

Neuroprotekcija u ishemijskom moždanom udaru

H. Budinčević, H. Jurlina, I. Bielen

SAŽETAK -Neuroprotekcija predstavlja terapijske postupke kojima se pokušava sačuvati moždano tkivo od ireverzibilnog oštećenja. U posljednja dva desetljeća učinjena su brojna istraživanja na animalnim modelima koja su uvjerljivo pokazala da je različitim farmakološkim i nefarmakološkim intervencijama moguće postići redukciju ishemijskog oštećenja djelovanjem na elemente ishemijske kaskade odnosno sprječavanjem reperfuzijskog oštećenja. Međutim, klinička ispitivanja lijekova na ljudima još nisu pokazala adekvatan neuroprotektivni učinak u liječenju akutnog ishemijskog moždanog udara, iako već deset godina postoje (STAIR) smjernice za dizajn pretkliničkih i kliničkih istraživanja neuroprotekcije. Unatoč dosadašnjim neuspjesima, klinička istraživanja neuroprotekcije u ishemijskom moždanom udaru se nastavljaju. U iščekivanju smo rezultata studija koje su u tijeku, a najviše se očekuje od primjene hipotermije, albumina, magnezija, lovastatina i citikolina. Smatra se da će se budućnost neuroprotekcije vjerojatno temeljiti na primjeni trombolitičke terapije uz primjenu nekih novih neuroprotektivnih lijekova ili postupaka.

Ključne riječi: ishemijski moždani udar, neuroprotekcija

UVOD I CILJ RADA

Moždani udar je treći uzrok mortaliteta i prvi uzrok invaliditeta u svijetu (1), ali tek je nedavno postignuto da se moždani udar shvaća kao hitno stanje (2,3). Neuroprotekcija predstavlja terapijske postupke kojima se pokušava sačuvati moždano tkivo od ireverzibilnog oštećenja (4,5). Klinička ispitivanja u sklopu prevencije moždanog udara bila su uspješnija od same akutne terapije moždanog udara u što su uključeni i lijekovi za neuroprotekciju (3,6). U posljednja dva desetljeća izrazito je porastao interes za istraživanja lijeko-

va u neuroprotekciji (7-9). U pretkliničkim ispitivanjima na animalnim modelima uspješnima su se pokazali brojni farmakološki agensi različitih mehanizama djelovanja (10). Međutim, translacijom pretkliničkih eksperimentalnih rezultata u randomizirana klinička ispitivanja do sada nisu dobiveni zadovoljavajući rezultati (4,11). Unatoč brojnim učinjenim kliničkim ispitivanjima, tkivni aktivator plazminogena jedini je prihvaćeni lijek u

Klinika za neurologiju, Klinička bolnica „Sveti Duh“, Zagreb, Hrvatska

liječenju akutne faze moždanog udara (12–14). S obzirom da su učinjena brojna klinička istraživanja lijekova u neuroprotekciji koji nisu polučili adekvatne učinke, načinjene su smjernice STAIR (*Stroke Therapy Academic Industry Roundtable*) za provođenje istraživanja neuroprotektivnih lijekova u pretkliničkim i kliničkim studijama (15–17). Međutim, iako se u posljednjem desetljeću primjenjuju STAIR kriteriji, i dalje nemamo adekvatnog lijeka za neuroprotekciju (8).

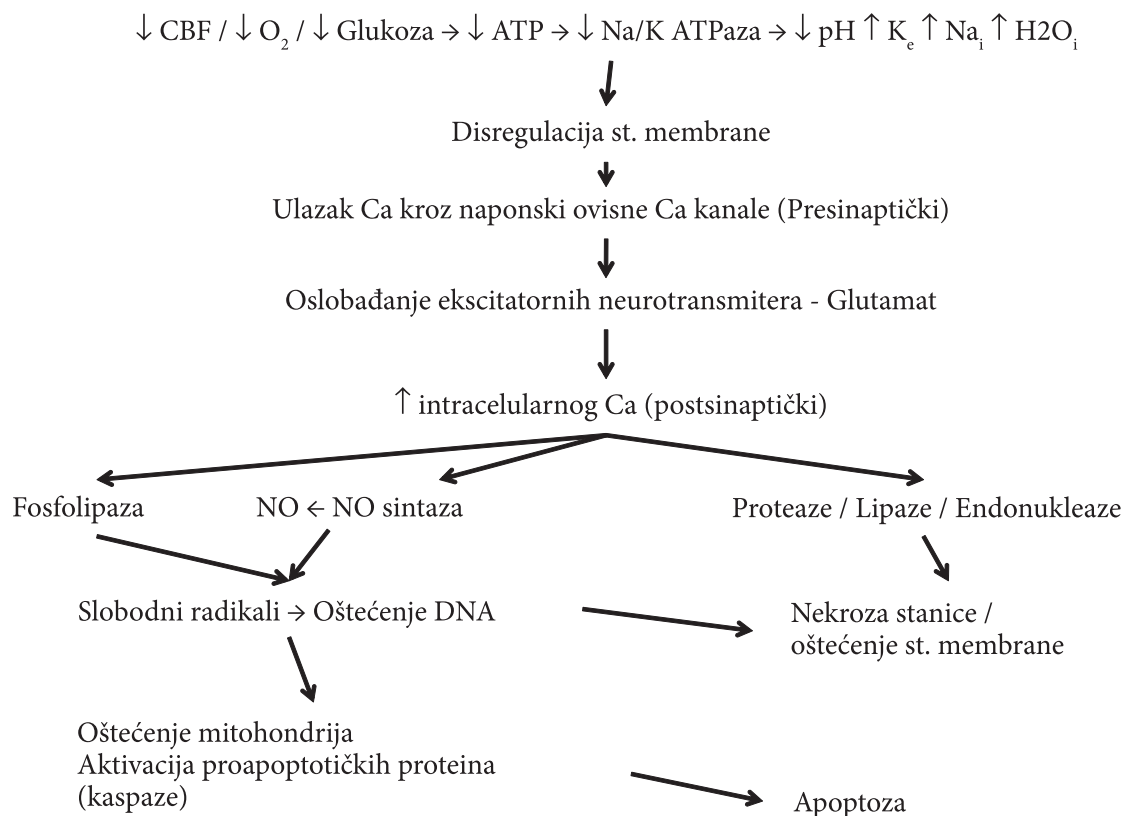
Cilj je ovoga rada iznijeti pregled najvažnijih podataka vezanih uz neuroprotekciju kod moždanog udara, obrazložiti uzroke dosadašnjih neuspjeha u kliničkoj primjeni, te ukazati na moguće putove razvoja istraživanja i kliničke primjene lijekova i terapijskih postupaka s potencijalnim neuroprotektivnim učinkom.

ISHEMIJSKA KASKADA I REPERFUZIJSKO OŠTEĆENJE

Ishemijsku kaskadu čini niz biokemijskih reakcija koje se odvijaju u mozgu, odnosno „aerobnom“ tkivu, koje nastupaju nakon ishemije koja je uzrokovana neadekvatnom opskrbom tkiva krvlju

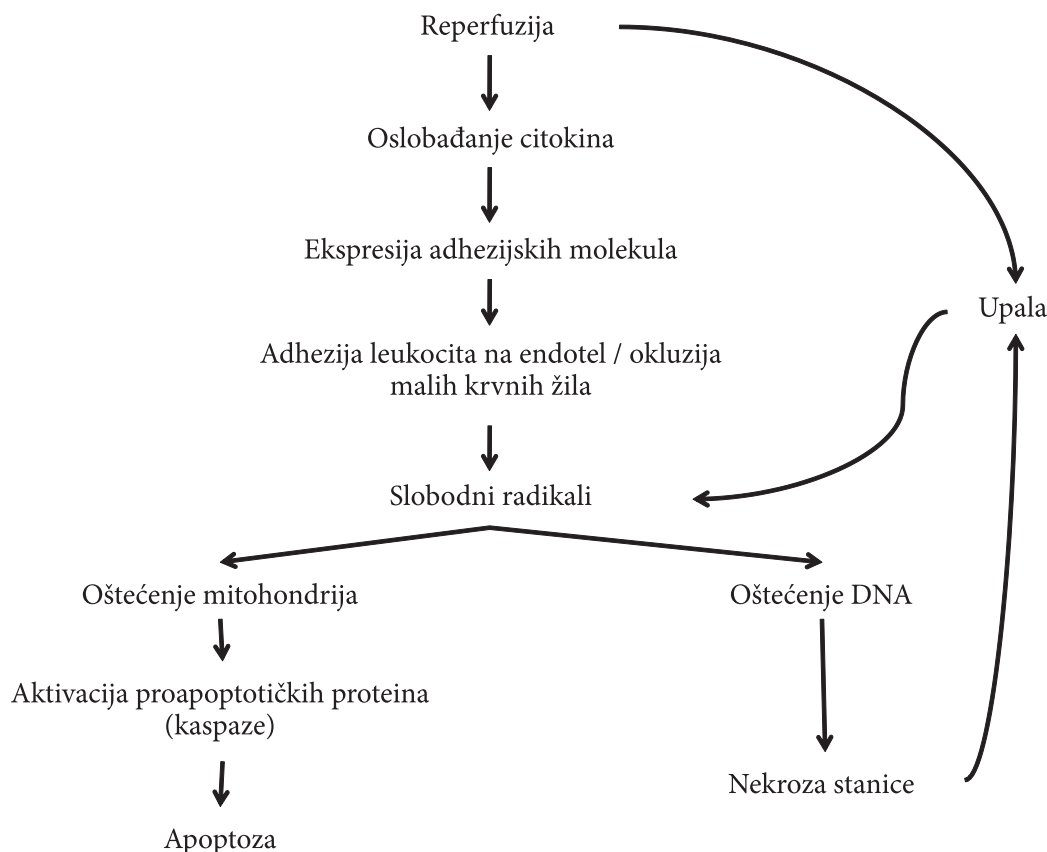
(18,19). Ishemijska kaskada najčešće se javlja u moždanom udaru, ali do nje dolazi i kod drugih patoloških zbivanja, npr. kod ozljeda mozga i kod srčanog aresta.

U sklopu ishemijskog oštećenja nastaje nedostatna opskrba neurona kisikom što iziskuje potrebu za anaerobnim metabolizmom stanice zbog čega se stvara mliječna kiselina (19,20). S obzirom da je oštećena proizvodnja ATP-a (adenozin trifosfat) (21), uz to su ledirane i ionske pumpe koje koriste ATP u aktivnom prijenosu iona, pa dolazi do porasta ekstracelularne koncentracije kalija (22), te porasta intracelularnog natrija (23). Te su promjene važne za osmotske procese koji dovode do edema i do depolarizacije te posljedične disfunkcije stanične membrane (23). Zbog povećanog ulaska iona kalcija u stanicu (presinaptički) oslobađa se ekscitatorni neurotransmitter glutamat. Glutamat se veže za AMPA i NMDA receptore, a to dodatno utječe na ulaz iona kalcija u stanicu (postsinaptički) (24). Povećana koncentracija iona kalcija u stanici uzrokuje hiperekscitaciju stanice, aktivaciju fosfolipaza, a utjecajem na NO sintazu i stvaranje dušičnog oksida što sve skupa dovodi do stvaranja slobodnih radikala (19). Osim toga porast intracelularnog kalcija dovodi do aktivacije i drugih enzi-



Modificirano prema: Carrol KAL & Chataway J(24).

Sl. 1. Shema ishemijske kaskade.



Modificirano prema: Danton GH & Dietrich WD (30) i Young AR *et al.* (14).

Sl. 2. Shema reperfuzijskog oštećenja.

ma (proteaze, lipaze i endonukleaze) što dovodi do oštećenja stanične membrane i nekroze stanice (25). Slobodni radikali oštećenjem DNK indirektno također mogu uzrokovati oštećenje stanične membrane i nekrozu stanice, te oštećuju mitohondrije i doprinose aktivaciji proapoptotičkih proteina i samim tim dovode do apoptoze (26). Shematski prikaz ovih zbivanja prikazan je na sl. 1. U sklopu ishemijske kaskade nastupa i poremećaj u krvno-moždanoj barijeri. Edem mozga nastupa zbog poremećene permeabilnosti krvno moždane barijere i osmoze koja je posredovana ulaskom velikih molekula poput albumina u moždano tkivo (23).

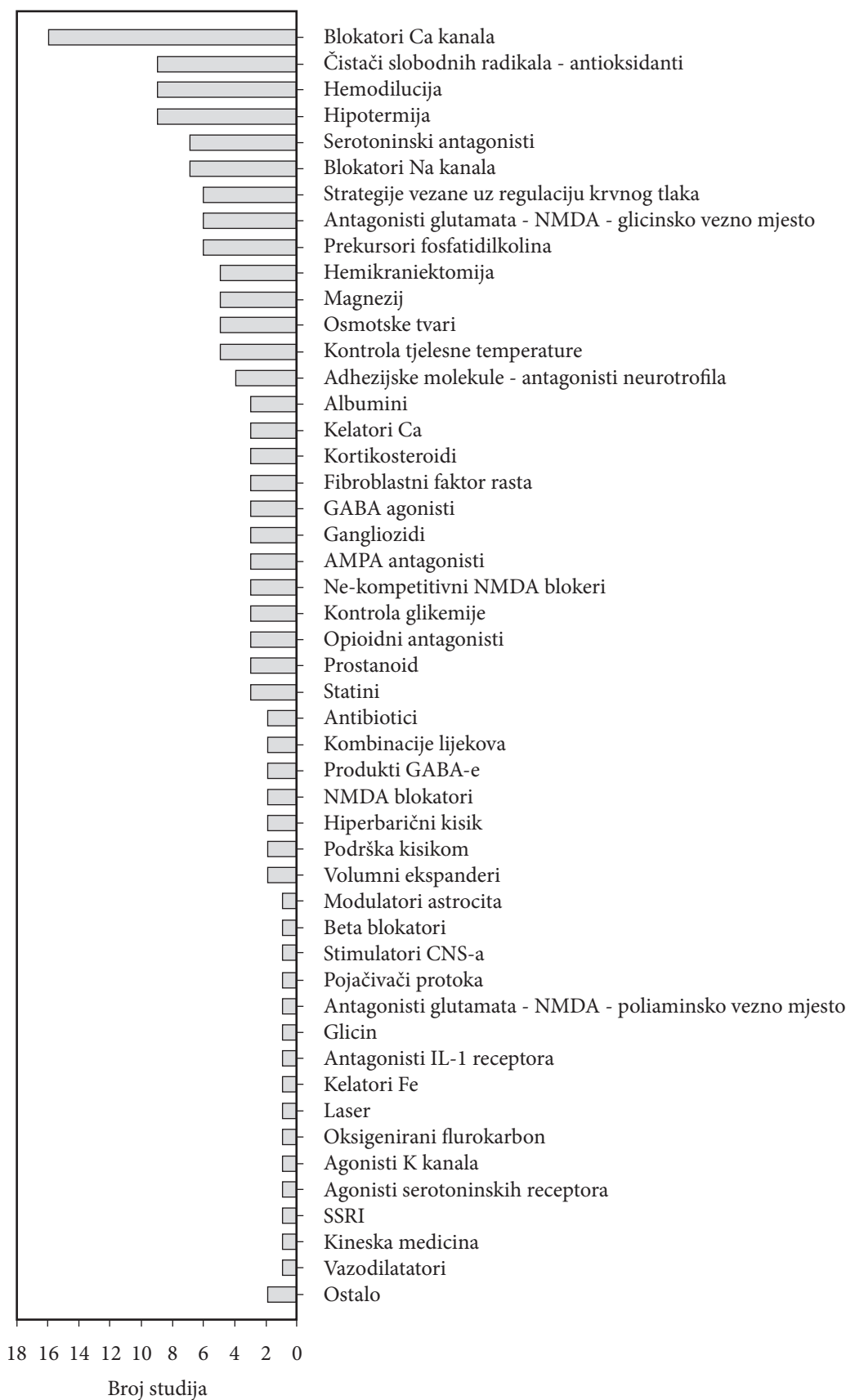
Iako se godinama mislilo da će se reperfuzijom moći spriječiti ishemijsko oštećenje mozga, reperfuzijska oštećenja su ipak mogući uzrok dodatnog oštećenja tkiva (27). Reperfuzija potiče migraciju leukocita i aktivaciju upalnog odgovora, što uzrokuje oslobađanje citokina te ekspresiju adhezijskih molekula na endotelu što uzrokuje adheziju leukocita za endotel i okluzije malih krvnih žila te pogoršava ishemijsku (28,29). Stvaranje slobodnih radikala uzrokuje oštećenje mitohondrija i aktivaciju proapoptotičkih proteina koji doprinose započi-

njanju apoptoze, a osim toga slobodni radikali oštećenjem DNK doprinose oštećenju stanične membrane i nekrozi stanice (25). U sklopu upalnog odgovora fagociti uklanjaju i „zdrave stanice” te doprinose dodatnom stvaranju slobodnih radikala (28). Shematski prikaz tih zbivanja prikazan je na sl. 2.

KLINIČKE STUDIJE NEUROPROTEKCIJE KOD MOŽDANOG UDARA

Lijekovi za neuroprotekciju mogu biti usmjereni na modifikaciju štetnih događaja koji se odvijaju u ishemijskoj kaskadi i/ili pri postizanju reperfuzije (30). Neuroprotektivni učinak prvenstveno je usmjeren prema neuronima u penumbri (18,32). Studije na animalnim modelima su pokazale da su u razdoblju od najmanje 4 sata nakon nastupa ishemijske u penumbri prisutni neuroni koji imaju sposobnost oporavka (24).

Ishemija povećava aktivaciju glutamatnih receptora uz akumulaciju kalcijevih iona i oslobađanje toksičnih produkata koji uzrokuju oštećenje stani-



Modificirano prema: Ginsberg MD (8)

Sl. 3. Pregled vrste i broja učinjenih studija s različitim potencijalno neuroprotektivnim farmakološkim agensima i postupcima.

Tablica 1. Podjela do sada ispitivanih neuroprotektivnih lijekova i metoda prema osnovnim mehanizmima djelovanja.

Mehanizam neuroprotekcije	Mehanizam djelovanja lijeka ili postupka	Neuroprotektivni učinak (klinička ispitivanja)
Ograničenje ishemijske kaskade	Blokatori Ca kanala (nimodipin, flunarizin)	Bez učinka
	Blokatori Na kanala (lubeluzol, fosfenitoin)	Bez učinka
	Modulatori K kanala (Maxipost – BSM 204352)	Bez učinka
Sprječavanja ekscitotoksičnosti	NMDA antagonisti (dekstrofan, selfotel, aptiganel)	Bez učinka
	AMPA antagonisti (NBQX)	Bez učinka
	Modulatori metabotropnog glutamatnog receptora (Gavastinel)	Bez učinka
	Modulatori ne-NMDA receptora	Bez učinka
	• Nalmefen – antagonist opioidnih receptora • Klometiazol – agonist GABA-e • Repinotan – serotoniniski agonist	
	Magnezij	U ispitivanju (FAST-MAG)
Anti-upalni lijekovi	Antiadhezijske molekule (protutijela)	Bez učinka
	• Enlimomab – anti-ICAM1	
	• LeukArrest -Hu23F2G – antileukocitno protutijelo	
	• Abcixmab – antitrombocitno protutijelo	
Čistači i hvatači slobodnih radikala	Tirilazad	Bez učinka
	NX-059	Bez učinka
	Citikolin	U ispitivanju (ICTUS)
Ostali lijekovi i postupci s više mehanizama djelovanja	Hipotermija	U ispitivanju (CHILLI)
	Hemodilucija - Albumini	U ispitivanju (ALLIAS II)
	Minociklin	Bez učinka
	Fibroblastni faktor rasta	Bez učinka

Modificirano prema: Danton GH & Dietrich WD (30) i Cheng YD, Al-KhouryL, Zivin JA (12)

ce (8,12). Da bi se postigao neuroprotektivni učinak sprječavanjem oslobađanja ekscitatornih neurotransmitera rađene su studije s antagonistima NMDA receptora (deksstrofan) (33), selfotel (34), aptiganel HCl (35), antagonistima glicinskog veznog mjesta – GV150526 (3,36). Osim antagonista NMDA receptora ispitivani su i modulatori nekih drugih receptora kao što su: nalmefen – antagonist opioidnih receptora (37), lubeluzol – blokator natrijskih kanala – smanjuje oslobađanje NO (25), klometiazol – agonist GABA-e (38). Osim navedenih, ispitivani su i blokatori kalcijevih kanala (nimodipin) (39–42), repinotan – serotoniniski agonist, i dr. Međutim, navedeni farmakološki agensi u kliničkim studijama nisu polučili adekvatan neuroprotektivni učinak (8).

Iako reperfuzija u prvih nekoliko sati doprinosi boljem ishodu nakon moždanog udara, može uz-

rokovati i oštećenja zbog okluzije malih krvnih žila leukocitima, koji izlučuju i toksične tvari koje doprinose stvaranju slobodnih radikala i citokina (14,27). Lijekovi koji smanjuju sposobnost adhezije leukocita na stijenke krvne žile, ograničavaju stvaranje slobodnih radikala i potiču oporavak neurona u animalnim eksperimentima i mogu zaštititi mozak od dodatnog oštećenja tijekom reperfuzije (8). U sklopu istraživanja o prevenciji reperfuzijskih oštećenja rađene su kliničke studije na antiadhezijskim protutijelima: enlimomab – anti ICAM-1 (17), Hu23F2G – antileukocitno protutijelo (44) i abciximab – antitrombocitno protutijelo (45), također bez adekvatnog neuroprotektivnog učinka.

Kako je stvaranje slobodnih radikala dodirna točka ishemijske kaskade i reperfuzijskog oštećenja istraživani su lijekovi „čistači i hvatači“ slobodnih ra-

dikala koji doprinose oslobađaju kalcija i ekscitacijskih neurotransmitera (tirilazad i NXY-059) (46,47), ali bez adekvatnog neuroprotektivnog učinka u klinici.

U kliničkim studijama pokušaj primjene lijekova poput minociklina (44), fibroblastnog faktora rasta (48) i dr., također nisu dali adekvatan neuroprotektivni učinak. Na sl. 3. je prikaz brojnih farmakoloških agensa i postupaka s potencijalnim neuroprotektivnim učinkom. U tablici 1. nalazi se grupa podjela do sada ispitivanih lijekova i metoda prema osnovnim mehanizmima djelovanja i njihov učinak u kliničkim ispitivanjima.

S obzirom da brojna klinička ispitivanja lijekova u neuroprotekciji nisu polučila adekvatan neuroprotektivni učinak, neurološka stručna društva za sada ne preporučuju primjenu neuroprotektivnih lijekova u rutinskoj kliničkoj praksi (6,49,50).

RAZLOZI DOSADAŠNJIH NEUSPJEHA KLINIČKE PRIMJENE NEUROPROTEKCIJE

Razloge za neuspjeh neuroprotekcije u ispitivanjima možemo tražiti na tri razine: pretklinička ispitivanja, prijelazni/transicijski problemi i klinička ispitivanja (30).

Neka od *pretkliničkih ispitivanja* nisu pokazala jasan neuroprotektivni učinak, a ipak se na temelju tih studija pristupilo kliničkim ispitivanjima (8). U nekim se istraživanjima ishod koji se pratio u pretkliničkim animalnim modelima nije mogao primijeniti ekvivalentno na ljude; naime, ishod se u pretkliničkim istraživanjima temelji na rezultatima koji su dobiveni neuroprotektivnim postupcima „rano“ nakon arteficialne ishemije, dok se u ljudi uspješnost liječenja temelji na rezultatima postupaka koji se primjenjuju znatno kasnije (12, 46). Najveći *prijelazni/transicijski problemi* su temeljeni na genetskoj varijabilnosti koja je izraženija u ljudi, nuspojavama koje se nisu mogle primijetiti na animalnim modelima te neadekvatnosti terapijskog prozora (premali terapijski prozor) (30).

Kod *kliničkih ispitivanja* problemi su se javljali i zbog neadekvatnog dizajna studija (mali uzorak, neadekvatan izbor parametara ishoda te ispitanika), a često se nisu uzimali u obzir tijekom analize komorbiditet, dob, spol (30). U nekim su studijama korišteni lijekovi koji nisu imali sposobnost postići adekvatnu učinkovitost i koncentraciju lijeka u krvi (hipodoziranje) (8). Postoje i mišljenja prema kojima rezultati neuroprotekcije dobiveni

na animalnim modelima načelno nisu primjenjivi u ljudi, što se argumentira time da je arteficialni animalni model ishemije suštinski različit od onoga što se događa kod moždanog udara u ljudi (51).

ISTRAŽIVANJA KOJA SU U TIJEKU I PUTOVI RAZVOJA KLINIČKE NEUROPROTEKCIJE

Unatoč dosadašnjim neuspjesima, klinička ispitivanja neuroprotekcije kod ishemijskog moždanog udara se nastavljaju. Od lijekova i postupaka koji imaju najveći potencijal spominju se citikolin, hipotermija, magnezij, visoke doze albumina i statini (8,44).

Citikolin je forma citidin-5-difoskokolina koji se koristi u sintezi stanične membrane (43). Citikolin može smanjiti ishemijsko oštećenje stabilizacijom stanične membrane smanjenjem stvaranja slobodnih radikala (8). Hrvatsko društvo za neurovaskularne poremećaje (HDNVP) (50) i *European Stroke Initiative* (ESO) (6) u svojim preporukama napominju kako je taj lijek pokazao blagi neuroprotektivni učinak u kliničkim ispitivanjima. U tijeku je randomizirana, dvostruko slijepa i placebom kontrolirana studija *International Citicoline Trial on Acute Stroke* (ICTUS) koja ispituje primjenu citikolina unutar 24 sata od nastupa moždanog udara. Citokolin se primjenjuje intravenski u dozi od 1000 mg svakih 12 sati tijekom prvih tri dana liječenja, a zatim peroralno u trajanju od 6 tjedana (8, 44, 52).

Hipotermija se pokazala uspješnim neuroprotektivnim postupkom u srčanom arestu i neonatalnoj encefalopatiji (8). Hipotermija uzrokuje smanjenje metaboličkih potreba neurona, smanjuje otpuštanje glutamata i stvaranje slobodnih radikala, ograničava ulaz kalcija u stanicu te smanjuje edem (53). Povećana je potreba za nadzorom bolesnika zbog mogućih komplikacija poput infekcija (pneumonija) (8). *American Heart Association* (AHA) u svojim preporukama navodi kako bi hipotermija uz reperfuzijsku terapiju mogla imati adekvatan neuroprotektivni učinak (49). U tijeku je studija *Controlled Hypothermia in Large Infarction* (CHILLI) koja ispituje primjenu hipotermije kod velikih infarkta prednje cirkulacije unutar 72 sata od nastupa simptoma moždanog udara. U studiji se pokušava primjenom uređaja za hlađenje (*Arctic Sun*) održavati tjelesnu temperaturu na 35°C u trajanju od 48 sati, a potom postupno zagrijati bolesnika (4, 8, 53).

Magnezij je također uključen u klinička ispitivanja zbog njegovih svojstava povećavanja regionalnog protoka krvi, antagonističkog učinka na naponske kalcijeve kanale te blokade NMDA receptora (8). U tijeku je randomizirana, dvostruko slijepa i placebo kontrolirana studija *Field Administration of Stroke Therapy – Magnesium Phase III Trial* (FAST-MAG) koja ispituje hiperakutnu primjenu magnezij-sulfata u akutnom moždanom udaru, odnosno unutar dva sata od nastupa simptoma. Bolesnici sa simptomima moždanog udara „na terenu“ odmah dobivaju 4 grama magnezija u bolusu tijekom 15 minuta, a zatim se u bolnici nastavlja primjenom 16 grama magnezija tijekom 24 sata (4,44,53).

Albumini su „glavni“ antioksidansi iz plazme, imaju antagonistički učinak na unutarne i vanjske čimbenike oksidativnog stresa, posjeduju hemodilucijski učinak, utječu i na mikrovaskularnu permeabilnost, smanjuju edem mozga i povećavaju protok kroz granična ishemična područja, a njihova ključna uloga je u vezivanju i u transportu masnih kiselina (8). U tijeku je randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kontrolirana studija *Albumin Therapy for Neuroprotection in Acute Ischemic Stroke* (ALLIAS II) koja ispituje primjenu visokih doza albumina u ishemijskom moždanom udaru. U bolesnika s ishemijskim moždanim udarom čiji su simptomi nastupili unutar 5 sati primjenjuju se humani albumini u dozi od 2 g/kg tijekom 2 sata (4,44,53).

Statini smanjuju agregaciju trombocita i oksidativno oštećenje, inhibiraju degradaciju ekstracelularnog matriksa metaloproteinazama (54). U tijeku je randomizirana, jednostruko slijepa i kontrolirana studija faze II *Neuroprotection with Statin Therapy for Acute Recovery Trial* (Neu-START II) koja ispituje primjenu visokih doza lovastatina u ishemijskom moždanom udaru unutar 24 sata od početka simptoma moždanog udara. Bolesnici će primati visoke doze lovastatina (640 mg tijekom tri dana) ili placebo odnosno 80 mg lovastatina ako su prethodno uzimali statine (44, 53).

Smatra se da će se budućnost neuroprotekcije vjerojatno temeljiti na primjeni trombolitičke terapije uz primjenu nekih od novih neuroprotektivnih lijekova ili postupaka (4). U obzir mogu doći i lijekovi s multipotentnim karakteristikama, odnosno lijekovi koji mogu djelovati na više kritičnih točaka u ishemijskom procesu (7).

LITERATURA

1. Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M *et al.* Heart disease and stroke statistics – 2009 update:

a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2009; 119: e21-181.

2. Diedler J, Sykora M, Jüttler E, Steiner T, Hacke W. Intensive care management of acute stroke: general management. *Int J Stroke* 2009. 4: 365-78.
3. Rundek T, Sacco RL, Demarin V. Neuroprotection in acute stroke: Is there still hope. *Acta Clin Croat* 2002; 41: 45-9.
4. Ginsberg MD. Current status of neuroprotection for cerebral ischemia synoptic overview. *Stroke* 2009; 40(3 Suppl): 111-4.
5. Green AR. Protecting the brain: the search for a clinically effective neuroprotective drug for stroke. *Crit Rev Neurobiol* 1990; 16: 91-7.
6. European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee; ESO Writing Committee. Guidelines for management of ischaemic stroke and transient ischaemic attack 2008. *Cerebrovasc Dis* 2008; 25: 457-507.
7. Faden AI, Stoica B. Neuroprotection: challenges and opportunities. *Arch Neurol* 2007; 64: 794-800.
8. Ginsberg MD. Neuroprotection for ischemic stroke: Past, present and future. *Neuropharmacology* 2008; 55: 363-89.
9. Yakovljev AG, Faden AI. Mechanisms of neuronal cell death: implications for development of neuroprotective treatment strategies. *NeuroRx*. 2004; 1: 5-16.
10. O'Collins VE, Macleod MR, Donnan GA, Horky LL, van der Worp BH, Howells DW. 1026 experimental treatments in acute stroke. *Ann Neurol* 2006; 59: 467-77.
11. Fisher M. Neuroprotection of acute ischemic stroke: Where are we? *Neuroscientist* 1999; 5: 392-401.
12. Cheng YD, Al-Khoury L, Zivin JA. Neuroprotection for ischemic stroke: Two decades of success and failure. *NeuroRx* 2004; 1: 36-45.
13. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group. Tissue plasminogen activator for acute stroke. *N Engl J Med* 1995; 333: 1581-7.
14. Young AR, Ali C, Duretete A, Vivien D. Neuroprotection and stroke: time for a compromise. *J Neurochem* 2007; 103: 1302-9.
15. Fisher M, Feuerstein G, Howells *et al.* Update of the stroke therapy academic industry roundtable preclinical recommendations. *Stroke* 2009; 40: 2244-50.

16. Stroke Therapy Academic Industry Roundtable II (STAIR-II). Recommendations for clinical trial evaluation of acute stroke therapies. *Stroke* 2001; 32: 1598-1606.
17. Stroke Therapy Academic Industry Roundtable. Recommendations for standards regarding pre-clinical neuroprotective and restorative drug development. *Stroke* 1999; 30: 2752-8.
18. Astrup J, Siesjö BK, Symon L. Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke* 1981; 12: 723-5.
19. Sharp FR, Swanson RA, Honkaniemi J, Kogure K, Massa SM. Neurochemistry and molecular biology. In: Barnett HJM, Mohr JP, Stein BM, Yatsu FM, eds. *Stroke: pathophysiology, diagnosis and management*. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone; 1998: 51-83.
20. Choi D. Glutamate toxicity and diseases of the nervous system. *Neuron* 1988; 1: 623-34.
21. Siesjö BK, Kristian T, Katsura K. Overview of bioenergetic failure and metabolic cascades in brain functions. U: Ginsberg MD, Bogousslavsky J, eds. *Cerebrovascular disease: pathophysiology, diagnosis and management*, vol 1, Malden, Mass: Blackwell Science, Inc; 1998: 3-13.
22. Wo A, Fukijawa DG. Effects of AMPA-receptor and voltage sensitive sodium channel blockade on high potassium induced glutamate release and neuronal death in vivo. *Brain Res* 2002; 946: 119-29.
23. Endres M, Diranl U. Ischemia and stroke. In: Alzheimer C, ed. *Molecular and cellular biology of neuroprotection in the CNS*. Advances in experimental medicine and biology. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2003: 455-73.
24. Carroll KA, Chataway J. Understanding stroke: Pathophysiology, presentation and investigation. *Student BMJ* 2006; 14: 319-21.
25. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Cellular Adaptations, Cell Injury, and Cell Death. In: Robbins and Cotran *Pathologic Basis of Disease*. Philadelphia: Saunders, 2004.
26. Gutierrez-Martin Y, Martin-Romero FJ, Henao F, Gutierrez-Merino C. Alteration of cytosolic free calcium homeostasis by SIN-1; high sensitivity of L-type Ca²⁺ channels to extracellular oxidative/nitrosative stress in cerebellar granule cells. *J Neurochem* 2005; 92: 973-89.
27. Hallenbeck JM, Dutka AJ. Background review and current concepts of reperfusional injury. *Arch Neurol* 1990; 47: 1245-54.
28. D'Ambrosio AL, Pinsky DJ, Connolly ES. The role of the complement cascade in ischemia/reperfusion injury: implications for neuroprotection. *Mol Med* 2001; 7: 367-82.
29. Lakhan SE, Kirchgessner A, Hofer M. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: therapeutic approaches. *J Transl Med* 2009; 7: 97.
30. Danton GH, Dietrich WD. The search for neuroprotective strategies in stroke. *AJNR Am J Neuroradiol* 2004; 25: 181-94.
31. Weinberger JM. Evolving therapeutic approaches to treating acute ischemic stroke. *J Neurol Sci* 2006; 249: 101-9.
32. Schwabitz WR, Fisher M. Perspectives on neuroprotective stroke therapy. *Biochem Soc Trans* 2006; 34: 1271-6.
33. Albers GW, Atkinson RP, Kelley RE, Rosenbaum DM. Safety, tolerability and pharmacokinetics of the N-methyl-D-aspartate antagonist dextrophan in patients with acute stroke. *Dextrophan Study Group*. *Stroke* 1995; 26: 254-8.
34. Davis SM, Albers GW, Diener HC *et al*. Termination of acute stroke studies involving selfotel treatment. ASSIST Steering Committed. *Lancet* 1997; 349: 32.
35. Lees KR. Cerestat and other NMDA antagonists in ischemic stroke. *Neurology* 1997; 49: 66-9.
36. Sacco RL, De Rosa JT, Halery EC *et al*. Glycine antagonist in neuroprotection for patients with acute stroke: GAIN Americas: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 285: 1719-28.
37. Clark WM, Raps EC, Tong DC, Kelly RE. Cervene (Nalmefene) in acute ischemic stroke: final results of a phase III efficacy study. The Cervene Stroke Study Investigators. *Stroke* 2000; 31: 1234-9.
38. Lyden P, Shauaib A, Ng K *et al*. Clomethiazole acute stroke study in ischemic stroke (CLASS-I): final results. *Stroke* 2002; 33: 122-8.
39. American Nimodipine Study Group 1992. Clinical trial of nimodipine in acute ischemic stroke. The American Nimodipine Study Group. *Stroke* 1992; 23: 3-8.
40. Kaste M, Fogelholm R, Erila T *et al*. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of nimodipine in acute ischemic hemispheric stroke. *Stroke* 1999; 25: 1348-53.
41. TRUST Study Group. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of nimodipine in acute stroke. Trust Study Group. *Lancet* 1990; 336: 1205-09.

42. Wahlgren NG, MacMahon DG, DeKeyser J, In-drevik B, Ryman T. Intravenous Nimodipine West European Stroke Trial (INWEST) of nimodipine in the treatment of acute ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 1994; 4: 204-10.
43. Enlimomab Acute Stroke Trial Investigators. Use of anti-ICAM-1 therapy in ischemic stroke: results of the Enlimomab Acute Stroke Trial. *Neurology* 2001; 57: 1428-34.
44. Lutsep HM, Clark WM. Neuroprotective agents in stroke. *emedicine. medscape.com*. 2009.
45. Adams HP, Effron MB, Torner J *et al.* Emergency administration of abciximab for treatment of patients with acute ischemic stroke: results of an international phase III trial: Abciximab in Emergency Treatment of Stroke Trial (AbESTT-II). *Stroke* 2008; 39: 87-99.
46. Shuaib A, Hussain MS. The past and future of neuroprotection in cerebral ischaemic stroke. *Eur Neurol* 2008; 59: 4-14.
47. STIPAS Investigators. Safety study of tirilazad mesylate in patients with acute stroke (STIPAS). *Stroke* 1994; 25: 418-23.
48. Clark WM, Schim JD, Kasner SE, Victor S. Traf-femin in acute ischemic stroke: results of phase II/III randomized efficacy study. *Neurology* 2000; 54: A88.
49. Adams HP, del Zoppo G, Alberts MJ *et al.* Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke. *Stroke* 2007; 38: 1655-711.
50. Demarin V, Lovrencic-Huzjan A, Trkanjec Z *et al.* Recommendations for stroke management 2006 update. *Acta Clin Croat* 2006; 45: 219-85.
51. Rother J. Neuroprotection does not work. *Stroke* 2008; 39: 523-4.
52. The Internet Stroke Center. Stroke Trial registry. (veljača 2010). <http://www.strokecenter.org/trials/index.aspx>
53. Lyden PD, Krieger D, Yenari M, Dietrich WD. Therapeutic hypothermia for acute stroke. *Int J Stroke* 2006; 1: 9-19.
54. van der Most PJ, Dolga AM, Nijholt IM, Luiten PGM, Eisel ULM. Statins: mechanisms of neuroprotection. *Prog Neurobiol* 2009; 88: 64-75.
55. Grotta J. Lubeluzole treatment of acute ischemic stroke. The US and Canadian Lubeluzole Ischemic Stroke Study Group. *Stroke* 1997; 28: 2338-46.

Adresa za dopisivanje: Hrvoje Budinčević, dr. med., Klinika za neurologiju, Klinička bolnica „Sveti Duh“, Sveti Duh 64. 10000 Zagreb, Hrvatska. E-pošta: hbu-dincevic@gmail.com