

## **Factores asociados al fracaso de las terapias neuroprotectoras en fase clínica en modelos animales con isquemia cerebral**

Factors associated with the failure of the neuroprotector therapies in the clinical phase of animal models with cerebral ischemia

Lic. Javier Enrique Almenares Rosales<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-3675-8185>

Ing. Amanda Moya Gómez<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-0766-6249>

Dra. C. Lena Pérez Font<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-2957-8653>

<sup>1</sup>Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado. Santiago de Cuba, Cuba.

<sup>2</sup>Departamento de Ingeniería Biomédica, Universidad de Oriente. Santiago de Cuba, Cuba.

\*Autor para la correspondencia. Correo electrónico: [jalmenares@uo.edu.cu](mailto:jalmenares@uo.edu.cu)

### **RESUMEN**

Los accidentes cerebrovasculares se han mantenido, a nivel mundial, como la tercera causa de muerte y la primera de discapacidad. Para disminuir la incidencia de casos de isquemia o hemorragia cerebral, así como sus consecuencias, se deben poseer los conocimientos sobre dichas entidades clínicas, los factores de riesgo asociados y las alternativas preventivas y terapéuticas como estrategias neuroprotectoras. Muchas de las intervenciones médicas realizadas hasta la fecha en modelos animales han resultado insatisfactorias en la fase clínica. Por ello, se realizó una revisión de las publicaciones más recientes donde se abordan los modelos experimentales para la isquemia cerebral más utilizados en las evaluaciones de las terapias neuroprotectoras, y se pudo concluir que si se analizan los protocolos empleados en la fase preclínica podrán optimizarse las investigaciones para lograr resultados más acertados en este campo.

**Palabras clave:** accidentes cerebrovasculares; isquemia cerebral; fármacos neuroprotectores; modelos animales; factores de riesgo.

## **ABSTRACT**

The strokes have been considered, worldwide, as the third cause of death and the first cause of disability. To diminish the incidence of ischemia cases or cerebral hemorrhage, as well as their consequences, one should have the knowledge on this clinical entities, the associated risk factors and preventive and therapeutic alternatives as neuroprotector strategies. Many of the medical interventions carried out so far in animal models have been unsatisfactory in the clinical phase. Reason why, a review of the most recent publications was carried out, where the most used experimental models for the cerebral ischemia in the evaluations of the neuroprotector therapies are approached, and it was concluded that if protocols used in the preclinic phase are analyzed, the investigations could be optimize to achieve more relevant results in this field.

**Key words:** strokes; cerebral ischemia; neuroprotector drugs; animal models; risk factors.

Recibido: 23/02/2021

Aprobado: 30/10/2021

## **Introducción**

La enfermedad cerebrovascular (ECV) es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. La ECV de tipo isquémico se presenta en 80 % de los casos y se produce por la disminución del aporte sanguíneo cerebral de forma total o parcial. Según la duración del proceso isquémico focal se manifestará como un ataque transitorio isquémico (ATI) o como un infarto cerebral, si la insuficiencia isquémica produce necrosis hística.<sup>(1,2)</sup>

Los modelos experimentales para la isquemia cerebral han tenido una función esencial en el estudio de la fisiopatología de esta entidad clínica bajo condiciones controladas y en la evaluación de la efectividad de nuevas estrategias terapéuticas; todo ello con el objetivo de mejorar el pronóstico de los pacientes que han padecido un infarto cerebral de tipo isquémico tras la introducción de agentes trombolíticos y neuroprotectores.<sup>(3)</sup>

Sin embargo, aún no se comprenden totalmente los mecanismos relacionados con el daño isquémico cerebral, por lo que resulta un gran desafío desarrollar un enfoque terapéutico apropiado para evitarlo o mejorarlo.<sup>(1)</sup> De esta forma, la búsqueda de fármacos efectivos y el diseño de nuevas estrategias para prevenir y tratar la isquemia cerebral continúan siendo la meta de las investigaciones en este campo, aunque muchos medicamentos con efectividad preclínica terminan en un fracaso en la etapa clínica, con excepción del activador de plasminógeno tisular recombinante (rtPA), que es el único tratamiento médico aprobado por la Food and Drug Administration en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico agudo.<sup>(4,5)</sup>

En la traducción de los resultados preclínicos a clínicos, este fracaso se atribuye, entre otras razones, a que al investigar las nuevas alternativas neuroprotectoras no se ha considerado que esta enfermedad es de causa multifactorial, o sea, que se encuentra condicionada por varios factores de riesgo con diferente grado de importancia, tales como edad, sexo, antecedente patológico de hipertensión arterial y/o diabetes *mellitus*, antecedente familiar de cardiopatía isquémica y estilo de vida (sobrepeso/obesidad, tabaquismo, sedentarismo, dieta aterogénica); los cuales influyen considerablemente en su aparición.<sup>(6)</sup>

En tal sentido, en este artículo se analiza el estado de las investigaciones sobre los modelos de isquemia cerebral desarrollados en los últimos 5 años, con el fin de identificar los principales modelos (roedores) utilizados, así como la efectividad de las terapias neuroprotectoras y neuroreparadoras en ellos.

## **Desarrollo**

### **Modelos de isquemia cerebral**

Todos los artículos analizados tratan sobre el estado de los modelos de isquemia más usados en los últimos cinco años (como se observa en el cuadro). De los 32 trabajos

revisados en los que se indujo la isquemia, 27 de ellos (84,3 %) utilizaron la oclusión de la arteria cerebral media (OACM) y solo cinco (15,6 %) el modelo de oclusión bilateral de las arterias carótidas comunes (OACC).

De forma general, el modelo de OACM es el más utilizado debido a que 65 % de todas las ECV de tipo isquémico presentan lesiones en el área de la ACM.<sup>(7)</sup> En este modelo, el grado y la distribución de la lesión depende, entre otros factores, de la duración de la oclusión. Al respecto, el modelo de OACM más utilizado es el de la sutura intraluminal, tanto permanente como transitoria (reperfusión).<sup>(8,9,10,11)</sup> Los tiempos de oclusión varían entre 30-45 min, 60 min, 90 min y hasta 2 horas.<sup>(12,13,14,15)</sup> Según Liu *et al*,<sup>(16)</sup> este modelo es el más frecuente porque el procedimiento quirúrgico es más simple y menos traumático, en comparación con los modelos de craneotomía, y muchos de los cambios fisiopatológicos originados se corresponden con los observados en humanos, de modo que se obtienen infartos reproducibles en la corteza y puede realizarse con un alto rendimiento. Aunque algunos autores<sup>(17,18,19,20)</sup> consideran que este modelo no simula ninguno de los tres tipos de isquemia más comunes según su causa (aterotrombótica, cardioembólica o lacunar) y otros indican que el proceso de perfusión puede simular un proceso de tromboectomía mecánica, este es el más utilizado en el estudio de fármacos neuroprotectores.<sup>(21,22,23,24,25)</sup>

Otros modelos de OACM son la oclusión permanente por coagulación, la ligadura o el uso de endotelina-1.<sup>(16,26,27,28)</sup> En estos se requiere realizar craneotomía y exponer el tejido cerebral; en el caso de la endotelina la isquemia se desarrolla lentamente y prácticamente no produce edema, por lo que resulta de mayor utilidad en los estudios de isquemia cerebral lacunar y de mecanismos de recuperación a largo plazo.<sup>(29,30,31,32)</sup>

Los modelos de isquemia global basados en la OBACC, tanto permanente como transitoria, simulan paro cardíaco y cuadro de choque prolongado, con daños en áreas vulnerables del cerebro, como el hipocampo, el núcleo caudado, el putamen y la neocorteza cerebral. A pesar de la mortalidad en estos modelos, son muy utilizados por la sencillez del procedimiento.<sup>(33,34,35,36)</sup>

En las últimas décadas se han utilizado varias especies de animales como modelos de isquemia cerebral. Los autores de este estudio coincidieron con Prieto *et al*<sup>(3)</sup> y Fluri *et al*,<sup>(4)</sup> quienes plantean que los más utilizados son la rata y el ratón, y luego otros

pequeños animales. Asimismo, Casals *et al*<sup>(37)</sup> afirman que, al analizar tres bases de datos bibliográficas, los ratones figuran como el modelo animal más comúnmente usado. En esta revisión, 40,6 % de las publicaciones refieren el empleo de ratones de la línea C57BL/6 o 6J, con lo cual se confirmó que es el modelo más empleado actualmente en investigaciones sobre isquemia cerebral; a estos le siguen las ratas Wistar (34,4 %) y Sprague-Dawley (12,5 %) (ver en el cuadro).

Cabe destacar que la línea de ratones C57BL/6 es la más utilizada porque tienen una conexión colateral más robusta entre la arteria cerebral anterior (ACA) y la ACM respecto al resto de los modelos usados como evidencias del escaso aporte de flujo sanguíneo colateral.<sup>(4)</sup> Esto permite el estudio del efecto de los neuroprotectores en los procesos bioquímicos de la cascada isquémica directamente sobre el núcleo de la lesión o la zona de infarto y el área de penumbra isquémica. Igualmente, en ratones se han logrado desarrollar técnicas similares a las usadas en los modelos en ratas,<sup>(29)</sup> lo cual resulta beneficioso, pues en los primeros se ha apreciado una tendencia creciente a obtener nuevas líneas genéticamente modificadas, lo que proporciona nuevas alternativas en el estudio de los mecanismos relacionados con la lesión celular y la neuroprotección y reperusión.

Referente a lo anterior, se destaca el uso de los ratones genéticamente modificados de tipo *knockout* (KO), con genes específicos inactivados; por ejemplo, los ratones carentes del gen de interleucina 4 (IL-4 KO) sometidos a OAMC permanente y transitoria presentaron mayores deterioro cognitivo y daño cerebral que sus controles, lo que demostró la importancia de la citocina IL-4 en la recuperación posisquémica y ofreció indicios de su posible uso terapéutico.<sup>(16,27,38)</sup>

El uso de animales modificados genéticamente ha permitido, además, obtener modelos de afecciones concomitantes, como la hipertensión arterial y la diabetes *mellitus*. Sin embargo, sus altos costes imposibilitan su uso en la mayoría de las investigaciones y, por tanto, los resultados fallan cuando son extrapolados a pacientes.

### **Factores de comorbilidad en modelos de isquemia cerebral**

Diversas enfermedades constituyen factores de riesgo en la aparición de isquemia cerebral; entre ellas la más importante es la hipertensión arterial, aunque también se

destacan la diabetes *mellitus*, los trastornos del colesterol y el metabolismo de los lípidos. Otro factor de riesgo trascendente es la edad, pues el envejecimiento está asociado a una pobre circulación colateral y a una mayor gravedad en la discapacidad resultante de la isquemia. El sexo representa otro elemento determinante, ya que las mujeres de edad avanzada suelen sufrir más ECV isquémicas y su pronóstico es peor que el de los hombres.<sup>(23,28,31)</sup>

A pesar de las recomendaciones en la bibliografía<sup>(37,39)</sup> de experimentar en animales envejecidos, aún no se han obtenido cambios significativos en esta área, puesto que solo en 25 % de las investigaciones se han usado animales envejecidos y todavía en algunas no se declara la edad del modelo.<sup>(12,20,34,35)</sup>

Chan *et al*<sup>(23)</sup> comprobaron que el efecto combinado del envejecimiento y la hipertensión arterial aumentó la lesión cerebral, incluida la incidencia de agregación de eritrocitos y transformación hemorrágica en un modelo de rata con accidente cerebrovascular isquémico agudo. Jiang *et al*,<sup>(28)</sup> en un estudio comparativo, obtuvieron un mayor daño del tejido cerebral e insuficiencia motosensorial en el grupo envejecido; estos encontraron, además, que el efecto neuroprotector del tratamiento estudiado (omega-3) disminuía en el grupo envejecido y no tenía ningún efecto en la pérdida de la función cognitiva espacial. Resultados similares obtuvieron Davis *et al*<sup>(8)</sup> con el factor de inhibición de leucemia (LIF), cuyos efectos neuroprotectores no se observaron en el modelo envejecido.

Yang *et al*,<sup>(40)</sup> por su parte, plantean que el riesgo de que el área de penumbra potencialmente recuperable se convierta en tejido infartado aumenta con la edad y que la recuperación funcional luego del ictus disminuye con esta, lo que sugiere que la vejez se asocia a una disminución en la capacidad de recuperación del cerebro por mecanismos endógenos. Esto podría tener una implicación importante en los resultados de ensayos clínicos sobre accidentes cerebrovasculares donde se prueban estrategias neuroprotectoras en animales jóvenes; sin embargo, se ha pasado por alto el factor edad y solo una pequeña fracción de las investigaciones de neuroprotección en fase preclínica se han realizado en animales envejecidos.

Una de las razones por la que no se emplean los animales envejecidos puede ser la alta mortalidad durante la inducción de la isquemia y después de esta, lo que se atribuye a

una disminución de la neurogénesis con el envejecimiento, que puede afectar el tamaño del infarto, la respuesta inflamatoria y la mortalidad celular, aunque muchos autores no reflejan estos datos.<sup>(41)</sup> No obstante, el uso de animales más viejos podría proporcionar una información más equiparable sobre el daño inducido por el ictus y las facetas del proceso de recuperación, que no están bien representadas en modelos animales más jóvenes.<sup>(37)</sup> Además, es importante que se utilicen controles jóvenes y se realicen pruebas entre grupos etarios; esto a veces se obvia y el objetivo se enfoca en comprobar la efectividad de una propuesta terapéutica en los grupos.<sup>(1,31)</sup>

Por otro lado, en la variable sexo, las evidencias clínicas advierten que las tasas de incidencia de infarto cerebral son mayores entre los hombres, pero que tiende a ser más grave en las mujeres.<sup>(11)</sup> Según estudios preclínicos y básicos, las hormonas femeninas, como los estrógenos y la progesterona, reducen la incidencia de ictus, enfermedades cardiovasculares y daño tisular después de la isquemia.<sup>(42)</sup> Por ende, resulta importante incluir y replicar los estudios realizados con grupos de hembras y comparar el efecto de los neuroprotectores en machos, lo cual ofrece una nueva oportunidad para el desarrollo de terapias novedosas con enfoque de género y una base para el desarrollo de la medicina personalizada.<sup>(43)</sup> Solo 10 de los trabajos revisados emplearon animales hembras y en 6 de ellos establecieron grupos de ambos sexos.

Davis *et al*<sup>(8)</sup> no encontraron diferencias significativas en cuanto a mortalidad, daño neuromotor, edema y tamaño de la lesión entre ratas envejecidas de diferentes sexos. Sin embargo, el tratamiento con LIF mejoró el estado motor solamente en el grupo femenino. Aliena-Valero *et al*<sup>(44)</sup> tampoco encontraron diferencias en indicadores de isquemia entre grupos de sexo y su propuesta de tratamiento (ácido úrico) resultó efectiva independientemente de esta variable.

Por otro lado, Chen *et al*<sup>(45)</sup> sí obtuvieron lesiones isquémicas más pequeñas en ratones hembras sometidas a 60 min de OACM, en comparación con el grupo del sexo masculino; pero la presencia de microglías, macrófagos y células T fue similar. Estos autores también probaron que la inhibición del canal de voltaje Kv1.3 presente en las células de respuesta inflamatoria tiene un efecto neuroprotector en ambos sexos y grupos etarios, aunque los mejores resultados se obtuvieron en animales hembras y envejecidos. Otros estudios han mostrado eficacia de algunas estrategias terapéuticas solamente en

modelos del sexo femenino.<sup>(27,31)</sup> Freitas-Andrade *et al*<sup>(27)</sup> demostraron que la proteína de la membrana pannexina 1 (Panx1), que media procesos de apoptosis e inflamación, se presenta mayormente en la isquemia de modelos hembras y, consecuentemente, su inhibición reduce el área de infarto y la inflamación (solamente en modelos de este sexo). Lo anterior demuestra el dimorfismo sexual relacionado con la isquemia cerebral y su importancia a la hora del análisis de nuevas estrategias terapéuticas. En ese sentido, es importante señalar que aunque en algunos estudios, como el de Singh *et al*,<sup>(26)</sup> se utilizan modelos de ambos sexos, no se realiza un análisis diferenciado, lo que limita los resultados.

Resulta oportuno señalar que cuando se trabaja con ratones hembra jóvenes se describe el uso de modelos ovariectomizados o en la etapa de diestro del ciclo estral.<sup>(13,22,31,44)</sup> Estos requerimientos pueden complejizar el uso de estos modelos, pero son necesarios por la protección que ofrecen las hormonas ante procesos isquémicos y porque las diferentes fases del ciclo estral pueden afectar el tamaño de la lesión. Los ratones ovariectomizados presentan características citológicas similares a la de los ratones intactos maduros y ancianos. Estas se encuentran en una senescencia reproductiva, entrando en una fase de diestro persistente, donde los niveles de estrógeno disminuyen, de manera similar a lo que experimentan las mujeres de edad avanzada.<sup>(22,46)</sup>

La ECV isquémica es una enfermedad multifactorial y con una parte genética compleja. Existen varios factores de riesgo que aumentan las probabilidades de padecer un ictus, por lo que el conocimiento y control de estos es indispensable para prevenirlo.<sup>(47)</sup> Algunos factores de riesgo no pueden modificarse, como el antecedente familiar o la edad; en cambio, hay otros relacionados con el estilo de vida de los pacientes, que coexisten y tienen efectos notables sobre la estructura y función de los vasos sanguíneos, como la diabetes *mellitus* y la hipertensión arterial (aunque actualmente se conozca que existe predisposición genética a padecer ambas enfermedades, se continúan clasificando como factores modificables).

Durante la última década se ha propuesto el uso de animales envejecidos y que presenten comorbilidades (obesidad, hipertensión o diabetes), con el objetivo de que se reproduzca mejor la enfermedad humana, ya que estos factores inciden en gran medida y provocan alteraciones vasculares que aumentan la vulnerabilidad del cerebro a la



isquemia después de una oclusión arterial. La homogeneidad en los modelos más utilizados, en los cuales no se consideran dichos factores, constituye otro de los motivos fundamentales en el fracaso de las terapias neuroprotectores en seres humanos.<sup>(48)</sup>

Igualmente, se encontraron 6 artículos en los que se refiere el uso de animales genéticamente modificados, propensos a presentar diabetes *mellitus*, hipertensión arterial e inducción de la diabetes (hiperglucemia crónica), pero en ninguno se realizó en análisis en modelos del sexo femenino.

Se plantea que los animales genéticamente hipertensos (razas SHR y *stroke-prone* SHR) pueden presentar un infarto de mayor tamaño y una menor variabilidad de este, aunque las diferencias morfológicas y fisiológicas respecto a las líneas normotensas hacen que estos animales no sean los más adecuados para el estudio de terapias neuroprotectoras debido a la posible variabilidad en la respuesta terapéutica.<sup>(49)</sup> Algunos autores, como Beard *et al*<sup>(19)</sup> y Chan *et al*<sup>(23)</sup> han reconocido la efectividad de sus propuestas terapéuticas en este tipo de modelo.

Pradillo *et al*<sup>(29)</sup> utilizaron ratas JCR envejecidas. Este modelo posee obesidad, resistencia a la insulina e hipertrigliceridemia con tendencia a la arteriosclerosis y la cardiopatía isquémica. Sus resultados mostraron volúmenes de infartos cerebrales similares entre modelos envejecidos y/o con comorbilidades, pero mayores en comparación con modelos jóvenes que presentaban diabetes inducida por estreptozotocina (STZ). Los modelos jóvenes además fueron sometidos a tiempos de OACM mayores y con oclusión de la arteria carótida común para obtener áreas de infarto similares a las de modelos envejecidos, lo que sugiere que la edad es la variable más importante en el aumento de la susceptibilidad del cerebro a un proceso isquémico.

Otros investigadores<sup>(12,33)</sup> utilizaron modelos de isquemia en animales diabéticos. Villalba *et al*<sup>(12)</sup> obtuvieron áreas de infarto superiores en modelos de MCAO con diabetes, pero los signos clínicos de isquemia fueron similares a la de los modelos isquémicos sin comorbilidad. Abdel-latif *et al*,<sup>(33)</sup> por otro lado, observaron un aumento en los niveles de óxido nítrico inducible y supresión de óxido nítrico endotelial en modelos con diabetes inducida que, aunque es representativo en modelos de isquemia con reperfusión, no es posible apreciar hasta qué punto es agravado por el factor de comorbilidad y por la falta de un grupo de control sin diabetes, lo que señala, una vez

más, la importancia de incluir controles no solo para el proceso isquémico, sino para los factores de comorbilidad seleccionados y establecer las comparaciones pertinentes.

El poco uso de modelos genéticamente modificados para el estudio de comorbilidades está relacionado principalmente al factor económico, ya que los animales genéticamente modificados suelen ser más caros. Si bien existen otros métodos, como el modelo de hipertensión DOCA-sal (mineralocorticoide acetato de desoxicorticosterona) y la estreptozotocina (STZ) que produce diabetes *mellitus* de tipo 2, estos métodos solo se recomiendan para evaluar su influencia sobre otras enfermedades y no para estudios moleculares fisiopatológicos de estas, pues no es lo que ocurre de manera natural en humanos.<sup>(48)</sup> De aquí que se justifique su uso en estudios sobre influencia en la ECV isquémica y la efectividad de estrategias neuroprotectoras.

En general, el uso de modelos envejecidos con factores de comorbilidad y de ambos sexos es todavía escaso y necesita ser analizado con los controles apropiados sin perder de vista el análisis de la comorbilidad frente a posibles terapias. El efecto combinado del envejecimiento y la hipertensión arterial sobre el resultado del ictus no está claro porque la mayoría de los estudios básicos sobre ictus han utilizado animales macho jóvenes que suelen tener cifras normales de tensión arterial. En un estudio para caracterizar pacientes longevos que han padecido un ictus, Cutiño *et al*<sup>(50)</sup> observaron un aumento progresivo en la incidencia de la enfermedad, con una mayor frecuencia de la hipertensión arterial y la cardiopatía isquémica como factores de riesgo cerebrovasculares. La inclusión de modelos hembra junto a los demás factores de comorbilidad queda igualmente pendiente.

**Cuadro.** Modelos animales de isquemia cerebral utilizados en la bibliografía

Ref.	Animal/Sexo	Modelo	Edad	Tratamiento
(8)	Rt Sprague-Dawley ♂♀	OACM	18-19 meses	Factor de inhibición de leucemia
(26)	Rtn C57BL/6J y Rag1 <sup>-/-</sup> ♂♀	OACM		Transplante de microbiota
(23)	Rt SHR ♂	OACM	50-52 semanas 17-18 semanas	Inhibición farmacológica del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI)
(19)	Rt Wistar y SHR ♂	OACM	12-14 semanas	Rapamicina
(29)	Rt Wistar, JCR:LA-lean, JCR:LA-corpulent ♂	OACM y OACM+ OACC	2 meses 13 meses	Antagonista del receptor de interleuquina-1

(12)	Rtn C57BL/6 y B6.BKS(D)-Lepr <sup>db/db</sup> ♂	OACM		Myo-inositol
(33)	Rt Wistar diabéticas ♂	OBACC	8 semanas	Lixisenatida
(13)	Rtn C57BL/6J ♀	OACM	7-9 meses	Ácido úrico
(27)	Rtn C57BL/6 y Panx1 KO ♀♂	OACM	8-9 meses	Pannexina 1(Panx1)
(1)	Rt Sprague-Dawley ♀	OACM	18-20 meses	Nicotinamida mononucleótido adenililtransferasa 1
(22)	Rt Wistar ♀	OACM	3-6 meses	Estimulación del receptor angiotensina II tipo 2 con el componente 21
(45)	Rtn C57BL/6J ♂♀ Rt Wistar ♂	OACM	4 meses y 20 meses	Inhibición de la Kv1.3 mediante PAP-1
(28)	Rtn C57BL/6J y C57BL/6 ♂	OACM+ OACC	10-12 semanas y 18 meses	Ácidos grasos poliinsaturados omega-3
(31)	Rt Sprague-Dawley ♂♀	OACM	6-7 meses y 10-12 meses	miR363
(44)	Rt Wistar ♂♀	OACM	12 semanas	Ácido úrico
(38)	Rtn C57BL/6 y CypD/CCR2 KO ♂	OACM	8-12 semanas	Nanopartículas de ciclosporina A y pitavastatina
(34)	Rtn ICR ♂	OBACC	-	Astragalósido IV
(11)	Rtn C57BL/6J ♂	OACM	10 semanas	Efecto del miRNA-27b
(36)	Rtn C57BL/6 ♂	EBACC	12 semanas	Necrostatin-1
(15)	Rtn C57BL/6 ♂	OACM	8-10 semanas	Resveratrol
(35)	Rtn Swiss ♂	OBACC	-	Extracto alcohólico de <i>Erythrina velutina</i>
(16)	Rtn C57BL/6 e IL-4 KO ♂	OACM	8-10 semanas	Interleuquina-4(IL-4)
(24)	Rt Wistar ♂	OACM	adultas	Exosomas personalizados enriquecidos con el grupo miR-17-92
(20)	Rt Wistar ♂	OACM	-	Eritropoyetina recombinante humana
(14)	Rt Wistar ♂	OACM	adultos	Etanol y modafinilo
(9)	Rtn C57BL/6J ♂	OACM	8 semanas	Pretratamiento con compuesto 21(C21)
(32)	Rt Wistar ♂	OBACC	6-8 semanas	Campo electromagnético sinusoidal no pulsante
(18)	Rt Wistar ♂	OACM	3-4 meses	Oxitocina
(30)	Rt Sprague-Dawley ♂	OACM	9-13 semanas	Formulación oral de angiotensina- (1-7)
(10)	Rtn C57BL/6 ♂	OACM	7-8 semanas	Isoesteviol sódico
(21)	Rt Sprague-Dawley ♂	OACM	8 semanas	Células madre mesenquimales que sobreexpresan interleucina-10
(17)	Rt Sprague-Dawley ♂	OACM	7-8 semanas	Factor estimulante de colonias de granulocitos humano recombinante y factor 1 derivado de células estromales

Rt: rata, Rtn: ratón, OACM: oclusión de la arteria cerebral media, OBACC: oclusión bilateral de arterias carótidas comunes, EBACC: estenosis bilateral de arterias carótidas comunes, OACC: oclusión de la arteria carótida común, SHR: rata espontáneamente hipertensa, KO: *knockout*, CypD/CCR2: ciclopilina D/ C-C receptor quimiocina 2

## Conclusiones

Ante la evidencia recopilada, puede afirmarse que existe un gran número de razones por las cuales ha sido tan difícil trasladar los resultados de los estudios preclínicos a los estudios con pacientes; algunas de ellas, por una parte, se fundamentan en que las condiciones experimentales en modelos animales son muy homogéneas, lo que dista mucho de lo que realmente sucede con esta enfermedad, que se encuentra asociada a diferentes factores genéticos y ambientales. Por otra parte, la edad en animales es un factor importante para la ocurrencia y progresión de esta entidad clínica, ya que los mecanismos endógenos de defensa disminuyen en pacientes más longevos; sin embargo, en la mayoría de las investigaciones se continúan utilizando solo animales jóvenes. De esta manera, es primordial mejorar el diseño experimental de los ensayos preclínicos, para así disminuir los criterios de exclusión y lograr un mayor alcance de pacientes a la terapia.

## Referencias bibliográficas

1. Wang P, Lu Y, Han D, Wang P, Ren L, Bi J, et al. Neuroprotection by nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase 1 with involvement of autophagy in an aged rat model of transient cerebral ischemia and. Brain Research. 2019 [citado 20/10/2020];1723. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006899319304457?via%3Dihub>

2. Buergo Zuaznabar MA, Fernández Concepción O. Guías de práctica Clínica. Enfermedad cerebrovascular. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2009 [citado 12/06/2020]. Disponible en: <https://files.sld.cu/enfermedadcerebrovascular/files/2011/06/guias-practica-clinica-ecv-cuba.pdf>
3. Prieto R, Moreno Á, Simal P, Pascual JM, Matías-Guiu J, Roda JM, et al. Modelos experimentales de isquemia cerebral. Rev Neurol. 2008;47(08):414-26.
4. Fluri F, Schuhmann MK, Kleinschnitz C. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. Drug Des Devel Ther. 2015;9:3445-54.
5. Ma R, Xie Q, Li Y, Chen Z, Ren M, Chen H, et al. Animal models of cerebral ischemia: A review. Biomed Pharmacother. 2020 [citado 20/10/2020];131:110686. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332220308799>
6. Matthias CL, Codas M, González V. Factores de riesgo cardiovascular en accidente cerebrovascular. Rev Virtual Posgrado. 2016 [citado 06/11/2019];1(1):28-46. Disponible en: <http://revista.medicinauni.edu.py/index.php/FM-uni/article/view/11/4>
7. Díez Tejedor E, Del Brutto O, Álvarez Sabín J, Muñoz M, Abiusi G. Classification of the cerebrovascular diseases. Iberoamerican Cerebrovascular diseases Society. Rev Neurol. 2001;33(5):455-64.
8. Davis S, Collier L, Goodwin S, Lukins D, Powell D, Pennypacker K. Efficacy of leukemia inhibitory factor as a therapeutic for permanent large vessel stroke differs among aged male and female rats. Brain Res. 2019 [citado 21/06/2019];1707:62-73. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006899318305754>
9. Shan BS, Mogi M, Iwanami J, Bai HY, Kan-no H, Higaki A, et al. Attenuation of stroke damage by angiotensin II type 2 receptor stimulation via peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. Hypertens Res. 2018;41(10):839-48.
10. Zhang H, Sun X, Xie Y, Zan J, Tan W. Isosteviol Sodium Protects Against Permanent Cerebral Ischemia Injury in Mice via Inhibition of NF-κB-Mediated Inflammatory and Apoptotic Responses. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2017;26(11):2603-14.
11. Yuan Y, Zhang Z, Wang Z, Liu J. MiRNA-27b Regulates Angiogenesis by Targeting AMPK in Mouse Ischemic Stroke Model. Neuroscience. 2019;398:12-22.

12. Villalba H, Shah K, Albekairi TH, Sifat AE, Vaidya B, Abbruscato TJ. Potential role of myo-inositol to improve ischemic stroke outcome in diabetic mouse. *Brain Res.* 2018 [citado 26/10/2020];1699:166–76. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006899318304499?via%3Dihub>
13. Dhanesha N, Vázquez-Rosa E, Cintrón-Pérez CJ, Thedens D, Kort AJ, Chuong V, et al. Treatment with Uric Acid Reduces Infarct and Improves Neurologic Function in Female Mice After Transient Cerebral Ischemia. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2018 [citado 21/10/2020];27(5):1412–6. Disponible en: [https://www.strokejournal.org/article/S1052-3057\(17\)30717-6/fulltext](https://www.strokejournal.org/article/S1052-3057(17)30717-6/fulltext)
14. Abbasi Y, Shabani R, Mousavizadeh K, Soleimani M, Mehdizadeh M. Neuroprotective effect of ethanol and Modafinil on focal cerebral ischemia in rats. *Metab Brain Dis.* 2019 [citado 28/10/2020];34(3):805–19. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11011-018-0378-0>
15. Dou Z, Rong X, Zhao E, Zhang L, Lv Y. Neuroprotection of resveratrol against focal cerebral ischemia/reperfusion injury in mice through a mechanism targeting gut-brain axis. *Cell Mol Neurobiol.* 2019 [citado 28/10/2020];39(6):883–98. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10571-019-00687-3>
16. Liu X, Liu J, Zhao S, Zhang H, Cai W, Cai M, et al. Interleukin-4 is essential for microglia/macrophage M2 polarization and long-term recovery after cerebral ischemia. *Stroke.* 2016 [citado 12/06/2020];47(2):498–504. Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/STROKEAHA.115.012079>
17. Wang ML, Zhang LX, Wei JJ, Li LL, Zhong WZ, Lin XJ, et al. Granulocyte colony-stimulating factor and stromal cell-derived factor-1 combination therapy: A more effective treatment for cerebral ischemic stroke. *Int J Stroke.* 2020 [citado 20/10/2020];15(7):743–54. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1747493019879666>

18. Etehadi S, Azami Tameh A, Vahidinia Z, Atlasi MA, Hassani Bafrani H, Naderian H. Neuroprotective effects of oxytocin hormone after an experimental stroke model and the possible role of calpain-1. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2018 [citado 13/06/2019];27(3):724-32. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1052305717305712>
19. Beard DJ, Li Z, Schneider AM, Couch Y, Cipolla MJ, Buchan AM. Rapamycin induces an eNOS (endothelial nitric oxide synthase) dependent increase in brain collateral perfusion in Wistar and spontaneously hypertensive rats. *Stroke.* 2020 [citado 23/10/2020];51(9):2834-43. Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/STROKEAHA.120.029781>
20. Juenemann M, Braun T, Schleicher N, Yeniguen M, Schramm P, Gerriets T, et al. Neuroprotective mechanisms of erythropoietin in a rat stroke model. *Transl Neurosci.* 2020 [citado 20/10/2020];11(1):48-59. Disponible en: <https://doi.org/10.1515/tnsci-2020-0008>
21. Nakajima M, Nito C, Sowa K, Suda S, Nishiyama Y, Nakamura-Takahashi A, et al. Mesenchymal Stem Cells Overexpressing Interleukin-10 Promote Neuroprotection in Experimental Acute Ischemic Stroke. *Mol Ther-Methods Clin Dev.* 2017 [citado 01/10/2020];6:102-11. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.omtm.2017.06.005>
22. Eldahshan W, Ishrat T, Pillai B, Sayed MA, Alwhaibi A, Fouda AY, et al. Angiotensin II type 2 receptor stimulation with compound 21 improves neurological function after stroke in female rats: a pilot study. *Am J Physiol Circ Physiol.* 2019 [citado 26/05/2020];316(5):1192-201. Disponible en: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpheart.00446.2018>
23. Chan SL, Bishop N, Li Z, Cipolla MJ. Inhibition of PAI (plasminogen activator inhibitor)-1 improves brain collateral perfusion and injury after acute ischemic stroke in aged hypertensive rats. *Stroke.* 2018 [citado 23/10/2020];49(8):1969-76. Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/STROKEAHA.118.022056>
24. Xin H, Katakowski M, Wang F, Qian JY, Liu XS, Ali MM, et al. MicroRNA cluster miR-17-92 cluster in exosomes enhance neuroplasticity and functional recovery after stroke in rats. *Stroke.* 2017 [citado 23/10/2020];48(5):747-53. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5330787/>

25. Sommer CJ. Ischemic stroke: experimental models and reality. *Acta Neuropathol.* 2017 [citado 23/10/2020];133(2):245–61. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00401-017-1667-0>
26. Singh V, Roth S, Llovera G, Sadler R, Garzetti D, Stecher B, et al. Microbiota Dysbiosis Controls the Neuroinflammatory Response after Stroke. *J Neurosci.* 2016 [citado 23/10/2020];36(28):7428–40. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27413153>
27. Freitas-Andrade M, Bechberger JF, MacVicar BA, Viau V, Naus CC. Pannexin 1 knockout and blockade reduces ischemic stroke injury in female but not in male mice. *Oncotarget.* 2017 [citado 21/10/2020];8(23):36973–83. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5514885/>
28. Jiang X, Suenaga J, Pu H, Wei Z, Smith AD, Hu X, et al. Post-stroke administration of omega-3 polyunsaturated fatty acids promotes neurovascular restoration after ischemic stroke in mice: Efficacy declines with aging. *Neurobiol Dis.* 2019 [citado 23/10/2020];126:62–75. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0969996118305734>
29. Pradillo JM, Murray KN, Coutts GA, Moraga A, Oroz-Gonjar F, Boutin H, et al. Reparative effects of interleukin-1 receptor antagonist in young and aged/co-morbid rodents after cerebral ischemia. *Brain Behav Immun.* 2017 [citado 23/10/2020];61:117–26. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159116305153>
30. Bennion DM, Jones CH, Donnangelo LL, Graham JT, Isenberg JD, Dang AN, et al. Neuroprotection by post-stroke administration of an oral formulation of angiotensin-(1-7) in ischaemic stroke. *Exp Physiol.* 2018 [citado 13/06/2019];103(6):916-23. Disponible en: <https://physoc.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1113/EP086957>
31. Selvamani A, Sohrabji F. Mir363-3p improves ischemic stroke outcomes in female but not male rats. *Neurochem Int.* 2017 [citado 23/10/2020];107:168-81. Disponible en: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5398946/#\\_ffn\\_sectitle](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5398946/#_ffn_sectitle)



32. Pérez L, Marañón M, Kemps H. Non-pulsed sinusoidal electromagnetic field rescues animals from severe ischemic stroke via NO activation. *Front Neurosci.* 2019 [citado 21/06/2019];13:561. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2019.00561/full>
33. Abdel-latif RG, Heeba GH, Taye A, Khalifa MMA. Lixisenatide, a novel GLP-1 analog, protects against cerebral ischemia/reperfusion injury in diabetic rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2018 [citado 28/10/2020];391(7):705–17. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00210-018-1497-1>
34. Li M, Li H, Fang F, Deng X, Ma S. Astragaloside IV attenuates cognitive impairments induced by transient cerebral ischemia and reperfusion in mice via anti-inflammatory mechanisms. *Neurosci Lett.* 2017 [citado 28/10/2020];639:114-9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2016.12.046>
35. Rodrigues FTS, de Sousa CNS, Ximenes NC, Almeida AB, Cabral LM, Patrocínio CFV, et al. Effects of standard ethanolic extract from *Erythrina velutina* in acute cerebral ischemia in mice. *Biomed Pharmacother.* 2017 [citado 23/10/2020];96:1230–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.11.093>
36. Zhang S, Wang Y, Li D, Wu J, Si W, Wu Y. Necrostatin-1 Attenuates Inflammatory Response and Improves Cognitive Function in Chronic Ischemic Stroke Mice. *Medicines.* 2016 [citado 23/10/2020];3(3):16. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2305-6320/3/3/16>
37. Casals JB, Pieri NCG, Feitosa MLT, Ercolin ACM, Roballo KCS, Barreto RSN, et al. The use of animal models for stroke research: A review. *Comparative Medicine.* 2011;61:305–13.
38. Okahara A, Koga J ichiro, Matoba T, Fujiwara M, Tokutome M, Ikeda G, et al. Simultaneous targeting of mitochondria and monocytes enhances neuroprotection against ischemia–reperfusion injury. *Sci Rep.* 2020 [citado 05/06/2020];10(1). Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-71326-x.pdf>
39. Sutherland BA, Minnerup J, Balami JS, Arba F, Buchan AM, Kleinschnitz C. Neuroprotection for Ischaemic Stroke: Translation from the Bench to the Bedside. *Int J Stroke.* 2012 [citado 30/05/2019];7(5):407–18. Disponible en: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1111/j.1747-4949.2012.00770.x>

40. Yang W, Paschen W. Is age a key factor contributing to the disparity between success of neuroprotective strategies in young animals and limited success in elderly stroke patients? Focus on protein homeostasis. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2017 [citado 23/10/2020];37(10):3318–24. Disponible en: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0271678X17723783>
41. Zhang H, Lin S, Chen X, Gu L, Zhu X, Zhang Y, et al. The effect of age, sex and strains on the performance and outcome in animal models of stroke. *Neurochemistry International.* 2019 [citado 19/05/2020];127:2–11. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0197018618304017>
42. Simpkins JW, Yang SH, Wen Y, Singh M. Estrogens, progestins, menopause and neurodegeneration: Basic and clinical studies. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 2005;62:271-80.
43. Lebesgue D, Chevalyere V, Zukin RS, Etgen AM. Estradiol rescues neurons from global ischemia-induced cell death: Multiple cellular pathways of neuroprotection. *Steroids.* 2009 [citado 16/10/2020];74(7):555–61. Disponible en: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3029071/#\\_ffn\\_sectitle](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3029071/#_ffn_sectitle)
44. Aliena-Valero A, López-Morales MA, Burguete MC, Hervás D, Torregrosa G, Leira EC, et al. Emergent uric acid treatment is synergistic with mechanical recanalization in improving stroke outcomes in male and female rats. *Neuroscience.* 2018 [citado 23/10/2020];388:263-73. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.07.045>
45. Chen Y-J, Nguyen HM, Cui Y, Wulff H. Kv1.3 Constitutes a valid target for reducing neuroinflammation in the wake of ischemic stroke in male, female and aged mice. *FASEB J.* 2020 [citado 15/10/2020];34(S1):1–1. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fasebj.2020.34.s1.03005>
46. Angulo MTS, López MS, Castro ED, Villavicencio LLF, Emiliano JR, Y Ortíz, MSS. Ciclo estral del ratón hembra intacto y ovariectomizado. *Acta Universitaria.* 2012 [citado 16/09/2020];22(2):5-8. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3936623>

47. Matthias CL, Cudas M, González V. Factores de riesgo cardiovascular en accidente cerebrovascular. Rev Virtual Posgrado. 2016 [citado 16/11/2019];1(1):28-46. Disponible en: <http://revista.medicinauni.edu.py/index.php/FM-uni/article/view/11/4>
48. Castañeda C VA. Factores de riesgo cardiovascular en síndrome metabólico TT - Cardiovascular risk factors in metabolic syndrome. Rev Med Interna. 2013 [citado 23/10/2020];17(Suppl 1):s24-9. Disponible en: <http://bibliomed.usac.edu.gt/revistas/revmedi/2013/17/S1/05>
49. Núñez Y, Tillán Capó J, Bueno Pavón V, Carrillo Domínguez C, Jiménez Alemán NM, Valdés Martínez O. Estandarización de un modelo de isquemia por oclusión de la arteria cerebral media en ratas. Lat Am J Pharm. 2009 [citado 23/10/2020];28(1):47-54. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/232715512\\_Estandarizacion\\_de\\_un\\_Modelo\\_de\\_Isquemia\\_por\\_Oclusion\\_de\\_la\\_Arteria\\_Cerebral\\_Media\\_en\\_Ratas/download](https://www.researchgate.net/publication/232715512_Estandarizacion_de_un_Modelo_de_Isquemia_por_Oclusion_de_la_Arteria_Cerebral_Media_en_Ratas/download)
50. Cutiño Y, Rojas JO, Sánchez A, López J, Verdecia R, Herrera D. Characterization of ictus in the long-lived patient: A decade of study. Rev Finlay. 2016 [citado 06/11/2019];6(3):239-45. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rf/v6n3/rf07306.pdf>

### **Conflicto de Intereses**

Los autores no declaran conflicto de intereses.

### **Contribución de los autores**

Javier Enrique Almenares Rosales: conceptualización, curación de datos, redacción – borrador original, redacción – revisión y edición, (60 %)

Amanda Elisa Moya Gómez: conceptualización, curación de datos, supervisión, redacción – revisión y edición, (20 %)

Lena Pérez Font: conceptualización, metodología, administración del proyecto, supervisión, redacción – revisión y edición, (20 %)

