tratamento, tal como mencionado, deve ser iniciado antes das três horas relativamente ao início dos sintomas (5).

Para além da terapêutica trombolítica estão a ser estudadas outras abordagens, nomeadamente terapêutica adjuvante ou tratamentos únicos em situações em que a terapêutica trombolítica está contraindicada e não há tratamentos viáveis. Assim, as classes farmacológicas com eventual relevância para o tratamento do AVC isquémico são as abordadas seguidamente (30):

1. Antiplaquetários

É recomendado o tratamento com fármacos antiplaquetários numa fase inicial para a maioria dos doentes com AVC isquémico agudo, dado que a trombólise está limitada devido aos critérios estritos, de destacar, a janela temporal. Alguns ensaios clínicos revelaram que a administração de ácido acetilsalicílico trouxe consideráveis benefícios na redução das taxas de morbilidade e mortalidade. Para além disso, existe evidência de que a terapia combinada entre aspirina e outros antiplaquetários, como o clopidogrel, potenciam o tratamento, no entanto, ainda não há dados suficientes para uma recomendação forte (30). Tendo por base as recomendações da ESO, encontra-se previsto em normas orientadoras a utilização da aspirina, sendo que os restantes antiplaquetários são utilizados empiricamente, em *off-label*, não existindo recomendação para a sua utilização (27).

2. Anticoagulantes

Atualmente, não é recomendada a utilização de terapêutica anticoagulante com heparina de baixo peso molecular não fracionada no tratamento do AVC isquémico, com particular destaque para os doentes com enfarte cerebral moderado a extenso devido ao risco aumentado de complicações hemorrágicas intracranianas graves. Esta ausência de recomendação mantém-se para a utilização de dose fixa de heparina não fracionada por via subcutânea, com vista a diminuir o risco de morte, morbilidade ou para prevenir recorrência de AVC, dado que existe a possibilidade de aumento concomitante de risco de hemorragia. Ainda assim, a anticoagulação poderá ser recomendada em situações clínicas específicas, em *off-label* (30).

3. Antagonistas dos recetores do glutamato e N-metil D-aspartato (NMDA)

Dado que a sobre ativação do recetor do NMDA está envolvida no processo de excitotoxicidade, haveria a possibilidade de antagonistas destes recetores serem utilizados para o tratamento do AVC isquémico. Alguns destes antagonistas encontram-se em ensaios clínicos de Fase II e III, tendo a maioria falhado devido a efeitos adversos não desejáveis, dado que estes recetores também exercem um papel importante na neurotransmissão glutamatérgica normal. Nestes ensaios, foi estudado o papel de vários antagonistas, por exemplo, o aminofosfonovalerato (APV), um antagonista seletivo, o MK 801, o BQ869, um antagonista potente e a memantina (30–32). Tendo por base as recomendações da ESO, não é recomendada a utilização de neuroprotetores (27). No entanto estão em estudo algumas destas substâncias, a nível de estudos em animais e/ou ensaios clínicos.

4. Antagonistas do Ácido γ -aminobutírico (GABA)

A inibição tónica neuronal está aumentada na zona adjacente ao enfarte após o AVC isquémico. Este aumento é mediado pelos recetores extrasinápticos GABA-A e é provocado por desajuste na função do transportador do GABA (GAT-3/GAT-4). Agonistas inversos benzodiazepínicos específicos para uma subunidade 5 dos recetores extrasinápticos GABA-A podem ser utilizados para diminuir a inibição aumentada (30). Tendo por base as recomendações da ESO, não é recomendada a utilização de neuroprotetores (27).

5. Sequestradores de radicais livres

Sabe-se que os radicais livres estão implicados no processo do AVC, pelo que se constituem como um possível alvo terapêutico. Neste âmbito, algumas substâncias têm vindo a ser estudadas, nomeadamente, a edaravona, que mostrou melhorias clínicas na recuperação de doentes de AVC isquémico, por diminuição do stress oxidativo. Por outro lado, o tirilazadmesilato (U-74006F), um inibidor da peroxidação lipídica, foi estudado em modelos pré-clínicos nos meados dos anos 90. Existe, ainda, o Ebselen, um inibidor da atividade da glutatona *peroxidase-like*, que mostrou resposta promissora enquanto agente neuroprotetor (30). No entanto, até agora, nada se mostrou efetivo, estando em estudo algumas destas substâncias, a nível de estudos em animais e/ou ensaios clínicos.

6. Inibidores da apoptose

A morte celular na região da penumbra da lesão pode ser suprimida através da administração de inibidores da caspase durante e depois da oclusão dos vasos (30). No entanto, até agora, nada se mostrou efetivo, estando em estudo quais as substâncias que podem ter efeito.

e. Contraindicações absolutas e relativas a terapêutica trombolítica

O foco desta monografia recai sobre a procura de alternativas para os doentes que não sejam elegíveis para a terapêutica trombolítica. Para isso, é importante compreender quais as situações em que esta está indicada e quais os critérios absolutos e relativos de exclusão para este tratamento.

O rtPA está indicado para um conjunto de doentes que cumpram determinados requisitos, sendo os mesmos estritos, tal como mencionado. Assim, o rtPA (0.9 mg/kg, com dose máxima de 90 mg durante 60 min e iniciando com 10% da dose através de bólus ao longo de 1 min) é recomendado para os doentes que, cumulativamente cumpram o mencionado abaixo.

- O início dos sintomas e/ou o último estado basal detetado tenha ocorrido nas últimas três horas.
- Idade: igual ou superior a 18 anos e inferior a 80 anos. No entanto pode ser ponderada a administração a doentes com idade superior a 80 anos (Classe I, NE A)
- Gravidade: para sintomas de AVC severos há indicação para utilização de rtPA. Apesar do risco aumentado de hemorragia, continua a haver evidência de

benefício clínico nos casos mais severos (Classe I, NE A). Para doentes com AVC isquémico moderado, mas com sintomas incapacitantes, está indicada a utilização de rtPA. Não deve existir critérios de exclusão para este tipo de doentes, dado o benefício clínico comprovado. (Classe I, NE B)

- No intervalo entre as 3h e as 4h30, o rtPA é recomendado para doentes selecionados que possam ser tratados nesse intervalo, tendo particular cuidado com a avaliação da elegibilidade do doente, nomeadamente idade inferior a 80 anos, sem historial de *diabetes mellitus* e AVC prévio, tendo uma pontuação de NIHSS inferior a 25, que não esteja a tomar anticoagulantes orais e que não possua evidência de dano isquémico que envolva mais de um terço do território da artéria cerebral média (MCA). (Classe I, NE B)
- No que diz respeito à urgência da situação, o tratamento deve ser iniciado o mais rapidamente possível, dentro dos intervalos de tempo estabelecidos, dado que o tempo para o tratamento está fortemente associado aos resultados. (Classe I, NE A)
- O rtPA está recomendado para os doentes cuja pressão arterial possa ser diminuída, de forma segura, para valores inferiores a 185/110 mmHg, recorrendo a agentes antihipertensores e com a devida avaliação da estabilidade da pressão arterial pelo médico. (Classe I, NE B)
- O rtPA é recomendado aos doentes elegíveis que apresentem valores de glucose iniciais superiores a 50mg/dL. (Classe I, NE A)
- O rtPA é recomendado para doentes que façam terapêutica antiplaquetária em monoterapia antes do AVC, na medida em que o benefício do rtPA sobrepõem-se ao risco baixo de hemorragia. (Classe I, NE A)
- Ainda neste sentido, é recomendado o tratamento a doentes em terapêutica antiplaquetária combinada. (Classe I, NE B)
- Em doentes com doença renal terminal, em hemodiálise e com um valor de aPTT normal, o rtPA é recomendado. (Classe I, NE C)(33)

Tendo estabelecidas as indicações principais para o tratamento com rtPA, as contra-indicações podem categorizar-se em absolutas e relativas. Neste sentido, encontram-se listadas, abaixo, as principais contra-indicações genéricas dessas categorias, sendo depois feita uma menção das contra-indicações delineadas pela ASA/AHA, nas suas *guidelines*. Assim as principais contra-indicações absolutas são as seguintes:

- Presença de hemorragia intracraniana aguda
- Historial de hemorragia intracerebral
- Hipertensão descontrolada grave (>185/110 mmHg)
- Trauma grave da cabeça ou AVC nos últimos três meses
- Trombocitopenia e coagulopatia
- Tratamento com heparina de baixo peso molecular
- Tratamento com inibidores diretos da trombina
- Tratamento com inibidores do Fator Xa
- Hipoglicemia ou hiperglicemia grave
- Mudanças isquémicas em imagens radiográficas detetadas precocemente (34)

No que diz respeito a contraindicações relativas, estas são as seguintes:

- Idade avançada
- Sintomas de AVC isquémico moderados ou que apresentem evolução
- AVC grave e coma
- Realização recente de cirurgia de grande calibre
- Punção arterial de um vaso não compressível
- Hemorragia recente gastrointestinal ou genitourinária
- Convulsão no local
- Enfarte do miocárdio recente
- Lesões estruturais no sistema nervoso central
- Demência (34,35)

Segundo a ASA/AHA, as contraindicações para a administração de rtPA (alteplase) por via intravenosa são as seguintes:

- A alteplase não é recomendada em doentes com AVC isquémico nos quais não seja claro o momento inicial dos sintomas e no qual o último momento conhecido de um estado basal seja superior a 3 ou 4.5 horas. (Classe III: Sem benefício, NE B)
- A alteplase não é recomendada em doentes com AVC isquémico que acordaram com AVC, sendo que o último momento de estado basal foi superior a 3 ou 4.5 horas. (Classe III: Sem benefício, NE B)
- A alteplase não deve ser administrada em doentes nos quais a tomografia computadorizada (TC) apresente hemorragia intracraniana aguda. (Classe III: Prejudicial, NE C)
 - Ainda não existe evidência suficiente para identificar um limiar de extensão e gravidade da hipotenuação que afete a resposta ao tratamento. No entanto, a administração de alteplase via IV a doentes cuja TC revele regiões extensas de clara hipotenuação não é recomendada. Estes doentes têm um prognóstico reservado apesar da alteplase e uma hipotenuação grave representar um dano irreversível (Classe III: Sem benefício, NE A)
- A utilização de alteplase via IV em doentes que tiveram AVC isquémico nos últimos três meses pode ser prejudicial (Classe III: Prejudicial, NE B)
- Em doentes com AVC isquémico arterial que tenham sofrido trauma na cabeça, nos últimos três meses, está contraindicada a utilização de alteplase. (Classe III: Prejudicial, NE C)
 - Dada a possibilidade de complicações hemorrágicas devidas ao trauma na cabeça, a alteplase não deve ser administrada em situações de enfarte pós-traumático que ocorra durante a hospitalização. (Classe III: Prejudicial, NE C)
- Em doentes com AVC isquémico e historial de cirurgia intracraniana/espinal nos últimos 3 meses, a administração de alteplase IV é potencialmente prejudicial (Classe III: Prejudicial, NE C)
- A administração de alteplase em doentes com historial de hemorragia intracraniana é potencialmente prejudicial (Classe III: Prejudicial, NE C)

- O tratamento com alteplase IV está contraindicado em doentes que apresentem sintomas e sinais consistentes com hemorragia subaracnoideia. (Classe III: Prejudicial, NE C)
- Os doentes que apresentem alguma anomalia estrutural gastrointestinal ou um evento hemorrágico recente nos últimos 21 dias em relação ao AVC devem ser considerados de alto risco, e, nesse sentido, a administração de alteplase pode ser potencialmente danosa. (Classe III: Prejudicial, NE C)
- A segurança e eficácia da alteplase IV para doentes com AVC agudo, que apresentem uma contagem de plaquetas $<100\ 000/\text{mm}^3$, INR >1.7 , aPTT $>40\text{s}$ ou TP $>15\text{s}$ é desconhecida, pelo que não se deve proceder à sua administração. (Classe III: Prejudicial, NE C)
 - Em doentes com historial de trombocitopenia, o tratamento com alteplase pode ser iniciado antes da disponibilização da contagem de plaquetas mas deve ser descontinuado se o valor se confirmar inferior a $100\ 000/\text{mm}^3$. Nos doentes que não foram sujeitos recentemente a tratamentos com anticoagulantes orais ou heparina, o tratamento com alteplase pode ser iniciado antes de se obter os resultados de coagulação mas deve ser descontinuado se o resultado do INR vier superior a 1.7 ou o TP estiver anormalmente elevado.
- A alteplase não deve ser administrada a doentes que tenham recebido tratamento com heparina de baixo peso molecular nas últimas 24 horas. (Classe III: Prejudicial, NE B)
- A utilização de alteplase IV em doentes que estejam a tomar diretamente inibidores da trombina ou inibidores do fator Xa não está completamente estabelecida mas pode ser prejudicial (Classe III: Prejudicial, NE C). No entanto, se os testes laboratoriais tais como, aPTT, INR, contagem de plaquetas, tempo de coagulação da ecarina, tempo de trombina, ensaios de atividade diretos do fator Xa estiverem normais e o doente não tiver sido sujeito a esses fármacos nas últimas 48 horas poderá recorrer-se a alteplase IV.
- Os agentes antiplaquetários que inibem o recetor da glicoproteína IIb/IIIa não devem ser administrados concomitantemente com a alteplase, fora de ensaio clínico. (Classe III: Prejudicial, NE B)
- Em doentes com AVC isquémico que apresentem sintomas consistentes com endocardite infecciosa, o tratamento com alteplase não deve ser realizado devido ao risco aumentado de hemorragia intracraniana. (Classe III: Prejudicial, NE C)
- A administração de alteplase em AVC isquémico associado ou com suspeita de disseção do arco aórtico é potencialmente danosa e não deve ser feita (Classe III: Prejudicial, NE C)(33)

Perante os critérios apresentados, torna-se claro que a percentagem de doentes que efetivamente são elegíveis para este tratamento é reduzida, pelo que urge encontrar alternativas terapêuticas. Nos resultados apresentados por esta monografia irá procurar-se demonstrar algumas possíveis alternativas farmacológicas.

7. Objetivos

Perante o contexto explanado na Introdução, abordando a pertinência deste tema e procurando compreender em que consiste esta patologia, são objetivos desta monografia:

- Compreender o estado atual da terapêutica e normas orientadoras do tratamento farmacológico do AVC isquémico.
- Abordar as várias contraindicações para a terapêutica trombolítica e o seu impacto no tratamento e prognóstico da doença.
- Fazer o estado da arte do panorama de investigação na área do AVC isquémico.
- Descrever e enumerar novas e potenciais abordagens farmacológicas para o tratamento do AVC isquémico nos doentes com contraindicação para a terapêutica trombolítica.
- Fornecer linhas orientadoras para o futuro da investigação neste âmbito.

Descarta-se desta monografia uma abordagem às possibilidades de tratamento por via cirúrgica, nomeadamente trombectomia, entre outros e por isso não será desenvolvida nem feita uma contextualização sobre a mesma.

8. Materiais e Métodos

Para o desenvolvimento desta monografia procurou fazer-se, numa primeira instância, um estado da arte do AVC isquémico. Para isso, recorreu-se a artigos científicos, em inglês e/ou em português, com vista a descrever os mecanismos fisiopatológicos e as normas terapêuticas atuais de tratamento desta doença. A procura de artigos científicos foi realizada principalmente em duas ferramentas de pesquisa, o *PubMed* e o *Google Scholar*. As normas terapêuticas utilizadas foram as desenvolvidas a nível americano, pela *American Stroke Association* e as europeias, pela *European Stroke Organization*.

Numa segunda fase, procedeu-se à pesquisa de novas abordagens farmacológicas, nessas mesmas ferramentas de pesquisa, utilizando palavras chave que se enquadrassem nas principais abordagens possíveis a ter em conta, nomeadamente, novas moléculas e novos alvos terapêuticos. Por outro lado, procedeu-se à pesquisa sobre a atualidade dos ensaios clínicos no âmbito do tratamento do AVC isquémico e por fim, focou-se a pesquisa dos estudos existentes no âmbito do *repurposing*, isto é, o estudo de fármacos aprovados para indicações que não o AVC isquémico mas que possam ter atividade terapêutica para o tratamento desta patologia.

9. Resultados e Discussão

Dado que o tratamento do AVC isquémico por terapêutica trombolítica é condicionado pelo cumprimento de determinados critérios de elegibilidade e avaliação de contraindicações, a percentagem de doentes que efetivamente realiza este tratamento ronda os 16%, um valor manifestamente baixo para a gravidade da patologia e a escassez de alternativas(36).

Com base na pesquisa realizada, é possível enquadrar os resultados obtidos em quatro categorias principais, nomeadamente, os desenvolvimentos que têm vindo a ser feitos no

âmbito de novos alvos terapêuticos que potencialmente possam servir como alternativas à trombólise, os desenvolvimentos realizados no estudo de novos fármacos para o tratamento do AVC isquêmico, os progressos na áreas dos ensaios clínicos e por último, o *repurposing* de fármacos.

Ao longo do processo de isquemia cerebral existem mediadores importantes relacionados com os mecanismos intrínsecos ao cérebro e sangue. Neste sentido, a microglia torna-se ativa na zona da penumbra e facilita futuros danos neuronais locais por via de processos que incluem ativação de polimerases e de múltiplas metaloproteinases da matriz (MMP). A ativação de MMP rompe a barreira hematoencefálica (BHE), altera as funções microvasculares endoteliais e desregula a integridade funcional da unidade neurovascular. O dano isquêmico cerebral está associado à indução de uma série de eventos inflamatórios, incluindo a infiltração de células imunitárias circulantes (neutrófilos e monócitos) e a ativação de células residentes, incluindo a microglia, astrócitos e células endoteliais (37).

Os modelos animais de isquemia focal induzidos por oclusão da artéria cerebral média (MCAO) providenciam a melhor evidência de resposta inflamatória celular no AVC isquêmico. Na base do AVC agudo existem várias áreas nas quais a inflamação pode ser relevante, nomeadamente, como indicadora de doenças vasculares que predis põem o AVC, como processo precipitante que atua como gatilho para um evento agudo, como resposta ao dano do tecido, após o AVC, podendo atuar como exacerbador das consequências, como marcador de prognóstico na fase aguda ou ainda como marcador de prognóstico para recorrências de eventos cardiovasculares. As células inflamatórias como os neutrófilos e os macrófagos infiltram-se no cérebro isquêmico em vários modelos animais de AVC isquêmico. Para além disso, as células inerentes ao tecido cerebral como astrócitos, microglia ou do endotélio foram encontradas no seu estado ativo em situações de dano cerebral, incluindo o AVC isquêmico. Estas células tornam-se imunologicamente reativas e interagem umas com as outras produzindo substâncias incluindo citocinas e moléculas de adesão. Estas moléculas aparentam ser responsáveis pela acumulação de células inflamatórias no tecido danificado, resultando numa cascata de processos inflamatórios que produzem um ambiente que põe em causa a sobrevivência dos neurónios sujeitos à isquemia. Assim, qualquer umas destas áreas pode dar origem a alvos terapêuticos. Tuttolomundo e os seus colegas descrevem a inflamação como potencial alvo terapêutico e descrevem exaustivamente alguns mecanismos concretos que estão envolvidos na fisiopatologia do AVC isquêmico, nomeadamente, o papel da proteína C reativa, o papel do CD36, das citocinas, como o TNF α , IL-1, IL-6, o papel das metaloproteinases da matriz, os recetores *toll-like* e, por fim, as células imunoinflamatórias do tráfego do sistema nervoso central (37).

Vários estudos têm vindo a ser desenvolvidos na procura de alternativas terapêuticas para o tratamento do AVC isquêmico. Uma área que tem sido amplamente explorada é a neuroprotecção. Venkat *et al* redigiram uma atualização no papel de potenciais alternativas terapêuticas, nomeadamente, de células sanguíneas do cordão umbilical humano, de células do estroma do mesênquima derivado da medula óssea e de uma seleção de fármacos, a minociclina e candesartan. Cada uma destas terapias tem as suas próprias vantagens e potencial. Os seus mecanismos estão ainda a ser elucidados, mas a

sua ação inclui a remodelação neurovascular e da substância branca, sinaptogênese e efeitos anti-inflamatórios, que contribuem para a amplificação da plasticidade cerebral e consequente melhoria do resultado neurológico (38). No que diz respeito à atualização das células sanguíneas do cordão umbilical, a sua capacidade de ultrapassar a barreira hematoencefálica está comprovada, conseguindo diferenciar-se em células neuronais e produzir fatores neuroprotetores, ainda que a taxa de sobrevivência seja reduzida(39). Estudos adicionais demonstram que a combinação com sinvastatina e manitol aumenta a eficácia deste tratamento (38). Os estudos realizados até agora foram feitos com roedores, sendo que para além de modelos saudáveis foi analisada a eficácia em doentes com comorbilidades, nomeadamente, *diabetes mellitus* e hipertensão arterial, tendo sido comprovada a recuperação neurológica (40).

Relativamente ao tratamento com células do estroma mesenquimal derivado da medula óssea, estudos em roedores revelam que o tratamento iniciado um dia depois do AVC diminui a apoptose, melhora a integridade da barreira hematoencefálica, aumenta o crescimento axonal, promove a mielinização na penumbra e no *corpus callosum* e melhora a função neuronal (38,41).

Atualmente estão em decurso ensaios clínicos para avaliar a segurança, viabilidade e eficácia destas alternativas terapêuticas. Para além disso, é importante otimizar e determinar o tipo celular, a janela temporal de administração, a via de administração e a dose.

Chatuverdi & Kaczmarek concluíram que a concentração de metaloproteinase-9 (MMP-9) está significativamente aumentada em modelos animais de isquemia cerebral e AVC humano. Este aumento está associado com dano neuronal, apoptose, abertura da barreira hematoencefálica, transformação hemorrágica e dano na reperfusão. Assim, a inibição da atividade ou da expressão da MMP-9 é um dos alvos terapêuticos mais importantes. Para além disso, os inibidores endógenos, como é o TIMP-1, devem ser explorados pelos seus eventuais benefícios (42). No âmbito da terapêutica biológica, têm vindo a ser desenvolvidas várias formas de inibição da MMP-9, nomeadamente, anticorpos neutralizantes, siRNA, shRNA transportados através de vetores enovirais, lentivirais, partículas de ouro, entre outros. Todas estas estratégias têm demonstrado eficácia em melhorar as consequências do AVC isquémico (42).

Para além disso, à semelhança do mencionado acima, a minociclina, um antibiótico derivado da tetraciclina, é o fármaco mais estudado pela sua função neuroprotetora no AVC isquémico. Todos os estudos referem a diminuição da atividade da MMP-9 após tratamento com este antibiótico. A minociclina apresenta a capacidade de aumentar a janela terapêutica da rtPA de 3 horas para 6 horas, quando administrada concomitantemente (42–44). Para além destes fármacos, os autores referem que estão a ser estudadas outras substâncias que atuam na inibição da MMP-9, nomeadamente, estatinas, como é o caso da atorvastatina, a melatonina, recentemente estudada e a eritropoetina, que tem ação comprovada enquanto neuroprotetora, promotora da neurogênese e angiogênese após o AVC e por fim, a indometacina, inibidora da COX-1 e COX-2 que demonstra ação na redução da expressão da MMP-9(42).

Alishashi *et al.* abordam outro potencial alvo terapêutico, nomeadamente, o inflamassoma do recetor proteico tipo NOD (NLRP3), que tem sido proposto como mediador da resposta inflamatória durante o AVC isquémico. O inflamassoma NLRP3, que ativa a caspase-1 é responsável pela clivagem da pro-IL-1 e pro-IL-18 para as suas formas ativas e que são libertadas para o ambiente extracelular. Têm vindo a ser desenvolvidos inibidores dos mesmos, através de moléculas pequenas, interferão tipo I, micro RNAs, óxido nítrico e fator nuclear eritroide 2. Apesar de se constituir um alvo promissor, ainda existe um longo caminho a percorrer devido a falta de candidatos a fármacos ideais(45).

Guan *et al.* descrevem como área de estudo para o tratamento do AVC isquémico, a mitofagia, isto é, a autofagia das mitocôndrias. Este processo controla a qualidade e o número de mitocôndrias, eliminando as disfuncionais ou as excessivas que podem levar a produzir espécies reativas de oxigénio e provocar a morte celular. As mitocôndrias estão implicadas no dano dos neurónios e respetivo tecido após o AVC, dada a sua função relacionada com o aporte de ATP ao tecido, regulando o metabolismo oxidativo durante o processo patológico e a sua contribuição para a morte da célula apoptótica. O seu envolvimento concreto e claro ainda está por esclarecer, no entanto, esta apresenta-se como uma área de potencial elevado (46).

Na demanda de encontrar novos alvos terapêuticos é de salientar o papel da proteína cinase 5'-AMP ativa (AMPK), um membro do grupo das cinases de serina/treonina, que se distribui universalmente por vários órgãos e células. É uma molécula endógena protetora que responde a estímulos prejudiciais, como a isquémia cerebral, entre outros. Vários estudos revelaram que a ativação da AMPK desempenha um papel protetor no cérebro, apesar da sua ação no AVC isquémico ainda ser pouco esclarecedora. Jiang *et al.* compilaram a informação clínica e de investigação sobre o AMPK, revelando-se ser um potencial candidato para o desenvolvimento de fármacos do tratamento do AVC isquémico(47). A terapia metabólica para o tratamento desta patologia via sinalização AMPK é uma das descobertas com maior potencial no futuro da investigação. Destaca-se o papel das estatinas e da metformina, que reduzem a incidência de AVC nas populações de alto risco e que exercem ação como ativadores da AMPK. (47).

Dada a complexidade da fisiopatologia do AVC isquémico e a sua abrangência sistémica, torna-se claro que são vários os potenciais alvos terapêuticos, como mencionado acima. No entanto, a concretização no desenvolvimento de substâncias que atuem nesses alvos ainda é um processo debilitado, sendo que a maioria das substâncias falham nos vários estudos e ensaios das diversas fases de desenvolvimento.

Ainda assim, algumas abordagens mostram-se promissoras, ou pelo menos com potencial para explorar a sua viabilidade. Nos parágrafos seguintes serão explanados alguns exemplos de substâncias que podem vir a ter interesse farmacológico e terapêutico, tanto enquanto novas substâncias sem indicação aprovada como através do *repurposing* de fármacos.

Li, Zhou e colegas estudaram um potencial candidato. Estes autores já tinham definido o papel de neuroprotecção no AVC isquémico do regulador da apoptose e glicólise induzida TP53 através do aumento do fluxo da via das pentoses de fosfato. Num

estudo mais recente, os autores avaliaram o potencial de um produto desta via, o NADPH como novo fármaco para o tratamento do AVC isquémico. Foi realizada a administração de NADPH exógeno antes, durante e depois do início do AVC isquémico em dose única e em doses repetidas por via intravenosa em ratos, ratinhos e por via intraperitoneal em macacos. Os efeitos terapêuticos foram avaliados em modelos diferentes, tendo sido constatado um aumento dramático dos níveis de ATP e da forma reduzida da glutatona, enquanto se detetou uma descida nos níveis de espécies reativas de oxigénio. Assim, o NADPH reduziu significativamente o volume de enfarte, melhorou a sobrevivência após o AVC e a recuperação das funções neurológicas em modelos de rato e ratinho. Após a administração de dose única de NADPH foi reportada neuroprotecção robusta quando esta foi administrada nas primeiras 5 horas após a reperfusão. Para além disso, a administração repetida duas vezes ao dia, durante sete dias, após 24 horas do evento também forneceu efeitos terapêuticos. Por fim, o pré-tratamento com NADPH aumentou significativamente o resultado. A extensão da neuroprotecção é excepcional e a janela terapêutica é muito maior que a do rtPA em modelos roedores. Apresentou como principais vantagens, para além da janela terapêutica, a baixa toxicidade aguda e o risco de hemorragia cerebral. Para além disso, as suas ações biológicas sugerem que o NADPH pode prolongar a janela terapêutica do rtPA e prevenir um segundo evento após trombólise. Assim, a administração de NADPH exógeno protegeu significativamente os neurónios contra a isquémia em dois modelos de roedores, tornando-se um candidato promissor a fármaco para o tratamento do AVC isquémico (48).

Maniskas e colegas avaliaram a possibilidade da nitroglicerina, administrada por via intrarterial, traduzir efeitos terapêuticos neuroprotetores em modelos roedores de AVC isquémico, após os resultados do ensaio clínico *Efficacy of Nitric Oxide in Stroke* terem sugerido que esta substância administrada num prazo de seis horas, em sistema transdérmico, trazia efeito terapêutico benéfico. Os autores utilizaram um modelo roedor clinicamente relevante do AVC isquémico, que recorre a oclusão da artéria carotídea média, MCAo e desenvolveram um novo método de veiculação de fármaco intrarterial que permite distribuir um determinado composto diretamente ao sítio da isquémia mitigando efeitos adversos sistémicos. Não estando definidas doses padrão, os autores analisaram várias dosagens e concluíram que a nitroglicerina é um fármaco neuroprotetor potencialmente seguro, com um perfil de toxicidade específico, que inclui hemorragia intraventricular na dose mais elevada testada. Assim, devem ser realizados estudos adicionais para delinear a dose efetiva. Apesar das limitações do estudo, os resultados destes autores sugerem que esta nova modalidade, independentemente dos efeitos redutores da pressão arterial, poderá trazer benefício após o AVC isquémico (36).

Os anticoagulantes orais diretos substituíram largamente os antagonistas da vitamina K na prevenção do AVC cardio-embólico a partir da fibrilação auricular não valvular devido à sua conveniência, segurança e eficácia generalizada. No entanto, no que diz respeito ao AVC isquémico, apresenta-se um dilema, dado que a terapêutica anticoagulante é uma contra-indicação absoluta para a utilização da trombólise. Um dos principais anticoagulantes utilizados é o dabigatran. Estudos prévios demonstraram que o idarucizumab reverte de forma completa e sustentada o tempo de trombina e os níveis de dabigatran livre pouco tempo após a administração. Assim, este composto permite a

reversão do efeito do dabigatrano previamente à trombólise, para doentes que cumprem todos os requisitos para recorrer ao tratamento com rtPA mas que por algum motivo estiveram sobre o efeito do dabigatrano. Foi precisamente essa análise que os autores Zhao, Coote e seus colegas levaram a cabo, a administração pré-hospitalização do idarucizumab, demonstrando-se como uma abordagem alternativa para doentes que inicialmente sejam excluídos da terapêutica trombolítica, mas que permite que após a administração deste fármaco possam recorrer a ela (49).

Como foi referido anteriormente está previsto o tratamento complementar do AVC isquémico com terapêutica antiplaquetária. Neste sentido, existem vários fármacos desta classe disponíveis e utilizados na prática clínica. Huan e Ling procederam a uma análise comparativa da eficácia e segurança de nove terapias (individuais e combinadas), sendo elas, aspirina, clopidogrel, cilostazol, ticlopidina, triflusal, terutrobano, sarpogrelato, dipirdamol em associação com aspirina e clopidogrel em associação com aspirina. Os resultados destes autores permitiram constatar que o cilostazol aparenta ser a escolha ótima na prática clínica. (50) Por outro lado, num outro estudo mencionado anteriormente, demonstrou-se que a terapêutica antiplaquetária intravenosa com inibidores dos recetores da glicoproteína IIB/IIIa aparenta promissora para o tratamento do AVC, enquanto que a mesma terapêutica por via oral aparenta ser prejudicial (30).

No âmbito dos mecanismos de morte celular induzida pelo glutamato, os recetores NMDA mediam este mesmo processo quando são intensamente ou cronicamente ativados, o que é uma das causas para morte celular neuronal após lesões agudas. Yu, Wu e Wang demonstraram que BQ-869, um antagonista potente do recetor NMDA, bloqueia este recetor, de forma concentração e dose dependente, atenua o fluxo de Ca^{2+} induzido pelo NMDA, melhora a habilidade atlética dos ratos com oclusão da MCA, diminui a zona de enfarte na isquémia cerebral focal e reduz a mortalidade por AVC. No geral, os dados obtidos por estes investigadores permitiram demonstrar que o efeito neuroprotetor do BQ-869 poderá ocorrer devido à inibição do processo de excitotoxicidade mediada pelo NMDA. Estas descobertas indicam que o BQ-869 é o antagonista mais potente dos recetores NMDA e providenciam novas perspectivas para as potenciais aplicações terapêuticas para o tratamento do AVC (31).

Atualmente, acumula-se cada vez mais evidência que terapias baseadas em miRNA mostram-se promissoras para o tratamento do AVC. Após o evento, um nível elevado de miRNAs leva à inibição da expressão de muitos genes. Assim, a inibição destes miRNAs pode surgir como alvo terapêutico para o AVC isquémico. Os perfis de miRNA providenciam evidência que a sua modulação conseguiria ser benéfica para o diagnóstico do AVC isquémico, assim como agente terapêutico. Para além disso, a capacidade dos miRNA de regulação de numerosos genes alvo demonstra, claramente, a sua importância. No entanto, surgem algumas dificuldades na utilização destes agentes, nomeadamente, estabilidade *in vivo*, distribuição tecidual limitada, efeitos adversos e a veiculação destes mesmos agentes. Assim, a chave para trazer os miRNA para o contexto clínico é a compreensão dos sistemas de veiculação, para permitir refinar os resultados em modelos animais e transpor para agentes terapêuticos para o tratamento do AVC isquémico em humanos (51).

Dada a urgência de encontrar alternativas terapêuticas para esta patologia e dada a dificuldade de desenvolver novas moléculas que sejam eficazes e seguras e que obtenham aprovação para utilização, vários investigadores têm optado por procurar alternativas em fármacos aprovados para indicações que não as estudadas, o denominado *repurposing*. Neste fenómeno, recai a maior parte da investigação atualmente feita no âmbito do tratamento do AVC isquémico. Nos parágrafos seguintes far-se-á menção a estudos e potenciais fármacos que se têm demonstrado promissores ou com eventual utilidade no tratamento desta patologia. Desde os anos 90, pouco progresso tem vindo a ser desenvolvido na descoberta de novos tratamentos farmacológicos. O *drug repurposing* tem emergido como um antídoto para as dificuldades sentidas no desenvolvimento de fármacos.

Atualmente, ainda que não tenha sido encontrada uma alternativa clara e segura à terapêutica trombolítica, têm sido demonstrados os potenciais efeitos benéficos de alguns fármacos, nomeadamente os antagonistas dos recetores da angiotensina (ARA), como é o caso do candesartan. Os benefícios deste fármaco, para além da diminuição da pressão arterial, têm sido demonstrados em ensaios clínicos do AVC isquémico agudo. No estudo *Acute Candesartan Cilexetil Therapy in Stroke Survivors (ACCESS)*, a administração de candesartan nos primeiros sete dias após o evento resultaram numa redução significativa na recorrência de eventos vasculares, apesar de pouca diferença na pressão arterial. De facto, a proteção vascular conferida por este ARA já tinha sido demonstrada em ensaios clínicos (52). O candesartan, quando administrado, consegue entrar no cérebro, proteger o fluxo sanguíneo cerebral, diminuir o extravasamento da barreira hematoencefálica (BHE), diminuir a hemorragia cerebral, reduzir a neuroinflamação e diminuir o dano neuronal em modelos animais de AVC (53). O tratamento com dose baixa deste fármaco, tanto antes do AVC, como durante a fase aguda ou após o AVC, diminuiu significativamente o volume de enfarte e o edema, protegeu a integridade da BHE e melhorou o resultado neurológico. No entanto, existem estudos que não revelam os mesmos resultados, sendo que se considera que os efeitos terapêuticos podem divergir consoante os diferentes tipos de AVC isquémico (38,53).

Num outro ponto, o canal do recetor da sulfonilureia 1 (Sur-1)- potencial de recetor transitório 4 (Trmp4) é um elemento molecular importante na isquémia cerebral focal. Este canal é regulado em todas as células na unidade neurovascular após a isquémia e está ligado à disfunção microvascular que se manifesta na formação de edema e hemorragia secundária, que provoca inchaço cerebral. A ativação deste canal é um mecanismo major de edema citotóxico e “morte celular necrótica acidental”. O bloqueio do Sur 1 recorrendo ao fármaco glibenclamida tem sido estudo em diferentes modelos de rato com AVC, nomeadamente, em modelos não letais convencionais, em que a glibenclamida demonstrou reduzir o inchaço cerebral e o volume de enfarte e melhorou a função neurológica, em modelos letais de edema cerebral maligno, em que a glibenclamida provocou redução no edema, no inchaço cerebral e na mortalidade e por fim em modelos com rtPA, em que a glibenclamida reduziu o inchaço, a transformação hemorrágica e a morte (54).

Ainda no âmbito da inflamação e imunidade, Zhang e seus colegas desenvolveram um ensaio para abordar uma nova estratégia terapêutica, tendo presente que a inflamação

e imunidade desempenham um papel crítico na patogénese do AVC isquémico agudo. Assim, consideraram que uma nova estratégia seria relevante de ser explorada. Os autores testaram um modulador inflamatório, a vinpocetina, pelos seus efeitos nos *outcomes* do AVC. Para isso realizaram um estudo multi-center, recrutando 60 doentes com oclusão cerebral anterior e início de AVC há mais de 4,5h mas menos de 48h. Estes doentes foram distribuídos aleatoriamente entre dois grupos, sendo que receberam terapêutica de gestão de sintomas padrão (controlo) ou essa terapêutica acrescida de vinpocetina (30mg por dia, via IV, durante 14 dias consecutivos). O tratamento não alterou a contagem linfocitária, no entanto, o NF-κB, estimulante da ativação de células B estava inibido levando a indução de mediadores pró-inflamatórios. Estes efeitos levaram a uma redução significativa do aumento da lesão e um processo inflamatório atenuado. Em comparação com o controlo, os doentes tratados com vinpocetina, obtiveram uma melhor recuperação da sua função neurológica e melhoria nos resultados clínicos, durante a fase aguda e após um *follow-up* de três meses (55).

Recentemente, Parvez e a sua equipa, seguindo a linha de tendência do *repurposing* levaram a cabo um estudo em modelos animais. Como é sabido, o agonista dos recetores de dopamina D2, pramipexol, tem ação neuroprotetora na doença de Parkinson. Tem surgido, recentemente, evidência de que este fármaco leva a cabo a neuroprotecção através de ação nas mitocôndrias. Tendo isto como base, estes autores examinaram a possibilidade do papel mitocondrial do pramipexol na promoção da neuroprotecção após AVC isquémico em ratos. Após toda a análise feita, recorrendo aos procedimentos devidos, confirmou-se que o pramipexol promovia a recuperação neurológica, através de testes comportamentais e análises histológicas. Este tratamento levou a uma redução nas espécies reativas de oxigénio mitocondriais e nos níveis de Ca^{2+} . Para além disso, este fármaco elevou o potencial de membrana da mitocôndria e a fosforilação oxidativa. Os resultados destes autores demonstraram que a administração do pramipexol induz a recuperação neurológica através das vias mitocondriais (56).

Outra abordagem promissora tem sido feita nos fármacos indicados para o tratamento da esclerose múltipla, nomeadamente no fármaco fingolimod. Têm vindo a ser desenvolvidos vários estudos de utilização do fingolimod para o tratamento do AVC, tendo revelado redução na infiltração linfocitária nas lesões, melhoria na disrupção da BHE, na reperfusão da lesão e dos efeitos diretos neuroprotetores como possíveis mecanismos de ação. Uma meta-análise de nove estudos de eficácia do fingolimod em modelos animais, em 2013, concluiu que este era um possível candidato para o tratamento do AVC. Outro ensaio clínico revelou que em doentes que receberam tratamento com fingolimod após as 4.5h do início do AVC isquémico obtiveram uma redução maior na contagem linfocitária circulante, menores déficits neuronais e melhor recuperação das funções neurológicas em comparação com doentes que receberam a terapêutica de manutenção padrão. Assim, o fingolimod mostrou resultados promissores para o AVC isquémico, tanto em monoterapia após as 4.5h, como em combinação com rtPA dentro das 4.5h. Atualmente, está a decorrer um estudo de Fase II no qual o fingolimod é administrado nas primeiras seis horas em doentes que estejam a receber rtPA e sujeitos a trombectomia mecânica (57–60).

Tal como referido na introdução, um fármaco com potencial atrativo para o tratamento do AVC isquémico, sendo considerado seguro, é a memantina, podendo ainda possuir efeitos complementares à terapêutica de reperfusão. Devido aos seus efeitos neuroprotetores, o tratamento precoce com memantina pode mitigar o desenvolver do enfarte cerebral após o AVC isquémico agudo. O uso continuado deste fármaco durante a fase pós-aguda e a longo-termo da recuperação pode melhorar a função motora e a remodelação do cérebro através da inibição da astrogliose, aumento dos fatores neurotróficos e estímulo da angiogénese e plasticidade. Em adição, o tratamento precoce com memantina pode ainda aumentar os efeitos da administração prolongada do mesmo fármaco e por isso melhorar a recuperação funcional através da promoção da sobrevivência das células neuronais nos tecidos pré enfarte. Torna-se necessária a realização de grandes ensaios clínicos para avaliar o efeito nos doentes com AVC isquémico (32).

Tal como referido anteriormente, a minociclina, uma tetraciclina semi-sintética de segunda geração, indicada para o tratamento de acne *vulgaris* e algumas doenças sexualmente transmissíveis é, potencialmente, uma terapêutica farmacológica nova para o tratamento do AVC dada a sua elevada lipofilia e capacidade de facilmente passar a BHE. Um número crescente de estudos indica que a minociclina induz efeitos neuroprotetores em doentes experimentais e doentes clínicos de AVC. Os mecanismos de ação deste fármaco na componente neuroprotetora estão ainda por esclarecer, sendo, provavelmente, devido à sua ação anti-inflamatória, antioxidante, anti-autofagia e anti-apoptótica (38,53,61–63).

Para além deste fármaco, recentemente foi demonstrado que o tratamento agudo com o macrólido azitromicina atenua o dano da BHE e isquémia cerebral em roedores que sofreram oclusão da MCA, com melhoria significativa dos déficits neurológicos, até sete dias após o evento. O efeito neuroprotetor deste fármaco é dependente da sua capacidade de induzir polarização M2 na microglia e, mais importante ainda, nos macrófagos periféricos, dado que a polarização das células imunitárias inatas traz efeitos benéficos na recuperação do AVC (64).

Ainda no âmbito de potenciais fármacos a atuar na recuperação neurológica do AVC isquémico, menciona-se alguns antagonistas dos recetores mineralocorticóides, nomeadamente, a eplerenona e a espironolactona, diuréticos poupadores de potássio, comumente utilizados para o tratamento de doenças cardiovasculares e cujos efeitos protetores foram detetados em modelos roedores de AVC isquémico. A sua eficácia tem sido correlacionada com a capacidade destes recetores mieloides em induzir uma expressão diminuída de marcadores M1, enquanto ocorre uma preservação parcial da expressão dos marcadores M2. Para além destes fármacos, muitos antidiabéticos, independentemente do seu alvo molecular têm apresentado resultados promissores nos efeitos neuroprotetores, nomeadamente tiazolidinedionas, que já foram validadas em modelos pré-clínicos de AVC. Destaca-se a rosiglitazona que promove a resolução da inflamação após isquémia cerebral focal. Para além disso, em ratinhos hiperglicémicos, a ativação do recetor ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR) pela pioglitazona corrigiu a resposta inflamatória, estabilizou os novos vasos na zona limite do enfarte e reduziu a taxa de hemorragia intracerebral secundária(64).

Tendo como base, mais uma vez, o processo inflamatório como alvo molecular, têm sido feitas tentativas para o tratamento do AVC isquémico agudo, recorrendo ao bloqueio dos recetores da IL-1 com o seu antagonista (IL-1ra). Um ensaio de fase IIa randomizado demonstrou que o IL-1ra recombinante humano era seguro, prontamente ultrapassava a BHE e aparentou providenciar alguns benefícios, em particular em doentes com enfarte cortical. Ainda existe muito trabalho a desenvolver, particularmente na farmacocinética deste medicamento e proceder aos estudos das próximas fases (65).

Tal como referido, dados recentes sublinham o potencial papel neuroprotetor de algumas estratégias imunomoduladoras, baseadas na polarização de células mieloides em direção a células não inflamatórias, de fenótipos benéficos. Dado o papel dos recetores retinoide X (RXR) na polarização e diferenciação nestas células, explorou-se a possível ação do agonista RXR, o bexaroteno, em ratinhos sujeitos a isquémia cerebral focal. A administração aguda deste fármaco reduziu significativamente o extravasamento da BHE, o dano do enfarte cerebral e o défice neurológico produzido pela oclusão da MCA, nos ratinhos, sem afetar o fluxo sanguíneo cerebral. Este efeito foi possível perante a administração até 4,5 horas após o início do evento. Os autores desta descoberta confirmam que estes dados sugerem que o bexaroteno exerce efeitos imunomoduladores periféricos sob condições isquémicas e, portanto, deve ser reorientado para a terapêutica do AVC isquémico agudo (66).

Peyravian e os seus colegas procederam a uma revisão de uma possível abordagem terapêutica, ainda que em fase precoce de resultados. Tendo como informação base o efeito exacerbador do risco e gravidade do AVC isquémico por utilização crónica de opióides prescritos e sabendo que estes fármacos exercem ação na disrupção da BHE, estes autores procuraram analisar o efeito dos antagonistas dos opióides como possíveis fármacos para o tratamento do AVC isquémico. Estes autores referem a ação benéfica, comprovada em modelos maioritariamente animais, de três fármacos, antagonistas dos opióides que possuem aprovação pela FDA, nomeadamente, a naloxona, naltrexona e nalmefeno. No entanto, estes fármacos carecem ainda de maior análise, mais ensaios clínicos e mais estudos na área de design de fármacos, via de administração, de forma a procurar abordagens menos invasivas e mais seguras, dado que muitos ensaios têm falhado por falta de segurança e eficácia (67).

Como referido, a isquémia cerebral induz danos multifacetados no cérebro. Nesse sentido, Yu e seus colegas procuraram avaliar a eficácia de uma terapêutica combinada de três fármacos aprovados para outras indicações, nomeadamente, lamotrigina, minociclina e lovastatina para o tratamento do AVC isquémico, recorrendo a dois modelos de ratos (isquemia cerebral global e focal induzida por oclusão das artérias carotídeas comuns ou da MCA, respetivamente). A análise *in vitro* revelou que a terapêutica combinada, mas não os fármacos isolados, protegia os neurónios contra a morte celular induzida pela privação de glucose e oxigénio. Para além disso, marcava as células para apoptose e dano no DNA induzido pela isquémia. Adicionalmente à ação exercida nos neurónios, a combinação suprimia os processos inflamatórios na microglia e nas células endoteliais cerebrais presentes pela isquémia. No modelo global, a terapêutica combinada, mas não os fármacos isolados, suprimiram a ativação da microglia e a produção de citocinas inflamatórias e reduziu o dano neuronal. No modelo focal, a

terapêutica combinada, mas não os fármacos isolados, atenuou o enfarte, suprimiu a infiltração de neutrófilos periféricos e reduziu os déficits neurológicos após o AVC isquêmico. Assim, uma terapêutica combinada confere um maior espectro de proteção contra a isquemia/reperfusão e pode tornar-se uma abordagem promissora nas fases iniciais tanto de paragem cardíaca como para AVC isquêmico (68).

Seguindo a investigação pré-clínica na área da terapia celular para o tratamento do AVC isquêmico é possível concluir que existe evidência que independentemente do tipo celular ou da via de administração, as células exógenas demonstraram migração para o alvo, isto é, para o local de enfarte. Ora, uma propriedade intrínseca como esta torna-se extremamente atrativa, dado que a extensão da janela terapêutica temporal é um dos desafios clínicos enfrentados pelos profissionais de saúde e doentes. Tem sido sugerido que os resultados mais desejados ocorrem quando as células transplantadas via intravenosa ultrapassam a BHE, entram na periferia do cérebro e eventualmente atingem o local danificado do cérebro. Para além disso, a penumbra, com tecido passível de ser salvo representa o alvo neuropatológico para a intervenção terapêutica. Este tipo de dados sugere que uma recuperação induzida por células poderá ser um fenómeno que envolva o corpo inteiro, o que leva à necessidade de mais investigação, particularmente dado que as vias de administração intravasculares levam à deposição das células fora do cérebro. (69)

Numa outra abordagem possível, tem-se estudado o ginsenosido-rd, um glicosídeo esteroide extraído a partir do ginseng que atua como antagonista dos canais de cálcio e que tem exibido eficácia neuroprotetora em estudos laboratoriais e clínicos. Já foi alvo de ensaios de fase II randomizados, de dupla ocultação e controlados por placebo. (70,71)

Em doentes de AVC isquêmico a reação inflamatória sistémica aguda desencadeada pela isquémia cerebral é sobreposta por um estado de inflamação crónica e de baixo nível. A reação aguda é a resposta direta à lesão no tecido e correlaciona-se com a gravidade do AVC. A inflamação de baixo nível é relacionada com a presença de fatores de risco e comorbidades e, até certo ponto, reflete o nível de aterosclerose. Nos seres humanos, os dois marcadores da inflamação sistémica que têm sido reportados consistentemente como elevados durante o AVC isquêmico são a IL-6 e a proteína C reativa (CRP). Durante a fase aguda do AVC, a IL-6 é um dos mediadores sanguíneos mais expressos na inflamação, fazendo das citocinas um alvo terapêutico atrativo. Nesse sentido, várias estratégias foram desenvolvidas para bloquear a ação da IL-6, por exemplo, o tocilizumab, um anticorpo IL-6R humanizado. O fármaco Anakirna, uma forma recombinante do IL-1RA humano, num ensaio randomizado com 34 doentes de AVC levou à diminuição da CRP plasmática e da IL-6, bem como a contagem leucocitária e de neutrófilos. A terapêutica foi considerada segura e bem tolerada. Por outro lado, em modelos animais de AVC, a isquémia cerebral promove a síntese de TNF- α e MCP-1 pelos adipócitos. A administração de propranolol reverte a resposta inflamatória após o AVC no tecido adiposo (72).

Importa compreender que, antes de se atingir os ensaios clínicos, é de extrema relevância a análise dos riscos e benefícios dos fármacos em modelos animais. No estudo do AVC isquêmico, a avaliação em modelos animais, com particular destaque para modelos roedores, tem sido fulcral, dada a dificuldade demonstrada em ensaios clínicos

devido às próprias características desta patologia. No entanto, convém realçar que, ainda que os modelos animais possam prever os resultados humanos, o mesmo só acontece se se recorrer aos modelos corretos e os resultados analisados rigorosamente (73).

10. Conclusões

Após a análise de vários artigos de revisão e alguns estudos de possíveis abordagens farmacológicas para o tratamento do AVC isquémico em doentes com contraindicação para terapêutica trombolítica, conclui-se que ainda existe muito trabalho a concretizar pela frente. Perante a dificuldade em desenvolver novos fármacos, pela sua morosidade e falta de financiamento, a investigação tem-se focado no *repurposing* de fármacos. Nesta área residem as apostas mais promissoras e com melhor probabilidade de sucesso.

A evidência sugere que a utilização do processo inflamatório e da resposta imunitária como alvo é uma abordagem viável para atingir a recuperação do tecido cerebral e melhorar os resultados após o AVC. Contudo, as múltiplas tentativas falhadas de desenvolvimento destas terapias têm levantado dúvidas para futuras tentativas. Procurar atingir os eventos altamente dinâmicos que ocorrem durante a inflamação no microambiente inacessível que é o cérebro é desafiante e o facto da compreensão sobre as interações que ocorrem entre o sistema imunitário e o cérebro durante o AVC ser incompleta limita o progresso. Nesse sentido, os modelos animais e os ensaios em humanos de Fase I e II permitiram progredir em direção à compreensão da imunidade no AVC, mas pouco trabalho foi feito nesta área. A variabilidade entre os modelos mais utilizados de AVC oferece uma oportunidade de investigar todo o espectro da neuroinflamação que ocorre nesta doença altamente diversificada. Os modelos animais representam apenas um segmento da patogénese, pelo que o que de facto pode ser assimilado é limitado (65).

No mesmo seguimento, os dados sugerem que as células inflamatórias desempenham um papel complexo e multifásico após o AVC isquémico, sendo que a maioria demonstra tanto efeitos benéficos como efeitos adversos. A infiltração de células inflamatórias constatada nas fases iniciais do AVC isquémico demonstrou-se predominantemente danosa. As estratégias anti leucocitárias reduzem o dano isquémico cerebral em modelos animais, no entanto, a transposição das descobertas experimentais para as terapêuticas clínicas tem decorrido sem sucesso. Mais uma vez, utilizar como alvo um único tipo celular ou uma única molécula não é exequível no tratamento. Nesta linha, muitas questões continuam por responder, nomeadamente a forma como funcionam as células inflamatórias em conjunto, se e como é que estas células contribuem para a patogénese do AVC isquémico e se partilham uma via comum. Fica também por averiguar como reduzir as ações danosas e estimular as protetoras dos vários tipos de células inflamatórias. Com o desenrolar destas áreas de investigação será possível aferir mais mecanismos do AVC e desenvolver novas terapêuticas direcionadas para o AVC isquémico. Devem ser feitos esforços no sentido de definir as interações tempo-dependente entre as células inflamatórias e as interações com a vasculatura cerebral com tecnologias avançada em imagem cerebral e outras abordagens em modelos animais e doentes de AVC. É importante, ainda, realizar investigação clínica perante condições relevantes associadas e estados inflamatórios elevados, nomeadamente, aterosclerose, *diabetes mellitus* tipo 2, infeção prévia, entre outros (74).

De futuro, fármacos como as Estatinas, ARAs, minociclina e fatores de crescimento, como a eritropoietina podem ser utilizados na prática clínica. De facto, os benefícios do candesartan, para além da diminuição da pressão arterial, já foram demonstrados num ensaio clínico do AVC isquémico agudo. (52)

Como foi possível constatar nesta monografia, muitos candidatos a fármacos já foram sujeitos a ensaios clínicos, incluindo fármacos com capacidades anti-excitotóxicas, anti-inflamatórias, antioxidantes, antiapoptóticas/regenerativas, anti-hipertensores, moduladores adrenérgicos, trombolíticos, estimulantes, reguladores de fluidos ou veiculadores de oxigénio. Para além disso, o futuro do tratamento desta doença recai, mais provavelmente, em terapia combinada do que em monoterapia. A trombólise tornou-se como o tratamento padrão. A maioria dos esforços para desenvolver fármacos neuroprotetores têm sido, universalmente, desapontantes, sendo que são poucos os compostos identificados como eficazes na investigação pré-clínica e que se tornam integrantes da prática clínica. A combinação de terapias e os esforços realizados para alargar a janela terapêutica da trombólise poderá acarretar mais benefícios em doentes que sofreram AVC isquémico agudo.

Para além da procura de novos fármacos, foi possível também analisar a utilização de outras vias de administração, como o caso da trombectomia endovascular que rapidamente recanaliza o AVC para um acesso intrarterial. Assim, esta abordagem permite uma oportunidade de coadministração de compostos potencialmente neuroprotetores, como foi o caso da nitroglicerina e do verapamil, levando à entrega de um composto diretamente ao local da isquémia, mitigando os efeitos adversos sistémicos (36).

O AVC isquémico agudo é a maior causa de mortalidade e incapacidade dos adultos e a sua importância tendencialmente será maior à medida que a população envelhece. Infelizmente, um número elevado de fármacos considerados de potencial elevado enquanto protetores neurovasculares não demonstraram benefício clínico nos ensaios clínicos de fase II e III, apesar dos seus resultados pré-clínicos encorajantes. Importa realçar que mais de 1000 potenciais protetores neurovasculares foram testados em modelos animais de AVC isquémico agudo. Desses, apenas 114 atingiram os ensaios clínicos, dos quais muito poucos exibiram qualquer benefício clínico (71).

Os ensaios clínicos controlados randomizados de tratamentos combinados dos últimos anos têm incluído vários fatores de crescimento, hipotermia, minociclina, natalizumab (entretanto comprovado o seu insucesso), fingolimod e ácido úrico, sendo que os últimos dois mostraram resultados encorajadores em combinação com alteplase. O bloqueio da excitotoxicidade tem sido novamente submetido a ensaios clínicos com novas abordagens, nomeadamente o inibidor pós sináptico de densidade-95 NA-1.

A acumulação de resultados falhados na transposição clínica para o tratamento neuroprotetor de doentes com AVC isquémico agudo indica que é necessário implementar novas estratégias na área pré-clínica e clínica. Algumas dessas alterações são necessárias no próprio desenho dos ensaios clínicos, particularmente na seleção da população alvo. Uma das descobertas mais recentes é a exequibilidade de realizar ensaios clínicos destes fármacos em doentes que estejam a receber terapia trombolítica.

Apesar de não ter sido abordado nesta monografia, é um facto que os procedimentos endovasculares, como a trombectomia endovascular, têm vindo a crescer e estão cada vez mais disponíveis na prática clínica. Assim, é desejável que os estudos feitos com fármacos neuroprotetores possam ser realizados em doentes sujeitos a esses mesmos procedimentos. Esta abordagem irá permitir uma melhor estimativa da eficácia da neuroprotecção oferecida por estes fármacos.

Ainda no âmbito dos ensaios clínicos seria interessante abordar novas formas de analisar os doentes, dada a limitação temporal de tratamento desta doença e o facto de ser necessário manter a garantia que o doente não é colocado em risco. Assim, os doentes poderiam ser analisados durante o transporte em ambulância e receber o fármaco experimental em combinação com o fármaco trombolítico. Ainda que irrealista enquanto prática clínica rotineira, esta abordagem poderia permitir o desenho de ensaios mais pequenos em doentes altamente selecionados, que iriam sustentar o desenho de ensaios maiores e providenciar a prova de conceito necessária (75).

As terapias baseadas em células estaminas têm emergido como nova direção no tratamento protetor e regenerativo do AVC isquémico. Nesta área estabeleceu-se e sugeriu-se normas orientadoras para os ensaios pré-clínicos e clínicos. Os estudos em modelos de AVC isquémico pré-clínicos demonstraram melhoria funcional promissora através de terapêutica com células estaminas embrionárias (ESC), células estaminais pluripotentes (iPSC), células estaminais neurais (NSC), células estaminais mesenquimais (MSC) e células mononucleares (MNC). Os avanços na investigação capacitaram a transposição para doentes com AVC isquémico. No entanto, os ensaios clínicos demonstraram benefício limitado, levando à necessidade de mais estudos para estabelecer a segurança e eficácia destas abordagens. Até agora, apenas as células estaminais mesenquimais (MSC) foram consideradas o único tratamento que melhora a função neurológica de doentes de AVC isquémico (76–78).

Uma das principais conclusões a retirar é o facto de apesar de 95% dos estudos pré-clínicos publicados sobre “agentes neuroprotetores” ter reportado resultados positivos em modelos animais de AVC isquémico, nenhum deles foi transposto para ensaios de fase III de sucesso (79).

11. Referências bibliográficas

1. OECD. Cardiovascular Disease and Diabetes: Policies for Better Health and Quality of Care [Internet]. OECD; 2015. (OECD Health Policy Studies). Available from: <https://doi.org/10.1787/9789264233010-en>
2. INE. Estatísticas da Saúde 2017.
3. Sacco RL, Kasner SE, Broderick JP, Caplan LR, Connors JJ (Buddy), Culebras A, et al. An Updated Definition of Stroke for the 21st Century. *Stroke* [Internet]. 2013 Jul;44(7):2064–89. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/STR.0b013e318296aeca>
4. Truelsen T, Begg S, Mathers C. The global burden of cerebrovascular disease. 2001;
5. Mestre H, Cohen-Minian Y, Zajarias-Fainsod D, Ibarra A. Pharmacological Treatment of Acute Ischemic Stroke. In: *Neurodegenerative Diseases* [Internet].

- InTech; 2013. Available from:
<http://www.intechopen.com/books/neurodegenerative-diseases/pharmacological-treatment-of-acute-ischemic-stroke>
6. Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. Stroke [Internet]. 1993 Jan;24(1):35–41. Available from:
<https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.STR.24.1.35>
 7. Radu RA, Terecoasă EO, Băjenaru OA, Tiu C. Etiologic classification of ischemic stroke: Where do we stand? Clin Neurol Neurosurg [Internet]. 2017 Aug;159:93–106. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28609703>
 8. Arsava EM, Ballabio E, Benner T, Cole JW, Delgado-Martinez MP, Dichgans M, et al. The Causative Classification of Stroke system: An international reliability and optimization study. Neurology [Internet]. 2010 Oct 5;75(14):1277–84. Available from:
<http://www.neurology.org/cgi/doi/10.1212/WNL.0b013e3181f612ce>
 9. Amarenco P, Bogousslavsky J, Caplan LR, Donnan GA, Wolf ME, Hennerici MG. The ASCOD Phenotyping of Ischemic Stroke (Updated ASCO Phenotyping). Cerebrovasc Dis [Internet]. 2013;36(1):1–5. Available from:
<https://www.karger.com/Article/FullText/352050>
 10. Kwah LK, Diong J. National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS). J Physiother [Internet]. 2014 Mar;60(1):61. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jphys.2013.12.012>
 11. Direção-Geral da Saúde. Programa Nacional para as Doenças Cérebro-Cardiovasculares 2017. Lisboa; 2017.
 12. Stevens E, Emmet DE, Wang DY, McKevitt PC, Wolfe PC. The Burden of Stroke in Europe [Internet]. London; 2017. Available from:
http://www.ghbook.ir/index.php?name=فرهنگ و رسانه های نوین&option=com_dbook&task=readonline&book_id=13650&page=73&chkhask=ED9C9491B4&Itemid=218&lang=fa&tmpl=component
 13. Explained S. Cardiovascular diseases statistics. 2019;(July 2018):1–14.
 14. Catanese L, Tarsia J, Fisher M. Acute Ischemic Stroke Therapy Overview. Circ Res [Internet]. 2017 Feb 3;120(3):541–58. Available from:
<https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCRESAHA.116.309278>
 15. Deb P, Sharma S, Hassan KM. Pathophysiologic mechanisms of acute ischemic stroke: An overview with emphasis on therapeutic significance beyond thrombolysis. Pathophysiology [Internet]. 2010 Jun;17(3):197–218. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pathophys.2009.12.001>
 16. Banerjee C, Chimowitz MI. Stroke Caused by Atherosclerosis of the Major Intracranial Arteries. Circ Res [Internet]. 2017 Feb 3;120(3):502–13. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCRESAHA.116.308441>
 17. Khoshnam SE, Winlow W, Farzaneh M, Farbood Y, Moghaddam HF. Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. Neurol Sci [Internet]. 2017

- Jul 17;38(7):1167–86. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10072-017-2938-1>
18. Anrather J, Iadecola C. Inflammation and Stroke: An Overview. *Neurotherapeutics* [Internet]. 2016 Oct 11;13(4):661–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s13311-016-0483-x>
 19. O'Donnell MJ, Xavier D, Liu L, Zhang H, Chin SL, Rao-Melacini P, et al. Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. *Lancet* [Internet]. 2010 Jul;376(9735):112–23. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673610608343>
 20. Boehme AK, ESENWA C, Elkind MSV. Stroke Risk Factors, Genetics, and Prevention. *Circ Res* [Internet]. 2017 Feb 3;120(3):472–95. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCRESAHA.116.308398>
 21. Clar C, Oseni Z, Flowers N, Keshtkar-Jahromi M, Rees K. Influenza vaccines for preventing cardiovascular disease. *Sao Paulo Med J* [Internet]. 2015 Aug;133(4):384–384. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-31802015000400384&lng=en&tlng=en
 22. Chauhan G, Debette S. Genetic Risk Factors for Ischemic and Hemorrhagic Stroke. *Curr Cardiol Rep* [Internet]. 2016 Dec 31;18(12):124. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11886-016-0804-z>
 23. Francis J, Raghunathan S, Khanna P. The role of genetics in stroke. *Postgrad Med J* [Internet]. 2007 Sep 1;83(983):590–5. Available from: <http://pmj.bmj.com/cgi/doi/10.1136/pgmj.2007.060319>
 24. Roth S, Liesz A. Stroke research at the crossroads - where are we heading? *Swiss Med Wkly* [Internet]. 2016 Jul 11;(July):1–10. Available from: <http://doi.emh.ch/smw.2016.14329>
 25. Rabinstein AA. Treatment of Acute Ischemic Stroke. *Contin Lifelong Learn Neurol* [Internet]. 2017 Feb;23(1):62–81. Available from: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00132979-201702000-00009>
 26. Conroy R. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J* [Internet]. 2003 Jun;24(11):987–1003. Available from: [https://academic.oup.com/eurheartj/article-lookup/doi/10.1016/S0195-668X\(03\)00114-3](https://academic.oup.com/eurheartj/article-lookup/doi/10.1016/S0195-668X(03)00114-3)
 27. Ringleb P a, Bousser M, Ford G, Bath P, Brainin M, Caso V, et al. Guidelines for Management of Ischaemic Stroke and Transient Ischaemic Attack 2008. *Cerebrovasc Dis* [Internet]. 2008;25(5):457–507. Available from: <http://www.chinastroke.org.cn/qikan/epaper/zhaiyao.asp?bsid=14599>
 28. Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T, Adeoye OM, Bambakidis NC, Becker K, et al. 2018 Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* [Internet]. 2018 Mar;49(3):46–99. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/STR.0000000000000158>

29. French BR, Boddepalli RS, Govindarajan R. Acute Ischemic Stroke : Current Status and Future Directions. 2016;(december):480–6.
30. Kanyal N. The Science of Ischemic Stroke : Pathophysiology & Pharmacological Treatment. 2015;4(10):65–84.
31. Yu G, Wu F, Wang E-S. BQ-869, a novel NMDA receptor antagonist, protects against excitotoxicity and attenuates cerebral ischemic injury in stroke. *Int J Clin Exp Pathol* [Internet]. 2015;8(2):1213–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25973006>
32. Seyedsaadat SM, F. Kallmes D. Memantine for the treatment of ischemic stroke: experimental benefits and clinical lack of studies. *Rev Neurosci* [Internet]. 2019 Jan 28;30(2):203–20. Available from: <http://www.degruyter.com/view/j/revneuro.2019.30.issue-2/revneuro-2018-0025/revneuro-2018-0025.xml>
33. Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T, Adeoye OM, Bambakidis NC, Becker K, et al. 2018 Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* [Internet]. 2018 Mar;49(3):e46–110. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/STR.0000000000000158>
34. Fugate JE, Rabinstein AA. Absolute and Relative Contraindications to IV rt-PA for Acute Ischemic Stroke. *The Neurohospitalist* [Internet]. 2015 Jul 7;5(3):110–21. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1941874415578532>
35. Demaerschalk BM, Kleindorfer DO, Adeoye OM, Demchuk AM, Fugate JE, Grotta JC, et al. Scientific Rationale for the Inclusion and Exclusion Criteria for Intravenous Alteplase in Acute Ischemic Stroke. *Stroke* [Internet]. 2016 Feb;47(2):581–641. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/STR.0000000000000086>
36. Maniskas ME, Roberts JM, Trueman R, Learoyd AE, Gorman A, Fraser JF, et al. Intra-arterial nitroglycerin as directed acute treatment in experimental ischemic stroke. *J Neurointerv Surg* [Internet]. 2018 Jan;10(1):29–33. Available from: <http://jn.is.bmj.com/lookup/doi/10.1136/neurintsurg-2016-012793>
37. Tuttolomondo A, Di Sciacca R, Di Raimondo D, Renda C, Pinto A, Licata G. Inflammation as a Therapeutic Target in Acute Ischemic Stroke Treatment. *Curr Top Med Chem* [Internet]. 2009 Oct 1;9(14):1240–60. Available from: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1568-0266&volume=9&issue=14&spage=1240>
38. Venkat P, Shen Y, Chopp M, Chen J. Cell-based and pharmacological neurorestorative therapies for ischemic stroke. *Neuropharmacology* [Internet]. 2018 May;134:310–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.08.036>
39. Vendrame M, Cassady J, Newcomb J, Butler T, Pennypacker KR, Zigova T, et al. Infusion of Human Umbilical Cord Blood Cells in a Rat Model of Stroke Dose-Dependently Rescues Behavioral Deficits and Reduces Infarct Volume. *Stroke* [Internet]. 2004 Oct;35(10):2390–5. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.STR.0000141681.06735.9b>

40. Chen J, Ning R, Zacharek A, Cui C, Cui X, Yan T, et al. MiR-126 Contributes to Human Umbilical Cord Blood Cell-Induced Neurorestorative Effects After Stroke in Type-2 Diabetic Mice. *Stem Cells* [Internet]. 2016 Jan;34(1):102–13. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/stem.2193>
41. Chen J, Li Y, Katakowski M, Chen X, Wang L, Lu D, et al. Intravenous bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat. *J Neurosci Res* [Internet]. 2003 Sep 15;73(6):778–86. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jnr.10691>
42. Chaturvedi M, Kaczmarek L. MMP-9 Inhibition: a Therapeutic Strategy in Ischemic Stroke. *Mol Neurobiol* [Internet]. 2014 Feb 12;49(1):563–73. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12035-013-8538-z>
43. Sapadin AN, Fleischmajer R. Tetracyclines: Nonantibiotic properties and their clinical implications. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2006 Feb;54(2):258–65. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0190962205032317>
44. Murata Y, Rosell A, Scannevin RH, Rhodes KJ, Wang X, Lo EH. Extension of the Thrombolytic Time Window With Minocycline in Experimental Stroke. *Stroke* [Internet]. 2008 Dec;39(12):3372–7. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/STROKEAHA.108.514026>
45. Alishahi M, Farzaneh M, Ghaedrahmati F, Nejabatdoust A, Sarkaki A, Khoshnam SE. NLRP3 inflammasome in ischemic stroke: As possible therapeutic target. *Int J Stroke* [Internet]. 2019 Aug 2;14(6):574–91. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1747493019841242>
46. Guan R, Zou W, Dai X, Yu X, Liu H, Chen Q, et al. Mitophagy , a potential therapeutic target for stroke. 2018;4:1–16.
47. Jiang S, Li T, Ji T, Yi W, Yang Z, Wang S, et al. AMPK: Potential Therapeutic Target for Ischemic Stroke. *Theranostics* [Internet]. 2018;8(16):4535–51. Available from: <http://www.thno.org/v08p4535.htm>
48. Li M, Zhou Z-P, Sun M, Cao L, Chen J, Qin Y-Y, et al. Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, a Pentose Phosphate Pathway Product, Might Be a Novel Drug Candidate for Ischemic Stroke. *Stroke* [Internet]. 2016 Jan;47(1):187–95. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/STROKEAHA.115.009687>
49. Zhao H, Coote S, Pesavento L, Jones B, Rodrigues E, Ng JL, et al. Prehospital idarucizumab prior to intravenous thrombolysis in a mobile stroke unit. *Int J Stroke*. 2018;0(0):1–5.
50. Chen L-Z, Chen M-Y, Che C-H, Chen S-G, Lin W-H, Huang H-P. Comparative Efficacy and Safety of Nine Anti-Platelet Therapies for Patients with Ischemic Stroke or Transient Ischemic Attack: a Mixed Treatment Comparisons. *Mol Neurobiol*. 2016;54(2):1456–66.
51. Khoshnam SE, Winlow W, Farbood Y, Moghaddam F. Emerging Roles of microRNAs in Ischemic Stroke : As Possible Therapeutic Agents. 2017;19(2):166–87.
52. Fagan SC, Pharm D. Drug Repurposing for Drug Development in Stroke. 2010;

53. Soliman S, Ishrat T, Fouda AY, Patel A, Pillai B, Fagan SC. Sequential Therapy with Minocycline and Candesartan Improves Long-Term Recovery After Experimental Stroke. *Transl Stroke Res* [Internet]. 2015 Aug 26;6(4):309–22. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12975-015-0408-8>
54. Simard JM, Sheth KN, Kimberly WT, Stern BJ, del Zoppo GJ, Jacobson S, et al. Glibenclamide in Cerebral Ischemia and Stroke. *Neurocrit Care* [Internet]. 2014 Apr 17;20(2):319–33. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12028-013-9923-1>
55. Zhang F, Yan C, Wei C, Yao Y, Ma X, Gong Z, et al. Vinpocetine Inhibits NF- κ B-Dependent Inflammation in Acute Ischemic Stroke Patients. *Transl Stroke Res* [Internet]. 2018 Apr 9;9(2):174–84. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12975-017-0549-z>
56. Andrabi SS, Ali M, Tabassum H, Parveen S, Parvez S. Pramipexole prevents ischemic cell death via mitochondrial pathways in ischemic stroke. *Dis Model Mech* [Internet]. 2019 Aug 1;12(8):dmm033860. Available from: <http://dmm.biologists.org/lookup/doi/10.1242/dmm.033860>
57. Fu Y, Zhang N, Ren L, Yan Y, Sun N, Li Y-J, et al. Impact of an immune modulator fingolimod on acute ischemic stroke. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2014 Dec 23;111(51):18315–20. Available from: <http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.1416166111>
58. Liu J, Zhang C, Tao W, Liu M. Systematic Review and Meta-Analysis of the Efficacy of Sphingosine-1-Phosphate (S1P) Receptor Agonist FTY720 (Fingolimod) in Animal Models of Stroke. *Int J Neurosci* [Internet]. 2013 Jan 16;123(3):163–9. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/00207454.2012.749255>
59. Zhang S, Zhou Y, Zhang R, Zhang M, Campbell B, Lin L, et al. Rationale and design of combination of an immune modulator Fingolimod with Alteplase bridging with Mechanical Thrombectomy in Acute Ischemic Stroke (FAMTAIS) trial. *Int J Stroke* [Internet]. 2017 Oct;12(8):906–9. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1747493017710340>
60. Rommer PS, Sellner J. Repurposing multiple sclerosis drugs: a review of studies in neurological and psychiatric conditions. *Drug Discov Today* [Internet]. 2019 Jul;24(7):1398–404. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.05.009>
61. Ma J, Zhang J, Hou WW, Wu XH, Liao RJ, Chen Y, et al. Early treatment of minocycline alleviates white matter and cognitive impairments after chronic cerebral hypoperfusion. *Sci Rep* [Internet]. 2015 Dec 15;5(1):12079. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep12079>
62. Naderi Y, Sabetkasaei M, Parvardeh S, Moini Zanjani T. Neuroprotective effects of pretreatment with minocycline on memory impairment following cerebral ischemia in rats. *Behav Pharmacol* [Internet]. 2017 Apr;28(2-3 Special Issue):214–22. Available from: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00008877-201704000-00013>
63. Hess DC, Fagan SC, Pharm D. Repurposing an Old Drug to Improve the Use and Safety of Tissue Plasminogen Activator for Acute Ischemic Stroke : Minocycline.

64. Amantea D, Bagetta G. Drug repurposing for immune modulation in acute ischemic stroke. *Curr Opin Pharmacol* [Internet]. 2016 Feb;26:124–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2015.11.006>
65. Fu Y, Liu Q, Anrather J, Shi F-D. Immune interventions in stroke. *Nat Rev Neurol* [Internet]. 2015 Sep 25;11(9):524–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrneurol.2015.144>
66. Certo M, Endo Y, Ohta K, Sakurada S. Activation of RXR / PPAR α underlies neuroprotection by bexarotene in ischemic stroke. 2015;102:298–307.
67. Peyravian N, Dikici E, Deo S, Toborek M, Daunert S. Opioid antagonists as potential therapeutics for ischemic stroke. *Prog Neurobiol* [Internet]. 2019 Aug;101679. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2019.101679>
68. Yu I-C, Kuo P-C, Yen J-H, Paraiso HC, Curfman ET, Hong-Goka BC, et al. A Combination of Three Repurposed Drugs Administered at Reperfusion as a Promising Therapy for Postischemic Brain Injury. *Transl Stroke Res* [Internet]. 2017 Dec 17;8(6):560–77. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12975-017-0543-5>
69. Leong WK, Lewis MD, Koblar SA. Concise Review: Preclinical Studies on Human Cell-Based Therapy in Rodent Ischemic Stroke Models: Where Are We Now after a Decade? *Stem Cells* [Internet]. 2013 Jun;31(6):1040–3. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/stem.1348>
70. Nabavi SF, Sureda A, Habtemariam S, Nabavi SM. Ginsenoside Rd and ischemic stroke; a short review of literatures. *J Ginseng Res* [Internet]. 2015 Oct;39(4):299–303. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgr.2015.02.002>
71. Kikuchi K, Tanaka E, Murai Y, Tanchaoren S. Clinical trials in acute ischemic stroke. *CNS Drugs*. 2014;28(10):929–38.
72. Dziedzic T. Systemic inflammation as a therapeutic target in acute ischemic stroke. *Expert Rev Neurother* [Internet]. 2015 May 4;15(5):523–31. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/14737175.2015.1035712>
73. Levine SR, Kazim SF, Piran P, Barone FC. Thrombolytic Therapy for Acute Stroke [Internet]. Lyden PD, editor. Cham: Springer International Publishing; 2015. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-07575-4>
74. Jin R, Yang G, Li G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells. *J Leukoc Biol* [Internet]. 2010 May;87(5):779–89. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1189/jlb.1109766>
75. Chamorro Á, Dirnagl U, Urra X, Planas AM. Neuroprotection in acute stroke: targeting excitotoxicity, oxidative and nitrosative stress, and inflammation. *Lancet Neurol* [Internet]. 2016 Jul;15(8):869–81. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1474442216001149>
76. Bang OY. Clinical Trials of Adult Stem Cell Therapy in Patients with Ischemic Stroke. *J Clin Neurol* [Internet]. 2016;12(1):14. Available from: <http://synapse.koreamed.org/DOIx.php?id=10.3988/jcn.2016.12.1.14>
77. Hao L, Zou Z, Tian H, Zhang Y, Zhou H, Liu L. Stem Cell-Based Therapies for Ischemic Stroke. *Biomed Res Int* [Internet]. 2014;2014:1–17. Available from:

<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/468748/>

78. Patnaik R, Kumar A, Ashish T. Advancement in the Pathophysiology of Cerebral Stroke [Internet]. Patnaik R, Tripathi AK, Dwivedi A, editors. Singapore: Springer Singapore; 2019. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-981-13-1453-7>
79. Yang G. Advancement in stroke research. Stroke Vasc Neurol [Internet]. 2019 Jun;4(2):61–2. Available from: <http://svn.bmj.com/cgi/doi/10.1136/svn-2019-000253>