Instituto de Neurología y Neurocirugía
Centro Nacional de Investigaciones Científicas
Centro de Productos Naturales

EFECTO DEL POLICOSANOL EN LA RECUPERACIÓN DEL ICTUS ISQUÉMICO

Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Médicas

Autor: Dr. Javier Vicente Sánchez López

La Habana

2014

Centro Nacional de Investigaciones Científicas

Instituto de Neurología y Neurocirugía

Centro de Productos Naturales

EFECTO DEL POLICOSANOL EN LA RECUPERACIÓN DEL ICTUS ISQUÉMICO

Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Médicas

Autor: Dr. Javier Vicente Sánchez López

Tutor: Dra. C. Sarahí Mendoza Castaño

Asesor: Dra. C. Vivian Molina Cuevas

La Habana

2014

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Rosa Mas Ferreiro, mujer genial, con una capacidad de trabajo inagotable, sin la cual no hubiesen sido posibles estos resultados.

A mi tutora, la Dra. Sarahí Mendoza y a la asesora Dra. Vivian Molina por su dedicación especial y sus consejos tan útiles en cada instante de este trabajo.

A los Dres: José Ilnailt, Lilia Fernández y Julio Fernández por su amistad e incondicional ayuda en todo momento.

A las Dras. Miriam Noa y Daisy Carbajal por su apoyo en todo el camino recorrido.

A todos mis seres queridos, en especial a mi padre, a quién le debo todo.

Al Dr. Ricardo Santiago Luis González, de quien aprendí la esencia de la Neurología y que siempre me ha querido como a un hijo.

A todos los trabajadores del Centro de Productos Naturales que siempre me han acogido con tanto cariño.

A los pacientes: Por la confianza y la fe brindada.

A todas las personas que de una forma u otra me han ayudado a llevar a un feliz término este trabajo: mi eterno agradecimiento.

DEDICATORIA

A mi esposa Dwan y a mis hijos:

Por su amor y por ser la fuente de inspiración que impulsa mi vida.

A mi mamá y mi abuelita:

Que aunque no están físicamente, yo sé que siempre me acompañan.

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

Ácido araquidónico (AA)

Ácido Tiobarbitúrico (SRATB)

Ácido 5,5‘-ditiobis-(2-nitrobenzoico) (DTNB)

Adenosín difosfato (ADP)

Agregación plaquetaria (AP)

Alanin-amino transferasa (ALT)

Aspartato-amino transferasa (AST)

Aspirina (Ácido acetil salicílico: AAS)

Ataques transitorios de isquemia (ATI)

Capacidad antioxidante total del plasma (CAOTP)

Células endoteliales (CE)

Células musculares lisas (CML)

Cerebrovascular (CBV)

Ciclooxigenasa-1 (COX-1)

Colesterol total (CT)

Colesterol Transportado por lipoproteínas de alta densidad (HDL-C)

Colesterol Transportado por lipoproteínas de baja densidad (LDL-C)

Comité de Ética e Investigación Clínica (CEIC)

No deseos de continuar (NDC)

Escala Neurológica Rankin- (ENR)

Escala Neurológica Rankin modificada (ENRm)

Escala Neurológica Canadiense (ENC)

Especies reactivas de oxígeno (EROS)

Estrés oxidativo (EO)

Eventos adversos (EA) Severos (EAS)

Extracto de semillas de uva (ESU)

Gamma glutamil transpeptidasa (GGT)

Glutatión reducido (GSH)

Grupos sulfidrilos (GSF)

Hemorragia subaracnoidea (HSA)

Hidroximetil glutaril Coenzima A (HMGCoA)

Hipercolesterolemia (HC)

Hipertensión arterial (HTA)

Infarto agudo del miocardio (IAM)

Inhibidor de la activación tisular del plasminógeno (rt-PA)

Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA)

Instituto de Neurología y Neurocirugía (INN)

Intraperitoneal (ip)

Isquemia reperfusión (I/R)

Intravenosa (iv)

Lipoproteína a (Lpa)

Mieloperoxidasa (MPO)

Monofosfato de adenosina cíclico (AMPc)

Oxidación proteica (OP)

Peroxidación lipídica (PL)

Plasma rico en plaquetas (PRP)

Plasma pobre en plaquetas (PPP)

Prostaciclina (PGI_2)

Proteína-cinasa dependiente de AMP (AMPK)

Proteína-cinasa dependiente de calmodulina (CaMKK)

Riesgo relativo (RR)

Sustancias reactivas al ácido tiobárbitúrico (SRATB)

Triglicéridos (TG)

Tromboxano A2 (TXA_2)

Velocidad máxima de oxidación (Vmáx)

SÍNTESIS

SÍNTESIS

El ictus se encuentra entre las tres primeras causas de mortalidad, representa la primera de discapacidad resultante y la segunda de demencia. La lucha contra el ictus se centra en dos estrategias: prevención y recuperación. La prevención secundaria, clave en la prevención del ictus isquémico y sus secuelas, se basa en controlar los factores de riesgo modificables e indicar la terapia farmacológica adecuada, con los antiagregantes plaquetarios como terapia de primera línea, si bien el consumo de medicamentos hipolipemiantes y antihipertensivos se suma a esta estrategia. El policosanol, mezcla de alcoholes alifáticos de alto peso molecular obtenida de la cera de caña, ejerce efectos hipolipemiantes, antiagregantes plaquetarios y antioxidantes, por lo que este trabajo plantea como hipótesis que el tratamiento con policosanol aporta beneficios en el manejo del ictus isquémico.

Los resultados demuestran que el policosanol mejora los parámetros conductuales, síntomas clínicos, el daño histológico y marcadores oxidativos en modelos experimentales de isquemia cerebral. Dos estudios aleatorizados y a doble-ciegas en pacientes que sufrieron ictus isquémicos demostraron que la terapia con AAS (125 mg/día) + policosanol (20 mg/día) durante 6 meses mejoró su recuperación neurológica y redujo la agregación plaquetaria, las cifras séricas de colesterol transportado por lipoproteínas de baja densidad (LDL-C), de colesterol total (CT), de células endoteliales circulantes y de marcadores de peroxidación lipídica y oxidación proteica con respecto a los grupos tratados con AAS + placebo. Consistentemente, un estudio abierto a largo plazo (5 años) en similar población demostró que la terapia con AAS (125 mg/día) + policosanol (20 mg/día) mejoró la recuperación neurológica y redujo las cifras séricas de CT. Tales datos sustentan que en pacientes que sufren un ictus isquémico la terapia AAS + policosanol produce beneficios adicionales a la convencional, consistente con la hipótesis planteada.

ÍNDICE

ÍNDICE

	Página
INTRODUCCIÓN	1 - 8
CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9 - 29
1.1 El problema clínico y su contexto	9
1.2 Ictus isquémico y ATI: Conceptos y etiología	9 - 10
1.3 Enfermedad aterotrombótica e ictus	10 - 11
1.4 Enfermedad inflamatoria e ictus	11
1.4.1 Progresión de la isquemia y neuroinflamación	11
1.5 Factores de riesgo del ictus isquémico	11 - 15
1.5.1 Factores de riesgo no modificables	12
1.5.2 Factores de riesgo modificables	12 - 15
1.6 Prevención del ictus	15 - 21
1.6.1 Antiagregantes plaquetarios en la prevención y manejo del ictus	15 - 19
1.6.2 Tratamiento anticoagulante en la prevención del ictus	19 - 20
1.6.3 Estatinas y prevención de ictus	20 - 21
1.7 Tratamiento trombolítico en el ictus agudo	21 - 22
1.8 Modelos de isquemia experimental	22 - 24
1.9 Policosanol	24 - 29
1.9.1 Estudios experimentales	24 - 26
1.9.2 Estudios clínicos	26 - 29
1.9.2.1 Efectos hipolipemiantes	26
1.9.2,2 Efectos antiagregantes	27
1.9.2.3 Efectos antioxidantes	27
1.9.2.4 Efectos en sujetos de edad media	28
1.9.2.5 Efectos en diversas poblaciones de riesgo	28
1.9.2.6 Efectos en pacientes con enfermedad cerebrovascular	29
1.9.3 Seguridad y tolerabilidad	29
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS	30 - 44
2.1 Estudios experimentales	30 - 34
2.1.1 Animales	30
2.1.2 Administración y dosificación	30 - 31
2.1.3. Inducción de isquemia experimental	31
2.1.4 Variables analizadas	32
2.1.4.1 Efectos sobre síntomas neurológicos	32
2.1.4.2. Efectos sobre variables oxidativas plasmáticas	32

2.1.4.2.1 Obtención de las muestras 32
2.1.4.2.2 Determinación de marcadores de peroxidación lipídica en plasma 32 - 33
2.1.4.2.3 Determinación de marcadores de oxidación proteica en plasma 33
2.1.4.2.4 Estudio histológico del tejido cerebral 33
2.1.5 Manejo de datos y análisis estadístico 34
2.2 Estudios clínicos 34 - 44
2.2.1 Aspectos generales 34
2.2.1.1. Ética médica 34
2.2.1.2 Control de la calidad de la conducción de los estudios 34
2.2.2 Estudios controlados con placebo 35 - 40
2.2.2.1 Diseño de los estudios 35 - 36
2.2.2.2 Criterios de selección (inclusión y exclusión) 35 - 36
2.2.2.3 Criterios de baja o retirada del estudio 36
2.2.2.4 Tratamientos 36 - 37
2.2.2.5 Evaluación de respuestas 37
2.2.2.6 Evaluación de la seguridad y la tolerabilidad 37 - 38
2.2.2.7 Mediciones de las variables 38 - 40
2.2.2.7.1 Variable primaria de eficacia 38
2.2.2.7.2 Variables secundarias de eficacia 38
2.2.2.7.3 Análisis de laboratorio 38
2.2.2.7.3.1 Determinación de la agregación plaquetaria 38 - 39
2.2.2.7.3.2 Determinación de las cifras de endotelemia 39
2.2.2.7.3.3 Determinación de variables oxidativas 39 - 40
2.2.2.7.3.4 Perfil lipídico y bioquímica sanguínea 40
2.2.2.8 Análisis estadístico 40
2.2.3 Estudio abierto 40 - 43
2.2.3.1 Diseño del estudio 40 - 41
2.2.3.2 Criterios de selección (inclusión y exclusión) 41
2.2.3.3 Criterios de baja o retirada del estudio 41
2.2.3.4 Tratamientos 41
2.2.3.5 Evaluación de respuestas 41 - 42
2.3.3.6 Evaluación de la seguridad y la tolerabilidad 42
2.2.3.7 Mediciones de las variables 42
2.2.3.8 Análisis estadístico 42
2.2.3.9 Determinación del tamaño de las muestras 43
2.2.4 Manejo y procesamiento de datos 43

CAPÍTULO 3. RESULTADOS 45 - 64
3.1 Estudios experimentales 45 - 49
3.1.1 Efectos preventivos del policosanol y el extracto de semilla de uva (ESU) sobre la isquemia cerebral bilateral inducida por I-R en *Mongolian gerbils* 45 - 46
3.1.2 Efectos terapéuticos del policosanol y la atorvastatina sobre la isquemia cerebral inducida por I-R en *Mongolian gerbils* 47 - 49
3.2 Estudios clínicos 49 - 64
3.2.1 Estudios controlados 49 - 60
3.2.1.1 Efectos sobre la evolución neurológica, la agregación plaquetaria y la endotelemia en pacientes con ictus isquémico 49 - 55
3.2.1.1.1 Características basales y análisis de las bajas 49 - 50
3.2.1.1.2 Análisis de eficacia 51 - 53
3.2.1.1.2.1 Efecto sobre la evolución neurológica 51 - 52
3.2.1.1.2.2 Efecto sobre las variables secundarias de eficacia 52 - 53
3.2.1.1.3 Análisis de seguridad y tolerabilidad 54 - 55
3.2.1.1.3.1 Efectos sobre los indicadores de seguridad 54
3.2.1.1.3.2 Análisis de las EA 55
3.2.1.2 Efectos sobre la evolución neurológica y marcadores oxidativos en pacientes con ictus isquémico 55 - 60
3.2.1.2.1 Características basales, homogeneidad de los grupos y análisis de las bajas 55 - 56
3.2.1.2.2 Análisis de eficacia 56 - 59
3.2.1.2.2.1 Efecto sobre la evolución neurológica 56 - 58
3.2.1.2.2.2 Efecto sobre las variables secundarias de eficacia 58 - 59
3.2.1.2.3 Análisis de seguridad y tolerabilidad 59 - 60
3.2.1.2.3.1 Efectos sobre los indicadores de seguridad 59 - 60
3.2.1.2.3.2 Análisis de las EA 60
3.2.2 Estudio abierto 61 - 64
3.2.2.1 Efectos en pacientes con ictus isquémico y ataques de isquemia transitoria previos: 5 años de seguimiento. 61 - 64
3.2.2.1.1 Características basales de la población estudiada 61
3.2.2.1.2 Terapia concomitante 61
3.2.2.1.3 Análisis de la eficacia 62 - 63
3.2.2.1.4 Análisis de seguridad y tolerabilidad 63 - 64
CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN 65 - 88
4.1 Consideraciones generales 65 - 66
4.2 Estudios experimentales 66 - 76

4.3 Estudios clínicos 76 - 88
4.3.1 Estudios aleatorizados, a doble ciegas y controlados con AAS + placebo 77 - 85
4.3.1.1 Poblaciones de estudio 77 - 79
4.3.1.2 Análisis de la eficacia 79 – 85
4.3.2 Estudio Abierto 85 - 88
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 89 - 90
1. Conclusiones 89
2. Recomendaciones 90
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
ANEXOS

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cerebrovasculares constituyen un grupo de entidades que afectan el encéfalo como resultado de procesos patológicos de los vasos sanguíneos (lesión de la pared vascular, oclusión de la luz por trombos o émbolos, ruptura de vasos, cambios de permeabilidad de la pared vascular) y/o de la sangre. [1] La vascularización arterial encefálica presenta una serie de peculiaridades que la diferencian del resto del árbol vascular. En primer lugar, no existe pedículo vascular único como ocurre en otros tejidos, sino que cuatro grandes arterias aportan la sangre al parénquima cerebral, organizadas en dos sistemas, uno anterior o carotídeo y otro posterior o vertebrobasilar. [2] En segundo lugar, si bien la red capilar del encéfalo es morfológicamente continua, las arterias cerebrales se comportan funcionalmente como vasos terminales. [3]

Dentro de las enfermedades cerebrovasculares se encuentra el ictus, el cual se ubica entre las tres primeras causas de mortalidad, la primera de discapacidad resultante y la segunda de demencia en sujetos de edad media y avanzada. El término ictus, de origen latino, ilustra el carácter brusco del proceso, ya que implica un déficit neurológico súbito debido a un grupo de trastornos de la circulación cerebral, cuya forma predominante (75 - 85%) es el ictus isquémico, seguido del ictus hemorrágico (≅20%) y la hemorragia subaracnoidea (HSA) (5 - 8%). La posición relativa del ictus como causa de mortalidad y discapacidad se mantiene e incluso su tasa anual está aumentando de nuevo debido al aumento de la expectativa de vida de la población y de los pacientes que sobreviven un primer ictus. [4-9]

La probabilidad de recurrencia tras el primer y el quinto año de sufrir un primer evento es de un 12% y un 30%, respectivamente. Además, el ictus aumenta el riesgo de muerte cardiovascular, fundamentalmente a partir del tercer año. [4, 5, 8, 9]

Anualmente cerca de 15 millones de personas sufren un ictus, de las cuales cerca de 5,5 millones mueren, cerca de un 20% de los que sobreviven requieren cuidado institucional durante 3 meses, y entre el 15 y el 30% sufre discapacidad permanente. [4, 5] Por tanto, el ictus no solo afecta a quienes lo

padecen, sino a todo el entorno familiar; y representa un enorme coste para los sistemas de salud. [10] En nuestra institución es la causa más frecuente de hospitalización. [11]

Por lo expresado anteriormente, el ictus isquémico es uno de los mayores problemas de salud a nivel mundial actual y perspectivo ya que se estima que se mantendrá hasta el año 2020 entre las 3 primeras causas de muerte en países desarrollados y en vías de desarrollo, [4, 5] con tendencia similar en nuestro país.[12] Además, lamentablemente se aprecia un aumento de su incidencia en edades más tempranas de la vida. [13]

La lucha contra el ictus se centra en su prevención y su recuperación. [4-7, 13, 14] La prevención secundaria es la piedra angular para prevenir el ictus recurrente, mientras la recuperación del ictus, encaminada a minimizar las secuelas tras la aparición de los eventos, también es parte esencial de la prevención secundaria del ictus. [4-7, 13, 14] Por su parte, la prevención primaria se dirige a la población adulta mayor sin antecedentes de ictus o ataques transitorios de isquemia (ATI), pero con factores de riesgo. [6, 13-15]

El infarto cerebral es el conjunto de manifestaciones que aparece como consecuencia de la alteración cualitativa o cuantitativa del aporte circulatorio a una determinada región encefálica, lo cual determina un déficit neurológico focal, expresión de necrosis hística. El infarto puede ser isquémico (trombótico, embólico, lacunar, hemodinámico); el infarto trombótico se produce por la formación de un trombo o coágulo en una arteria cerebral que bloquea el flujo sanguíneo de su territorio de irrigación, mientras el infarto embólico resulta de la obstrucción de una arteria cerebral por un coágulo formado en cualquier sitio que se traslada por el torrente sanguíneo hasta el encéfalo, el infarto lacunar es de pequeño tamaño (< 15 mm) y ocurre en vasos perforantes, mientras que el infarto hemodinámico se produce por caída del flujo sanguíneo cerebral de causa fundamentalmente cardiovascular. [3, 16]

La ateroesclerosis, causa subyacente de las enfermedades cerebrovasculares, es un proceso inflamatorio caracterizado por cambios en la pared arterial, principalmente la íntima, que llevan a su engrosamiento, irregularidad y pérdida de elasticidad. El desarrollo de la aterosclerosis comienza por

la interacción entre la sangre y el endotelio, y abarca desde la disfunción y aumento de la permeabilidad endotelial, reclutamiento de monocitos, producción de agentes pro-inflamatorios, hasta la formación de células espumosas, posterior proliferación de células musculares lisas (CML) y formación de la placa estable. El debilitamiento de la capa protectora de CML y/o el engrosamiento del centro lipídico lleva al desarrollo de la placa vulnerable cuya erosión o ruptura propicia la trombosis arterial sobre la superficie endotelial. Tras el daño endotelial, las plaquetas se adhieren al subendotelio, se activan, estimulan la generación de trombina y se generan trombos que interrumpen parcial o totalmente el riego sanguíneo, provocan fenómenos trombóticos o pueden fracturarse y convertirse en fuente de embolismo arteria-arteria. [17, 18]

La fisiopatología de los procesos post-ictus incluye 3 etapas que esquematizan la cascada isquémica hacia la progresión del infarto. La fase aguda (minutos-horas post-inicio de los síntomas) involucra la reducción del flujo sanguíneo cerebral, aumento del calcio intracelular, liberación de glutamato, excitotoxicidad propagada y gradientes osmóticos que propician el edema citotóxico debido a la entrada de agua al espacio intracelular, aumento de la presión intracraneal y compresión vascular, generándose especies reactivas de oxígeno (EROS) que dañan lípidos, proteínas, ADN de estructuras celulares y conllevan a la muerte celular. [19] En la fase subaguda (horas-días) altas concentraciones de calcio afectan proteínas y polipéptidos, incluyendo la activación de proteasas, lo que propicia la ruptura de la barrera hematoencefálica y el edema vasogénico. La fase crónica (días - meses) involucra procesos que determinan el grado final de regeneración y extensión del daño. [20]

Tales antecedentes llevaron a la búsqueda de agentes neuroprotectores que atenuaran los eventos de la fase aguda, a reducir el daño en la *penumbra* y mejorar el pronóstico post-ictus. [21] Lamentablemente, pese a promisorios resultados experimentales, su extrapolación a la clínica no ha sido exitosa por varios aspectos metodológicos relacionados con los modelos experimentales utilizados, lo que incluso ha conllevado a establecer los criterios mínimos a cumplir por los modelos de isquemia cerebral. [22] Por ello, los avances en el tratamiento del ictus isquémico agudo se consideran relativamente limitados, por lo cual la estrategia de prevención encaminada a minimizar

la influencia de factores de riesgo modificables representan la mejor alternativa para reducir la morbilidad y mortalidad asociadas al ictus.

Haber sufrido un ictus o un ataque transitorio de isquemia previo, y padecer de enfermedad coronaria, fibrilación auricular y otras afecciones cardíacas, como la estenosis carotidea y la edad son factores de riesgo no modificables que aumentan el riesgo de ictus. [4, 5, 7, 23] En tal sentido, teniendo en cuenta que a partir de los 55 años de edad el riesgo de sufrir un ictus se duplica por cada década de vida, los ancianos pueden beneficiarse de controles rigurosos de sus factores de riesgo modificables. [23-25]

La hipertensión arterial (HTA), el hábito de fumar, las dislipidemias, la diabetes, la obesidad, y la inactividad física son factores de riesgo modificables que pueden ser reducidos con cambios en el estilo de vida y apropiadas terapias farmacológicas. [4, 5, 23-25]

Los antiagregantes plaquetarios (Aspirina -AAS-, AAS + dipiridamol de liberación prolongada, o clopidogrel para casos refractarios o intolerantes al AAS) representan el estándar de oro para prevenir el ictus isquémico. Los agentes antiagregantes plaquetarios disminuyen el riesgo de ictus al reducir las complicaciones trombóticas de la ateroesclerosis debido a la inhibición de la función plaquetaria. [24-29]

Otras alternativas terapéuticas incluyen el uso de estatinas y antihipertensivos (diuréticos, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y bloqueadores del receptor de angiotensina). [29, 30]

El papel de las dislipidemias como factores de riesgo del ictus isquémico ha sido controversial, pero las evidencias basadas en estudios realizados en pacientes con enfermedad coronaria han mostrado que el tratamiento con estatinas disminuye el riesgo a padecer eventos cardiovasculares (17%), ictus isquémico (21%) y la mortalidad total (12%). [31-34] El primer estudio en pacientes que habían sufrido un ictus isquémico (n=4,731) demostró que, al compararse con el grupo placebo, el tratamiento con altas dosis de atorvastatina (80 mg/día) durante 5 años redujo la incidencia de ictus isquémico y ATI, si bien aumentó los eventos hemorrágicos. [35]

La acción principal de las estatinas consiste en reducir las cifras séricas del colesterol transportado por las lipoproteínas de baja densidad (LDL-C) mediante la inhibición competitiva de la hidroximetil glutaril Coenzima A (HMGCoA) reductasa y el consecuente aumento del catabolismo de las LDL. No obstante, su impacto clínico no solo se debe a este efecto, sino a sus beneficiosos efectos pleiotrópicos (anti-inflamatorios, estabilizadores de la placa, antioxidantes, moderados efectos antiagregantes) sobre la función vascular. [36]

El policosanol, mezcla de alcoholes alifáticos primarios de alto peso molecular purificada de la cera de caña, produce efectos reductores del colesterol demostrados en estudios experimentales y clínicos. [37]

El policosanol inhibe la síntesis de colesterol mediante la regulación de la actividad de la HMGCoA reductasa [38-40] activando la AMP kinasa por un aumento en la producción de CaMKK fosforilada, [41-43] efecto que requiere la β-oxidación peroxisomal de los alcoholes en sus correspondientes ácidos. [44] Además, el policosanol aumenta el número de receptores y la velocidad catabólica de las LDL, [38, 39] lo que propicia el descenso de las cifras de LDL-C.

Por otra parte, el policosanol ejerce efectos pleiotrópicos que resultan beneficiosos sobre la función vascular: acción antiagregante plaquetaria, [45-47] acción antioxidante, [48-50] mejora la composición de la placa aterosclerótica [51] e inhibe la proliferación de las CML. [52, 53] En consecuencia, el policosanol previno el desarrollo de lesiones ateroscleróticas inducidas en roedores y conejos, [53-55] y de lesiones espontáneas en monos. [56]

En línea con estos hallazgos, estudios clínicos realizados en pacientes con claudicación intermitente han mostrado que el tratamiento con policosanol (10 y 20 mg/día) durante 10 - 24 semanas aumentó sus distancias de claudicación, mejoró el dolor, la frialdad y la parestesia de los miembros inferiores; y el índice de presión sistólica tobillo/brazo. [57-61]Además, estudios realizados en poblaciones con alto riesgo coronario mostraron que el policosanol redujo la frecuencia de eventos adversos (EA) severos, en su mayoría de etiología vascular, al compararse con los referidos en los grupos tratados con placebo. [62-65]

Un estudio realizado en 1470 ancianos demostró que el policosanol (5 - 10 mg/día) administrado durante 3 años redujo la frecuencia de EA severos (EAS), vasculares, coronarios, cerebrovasculares y la mortalidad total vs placebo. [66]

En particular debe destacarse que el tratamiento oral con policosanol redujo la sintomatología y la mortalidad en un modelo de isquemia cerebral inducida en *Mongolian gerbils.* [67] A su vez, un estudio clínico piloto, aleatorizado y a doble ciegas, mostró que el policosanol redujo la progresión de lesiones carotídeas vs placebo; [68] mientras un estudio abierto mostró que el tratamiento con policosanol (20 mg/día) durante 5 años, además de reducir el colesterol total (CT), mejoró la recuperación post-ictus en pacientes con ictus isquémico, de los cuales ninguno falleció y solo uno presentó ictus recurrente. [69]

Teniendo en cuenta que:

- El ictus isquémico se encuentra entre las tres principales causas de muerte, constituye la segunda causa de demencia y la primera de discapacidad en la población adulta.
- Los antiagregantes plaquetarios son agentes de elección para tratar el ictus isquémico con vistas a prevenir la recurrencia de eventos y mejorar la recuperación neurológica.
- Las estatinas reducen el riesgo recurrente de ictus isquémico debido al descenso de las cifras plasmáticas de LDL-C y a sus efectos pleiotrópicos favorables sobre la función vascular como su acción antinflamatoria, antioxidante, estabilizadora de la placa y moderadamente antiagregante.
- El policosanol reduce las cifras de LDL-C y produce efectos antiagregantes, antioxidantes y estabilizadores de la placa.
- El policosanol redujo la frecuencia y el riesgo a sufrir EAS vasculares en ancianos con alto riesgo coronario.
- El policosanol resultó efectivo en prevenir mortalidad y síntomas en modelos de isquemia cerebral
- El policosanol presenta un excelente perfil de seguridad y tolerabilidad.

- Dos estudios pilotos previos mostraron que el policosanol redujo la progresión de la aterosclerosis carotídea y mejoró la recuperación neurológica post-ictus isquémico

Se plantea el siguiente **Problema Científico:**

Los avances en el manejo del ictus isquémico, problema crucial de salud a nivel mundial, resultan limitados pese a todos los estudios realizados pues no se han logrado los resultados esperados. Por tanto, la búsqueda de alternativas para mejorar su tratamiento se encuentra plenamente justificada.

La hipótesis del presente trabajo es: El tratamiento con policosanol aporta beneficios en el manejo del ictus isquémico.

La aplicación y trascendencia de este trabajo se ubica en una línea de investigación priorizada ya que la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles que son causas fundamentales de morbilidad y mortalidad es primordial en nuestra política de salud. En tal sentido, la prevención y recuperación del ictus isquémico resulta esencial dado su impacto sobre la mortalidad, la discapacidad resultante y la demencia en pacientes de avanzada edad y por la carga socioeconómica que ello genera.

La originalidad científica del tema se sustenta en ser la primera tesis que demuestra la utilidad del uso del policosanol en el manejo del ictus isquémico; avalado por publicaciones en revistas de impacto.

La tesis comprende una ***Síntesis, Glosario, Índice*** e ***Introducción*** con los antecedentes del trabajo, hipótesis, aplicación, trascendencia, y originalidad.

El cuerpo de la tesis consta de 4 capítulos: la ***Revisión Bibliográfica***; análisis crítico y actualizado del ictus isquémico, sus factores de riesgo y las vertientes para su manejo; los ***Materiales y Métodos*** que resumen los utilizados en los estudios experimentales y clínicos; los ***Resultados*** que muestra las evidencias obtenidas en ambos tipos de estudios; y la ***Discusión*** que analiza e integra los resultados en función de la literatura, la hipótesis y los objetivos. Al final, se exponen las ***Conclusiones y Recomendaciones*** y las ***Referencias Bibliográficas*** utilizadas.

Los resultados de la tesis se han divulgado en 4 publicaciones en revistas internacionales de impacto y en 2 nacionales. Además, se han expuesto en eventos nacionales e internacionales (Conferencia Científica del CIMEQ, Congreso Internacional NEUROCUBA 2013).

De acuerdo al problema científico y la hipótesis a continuación se resumen los objetivos de esta tesis:

Objetivo general: Investigar los efectos del policosanol en el manejo del ictus isquémico.

Objetivos específicos

En modelos experimentales

1. Comparar los efectos neuroprotectores preventivos y terapéuticos del policosanol y de sustancias con probado efecto antioxidante e hipolipemiante en un modelo de isquemia cerebral global.

En estudios clínicos en pacientes que han sufrido un ictus isquémico.

2. Investigar si el tratamiento con AAS + policosanol produce una recuperación del déficit neurológico post-ictus isquémico mejor que la lograda con la terapia estándar con AAS.
3. Investigar si el tratamiento con AAS + policosanol produce beneficios sobre marcadores asociados al riesgo y patogénesis del ictus isquémico (perfil lipídico, agregación plaquetaria, variables oxidativas, cifras de endotelemia) que aventajen los efectos de la terapia estándar con AAS.
4. Investigar la seguridad y tolerabilidad del tratamiento con AAS + policosanol con respecto a la terapia estándar con AAS.

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 El problema clínico y su contexto

El ictus es un déficit neurológico súbito debido a isquemia o hemorragia del sistema nervioso central que comprende un grupo de trastornos de la circulación cerebral, en el cual el ictus isquémico es el más frecuente (75 - 85%), seguido del ictus hemorrágico (20%) y la HSA (5 - 8%). [4-9]

El ictus se encuentra entre las 3 primeras causas de mortalidad, la primera de discapacidad resultante y la segunda de demencia de la población adulta en países desarrollados. [4-9] Aunque en los últimos 20 años había ocurrido un descenso en la incidencia y mortalidad por ictus, su posición relativa como causa de mortalidad y discapacidad se mantiene e incluso su tasa anual está aumentando de nuevo por el incremento de la expectativa de vida de la población. [70] Cerca del 20% de los supervivientes de ictus requieren cuidado institucional durante 3 meses y entre el 15 y el 30% resultan discapacitados permanentemente. Además, la probabilidad de recurrencia en 5 años es del 30% y el ictus aumenta el riesgo de muerte cardiovascular, fundamentalmente a partir del tercer año. Por tanto, el ictus isquémico es uno de los mayores problemas de salud a nivel mundial, al igual que en nuestro país. [12]

La lucha contra el ictus se centra en su prevención [5, 7, 13, 14] y recuperación. [16] La prevención secundaria es la piedra angular para prevenir el ictus recurrente y sus secuelas, [5-7] mientras que la prevención primaria se dirige a la población geriátrica sin antecedentes de ictus o ATI, pero con factores de riesgo. [14, 16]

1.2 Ictus isquémico y ATI: Conceptos y etiología

El ictus isquémico es un déficit neurológico que persiste por más de 24 horas, originado por trastornos en la circulación cerebral debidos a oclusión vascular focal que produce una reducción definitiva o transitoria (con reperfusión ulterior) del aporte de oxígeno y glucosa a una o varias partes del cerebro, interrumpiendo la actividad metabólica y el funcionamiento del territorio afectado. [13, 16]

La afectación del aporte sanguíneo post-ictus define 2 zonas fundamentales: a) el centro con reducción del flujo (<12 mL/100g/min), fallo energético total o casi total y necrosis resultante, y b) la *penumbra*, área que rodea al centro, hipoperfundida en el período oclusivo, pero con un flujo

sanguíneo (≅30 mL/100g/min) aportado por las arterias que rodean dicha área y que sustenta su metabolismo, de modo que si se reperfunde rápidamente, el tejido puede salvarse de la necrosis. [13]

Por ello, la *penumbra* resulta un blanco de interés para reducir la discapacidad post-ictus. [13]

Según su evolución, los ictus pueden empeorar por aumento del trastorno neurológico focal y/o aparición de nuevos síntomas, mejorar, o mantenerse estables durante 24 y 72 horas (infartos de territorios carotídeo y vertebrobasilar, respectivamente). [13]

Las causas fundamentales de ictus son: a) lesiones aterotrombóticas de arterias extra- e intracraneales que provocan hipoperfusión crítica en el lugar de mayor estenosis, b) embolias arterio-arteriales que ocluyen vasos intracraneales, c) embolismos sistémicos de origen cardíaco (prótesis valvulares, fibrilación auricular, trombos intracavitarios, miocardiopatía dilatada, infarto de miocardio reciente) y d) otros (vasculitis, trombosis por coagulopatías). [14, 16]

Los ATI son episodios transitorios de disfunción encefálica focal de origen vascular cuyos signos y síntomas se instauran en 4-5 min (la mayoría no dura más de 20 minutos), suelen recuperarse en menos de 1 hora, y no dejan evidencias en estudios de imágenes. Los ATI son un relevante factor de riesgo de ictus, por lo cual su adecuado diagnóstico y manejo resulta crucial en la prevención del ictus. [15, 71]

1.3 Enfermedad aterotrombótica e ictus

Las enfermedades cerebrovasculares, coronarias y la enfermedad arterial periférica son consecuencias del desarrollo de la aterosclerosis, proceso inflamatorio crónico caracterizado por cambios de la íntima arterial que llevan a su engrosamiento, irregularidad y pérdida de elasticidad. [17, 18]

El desarrollo de la placa de ateroma, compuesta fundamentalmente de lípidos, células inflamatorias y tejido fibroso, abarca desde la disfunción endotelial hasta la formación de células espumosas, con posterior proliferación de CML y formación de la placa estable. El debilitamiento de la capa protectora de CML y/o el engrosamiento del centro lipídico propicia que la placa se haga vulnerable a la ruptura, lo que favorece la formación de trombos que interrumpen el riego sanguíneo y producen isquemia o necrosis que puede afectar a la vez, pero en diferente grado, las arterias que irrigan

corazón, cerebro y extremidades inferiores, cuyos cuadros clínicos son los síndromes coronarios agudos, ictus, ATI, demencia multi-infarto, claudicación y/o isquemia de miembros inferiores. [17,18,72]

1.4 Enfermedad inflamatoria e ictus

La inflamación es una respuesta defensiva del organismo a una lesión o infección, e involucra el reclutamiento de células y liberación de mediadores proinflamatorios al sitio de lesión o infección. En particular, la respuesta neuroinflamatoria post-ictus depende de la vulnerabilidad celular a la isquemia (neuronas seguidas por células gliales y endoteliales) y de la acción de mediadores pro- y anti-inflamatorios en zonas cerebrales específicas. [73-75] Las citoquinas de la familia IL-1, como la IL-1α y las isoformas de IL-1β, están fuertemente implicadas en las respuestas inflamatorias en el ictus isquémico. [73]

1.4.1 Progresión de la isquemia y neuroinflamación

Tres etapas (aguda, subaguda y crónica) esquematizan la cascada isquémica durante la progresión del infarto cerebral. En la fase aguda (minutos-horas post-inicio de síntomas) se produce reducción del flujo sanguíneo cerebral, aumento de calcio intracelular, liberación de glutamato, excitotoxicidad propagada, gradientes osmóticos que propician entrada de agua al espacio intracelular y edema vasogénico, aumento de presión intracraneal y compresión vascular, generación de EROS que dañan lípidos, proteínas, ADN, membranas y mitocondrias. En la fase subaguda (horas-días) las altas concentraciones de calcio activan proteasas que afectan diversas proteínas y funciones, y en la fase crónica (días - meses), la cual incluye la recuperación, se establece el grado final de regeneración y extensión del daño. [19, 20]

Tales antecedentes llevaron a la búsqueda de neuroprotectores que atenuaran los eventos de la fase aguda, redujesen el daño en la penumbra y mejorasen el pronóstico post-ictus. [21] Pese a promisorios resultados experimentales, la extrapolación clínica del uso de neuroprotectores no ha sido exitosa. [76]

1.5 Factores de riesgo del ictus isquémico

Los factores de riesgo de sufrir ictus pueden ser no modificables, modificables y potencialmente modificables y su coexistencia potencia el riesgo global de sufrir un ictus. [9]

1.5.1 Factores de riesgo no modificables

El principal factor de riesgo no modificable de sufrir un ictus es haber sufrido otro ictus o un ATI, dada la alta probabilidad de eventos recurrentes, sobre todo en los 30 días post-evento. [6, 23, 77]

El riesgo de ictus post-ATI es del 12% en el primer año, aumenta anualmente en un 6% y el riesgo acumulado a los 5 años es del 35%. Los pacientes que han sufrido un ictus tienen un riesgo anual de recurrencia en el mismo territorio del 5-20%, el cual se eleva al 50% a los 5 años. [6, 23, 77]

La edad avanzada es un factor de riesgo cuya incidencia a partir de los 55 años aumenta en más del doble por cada década. El ictus isquémico es más frecuente en hombres, excepto entre 35 y 45 años y en mayores de 85 años en que predomina ligeramente en las mujeres. [6, 23, 77] Por otra parte, la historia materna y paterna de ictus se ha asociado a riesgo aumentado de ictus que pudiera estar mediado por herencia genética, concurrencia familiar de estilos de vida y/o interacción de factores genéticos y ambientales. [6, 77]

1.5.2 Factores de riesgo modificables

La HTA es el principal factor de riesgo modificable de ictus (isquémico y hemorrágico), presente en aproximadamente el 70% de los pacientes. [6, 77] La terapia antihipertensiva (ß-bloqueadores, diuréticos, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina –IECA-, bloqueadores de receptores de angiotensina, antagonistas de calcio) a largo plazo reduce la incidencia de ictus (35 - 44%), incluso en la HTA sistólica aislada (presión sistólica >160 mm Hg, diastólica <90 mm Hg). [78,79]

El tabaquismo es otro importante factor de riesgo modificable de ambas formas de ictus. Los fumadores tienen un riesgo de sufrir ictus 3 veces mayor que los no fumadores, aunque los fumadores pasivos también tienen un riesgo aumentado. El tabaquismo contribuye al riesgo de ictus por aumento agudo de la agregación plaquetaria y por efectos crónicos sobre el desarrollo de la aterosclerosis. [6, 77, 80, 81]

La diabetes tipo 2, forma predominante de diabetes (90%), aumenta el riesgo de ictus tromboembólico, el cual resulta el doble que en no diabéticos y se debe a múltiples factores, como el aumento de procesos pro-inflamatorios y de factores trombogénicos. [82]

El papel de las dislipidemias como factor de riesgo de ictus, en particular de la hipercolesterolemia (HC), es controvertido. La ausencia de correlación entre cifras de CT e ictus en estudios de observación que incluían ictus isquémicos y hemorrágicos mantuvo esta incertidumbre,[83] reforzada por el meta-análisis de 45 estudios de cohorte.[84] Otros estudios reportan un aumento del riesgo total de ictus (25% por cada mmol/L de aumento del CT),[85-87] si bien un estudio europeo no encontró aumento significativo.[88]

Mejor establecida se encuentra la asociación directa entre ictus isquémico y bajas cifras del colesterol transportado por lipoproteínas de alta densidad (HDL-C),[86-90] compatible con el hecho de que las partículas de HDL ejercen efectos antiateromatósicos por aumentar el transporte reverso del colesterol y por sus efectos antiinflamatorios, antioxidantes y antitrombóticos.[91, 92]

del plasminógeno, [120, 121] el síndrome metabólico, [122] entre otros. A ello se suma el estrés oxidativo (EO), ya que las neuronas son muy vulnerables a la peroxidación lipídica (PL) por las altas concentraciones de ácidos grasos poli-insaturados que presentan, la gran cantidad de oxígeno que consumen y la baja concentración de glutatión reducido (GSH) que poseen. [123, 124]

El fracaso de varias estrategias antioxidantes en prevenir eventos vasculares, incluido el ictus, sin embargo, ha impedido posicionar al EO como factor de riesgo de ictus. [125]

Otro factor de riesgo potencialmente modificable de sufrir un ictus son las altas cifras de glutamil transpeptidasa (GGT). Este hecho se fundamenta en que esta enzima es la principal responsable del catabolismo del GSH (antioxidante endógeno que previene la oxidación de la LDL en la placa aterosclerótica), y a que el tejido neuronal presenta menor concentración de GSH que otros, por lo cual su catabolismo aumentado resulta perjudicial. [126]

1.6 Prevención del ictus

La prevención secundaria del ictus, componente principal de la estrategia de prevención de ictus, se basa en adoptar hábitos de vida saludables, controlar los factores de riesgo modificables e indicar el correspondiente tratamiento farmacológico. El objetivo principal se centra en prevenir el ictus recurrente, reducir su mortalidad y sus secuelas. [6, 77] No obstante, la prevención primaria del ictus es también importante, ya que >70% de los ictus que ocurren anualmente se presentan por primera vez. [13, 77] Dentro de esta estrategia, el control de la HTA, la diabetes, la HC y la obesidad, el cese del tabaquismo, la reducción del consumo de alcohol y la práctica de actividad física sistemática son aspectos claves. [24]

1.6.1 Antiagregantes plaquetarios en la prevención y manejo del ictus

La trombosis arterial se desarrolla sobre lesiones ateroscleróticas vulnerables, en condiciones asociadas a flujo sanguíneo alterado y daño vascular, por lo cual los antiagregantes plaquetarios son la terapia de opción para la prevención secundaria del ictus, fundamentalmente el de origen no cardioembólico, e incluso en la prevención primaria en pacientes de alto riesgo. [25, 26]

Las primeras evidencias convincentes del uso de antiagregantes plaquetarios para prevenir el riesgo de ictus surgen de un meta-análisis *(*29,000 pacientes con historia de ictus, ATI, o eventos coronarios incluidos en 25 ensayos) que mostró una reducción del RR (25%) de eventos vasculares (ictus, infarto de miocardio, muerte de causa vascular) independiente del medicamento y las dosis. [127]

Otro meta-análisis (135,000 tratados, 75,000 controles) demostró que la reducción del RR de sufrir un ictus recurrente, evento o muerte vascular en los tratados fue 23%, 25% y 17%, respectivamente, sin diferencia entre dosis altas (500 - 1500 mg/día) y moderadas (75 - 325 mg/día) de AAS. [128]

El AAS inhibe la función plaquetaria bloqueando irreversiblemente las isoformas COX-1 y COX-2, por lo cual inhibe tanto la formación de TXA2 (vasoconstrictor y proagregante), como la de PGI2 (vasodilatador y antiagregante). Sin embargo, mientras el TXA2 se forma fundamentalmente a partir de la COX-1 plaquetaria y es muy sensible a la inhibición por AAS, la PGI2 vascular se forma por la COX-1 y COX-2, poco sensible a bajas dosis de AAS. La acción del AAS sobre el TXA2 y la PGI2 es la base del dilema relacionado con la selección de la dosis adecuada de AAS, ya que sus efectos antiagregantes plaquetarios requieren dosis menores que sus efectos analgésicos y anti-inflamatorios. [129]

Los efectos antiagregantes del AAS se mantienen durante el tiempo de vida media de las plaquetas (8 - 10 días) ya que aproximadamente el 50% de las plaquetas funciona normalmente al transcurrir 5 y 6 días de ingerir una dosis única de AAS, por lo que un efecto antiagregante mantenido requiere su consumo diario. La dosis idónea en la prevención vascular debe ser la menor posible para reducir los EA gastrointestinales del AAS como náuseas, ardor, dolor estomacal y episodios de sangrado, aceptándose el tratamiento inmediato con 300 mg/día de AAS en los eventos isquémicos agudos cerebrales, cardíacos o periféricos y una dosis a largo plazo entre 75 y 150 mg/día. [130, 131] Es posible que algunos pacientes presenten la denominada *"resistencia* al *AAS* " concepto que identifica aquellos individuos que estando bajo terapia con AAS sufran un evento vascular, y que implica que cerca del 12,5% (1/8) de pacientes de alto riesgo tratados con AAS pueda desarrollar un evento aterotrombótico en 2 años. [132, 133]

En realidad, similar razonamiento podría aplicarse a aquellos pacientes que consumen ß-bloqueadores, diuréticos, IECA o estatinas, e incluso varios de ellos, y sufran tales eventos, concepto no establecido hasta el presente. Sin embargo, como las cifras de recurrencia de ictus son muy altas, es de interés delimitar los no respondedores al tratamiento estándar (AAS) (≅11%) para abordar otras opciones. Estos casos presentan un deterioro neurológico temprano y un mal pronóstico post-ictus. [133]

En resumen, el uso de AAS se mantiene como estándar de oro de la terapia antiagregante, por su eficacia, coste y por evidencias de más de 100 estudios aleatorizados que establecen su eficacia y seguridad en la prevención de eventos aterotrombóticos, aunque existan aspectos en debate como su dosis óptima en la profilaxis cerebrovascular; el umbral de su uso en la prevención primaria; la aparente resistencia sexo-dependiente y la denominada "*resistencia*" al AAS. [127, 131, 134]

Sin embargo, los beneficios del AAS mencionados, su nuevo uso en la prevención del cáncer colorectal y el renovado interés de su uso como analgésico/anti-inflamatorio en pacientes con osteoartritis aún auguran un futuro promisorio para este medicamento con más de 100 años en el mercado. [127, 131]

Las tienopiridinas (ticlopidina, clopidogrel, prasugrel) inhiben selectivamente la agregación al ADP, no inhiben la inducida por AA, y pueden inhibir la inducida por bajas dosis de trombina o colágeno al bloquear la amplificación de la respuesta plaquetaria a otros agonistas mediada por ADP. Estos medicamentos suelen provocar EA como aumento del tiempo de sangrado y aparición de diarreas. [135-137]

El alto costo del tratamiento con ticlopidina comparado con el de la terapia con AAS, unido a los diversos EA que produce (neutropenia, trombocitopenia, anemia aplástica, hipertrigliceridemia tardía y púrpura trombocitopénica) limitaron su uso clínico. [135]

En su lugar, el clopidogrel fue reemplazando a la ticlopidina. Una dosis única (50 mg) de clopidogrel produce una inhibición de la agregación plaquetaria de ≅12%, y dosis repetidas durante 4 - 7 días producen una inhibición similar a la que produce el AAS (50 - 70%). [135-137]

En realidad, el desarrollo e introducción del clopidogrel en el mercado fue inusual, ya que se realizaron pocos estudios de Fase II y solo uno Fase III (CAPRIE) [138] que demostraron su eficacia en

la prevención coronaria secundaria, pero con beneficios muy modestos (10%) con relación al AAS. Al considerar el costo del tratamiento con clopidogrel o AAS y la cantidad de datos que sustentan el uso de este último, se ha concluido que el clopidogrel no debe sustituir su uso en la prevención del ictus, sino reservarse para pacientes alérgicos, intolerantes o que muestren resistencia al AAS. [135-137] Sin embargo, actualmente se reporta una resistencia similar al clopidrogel, [139] por lo cual se han desarrollado nuevos antagonistas del receptor del ADP de acción más rápida y estable, de los cuales el más estudiado es el prasugrel. Sin embargo, su ventaja en reducir los eventos isquémicos se acompaña de un aumento de los eventos de sangrado que limita su beneficio clínico. [140]

El dipiridamol inhibe la fosfodiesterasa que convierte el AMP cíclico (AMPc) en 5-AMP y reduce la activación de segundos mensajeros, inhibe la función plaquetaria y estimula la síntesis de PGI2 e inhibe la formación de TXA2 lo que le confiere efectos antiagregantes y vasodilatadores. Su efecto es de corta duración y se requieren dosis repetidas o preparaciones de liberación sostenida para inhibir la agregación plaquetaria durante 24 horas. [137, 141]

El estudio ESPS-2 realizado en 6602 pacientes con ATI o ictus previos demostró que las terapias con dipiridamol (200 mg bid), AAS (25 mg bid) y AAS + dipiridamol redujeron el RR de ictus (16%, 18% y 37% vs placebo, respectivamente) y que la terapia combinada fue superior a las monoterapias. Las reducciones del RR de ictus no fatal + infarto de miocardio + muerte vascular fueron de un 24% (terapia combinada); 13% (AAS) y 15% (dipiridamol). [142]

Las vías implicadas en la agregación plaquetaria y el modo de acción de los medicamentos disponibles justifican que ninguno produzca su inhibición total, investigándose terapias combinadas que actúen por diferentes mecanismos. En tal sentido, aunque estudios experimentales demostraron efectos antiplaquetarios sinérgicos de la terapia combinada con AAS y clopidogrel, los estudios clínicos no demostraron que sus beneficios en la prevención del ictus recurrente sobrepasen sus riesgos. [143-145] El estudio MATCH no mostró ventajas significativas de la terapia AAS + clopidogrel vs la monoterapia con clopidogrel en reducir eventos vasculares en pacientes con ATI o ictus isquémico, pero reveló un aumento del riesgo de eventos hemorrágicos (1,3%). [143] Resultados

similares se obtuvieron en el estudio CHARISMA en el cual la terapia AAS + clopidogrel no mostró ventajas vs la terapia AAS + placebo sobre la incidencia de ictus. [144] Un meta-análisis demostró que la terapia AAS + clopidogrel (n=91,744) redujo el riesgo combinado de muerte, infarto de miocardio e ictus en un 15%, pero casi duplicó los episodios hemorrágicos con respecto a la monoterapia con AAS, [145] por lo cual no se recomienda en la prevención secundaria del ictus isquémico. [146]

El uso de la terapia AAS + dipiridamol de liberación sostenida en prevenir el ictus recurrente post-ATI o ictus isquémico no-cardioembólico se sustenta en evidencias. [147-150] El Estudio ESPRIT mostró que la terapia AAS + dipiridamol de liberación sostenida fue más efectiva que la monoterapia con AAS y que los anticoagulantes en prevenir los eventos cerebrovasculares post-ATI o ictus. [147]

Un meta-análisis que incluyó los datos de 7,612 pacientes (3,800 tratados con AAS + dipiridamol, 3,812 con AAS) encontró que la terapia combinada con AAS + dipiridamol fue más efectiva que la monoterapia con AAS en reducir los ictus recurrentes en pacientes con previos ATI o ictus isquémico; [148] y otros meta-análisis confirmaron estos resultados [149, 150] Además, la terapia AAS + dipiridamol de acción sostenida es más económica que la terapia con clopidogrel. [151]

Todos los tratamientos analizados (AAS, tienopiridinas, AAS + dipiridamol, AAS + tienopiridinas) fueron más efectivos que el placebo, pero la terapia AAS + dipiridamol ha resultado la más efectiva en la prevención de eventos vasculares post-ATI o ictus. [152-154]

1.6.2 Tratamiento anticoagulante en la prevención del ictus

Los pacientes con fibrilación auricular que han sufrido ATI o ictus previos muestran una elevada frecuencia de ictus, por lo cual de no existir criterios de contraindicación se sustenta indicarles warfarina, la cual reduce en un 60% el riesgo de ictus en pacientes con fibrilación auricular. En cambio, la mayoría de los casos menores de 75 años con fibrilación auricular sin antecedentes de ATI o ictus previos tratados con AAS tienen un riesgo relativamente bajo (1% - 2% anual) de sufrir un ictus, por lo cual no se beneficiarían de la terapia anticoagulante. En general, el umbral de riesgo absoluto para indicar anticoagulantes depende del riesgo de hemorragia y del monitoreo del nivel de anticoagulación. [155-157]

Por otra parte, el tratamiento anticoagulante inmediato post-ictus isquémico no produce beneficios y aumenta la incidencia de hemorragias cerebrales graves, por lo cual no se debe utilizar en la fase aguda del ictus isquémico, salvo que exista una fuente embolígena demostrada. [158]

1.6.3 Estatinas y prevención de ictus.

Estudios de los efectos de las estatinas en la prevención coronaria secundaria demostraron colateralmente su capacidad en reducir el RR de ictus isquémico. El estudio de las 4S demostró que la simvastatina (20 – 40 mg/día) administrada durante 5 años redujo el RR de ictus (30%) y de ictus + ATI (28%) vs placebo, [31] mientras que los estudios CARE, LIPID, HPS y GREACE revelaron que la terapia a largo plazo con pravastatina 40 mg/día o simvastatina 40 mg/día redujo el RR de ictus (31%) vs placebo. [32-34, 159] En cambio, los estudios de prevención coronaria primaria no mostraron reducción del RR de ictus. [31-34, 160-164]

Sin embargo, el SPARCL ha sido realmente el estudio crucial en demostrar los efectos de una estatina en la prevención del ictus, el cual fue realizado en pacientes que habían sufrido un ictus o un ATI en los 90 días previos a su inclusión en el ensayo. Este estudio demostró que la mayor dosis de atorvastatina (80 mg/día) redujo el RR de ictus isquémico vs placebo, pero aumentó el de ictus hemorrágico. [35]

Por su parte, el estudio CARDS demostró que una dosis baja de atorvastatina (10 mg/día) administrada durante aproximadamente 4 años (3,9) redujo los ictus no hemorrágicos (50%) y totales (48%) en diabéticos que no presentaban enfermedad macrovascular. [165]

Dos meta-análisis del efecto de las estatinas en la prevención del ictus mostraron una reducción del RR de sufrir ictus (≅16%) y eventos cerebrovasculares (ATI + ictus) no hemorrágicos (≅19%), no del ictus hemorrágico ni de la mortalidad por ictus. [166, 167] No obstante, se plantea que las dosis eficaces en reducir el RR de ictus, se asocian a aumentos del RR de miopatía y transaminasas elevadas. [168]

Un meta-análisis de los efectos de las estatinas en ancianos (n=51,351 casos) mostró una reducción de la mortalidad total (15%) y de todos los ictus (24%), [169] considerándose útil el consumo de AAS + estatinas para reducir el ictus recurrente en estos casos. [170, 171]

Sin embargo, la evidencia del uso de estatinas en la prevención coronaria primaria y en la prevención coronaria secundaria en mujeres y ancianos ha sido cuestionada, ya que algunos estudios no encuentran beneficios en estos grupos y otros mostraron aumento de la mortalidad total y por cáncer. [169]

El estudio ALLHAT-LLT mostró que la pravastatina no redujo la mortalidad cardiovascular ni la total en ancianos (≥65 años) y mujeres, [162] el PROSPER no mostró beneficios de la pravastatina en hombres y mujeres ≥ 70 años, sino un aumento del riesgo de cáncer de mama. [163]

Por su parte, el estudio SPARCL encontró que la atorvastatina aumentó el riesgo de ictus hemorrágico y la mortalidad por causas no cardiovasculares (incluyendo cáncer e infecciones). [35]

El mecanismo por el cual las estatinas reducen los eventos vasculares, en especial los cerebrovasculares, es multifactorial, ya que no solo depende de sus efectos sobre LDL-C, sino de sus efectos pleiotrópicos: anti-inflamatorios, antioxidantes y moderadamente antiagregantes, así como de su capacidad de producir vasorelajación coronaria, aumento del flujo coronario y mejora de la estabilidad de la placa. [172, 173]

Por otra parte, ha sido referido que las estatinas mejoran el pronóstico evolutivo del ictus, pero las evidencias aún son débiles. [174, 175] Un estudio en 1360 pacientes, de los cuales el 23% consumía estatinas, encontró que el pre-tratamiento con estatinas redujo el riesgo de mal pronóstico de ictus (puntaje ≥4 de la Escala Neurológica Rankin- ENR- al alta) en pacientes de raza blanca. [176]

1.7 Tratamiento trombolítico en el ictus agudo

Inicialmente se pensó que la terapia trombolítica en la fase aguda del ictus isquémico podría eliminar el trombo que ocluye la arteria cerebral responsable, reducir el daño cerebral y mejorar el pronóstico, pero en realidad produce graves cuadros hemorrágicos intracraneales que limitan su uso pese al número de ensayos clínicos que han evaluado su papel en la fase aguda del ictus.

A partir de los beneficios la terapia trombolítica evaluados a los 3 meses post-ictus, en 1996 se aprobó el uso del inhibidor de la activación tisular del plasminógeno (rt-PA) en los casos que cumpliesen determinados criterios. El estudio NINDS rt-PA demostró que, al compararse con el grupo placebo, la administración endovenosa (iv) del rt-PA (0,9 mg/kg) dentro de las 3 primeras

horas post-ictus mejoraba la recuperación neurológica (evaluada con la escala ENR) a los 90 días del alta (11 - 13%). [177] No obstante, a los 90 días la mortalidad fue similar en los grupos tratados con rt-PA (17%) o placebo (21%) y el rt-PA aumentó la frecuencia de hemorragia cerebral (6,4%), 50% de ellas fatales en las primeras 36 horas. [178]

Más adelante, estudios similares en los cuales el rt-PA se administró entre los 124 y 165 minutos post-ictus mostraron una eficacia similar (evaluada con puntaje ENR modificado – ENRm-) y una frecuencia de hemorragia intracerebral (4 - 5%) inferior a la del NINDS rt-PA, si bien incluyeron pacientes con ictus menos severos que en el NINDS rt-PA. [179-181] Además, el estudio ECASS-1, el cual investigó los efectos de inyectar rt-PA (1,1 mg/kg) o placebo en el territorio de la arteria cerebral media dentro de las 6 primeras horas post-i*ctus*, mostró resultados negativos, [182] e igual ocurrió con los del estudio ECASS-2 que utilizó similar diseño y menor dosis de rt-PA (0,9 mg/kg), pues la frecuencia de casos con ENR de 0-1 a los 90 días fue similar en el grupo tratado (40,3%) y en el placebo (36,6%). [183] Resultados similares se obtuvieron en el estudio ATLANTIS. [184]

Por otra parte, el estudio PROACT-II demostró que el grupo al cual se le aplicó prourokinasa recombinante en un trombo de la arteria media cerebral en las primeras 6 horas post-ictus tuvo una mayor frecuencia de casos (40%) que alcanzaron la recuperación neurológica a los 90 días (evaluada con la ENR) que el grupo placebo (25%). Sin embargo, el tratamiento no mejoró la mortalidad a los 90 días (25% en el grupo tratado, 27% en el placebo) y aumentó los eventos hemorrágicos (10,2% en el grupo tratado, 1,9% en el placebo). [185]

1.8 Modelos experimentales de isquemia cerebral

Los modelos de isquemia cerebral han sido relevantes en el estudio de la fisiopatología del ictus y el conocimiento de sus mecanismos celulares y moleculares. Además, han permitido analizar los efectos de diversos tratamientos en condiciones controladas. [186, 187]

Los modelos de isquemia cerebral incluyen modelos *in vivo* e *in vitro.* Los primeros intentan reproducir la patología humana al provocar el daño neuronal en un animal íntegro como ocurre en el humano. [186, 187]

Los modelos *in vitro,* en cambio, investigan los mecanismos celulares y moleculares implicados en el daño neuronal en condiciones en que los circuitos neuronales no se encuentran en su organización habitual. En ambos casos, la extrapolación a la clínica es un proceso riesgoso, ya que ningún modelo reproduce a plenitud los eventos implicados en el ictus, en especial los modelos *in vitro*, muy alejados de la compleja organización del SNC. [186-188]

A pesar de estas limitaciones y las diferencias entre especies, el parecido anatómico y fisiológico entre el cerebro humano y el de algunos vertebrados superiores ha permitido desarrollar diversos modelos *in vivo* de isquemia cerebral, fundamentalmente en roedores, dado su menor coste, mejor manejo y mayor aceptación ética. En sentido general, estos modelos se dividen en dos grupos: modelos de isquemia cerebral focal y global. [186, 187]

Los modelos de isquemia focal simulan un estado en el cual el flujo sanguíneo cerebral se reduce en una zona específica del cerebro y solo se afecta un hemisferio cerebral. Estos modelos se inducen por la oclusión permanente o transitoria de una arteria cerebral específica y reproducen los accidentes tromboembólicos intracraneales que causan la mayor parte de ictus isquémicos en humanos. [186, 187]

En realidad, la isquemia que suele acompañar al ictus isquémico que se produce tras la obstrucción de un vaso sanguíneo cerebral, no suele ser homogénea en todo el territorio vascular afectado, sino que presenta un área de lesión con una zona central muy hipoperfundida (núcleo isquémico o *core*) con daño metabólico severo, y áreas circundantes de *penumbra isquémica* en las cuales la isquemia es menos pronunciada como consecuencia de la presencia de perfusión colateral. En esta zona las células muestran alteraciones de carácter funcional, no estructural. [19]

Por su parte, los modelos de isquemia global reproducen las condiciones de un estado de daño cerebral extremo, como el causado por un paro cardíaco o un colapso vascular sistémico, en el cual el flujo sanguíneo cerebral se reduce en todo el parénquima encefálico y tal reducción afecta simultáneamente a ambos hemisferios cerebrales. No obstante, pese a que todas las áreas del cerebro se ven privadas de glucosa y oxígeno, solo algunas poblaciones de neuronas degeneran y mueren, en especial las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo por ser muy vulnerables. Esto

suele traducirse en modificaciones conductuales como la hiperlocomoción, la cual es un indicador predictivo del daño ocurrido en estas neuronas. Estos modelos se basan en la inducción de isquemia mediante la oclusión de grandes arterias que irrigan el encéfalo. La aplicación posterior de reperfusión remeda el inicio de mecanismos restauradores del daño ocasionado por la isquemia. [186,187]

La privación de oxígeno y glucosa al tejido cerebral que ocurre por la reducción del flujo sanguíneo cerebral activa un conjunto de eventos que a nivel celular desencadenan la isquemia al cual se le conoce como la cascada isquémica. Esta cascada incluye mecanismos fisiopatológicos mencionados en epígrafes anteriores: acumulación intracelular de iones calcio; sobreactivación de los receptores a los aminoácidos excitatorios, fundamentalmente al glutamato; el reclutamiento de células inflamatorias; el aumento de la producción de radicales libres y la activación de determinadas vías de señalización celular.

Los modelos experimentales *in vivo* de isquemia cerebral son imprescindibles para el estudio de los mecanismos subyacentes al daño cerebral isquémico. No obstante, su simplicidad impide reproducir de forma exacta la lesión cerebral observada en la práctica clínica, lo cual puede ser una causa de la discrepancia en las respuestas terapéuticas observadas en estudios experimentales y clínicos. En tal sentido, aunque muchos compuestos han mostrado resultados experimentales promisorios, el esfuerzo invertido en estas investigaciones no se ha visto acompañado de éxito en el manejo clínico del ictus isquémico, [76, 186-188] el cual sigue centrándose en el uso de los antiagregantes plaquetarios. [76,189,190]

La divergencia entre resultados experimentales y clínicos ha sido tal que ha llevado a proponer lineamientos para el desarrollo experimental de estos estudios y a insistir en que los modelos experimentales pasan a un segundo plano frente a los estudios clínicos, y que los resultados obtenidos en los modelos de isquemia cerebral deben aceptarse con cautela. [76, 189, 190]

1.9 Policosanol

1.9.1 Estudios experimentales

El policosanol, mezcla de 8 alcoholes alifáticos primarios de alto peso molecular purificada de la cera de caña, [37] inhibe la síntesis de colesterol mediante la regulación de la actividad de la HMGCoA

reductasa, enzima clave de la síntesis de colesterol [38-40] por activación de la AMP-kinasa a causa de un aumento en la producción de CaMKK fosforilada. [41-43] Ha sido demostrado que este efecto requiere la transformación metabólica de los alcoholes en sus correspondientes ácidos a través de la β-oxidación peroxisomal, dato consecuente con los estudios del metabolismo del octacosanol. [44] Además, el policosanol aumenta el número de receptores y la velocidad catabólica de las LDL, [38] lo cual sustenta su capacidad para reducir las cifras de LDL-C. [56]

El policosanol produce efectos pleiotrópicos, entre los que se destaca su acción antiagregante plaquetaria demostrada experimental y clínicamente, la cual se acompaña de una reducción de las cifras plasmáticas de TXA2 y una tendencia al aumento de PGI_2. [45-47, 191] Estudios recientes han demostrado que el policosanol inhibe la actividad de la COX-1, lo que podría constituir el fundamento de su acción antiagregante. [192] Además, estudios experimentales y clínicos han demostrado que el policosanol produce efectos antioxidantes, [48-50, 193, 194] y reduce las células endoteliales circulantes en plasma, [195] mientras estudios experimentales sustentan que previene el desarrollo de lesiones ateroscleróticas en roedores, conejos, y monos; [51-55] mejora la composición de la placa en lesiones ateroscleróticas espontáneas en monos [51] e inhibe la proliferación de las CML en conejos a los cuales se les indujeron lesiones carotídeas. [52, 195]

Por otra parte, especial interés reviste el hecho de que el tratamiento oral con policosanol haya protegido la sintomatología y mortalidad en el modelo de isquemia cerebral inducida en *Mongolian gerbils*, [67] dato que constituyó la primera evidencia del posible beneficio del policosanol en la enfermedad isquémica cerebrovascular.

En tal sentido merece señalar que el hexacosanol, uno de los 3 alcoholes más abundantes del policosanol, muestra efectos neuroprotectores, ya que promueve la supervivencia de las neuronas colinérgicas del *septum* tras axotomía experimental, y la degeneración y muerte de las neuronas hipocampales inducida por infusión intracerebroventricular de ácido kaínico en ratas. [196, 197]

Además, un estudio demostró los efectos protectores del propio octacosanol sobre el parkinsonismo inducido por 6-hidroxidopamina en ratas. [198] Estos datos indican que, además de sus beneficios sobre

la función vascular, el policosanol podría presentar efectos neuroprotectores que contribuyan a la recuperación neurológica post-ictus.

1.9.2 Estudios clínicos

1.9.2.1 Efectos hipolipemiantes

Estudios clínicos de corto plazo aleatorizados, a doble ciegas, controlados con placebo, comparativos y abiertos han demostrado los efectos hipolipemiantes del policosanol en diversas poblaciones como sujetos normocolesterolémicos, pacientes con HC tipo II o con diabetes tipo 2. En general, estos estudios sustentan que el policosanol (5 - 20 mg/día) reduce las cifras séricas de LDL-C y CT de modo dependiente de las dosis, alcanzándose el efecto máximo con 20 mg/día. Las reducciones promedio de LDL-C tras 8 – 12 semanas de tratamiento con policosanol se resumen como sigue: (13,4% y 17,7%) (5 mg/día), (20,2% - 23,2%) (10 mg/día) y (26,1 - 37,8%) (20 mg/día). El tratamiento generalmente ha producido aumentos de las cifras de HDL-C (9,0% - 28,9%), sin afectar las de TG. [199-207]

Los estudios comparativos mostraron que las reducciones de LDL-C logradas con 10 mg/día fueron similares a las obtenidas con lovastatina 20 mg/día, simvastatina 10 mg/día, pravastatina 10 mg/día, fluvastatina 20 mg/día, pero menores que con atorvastatina 10 mg/día; mientras que sus efectos sobre las cifras de HDL-C han sido generalmente mejores que los de las estatinas. El policosanol (10 mg/día) produjo mayores reducciones de LDL-C y CT que el bezafibrato y el gemfibrozil, y estos fueron más efectivos en reducir los TG. [208-221]

Estudios a largo plazo han mostrado la persistencia de la eficacia hipolipemiante del policosanol, la cual no solo se mantiene, sino que se acentúa a largo plazo. [222-226]

Un meta-análisis encontró que la reducción de LDL-C (23,7%) con policosanol (5 - 40 mg/día, 1528 pacientes) (29 estudios) fue mayor que con placebo (1406 pacientes; 0,11%) o con fitosteroles/estanoles (11,0%) (2 - 9 g/d) (23 estudios) (893 casos) y concluyó que los efectos del policosanol sobre LDL-C y el perfil lipídico eran superiores a los de fitosteroles y estanoles. [227]

1.9.2.2. Efectos antiagregantes

Estudios en voluntarios sanos, pacientes con HC Tipo II y con diabetes tipo 2 han demostrado los efectos antiagregantes del policosanol a dosis efectivas como hipolipemiante (10 y 20 mg/día). [228-232] Dosis únicas (10-50 mg) inhibieron significativa y modestamente (<20%) la agregación plaquetaria a la epinefrina y al ADP en voluntarios sanos, mientras 20 mg/día durante 7 días redujo la agregación por epinefrina (22,5%), ADP (21%) y colágeno (11,6%). Una dosis menor (10 mg/día) durante más tiempo (14 días) inhibió la agregación por AA (25,8%), epinefrina (17,8%), y colágeno (16,0%). [228] Dosis crecientes (10, 20 y 40 mg/día) en períodos sucesivos de 7 días redujeron la agregación por epinefrina y ADP (34,7% y un 27,8%, respectivamente) y modestamente la agregación al colágeno (13,6%) en voluntarios sanos, [229] mientras 20 y 40 mg/día por 30 días redujeron similarmente la agregación al AA (28,2% y 24,9%, respectivamente), colágeno (21,1% y 20,2%) y ADP (30,9% y 29,1%), de modo que 20 mg/día produjo el máximo efecto. [230]

El policosanol (20 mg/día) administrado por 7 días fue más efectivo en inhibir la agregación a la epinefrina (32,6%) y al ADP (37,3%) que el AAS (100 mg/día), el cual inhibió más la agregación al colágeno (61,4%), inhibió la agregación por epinefrina (21,9%) pero no al ADP. La terapia policosanol + AAS redujo marcadamente la agregación al colágeno (71,3%), epinefrina (57,5%) y ADP (31,0%). [231]

Los efectos del policosanol sobre la agregación plaquetaria en pacientes con HC Tipo II y diabéticos Tipo 2 [46, 232] han sido consistentes con los obtenidos en voluntarios sanos.

1.9.2.3. Efectos antioxidantes

El tratamiento con policosanol (5 y 10 mg/día) durante 8 semanas aumentó la latencia (fase *lag*) (13,0% y 57,0%, respectivamente) y redujo la velocidad máxima (11,4% y 37,7%) de oxidación de las LDL, y la generación de malondialdehido (MDA) en macrófagos (12,4% y 32,2%). [50]

Los efectos antioxidantes del policosanol (5 y 10 mg/día) administrado por corto plazo (8 - 12 semanas), demostrados en pacientes con HC tipo II y con diabetes tipo 2, han sido superiores a los de la fluvastatina (20 mg/día) 215 y la lovastatina (20 mg/día). [214, 215]

1.9.2.4. Efectos en sujetos de edad media

Un estudio de cohorte (6611 sujetos: 3002 controles, 3609 tratados) de 5 años de seguimiento mostró que la frecuencia total de hospitalizaciones y la frecuencia de internación en cuidados intensivos en los sujetos tratados con policosanol fue menor que en el control. [233]

1.9.2.5. Efectos en diversas poblaciones de riesgo

El policosanol (10 y 20 mg/día) administrado durante 10 - 24 semanas aumentó la distancia inicial (DIC) y absoluta (DAC) de claudicación en pacientes con claudicación intermitente. Los efectos fueron marcados (50%) con 20 mg/día, modestos-moderados (>10%, <50%) con 10 mg/día, y persistentes tras terapia a largo plazo. El policosanol mejoró los síntomas de miembros inferiores (dolor, frialdad, parestesia) y el índice de presión sistólica tobillo/brazo. [57-61] El policosanol (10 mg/día) y la lovastatina (20 mg/día) (20 semanas) redujeron las cifras de LDL-C, pero solo el policosanol mejoró la DIC, la DAC y el índice de presión tobillo/brazo, lo que sugiere que el descenso de LDL-C no determina la mejoría funcional. [59]

En ancianos con alto riesgo coronario el policosanol (5 y 10 mg/día) administrado por 24 semanas aumentó su capacidad de realizar actividades de complejidad creciente sin sentir fatiga, disnea, taquicardia, sudoración y/o dolor precordial. [233]

En pacientes con enfermedad coronaria el policosanol (10 mg/día) administrado durante 20 meses, además de producir efectos hipocolesterolemizantes, produjo mejoría de las áreas isquémicas. [234] Otro estudio mostró que el policosanol (20 mg/día) redujo la frecuencia de re-estenosis en obesos sometidos a revascularización coronaria. [235]

El policosanol ha reducido la frecuencia de EAS vasculares vs placebo en varios estudios en poblaciones con factores de riesgo. [57, 58, 236-243] Además, un estudio en 1470 ancianos demostró que el policosanol (5 – 10 mg/día) administrado 3 años redujo la frecuencia de EAS, vasculares, coronarios, cerebrovasculares y la mortalidad total vs placebo. [66]

1.9.2.6 Efectos en pacientes con enfermedad cerebrovascular

Un estudio piloto, aleatorizado y a doble ciegas, mostró que el tratamiento a largo plazo con AAS + policosanol redujo la progresión de lesiones carotídeas con respecto al tratamiento con AAS + placebo.[68] Por su parte, un estudio abierto mostró que el policosanol (20 mg/día) consumido por 5 años produjo una excelente recuperación post-ictus isquémico, evaluada con la Escala Neurológica Canadiense (ENC) y redujo las cifras de CT. Ningún sujeto falleció y solo uno presentó ictus recurrente. [69]

1.9.3 Seguridad y tolerabilidad

Los estudios de toxicología experimental han demostrado que el policosanol es muy seguro, no mostrando toxicidad asociada al tratamiento ni a dosis 1724 veces mayores que la máxima dosis terapéutica. El policosanol carece de genotoxicidad, toxicidad fetal o reproductiva, y de efectos cancerígenos a largo plazo. [241-251] Tales resultados concuerdan con los estudios clínicos que han revelado un excelente perfil de seguridad a corto y largo plazo del policosanol, incluso en poblaciones vulnerables a los EA de los medicamentos como ancianos y pacientes con disfunción hepática. El policosanol no ha producido afectaciones de la presión arterial, pulso, bioquímica sanguínea, hematología o electrolitos séricos imputables al tratamiento.

Un estudio de vigilancia farmacológica de 4 años en 27 879 pacientes corroboró la seguridad del policosanol, apreciándose una frecuencia acumulativa de EA de sólo un 0,3%. [252] Las EA más comunes (0,05%) reportadas en los estudios de vigilancia post-mercadeo han sido pérdida de peso (0,25%), poliuria (0,13%), polifagia (0,08%), dolor de cabeza (0,07%), mareos (0,06%), artralgia (0,05%) e insomnio (0,05%). Como se aprecia, ninguna clasifica como frecuente (1%). Otro estudio similar, pero en ancianos (2252) seguidos por 3 años confirmó la excelente tolerabilidad del tratamiento. [253]

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 ESTUDIOS EXPERIMENTALES

2.1.1 Animales

La manipulación de los animales se realizó de acuerdo a los principios éticos para el uso de los animales de laboratorio recomendados en los lineamientos internacionales y en la República de Cuba, en los Principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio no Clínico de Seguridad Sanitaria y Medioambiental (Regulación 39-2004, CECMED, La Habana, Cuba), y en lo establecido en el Manual de Calidad y en los Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT) del Centro de Productos Naturales (CPN) del Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC).

Los experimentos se realizaron en *Mongolian gerbils* (*Meriones unguiculatus*) (60-80g) machos provenientes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) (La Habana). Los animales se adaptaron durante 7 días a las condiciones de laboratorio (temperatura de 20 a 25ºC, humedad relativa de 60 ± 5%, ciclos de luz/oscuridad de 12 horas) con libre acceso al agua y la comida, y se identificaron en cajas individuales con chapillas rotuladas con el grupo, fecha y número del animal. La selección de esta especie se basó en que resulta susceptible de desarrollar isquemia cerebral global por isquemia reperfusión (I/R) de sus arterias carótidas, [254, 255] por lo cual suele utilizarse en la evaluación de sustancias con potencial efecto beneficioso sobre la isquemia cerebral.

2.1.2 Administración y dosificación

El policosanol utilizado en los experimentos fue suministrado por las Plantas de Productos Naturales (CNIC, La Habana), empleándose una vez que se corroboraron sus especificaciones de calidad.

En los experimentos se utilizaron grupos controles negativos, tratados con el vehículo, grupos tratados con sustancias de referencia como el AAS (QUIMEFA, Cuba), la atorvastatina (QUIMEFA, Cuba) o el extracto de semillas de uva (ESU) (New Directions, Australia), de acuerdo al objetivo de cada uno.

Los tratamientos (policosanol, AAS, atorvastatina, ESU) se administraron en forma de suspensiones en un vehículo goma acacia/agua (10mg/mL) preparadas tras corroborar su estabilidad en el vehículo.

Las dosis de policosanol se seleccionaron teniendo en cuenta estudios iniciales que mostraron que la dosis de 200 mg/kg era efectiva en el modelo de isquemia cerebral global en gerbils. [256] Las dosis de atorvastatina (10 y 20 mg/kg); [257] ESU (100 y 200 mg/kg); [258, 259] y AAS (60 mg/kg) [260, 261] se escogieron de acuerdo a las reportadas como efectivas en modelos de isquemia cerebral.

Ambos experimentos fueron comparativos y utilizaron dos abordajes de tratamiento: uno preventivo que comparó los efectos del policosanol y el ESU administrados 2 horas antes de inducir la I/R; y otro que comparó los efectos terapéuticos del policosanol y la atorvastatina administrados 4 horas tras inducir isquemia provocada por ligadura bilateral de carótidas y ulterior reperfusión (isquemia-reperfusión (I/R), tiempo al cual se hace evidente el daño sobre la función neurológica. [262]

En el estudio de los efectos preventivos los animales se distribuyeron aleatoriamente (10/grupo) en 6 grupos: un control negativo tratado con el vehículo y otros 5 a los cuales se les indujo I/R: 1 control positivo tratado con el vehículo, 2 con policosanol (100 y 200 mg/kg), y 2 con ESU (100 y 200 mg/kg).

En el estudio de los efectos terapéuticos los gerbils se distribuyeron al azar (10/grupo) en 7 grupos: 1 control negativo tratado con el vehículo y otros 6 grupos a los cuales se les indujo I/R: 1 control positivo tratado con el vehículo, 2 tratados con policosanol (100 y 200 mg/kg), 2 con atorvastatina (10 y 20 mg/kg), y 1 con AAS (60 mg/kg).

2.1.3. Inducción de isquemia experimental

Los gerbils se anestesiaron en atmósfera de éter y se les realizó una incisión en la línea media ventral del cuello, se expusieron las dos carótidas comunes y se separaron mediante la colocación de un hilo de seda negro a su alrededor.

Una vez transcurridos 30 min y recuperados los animales de la anestesia, se retiró el hilo y en cada carótida se colocó una presilla de presión que obstruyera totalmente el flujo sanguíneo durante 5 min, la cual se retiró posteriormente para permitir la recirculación sanguínea. [254-256]

2.1.4 Variables analizadas

2.1.4.1 Efectos sobre síntomas neurológicos

Los efectos preventivos del policosanol y el ESU sobre el aumento de actividad locomotora inducido por la I/R se evaluaron a las 24 horas post-isquemia de acuerdo a Katsumata y cols (2006). [263] Para ello, cada gerbil se colocó en el centro de una caja de 60,5 cm (largo) x 30 cm (altura) x 46 cm (ancho) con el fondo dividido en 12 cuadrantes de 14,5 cm^2 y se cuantificaron las veces que cruzaban los cuadrantes durante un intervalo de 6 minutos.

Los efectos terapéuticos del policosanol y la atorvastatina sobre la afectación de la función neurológica inducida por I/R se investigaron a las 4 horas de inducir el daño, para lo cual se utilizó el sistema de puntaje (0 - 5) siguiente: 0- ausencia de síntomas; 1- curvatura del torso o erizamiento del pelo; 2- ptosis; 3- movimientos circulares (*circling behavior*); 4- patas traseras extendidas; 5- convulsiones. [264] Los efectos terapéuticos del policosanol y la atorvastatina sobre la hiperlocomoción inducida por I/R se ensayaron a la 24 h de inducida la I/R del mismo modo descrito en el estudio preventivo.

2.1.4.2. Efectos sobre variables oxidativas plasmáticas

2.1.4.2.1 Obtención de las muestras

Culminadas las observaciones conductuales, los gerbils se anestesiaron en atmósfera de éter, se sacrificaron mediante exsanguinación y muestras de sangre de la vena cava se colectaron en tubos plásticos y se mezclaron con EDTA (10%). Inmediatamente después sus cerebros se extrajeron y se tomaron muestras para el análisis histológico.

La sangre se centrifugó a 3000 rpm por 10 min para la obtención del plasma, en el cual se cuantificaron marcadores selectos de la PL y de la oxidación proteica (OP).

2.1.4.2.2 Determinación de marcadores de peroxidación lipídica en plasma

Para la determinación de la PL se cuantificó la formación de sustancias reactivas al ácido tiobárbitúrico (SRATB) en plasma. [265] Para ello, se mezclaron 1 mL de plasma + 0,2 mL de dodecil sulfato de sodio (8,1%) (SDS) + 1,5 mL de ácido acético 20% (pH 3,5) + 1,5 mL de ácido

tiobarbitúrico + 50 μL de hidroxitolueno butilado (1 mmol/L). Esta mezcla se calentó a 45 ºC por 45 minutos, se dejó enfriar, se añadieron 1 mL de H_2O destilada, 5 mL de una mezcla n-butanol:piridina (15:1 v/v) y se centrifugó.

La absorbancia de la capa orgánica se midió a 535 nm. La concentración de SRATB se expresó como nmol MDA/mg de proteína. La concentración de proteína se determinó por el método de Lowry modificado. [266]

2.1.4.2.3 Determinación de marcadores de oxidación proteica en plasma

Los grupos sulfidrilos (GSF) se determinaron con la técnica de Miao-Lin Hu modificada, [267] para lo cual a 50 μL de plasma se le añadieron 950 μL de DTNB 10 mmol/L.

Esta mezcla se incubó durante 20 min a temperatura ambiente, se centrifugó y la absorbancia del sobrenadante se leyó a 412 nm. El blanco se preparó con DTNB (ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoico). El total de GSF se calculó usando una absortividad de 13,600 $cm^{-1}mol/L^{-1}$ y se expresó en mmol/L.

2.1.4.2.4 Estudio histológico del tejido cerebral

Los cerebros se extrajeron y fijaron en formaldehído tamponado al 10%, se deshidrataron, se incluyeron en parafina y las secciones que contenían el hipocampo se colorearon con hematoxilina y eosina. Las muestras se evaluaron con un sistema de puntaje (0 - 4) que determina el daño de las células piramidales del área CA1 del hipocampo medido por microscopía de luz. [268] La clasificación del puntaje se define como sigue: 0: células coloreadas normales, densamente pobladas, con soma redondeado y un núcleo central bien coloreado; 1: algún encogimiento e irregularidad en la forma celular, con una región pálida cromatolítica rodeada por un anillo periférico de citoplasma; 2: alguna pérdida celular aparente con áreas de células picnóticas; 3: moderada pérdida celular y picnosis; 4: células con pérdida de la sustancia de Nissl (lo que indica marcada pérdida neuronal) y con solo alguna neurona ocasional entre numerosas microglías.

2.1.5 Manejo de datos y análisis estadístico

Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante las pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis (comparaciones entre todos los grupos) y la U de Mann Whitney (comparaciones pares entre grupos). La comparación de variables categóricas (frecuencia de síntomas) se realizó con la prueba de la Probabilidad Exacta de Fisher.

A priori se estableció un nivel de α=0,05 para la significación estadística. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete comercial Statistic para Windows (Versión 4.2, Stat Soft, Inc USA).

2.2 ESTUDIOS CLÍNICOS

2.2.1 Aspectos generales

2.2.1.1. Ética Médica

La conducción de los estudios se realizó de acuerdo a los principios reflejados en la Declaración de Helsinki. [269] Para ello, su diseño y ejecución ha minimizado el riesgo de los pacientes de estudio y ha implicado su aceptación voluntaria y libre.

A todos los pacientes reclutados en los estudios se les requirió su consentimiento escrito, tras informarles los objetivos de los ensayos, el tratamiento a que serían sometidos y que en cualquier momento podían abandonar el ensayo sin perjuicio de su persona y atención.

Los protocolos de estudios fueron aprobados, según el caso, por el Comité de Ética e Investigación Clínica (CEIC) del Instituto de Neurología y Neurocirugía (INN) o del Centro de Investigaciones Médico-Quirúrgicas (CIMEQ).

Los datos de los pacientes se registraron en las planillas de recogida de datos (PRD) y su confidencialidad fue respetada a lo largo del estudio.

2.2.1.2 Control de la calidad de la conducción de los estudios

Todos los estudios clínicos se monitorizaron para controlar la calidad de su conducción

2.2.2 Estudios controlados con placebo

2.2.2.1 Diseño de los estudios

Se realizaron dos estudios con el mismo diseño, aleatorizados, a doble ciegas, con grupos paralelos que consumieron AAS + policosanol o AAS + placebo ya que el control con placebo es el estándar de oro para minimizar sesgos, y el AAS es el tratamiento estándar del ictus isquémico.

Los estudios se realizaron en pacientes ambulatorios que habían sufrido ictus isquémico en un plazo no mayor que 3 meses antes de iniciar el estudio.

A todos los pacientes se les recomendó seguir un estilo de vida sano, con control de la presión arterial, cese del tabaquismo, dieta baja en grasas y calorías, actividad física sistemática y moderada (caminar) y reducir al mínimo o eliminar el consumo de alcohol.

Los estudios incluyeron 6 consultas: reclutamiento (# 1), inclusión (# 2), tres consultas intermedias (# 3-5) al culminar 1,5, 3 y 4,5 meses de tratamiento, respectivamente, y una final (# 6) al concluir los 6 meses de terapia.

En la consulta 1 se reclutaron los pacientes, se les realizó examen físico y examen neurológico basado en la Escala Neurológica de Rankin modificada (ENRm) (Anexo 1).[270] A los casos con valores de ENRm ≥2 y ≤4 (2 - 4) se les indicaron análisis a realizar en los 15 días siguientes.

Los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión y no presentaban criterios de exclusión se incluyeron en el estudio (consulta 2) y se les entregaron, en condiciones aleatorias y a doble ciegas, tabletas de policosanol 10 mg o placebo. Los pacientes debían ingerir dos tabletas (placebo o policosanol) una vez al día junto con ¼ de tableta (125 mg) de AAS en el horario del desayuno.

La evaluación neurológica y el examen físico fueron realizados en cada consulta por el mismo especialista, la adhesión al tratamiento y las EA se controlaron en las consultas 3, 4, 5 y 6, mientras que los exámenes de laboratorio se realizaron al incluir y cada 3 meses (consultas # 2, 4 y 6).

2.2.2.2 Criterios de selección (inclusión y exclusión)

Se reclutaron pacientes de ambos sexos, ≥20 años, que hubieran sufrido un ictus isquémico en los 3 meses previos al inicio del estudio.

Se incluyeron pacientes que cumpliesen los criterios de reclutamiento, cuyo déficit neurológico correspondiese a valores de la ENRm ≥2 y ≤4 y que no presentaran criterios de exclusión.

Del presente estudio se excluyeron pacientes con neoplasias diagnosticadas, fibrilación auricular, presión diastólica ≥ 110 mm Hg, historia de ictus hemorrágico o HSA, enfermedad de las válvulas cardíacas, antecedentes de infarto de miocardio, angina inestable o revascularización en los 6 meses previos, consumo previo de policosanol.

2.2.2.3 Criterios de baja o retirada del estudio

Los criterios definidos de bajas fueron: no deseos de continuar por parte del sujeto, eventos adversos (clínicos o documentados por análisis) que así lo requiriesen, violaciones mayores del protocolo como falta de adhesión a la ingestión del tratamiento >14 días, falta de asistencia a las consultas, consumo de medicaciones hipolipemiantes, antiagregantes y/o antioxidantes diferentes a las de estudio.

2.2.2.4 Tratamientos

En ambos ensayos, los dos grupos a comparar consumieron 125 mg de AAS (1/4 de tableta de 500 mg) ya que esta es la terapia convencional para prevenir la recurrencia del ictus y se pretendía comprobar si administrar también policosanol mejoraba los resultados de la terapia convencional. De este modo, los pacientes fueron tratados con AAS + policosanol 20 mg/día o con AAS + placebo durante 6 meses.

Se evaluó el efecto de la dosis de 20 mg/día de policosanol teniendo en cuenta que es la máxima recomendada (5 - 20 mg/día) y la más efectiva como hipocolesterolemizante y antiagregante. Los tratamientos se consumieron con el desayuno por ser el horario en el cual la agregación plaquetaria se encuentra aumentada. [271]

La aleatorización de los tratamientos se efectuó en bloque, según tabla de números aleatorios progresivos y relación 1/1 generada a través de un vector. Los envases se entregaron a los pacientes en la consulta 2 de acuerdo a un orden progresivo creciente de inclusión, sin ocurrir "saltos" en la entrega de los números.

La adhesión al tratamiento se evaluó mediante el conteo de tabletas remanentes en las consultas de seguimiento y el interrogatorio a los pacientes, y se consideró satisfactoria si los pacientes consumían ≥85% de las tabletas programadas para cada período.

No se permitió el consumo de medicamentos y/o suplementos con acción hipolipemiante, antioxidante y/o antiagregante diferentes a las medicaciones del estudio.

2.2.2.5 Evaluación de respuestas

Las variables primarias y secundarias fueron pre-determinadas en cada estudio (**Tabla 1**). En todos los casos la variable primaria fue la mejoría significativa del déficit neurológico con respecto al grupo que consumía AAS + placebo.

2.2.2.6 Evaluación de la seguridad y la tolerabilidad

Se evaluó la posible influencia del tratamiento sobre indicadores de seguridad físicos (peso, pulso y presión arterial) y de laboratorio (glucosa, creatinina, alanin-amino transferasa (ALT), aspartato-amino transferasa (AST), GGT y el reporte de EA.

Como EA se definió cualquier experiencia no deseable o exacerbación de cualquier condición patológica habitual que refiriera un sujeto durante su participación en el ensayo, se considerara relacionada o no con la medicación de estudio.

El tratamiento de las EA dependió de su intensidad y duración. Las EA que persistiesen menos de 5 días, pero que su intensidad perturbase el estado del sujeto fueron definidas como causa de suspensión de tratamiento, y de modo igual se consideraron aquellas que persistiesen por 5 días consecutivos.

Según su intensidad, las EA se clasificaron como leves, moderadas y severas. Las EA leves eran las que no requiriesen tratamiento de la EA o suspensión de la medicación de estudio; moderadas las que requiriesen tratamiento de la EA y/o suspensión de la medicación de estudio; y severas (EAS) las que pusieran en peligro la vida del sujeto y llevaran a su hospitalización y/o muerte.

Las EA se clasificaron como *definitivamente, probablemente, posiblemente* o *no relacionadas* de acuerdo a su relación con el tratamiento. *Definitivamente relacionadas* eran las que aparecieran con

el tratamiento, se relacionasen directamente con el efecto farmacológico, desaparecieran al retirar el tratamiento y reaparecieran al re-administrarlo, lo que no ocurrió en ningún caso.

Las EA *probablemente relacionadas* eran las que aparecieran con el tratamiento y también se relacionaran directamente con el efecto farmacológico, pero que podían o no desaparecer al retirarse el tratamiento; las *posiblemente relacionadas* eran las que aparecieran con el tratamiento, mostraran relación lejana con el efecto farmacológico y no desparecieran al retirar el tratamiento; y las *no relacionadas* las que aparecieran durante el tratamiento, no guardasen relación con el efecto farmacológico y existieran causas externas precisas que las originasen. Posteriormente, la causalidad se confirmó con el algoritmo de Naranjo. [272]

2.2.2.7 Mediciones de las variables

2.2.2.7.1 Variable primaria de eficacia

La **Tabla 1** muestra las variables de eficacia empleadas en todos los estudios.

La variable primaria de eficacia en ambos estudios fue que el tratamiento produjese una reducción significativa del puntaje de déficit neurológico evaluado con la ENRm con respecto a la condición basal y la del grupo tratado con AAS + placebo.

La escala ENR ha sido empleada para evaluar la variable primaria en diversos estudios de intervención farmacológica en la recuperación del déficit neurológico post-ictus. [273-275]

2.2.2.7.2 Variables secundarias de eficacia

Las variables secundarias fueron las reducciones de las cifras de LDL-C (ambos estudios), de agregación plaquetaria y cifras de endotelemia (1 estudio) y las variaciones de las variables oxidativas (1 estudio) con relación a la condición basal y al grupo AAS + placebo.

2.2.2.7.3 Análisis de laboratorio

Los análisis se realizaron en muestras de sangre venosa tomadas tras un ayuno de 12 horas.

2.2.2.7.3.1 Determinación de la agregación plaquetaria

Las muestras de sangre se centrifugaron inmediatamente a 1000 rpm x 10 min para obtener el plasma rico en plaquetas (PRP). El plasma pobre en plaquetas (PPP) se obtuvo por centrifugación del plasma

durante 10 min a 2500 rpm. La agregación plaquetaria se cuantificó con el método turbidimétrico. [276] Para ello, muestras de PRP (350 μL) se incubaron con agitación (1000 rpm) durante 2 minutos a 37^{o}C. El equipo se calibró antes del ensayo al 0% de transmitancia con el PRP y al 100% con el PPP. Como agonistas se utilizaron AA 3 mmol/L, colágeno 2 μg/mL y ADP 2 mmol/L. La reacción de agregación continuó hasta 5 min tras añadir los agonistas. Las determinaciones se realizaron en un agregómetro Biodata Corporation (US).

2.2.2.7.3.2 Determinación de las cifras de endotelemia

Las células endoteliales circulantes en plasma se determinaron según Hladovec y Rossman (1973). [277] Para ello, se tomó 1 mL de PRP, se le añadieron 0,2 mL de ADP (1 mg/mL), se agitó durante 10 min y se centrifugó (395 g x 20 min) para eliminar los agregados de plaquetas. El sobrenadante se centrifugó a 2100 g durante 20 min y el sedimento se suspendió en 1 mL de NaCl 0,9%. Las células se contaron en una cámara de Fuchs Rosenthal. Los resultados se expresaron como promedio de 4 conteos.

2.2.2.7.3.3 Determinación de variables oxidativas

Las muestras de sangre se dividieron en dos porciones: 1 mL se depositó en tubos plásticos a los cuales se añadió una solución acuosa de EDTA al 10% hasta alcanzar una concentración de 0,1% y otro mL se colectó en tubos Eppendorf heparinizados (5 μL, heparina sódica 5000 UI/mL). Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 min y el plasma se almacenó a –70ºC hasta su uso.

Las variables oxidativas en plasma se determinaron con los métodos descritos en la sección de estudios experimentales. Además de dichas variables, en estos estudios se determinó la capacidad antioxidante total del plasma (CAOTP) con el juego de reactivos de la firma Randox (NX2332) (United Kingdom). La captación de los radicales fue medida a través de la disminución del color que se produce al generarse el catión ABTS+ en el medio, producto de la reacción de la peroxidasa (metamioglobina) y el H_2O_2.

La intensidad de color generado se midió a 600 nm en espectrofotometría visible. Los valores de CAOP se reportaron en términos de concentración (mmol/L).

2.2.2.7.3.4 Perfil lipídico y bioquímica sanguínea

Las cifras séricas de perfil lipídico (CT, HDL-C, TG) y el resto de las variables de laboratorio (AST, ALT, GGT, glucosa y creatinina) se determinaron por métodos enzimáticos convencionales, utilizando juegos de reactivos. Las cifras de LDL-C se calcularon con la Ecuación de Friedewald. [278]

Las determinaciones se realizaron en el equipo Hitachi 719 del laboratorio clínico del CIMEQ. Durante el ensayo se realizó un control de calidad para controlar la exactitud y precisión de los resultados.

2.2.2.8 Análisis estadístico

En el análisis de eficacia y seguridad los datos de todos los pacientes incluidos fueron analizados según el principio de Intención de Tratar.

Las variables continuas se compararon con la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas (comparaciones intra-grupos) y con la U de Mann Whitney (comparaciones entre grupos). Los indicadores de seguridad se analizaron mediante análisis de varianza. Las variables categóricas se compararon con la prueba de la Probabilidad Exacta de Fisher. Los métodos utilizados fueron de dos colas. *A priori* se estableció un α=0,05 para la significación estadística.

2.2.3 Estudio abierto

2.2.3.1 Diseño del estudio

Se llevó a cabo un estudio observacional en pacientes internados en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del INN que presentasen ictus isquémico diagnosticado mediante evaluación clínica y confirmado por Tomografía Computarizada dentro de las 48 horas posteriores al inicio del ictus y con historia previa de haber sufrido ATI.

En la inclusión se registraron los factores de riesgo reportados por los propios pacientes o por sus familiares, como su historia previa de ictus o ATI, evidencias de aterosclerosis cerebral o carotídea, infarto de miocardio, angina, insuficiencia cardíaca congestiva, aterosclerosis coronaria), fibrilación

auricular, claudicación intermitente, isquemia severa de las extremidades, trombosis periférica, cirugía vascular, HTA, diabetes, HC y tabaquismo.

Los pacientes asistieron a consultas a los 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 y 60 meses tras el alta hospitalaria. Antes de cada consulta se efectuaron análisis de laboratorio y en cada una se realizaron exámenes clínicos y evaluaciones neurológicas basadas en la Escala Neurológica Canadiense (ENC) (Anexo 2). Todas las EA, hospitalizaciones y sus causas fueron cuidadosamente registradas.

2.2.3.2 Criterios de selección (inclusión y exclusión)

Se reclutaron pacientes de ambos sexos que habían sido ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos del INN con diagnóstico clínico de ictus isquémico y que tuviesen antecedentes de ATI.

Constituyeron criterios de inclusión el diagnóstico clínico de ictus isquémico y su confirmación mediante la tomografía computarizada, mientras que los criterios de exclusión fueron edad inferior a 18 años o ictus hemorrágico.

2.2.3.3 Criterios de baja o retirada del estudio

El estudio definió como causa de baja el experimentar EA que justificasen tal decisión, no tener deseos de continuar o pérdida de seguimiento por cualquier causa. No obstante, sufrir un EAS relacionado con su condición vascular no supuso baja del estudio si el médico lo consideraba adecuado.

2.2.3.4 Tratamientos

En este estudio todos los pacientes consumieron AAS (125 mg/día) + policosanol (20 mg/día) en el horario del desayuno. La adhesión al tratamiento fue evaluada mediante encuesta a los pacientes.

Se prohibió el uso de cualquier otro medicamento hipolipemiante. Cualquier cambio en las medicaciones concomitantes ocurrido durante el estudio fue registrado en las planillas de recolección de datos.

2.2.3.5 Evaluación de respuestas

La variable primaria de eficacia se determinó como el aumento significativo del puntaje de la ENC al final del tratamiento con respecto a la condición basal (**Tabla 1**).

La recurrencia de eventos cerebrovasculares fue una variable secundaria. La evolución se consideró buena si la recurrencia de ictus era ≤10%. [279]

La reducción significativa del CT ≥15% fue una variable colateral de eficacia.

2.2.3.6 Evaluación de la seguridad y la tolerabilidad

Este análisis tuvo en cuenta la posible influencia del tratamiento sobre indicadores de seguridad físicos (peso, pulso y presión arterial), sanguíneos (glucosa) y el reporte de EA.

El análisis de EA se realizó de la misma forma que en los estudios controlados.

2.2.3.7 Mediciones de las variables

Para la evaluación neurológica se utilizó la ENC, validada para el ictus y utilizada en varios estudios. [280-282]

Se registró la aparición de cualquier nuevo evento cerebrovascular (ictus fatal o no fatal, ATI) o cualquier otro evento vascular (infarto de miocardio, angina inestable, muerte súbita, trombosis periférica). Cuando se presentó un nuevo evento, se calculó el tiempo que transcurrió entre este y el evento que motivó el ingreso.

Para los análisis de laboratorio se obtuvieron muestras de sangre venosa en ayunas de 12 horas. Las variables de laboratorio (CT y glucosa) se determinaron por métodos enzimáticos convencionales, utilizando juegos de reactivos, en el equipo automatizado Hitachi 719 del laboratorio clínico del CIMEQ.

2.2.3.8 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron según el método de Intención de Tratar.

Los cambios de las variables continuas se compararon con la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas con ajuste de Bonferroni para comparaciones múltiples en un solo experimento. [283] Las correlaciones entre la ENC y el CT sérico se evaluaron con un análisis de regresión lineal.

Las pruebas estadísticas utilizadas fueron de dos colas y la significación se estableció con un valor α=0,05. Los análisis estadísticos se realizaron con los paquetes estadísticos Statistics for Windows (Release 4.2; Copyright StatSoft, Inc. US).

2.2.3.9 Determinación del tamaño de las muestras

El estudio que investigó los efectos sobre la recuperación del ictus isquémico y la agregación plaquetaria estimó detectar una diferencia ≥30% en la frecuencia de casos que alcanzaba una recuperación favorable (puntaje ERm ≤2) entre ambos grupos con un valor β=0,80; y α=0,05. Para ello, el estudio debía incluir 90 pacientes. De acuerdo a una tasa estimada de abandonos de un 10%, debían reclutarse 99 casos.

En el segundo estudio se pretendió detectar una diferencia ≥40% en la frecuencia de casos con recuperación favorable (puntaje ERm ≤2) entre ambos grupos, con un un valor β=0,80 y un α=0,05. Para ello el estudio debía incluir 60 pacientes, por lo cual de acuerdo a una tasa estimada de abandonos de un 10%, debían reclutarse 66 pacientes.

En el estudio abierto se utilizó una muestra representativa de la población de consulta de acuerdo a los antecedentes y objetivos del estudio, los resultados previos de eficacia y tolerabilidad, y la intención de dar seguimiento a un mayor tiempo del tratamiento.

2.2.4 Manejo y procesamiento de datos

En todos los estudios se realizó doble introducción y procesamiento de datos en máquinas independientes, por personal ajeno al manejo de los pacientes y se verificó su correspondencia con los datos originales, los cuales se conservan según lo establecido.

Tabla 1. Variables de eficacia analizadas en los estudios clínicos realizados

Estudio	Variable Primaria	Variables Secundarias
Efectos del policosanol sobre la evolución neurológica, agregación plaquetaria y endotelemia en pacientes con ictus isquémico	Reducción significativa de la ENRm con respecto al inicio y significativamente diferente al cambio del grupo AAS + placebo ≥ 20 %	**Agregación plaquetaria:** Reducción significativa de la agregación plaquetaria al AA ≥ 15 % vs los valores del grupo AAS + placebo y los basales. **Endotelemia:** Reducción significativa de las cifras de endotelemia vs los valores del grupo AAS + placebo y los basales **Perfil lipídico:** Reducción significativa de LDL-C vs los valores del grupo AAS + placebo y los basales.
Efectos del policosanol sobre la evolución neurológica y marcadores oxidativos en pacientes con ictus isquémico	Reducción significativa de la ENRm con respecto al inicio y significativamente diferente al cambio del grupo AAS + placebo ≥ 20 %	**Variables oxidativas:** Reducción significativa de las cifras plasmáticas de MDA y GSF y/o aumento significativo de la CAOP vs los valores del grupo AAS + placebo y los basales. **Perfil lipídico:** Reducción significativa de LDL-C, CT y/o aumento significativo de las HDL-C vs los valores del grupo AAS + placebo y los basales.
Efectos del policosanol en pacientes con ictus isquémico y ataques previos de isquemia transitoria. Seguimiento a largo plazo.	Aumento significativo de la ENC con respecto al inicio	**Recurrencia** de eventos cerebro-vasculares **Perfil lipídico:** Reducción ≥ 15 % de CT vs valores basales.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS

CAPÍTULO 3. RESULTADOS

3.1 ESTUDIOS EXPERIMENTALES

3.1.1 Efectos preventivos del policosanol y el extracto de semilla de uva (ESU) sobre la isquemia cerebral inducida por I/R en *Mongolian gerbils*

La **Tabla 2** resume los efectos sobre la actividad locomotora a las 24 horas de inducir la I/R. El grupo control positivo mostró un aumento significativo de la locomoción en comparación con el control negativo. La administración de policosanol y ESU a la dosis de 200 mg kg, no a la menor (100 mg/kg), disminuyó de modo significativo, marcado y similar el aumento de la locomoción inducida por I/R en comparación con el grupo control positivo.

Tabla 2. Efectos sobre la actividad locomotora (X ± EEM)

Tratamiento	Dosis (mg/kg/día)	Cruces (#)	Inhibición (%)
Control negativo	0	316,3 ± 2,8*	--
Control positivo	0	389,1 ± 16,2	--
Policosanol	100	352,4 ± 29,8	**50,4**
Policosanol	200	245,6 ± 16,8**	**100,0**
ESU	100	361,8 ± 39,3	**37,5**
ESU	200	276,5 ± 27,8*	**100,0**

X ± EEM (media + error estándar de la media). ESU: extracto de semillas de uva

*p<0,05; **p<0,01 comparación con control positivo (U de Mann Whitney)

El análisis histológico de los cerebros reveló daño e incluso pérdida de células piramidales en la región CA1 del hipocampo de los animales del grupo control positivo, lo cual no fue observado en los controles negativos.

La **Tabla 3** resume los efectos sobre el puntaje histológico. Como se aprecia, en el grupo control positivo se produjo un aumento significativo del puntaje, lo cual refleja el daño causado por I/R. El tratamiento con policosanol (100 y 200 mg/kg) redujo significativamente (p<0,01) el puntaje histológico (46,6% y 64,5%, respectivamente) con respecto al control positivo. A su vez, el ESU

(100 y 200 mg/kg) lo redujo en un 35,4% y un 60,0%, respectivamente. Las diferencias entre los grupos tratados no resultaron significativas.

Tabla 3. Efectos sobre el puntaje histológico cerebral (X ± EEM)

Tratamiento	Dosis (mg/kg/día)	Puntaje histológico	Inhibición (%)
Control negativo	0	0,00 ± 0,00*	--
Control positivo	0	3,75 ± 0,16	---
Policosanol	100	2,00 ± 0,30*	**46,6**
Policosanol	200	1,33 ± 0,20*	**64,5**
ESU	100	2,42 ± 0,20*	**35,4**
ESU	200	1,50 ± 0,18*	**60,0**

X ± EEM (media + error estándar de la media). ESU: extracto de semillas de uva

* p<0,01 comparación vs control positivo (U de Mann Whitney)

La **Tabla 4** muestra los datos de las variables oxidativas a las 24 horas de inducir la I/R. El grupo control positivo mostró un aumento significativo de las cifras de MDA y GSF con respecto al control negativo. Ambas dosis de policosanol (100 y 200 mg/kg) redujeron significativa y marcadamente las cifras de MDA (81,9% y 93,6%, respectivamente) y GSF (51,5% y 89,4%, respectivamente) con respecto al control positivo; y similares dosis de ESU (100 y 200 mg/kg) redujeron totalmente (100% de inhibición) las cifras de MDA y marcadamente las de GSF (70,2% y 95,9%, respectivamente) con respecto al control positivo.

Tabla 4. Efectos sobre las concentraciones plasmáticas de MDA y GSF (X ± EEM)

Tratamiento	Dosis (mg/kg/día)	MDA (nmol/mg prot)	Inhibición (%)	GSF (mmol/L)	Inhibición (%)
Control negativo	0	61,6 ± 2,6*	--	0,693 ± 0,02*	--
Control positivo	0	104,2 ± 4,8	---	1,015 ± 0,019	---
Policosanol	100	69,3 ± 7,2*	**81,9**	0,849 ± 0,032*	**51,5**
Policosanol	200	64,3 ± 8,4*	**93,6**	0,727 ± 0,016*	**89,4**
ESU	100	58,4 ± 8,4*	**100**	0,789 ± 0,059*	**70,2**
ESU	200	60,9 ± 7,1*	**100**	0,706 ± 0,027*	**95,9**

X ± EEM (media + error estándar de la media)

ESU: extracto de semillas de uva, MDA malondialdehido, GSF grupos sulfidrilos

* p<0,05 comparación vs control positivo (U de Mann Whitney)

3.1.2 Efectos terapéuticos del policosanol y la atorvastatina sobre la isquemia cerebral inducida por I/R en *Mongolian gerbils*

Todos los animales (100%) del grupo control positivo presentaron síntomas clínicos, de modo que su puntaje de síntomas resultó significativamente superior al del control negativo, en el cual ningún animal (0%) presentó sintomatología clínica (**Tabla 5**).

Tabla 5. Efectos sobre los síntomas clínicos.

Tratamiento	Dosis (mg/kg/día)	Puntaje de síntomas (X ± EEM)	Inhibición (%)	Animales con síntomas (%)[a]	Inhibición (%)
Control	0	$0,00 \pm 0,00^{**}$	---	0^{+++}	---
Control positivo	0	$3,00 \pm 0,56$	---	100	---
Policosanol	100	$1,25 \pm 0,55^{*}$	**58,3**	50^{+}	**50**
Policosanol	200	$0,8 \pm 0,32^{**}$	**73,3**	50^{+}	**50**
Atorvastatina	10	$1,37 \pm 0,41^{*}$	**54,3**	75	**25**
Atorvastatina	20	$1,12 \pm 0,35^{*}$	**62,6**	75	**25**
AAS	60	$0,37 \pm 0,37^{**}$	**87,6**	$12,5^{+++}$	**87,5**

X ± EEM (media + error estándar de la media). AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

a % de animales con síntomas clínicos (SC) = animales con al menos un SC/ total de animales

*p<0,05; **p<0,01 comparación vs control positivo (U de Mann Whitney)

+p<0,05; +++ p<0,001 comparación vs control positivo (Probabilidad Exacta de Fisher)

Al compararse con el grupo control positivo, el tratamiento post-isquemia con AAS (60 mg/kg) redujo significativa y marcadamente el puntaje (87,6%) y la proporción de animales con síntomas (87,5%). El policosanol y la atorvastatina redujeron significativamente el puntaje de los síntomas clínicos con respecto al grupo control positivo (58,3% y 73,3% con policosanol 100 y 200 mg/kg, respectivamente); (54,3% y 62,6% con atorvastatina 10 y 20 mg/kg, respectivamente). Sin embargo, solo el policosanol redujo significativamente la proporción de animales con síntomas (50%) con relación al grupo control positivo.

La **Tabla 6** resume los efectos sobre la actividad locomotora en campo abierto. Los controles positivos cruzaron más veces el fondo del dispositivo que los controles negativos, hiperlocomoción significativamente reducida (74,5%) con AAS 60 mg/kg; y con las dosis mayores de policosanol (200 mg/kg) y atorvastatina (20 mg/kg) (84,2% y 74,2%, respectivamente).

La dosis menor de ambos tratamientos no redujo significativamente esta variable. La comparación estadística entre ambos tratamientos no mostró diferencias significativas.

Tabla 6. Efectos sobre la actividad locomotora (X ± EEM) en la prueba de campo abierto

Tratamiento	Dosis (mg/kg/día)	Cruces (#)	Inhibición (%)
Control negativo	0	266,8 ± 14,8**	---
Control positivo	0	351,4 ± 13,4	---
Policosanol	100	327,5 ± 22,2	**28,2**
Policosanol	200	280,1 ± 20,1*	**84,2**
Atorvastatina	10	328,1 ± 32,2	**27,5**
Atorvastatina	20	288,6 ± 17,3*	**74,2**
AAS	60	288,3 ± 15,2*	**74,5**

X ± EEM (media + error estándar de la media). AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

*p<0,05; **p<0,01 comparación vs control positivo (U de Mann Whitney)

La **Tabla 7** muestra los resultados del estudio histológico. Mientras que ningún animal del grupo control negativo mostró alteraciones, todos los controles positivos presentaron daño e incluso la desaparición de numerosas células piramidales de la región CA1, por lo cual el puntaje de este grupo fue significativamente mayor que el del control negativo.

Tabla 7. Efectos sobre el puntaje histológico (X ± EEM) de los cerebros.

Tratamiento	Dosis (mg/kg/día)	Puntaje histológico	Inhibición (%)
Control negativo	0	0,09 ± 0,06*	---
Control positivo	0	2,93 ± 0,07	---
Policosanol	100	2,18 ± 0,08**	**26,4**
Policosanol	200	1,05 ± 0,15**ab	**66,2**
Atorvastatina	10	2,37 ± 0,06**	**19,7**
Atorvastatina	20	2,18 ± 0,10**	**26,4**
AAS	60	2,04 ± 0,17**	**31,3**

X ± EEM (media + error estándar de la media). AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

* p<0,01; **p<0,001 comparación vs control positivo;

[a]p<0,001 comparación vs atorvastatina 10 y 20 mg/kg; [b]p<0,01 comparación vs AAS 60 mg/kg, (U de Mann Whitney)

En todos los grupos tratados se observaron reducciones significativas del puntaje histológico con respecto al control positivo: 31,3% con AAS 60 mg/kg; 26,4% y 66,2% con policosanol (100 y 200 mg/kg, respectivamente); 19,7% y 26,4% con atorvastatina (10 y 20 mg/kg, , respectivamente). Solo el efecto de la mayor dosis de policosanol fue marcado (66,2%) pues las restantes reducciones fueron moderadas (< 50% de inhibición).

La inducción de I/R produjo un aumento significativo de las concentraciones plasmáticas de MDA y GSF con relación al grupo control negativo (**Tabla 8**). El policosanol (100 y 200 mg/kg) redujo significativamente las cifras plasmáticas de MDA (49,5% y 64,6%, respectivamente) y GSF (58,8 y 76,5%, respectivamente), mientras que la atorvastatina (10 y 20 mg/kg) y el AAS (60 mg/kg) no modificaron estas variables.

Tabla 8. Efectos sobre cifras plasmáticas de MDA y GSF (X ± EEM)

Tratamiento	Dosis (mg/kg/día)	MDA (nmol/mg prot)	Inhibición (%)	GSF (mmol/L)	Inhibición (%)
Control negativo	0	38,92 ± 3,01**	---	0,44 ± 0,02**	---
Control positivo	0	72,06 ± 5,88	---	0,61 ± 0,03	---
Policosanol	100	55,65 ± 2,82*	**49,5**	0,51 ± 0,01**	**58,8**
Policosanol	200	50,63 ± 3,88*	**64,6**	0,48 ± 0,02**	**76,5**
Atorvastatina	10	69,74 ± 4,58	**7,0**	0,60 ± 0,02	**5,9**
Atorvastatina	20	70,80 ± 3,42	**3,8**	0,59 ± 0,02	**11,8**
AAS	60	72,30 ± 4,63	**0,0**	0,60 ± 0,03	**5,9**

X ± EEM (media + error estándar de la media). AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

*p<0,05; **p<0,01 comparación vs control positivo

3.2 ESTUDIOS CLÍNICOS

3.2.1 Estudios controlados

3.2.1.1 Efectos sobre la evolución neurológica, agregación plaquetaria y endotelemia en pacientes con ictus isquémico

3.2.1.1.1 Características basales y análisis de las bajas

La Tabla 9 muestra las características basales de los pacientes, las cuales fueron similares en ambos grupos (AAS + placebo; AAS + policosanol). El tiempo entre el momento de ocurrir el ictus y el inicio de los tratamientos fue similar en ambos grupos (15 días en el grupo tratado con AAS + policosanol, 17 en el tratado con AAS + placebo). En la práctica, aunque el protocolo permitía incluir casos con hasta 3 meses post-ictus, solo 6 casos (5 del grupo tratado con AAS + placebo, 1 del tratado con AAS + policosanol) presentó ≥30 días de evolución post-ictus.

La edad promedio de los pacientes fue 66,0 ± 10,0 años y su distribución por sexo fue equilibrada (46 hombres, 46 mujeres) y similar en ambos grupos.

Además del ictus isquémico que motivó su inclusión en el estudio, los factores de riesgo más frecuentes (>30%) fueron el consumo de dieta rica en sal (96,7%), el sedentarismo (95,6%), la HTA (94,6%), el sobrepeso + obesidad (kg/m2 ≥25) (64,1%) y el tabaquismo (45,7%). El consumo de medicaciones concomitantes fue elevado (82,6%) y bien balanceado en ambos grupos. Los medicamentos más utilizados fueron los IECA (72,8%).

Noventa pacientes (97,8%) culminaron los 6 meses de tratamiento. Las 2 bajas ocurridas se debieron a un viaje al extranjero (violación de protocolo) (1 caso tratado con AAS + policosanol) y a no deseos de continuar (1 caso tratado con AAS + placebo).

Tabla 9. Características basales de la población de estudio

	AAS + policosanol (n=46)		**AAS + placebo (n=46)**		**Total (n=92)**	
Edad (años) (X ± DE)	66 ± 10		66 ± 11		66 ± 10	
Índice kg/m^2 (X ± DE)	25,7 ± 2,2		26,1 ± 2,0		25,9 ± 2,1	
Puntaje ENRm	2,9 ± 0,5		2,8 ± 0,5		2,9 ± 0,5	
	n	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**
Hombres	25	54,3	21	45,7	46	50,0
Mujeres	21	45,7	25	54,3	46	50,0
Historia Personal						
Dieta rica en sal	44	95,7	45	97,8	89	96,7
Sedentarismo	46	100	42	91,3	88	95,6
HTA	44	95,7	43	93,5	87	94,6
Sobrepeso/Obesidad	30	65,2	29	63,0	59	64,1
Hábito de fumar	22	47,8	20	43,5	42	45,7
Dislipidemia	8	17,4	11	23,9	19	20,6
Diabetes mellitus	5	10,9	6	13,0	11	12,0
Enfermedad coronaria	2	4,3	4	8,7	6	6,5
Medicaciones Concomitantes (MC) (≥ 15 %)						
Pacientes que consumieron MC	39	84,8	37	80,4	76	82,6
IECA	37	80,4	30	65,2	67	72,8
Diuréticos	6	13,0	7	15,2	13	14,1
Antidiabéticos	3	6,5	5	10,9	8	8,7

X media, DE desviación estándar, n: número de pacientes, AAS ácido acetil salicílico (aspirina), IECA inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. La tabla incluyó solo aquellas MC consumidas por >2 pacientes.

Todas las comparaciones fueron no significativas (U de Mann Whitney, Probabilidad Exacta de Fisher)

3.2.1.1.2 Análisis de eficacia

La adhesión al tratamiento fue buena (≥ 90 %) y similar en los dos grupos.

3.2.1.1.2.1 Efecto sobre la evolución neurológica

La distribución de casos según el puntaje de la ENRm en condiciones basales fue similar en ambos grupos (**Tabla 10**). Tras 3 y 6 meses de terapia, la frecuencia de pacientes tratados con AAS + policosanol con ENRm ≤1 (10/46, 21,7% y 32/46, 69,6%, respectivamente) fue menor (p<0,01 y p<0,0001, respectivamente) que en el grupo AAS + placebo (0/46, 0,0% y 7/46, 15,2%, respectivamente). Al completar el estudio, 3 (6,5%) tratados con AAS + policosanol y 20 (43,5%) con AAS + placebo (p<0,001) mantenían valores de ENRm ≥3.

Tabla 10. Efectos sobre la recuperación neurológica: distribución de casos según puntaje de la ENRm

Valores ENRm	Basal		3 meses		6 meses	
	AAS + policosanol	AAS + placebo	AAS + policosanol	AAS + placebo	AAS + policosanol	AAS + placebo
	n	%	n	%	n	%
0	0	0	0	0	2	0
1	0	0	10^{+}	0	30^{+++}	7
0 - 1	**0**	**0**	**10^{+}**	**0**	**32^{+++}**	**7**
2 - 3	42	44	36^{+}	45	14^{+++}	38
4	4	2	0	1	0	1

ENRm Escala Rankin modificada, AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

$^{+}$p<0,01; $^{+++}$p<0,0001 comparaciones vs AAS + placebo. (Probabilidad Exacta de Fischer)

A las 6 semanas el grupo AAS + policosanol mostró una reducción (24,1%) significativa (p<0,00001 vs basal, p<0,01 vs AAS + placebo) del puntaje neurológico (**Tabla 11**). Este efecto se acentuó con el tiempo: a los 3 meses las reducciones en el grupo AAS + policosanol fueron de un 31,0% con respecto a los valores basales y de 20,3% con respecto a los del grupo AAS + placebo; y a los 6 meses de un 55,2% y un 37,3%, respectivamente. En el grupo AAS + placebo los valores de las 2 evaluaciones finales fueron significativamente inferiores que los basales.

Ningún paciente experimentó eventos recurrentes durante el estudio.

Tabla 11. Efectos sobre la recuperación neurológica: evolución del puntaje ENRm (X ±DE).

Tratamiento	Basal	1,5 meses	3 meses	% ▲	4,5 meses	6 meses	% ▲
AAS +	2,9 ± 0,5	2,2 ± 0,7^{+***}	2,0 ± 0,7^{++***}	**-**	1,5 ±	1,3 ± 0,7^{++***}	**-55,2**$^{++}$
AAS + placebo	2,8 ± 0,5	2,6 ± 0,5	2,5 ± 0,5	**-10,7**	2,4 ± 0,7*	2,3 ± 0,8**	**-17,9**

▲cambio**,** ENRm Escala Rankin modificada, X: media, DE: desviación estándar, AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

*p<0,0125; **p<0,001; ***p<0,00001 comparaciones vs basales (Wilxocon para muestras pareadas, ajuste de Bonferroni)

$^{+}$p<0,01; $^{++}$p<0,00001 comparaciones vs AAS + placebo (U de Mann Whitney)

3.2.1.1.2.2 Efecto sobre las variables secundarias de eficacia

En condiciones basales ambos grupos mostraron valores similares de todas las variables secundarias, las cuales no se modificaron en el grupo grupo tratado con AAS + placebo.

A. Efecto sobre el perfil lipídico

La terapia con AAS + policosanol redujo significativamente las cifras séricas de LDL-C (25,5%) y CT (12,4%) (**Tabla 12**), y aumentó las de HDL-C (10,5%, p<0,01 vs valores basales, p<0,05 vs AAS + placebo), sin modificar los TG. El porcentaje de casos tratados con AAS + policosanol (20, 43,5%) que al final del estudio alcanzó cifras de LDL-C ≤ 2,6 mmol/L fue superior (p<0,01) al del grupo AAS + placebo (7, 15,2%).

B. Efecto sobre la agregación plaquetaria y las cifras de endotelemia

El tratamiento AAS + policosanol disminuyó la agregación plaquetaria inducida por AA 3 mmol/L (41,0%) cumpliéndose el criterio de eficacia planteado. Además, produjo reducciones significativas de la agregación al ADP (24,9%, p<0,05 vs basal) sin modificar la agregación al colágeno (**Tabla 13**).

Desde el inicio del estudio los pacientes incluidos presentaban una buena respuesta de inhibición de la agregación plaquetaria, ya que solo 5 casos no agregaban al AA (2 AAS + policosanol, 3 AAS + placebo) y 31 (16 AAS + policosanol, 15 AAS + placebo) presentaban valores bajos (<10%) de agregación al AA.

El tratamiento con AAS + policosanol también redujo significativamente las cifras de endotelemia

con respecto a los valores basales y al grupo AAS + placebo, mientras que el tratamiento de AAS + placebo no modificó esta variable.

Tabla 12. Efectos sobre el perfil lipídico (X ± DE)

Tratamiento	Basal	3 meses	6 meses	Cambio (%)
LDL-C (mmol/L)				
AAS + policosanol	3,41 ± 1,07	2,84 ± 1,08^{*+}	2,54 ± 1,28^{**+++}	**-25,5**$^{+++}$
AAS + placebo	3,26 ± 0,96	3,38 ± 0,93	3,43 ± 0,89	**5,2**
Colesterol total (mmol/L)				
AAS + policosanol	5,80 ± 1,25	5,23 ± 1,12^{*++}	5,08 ± 1,30^{**+++}	**-12,4**$^{++}$
AAS + placebo	5,78 ± 1,20	5,81 ± 0,94	5,85 ± 0,99	**1,2**
HDL-C (mmol/L)				
AAS + policosanol	1,52 ± 0,30	1,55 ± 0,30	1,68 ± 0,27^{+*}	**10,5**
AAS + placebo	1,50 ± 0,37	1,51 ± 0,41	1,52 ± 0,37	**1,3**
Triglicéridos (mmol/L)				
AAS + policosanol	1,84 ± 0,96	1,81 ± 1,08	1,70 ± 1,03	**-7,6**
AAS + placebo	1,88 ± 0,90	1,93 ± 0,91	1,87 ± 0,86	**-0,5**

X: media, DE: desviación estándar, AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

*p<0,01, **p<0,001 comparaciones vs valores basales (Wilcoxon para muestras pareadas)

$^{+}$p<0,05; $^{++}$p<0,01, $^{+++}$p<0,001 comparaciones vs placebo (U de Mann Whitney)

Tabla 13. Efectos sobre la agregación plaquetaria y cifras de endotelemia (X ± EEM).

Tratamiento	Basal	3 meses	6 meses	Cambio (%)
AA (3 mmol/L) (%)				
AAS + policosanol	43,2 ± 5,7	30,1 ± 5,2*	25,5 ± 4,5**+	**-41,0**$^{+}$
AAS + placebo	39,0 ± 5,4	39,0 ± 5,4	37,5 ± 5,2	**-3,8**
Colágeno (2 μg/mL) (%)				
AAS + policosanol	12,8 ± 2,9	13,7 ± 3,5	11,6 ± 2,8	**-9,4**
AAS + placebo	12,5 ± 3,1	10,8 ± 2,7	12,5 ± 2,6	**-0,0**
ADP (2 mmol/L) (%)				
AAS + policosanol	42,0 ± 3,7	34,0 ± 3,8*	31,6 ± 3,6*	**-24,9**$^{+}$
AAS + placebo	38,4 ± 3,2	42,8 ± 3,6	36,0 ± 3,2	**-6,2**
Conteo de células endoteliales en plasma (células x 10^3/L)				
AAS + policosanol	259,96 ±	249,77 ± 15,96	197,01 ±	**-24,2**$^{+}$
AAS + placebo	270,14 ±	266,17 ± 22,98	263,13 ± 25,06	**-2,6**

X: media, EEM: error estándar de la media, AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

*p<0,05; **p<0,01 comparaciones vs valores basales (Wilcoxon para muestras pareadas)

$^{+}$p<0,05 comparaciones vs placebo (U de Mann Whitney)

3.2.1.1.3 Análisis de seguridad y tolerabilidad

3.2.1.1.3.1 Efectos sobre los indicadores de seguridad

Con excepción de las cifras de presión sistólica y ALT del grupo AAS + policosanol que en la última consulta resultaron ligera, pero significativamente inferiores que las del grupo AAS + placebo, no se detectaron cambios significativos de los indicadores del examen físico y de las variables de laboratorio (ALT, AST, GGT, glucosa y creatinina) (**Tabla 14**)

Tabla 14. Efectos sobre los indicadores de seguridad (X ± DE)

Tratamiento	Basal	1,5 meses	3 meses	4,5 meses	6 meses
Peso (kg)					
AAS + policosanol	73,65 ± 6,96	73,00 ± 6,73	72,41 ± 6,81	72,11 ± 6,74	72,04 ± 6,36
AAS + placebo	74,87 ± 9,08	74,89 ± 9,32	74,59 ± 9,36	74,43 ± 9,14	74,37 ± 9,07
Frecuencia Cardíaca (latidos/min)					
AAS + policosanol	77,57 ± 5,71	77,13 ± 5,34	77,98 ± 4,28	77,93 ± 4,07	77,85 ± 4,47
AAS + placebo	78,80 ± 6,50	77,22 ± 5,36	78,39 ± 4,48	77,87 ± 4,97	78,30 ± 5,23
Presión Arterial Diastólica (mm Hg)					
AAS + policosanol	83,70 ± 5,21	80,87 ± 4,75	79,67 ± 4,76	79,35 ± 4,55	78,70 ± 4,27
AAS + placebo	84,46 ± 5,08	81,46 ± 4,67	80,54 ± 3,02	79,57 ± 4,57	79,04 ± 4,12
Presión Arterial Sistólica (mm Hg)					
AAS + policosanol	132,72 ± 9,29	126,85 ± 7,41^{++}	124,57 ± 6,74	123,26 ± 5,98^{++}	123,04 ± 5,52^{++}
AAS + placebo	134,46 ± 8,83	130,76 ± 5,77	126,85 ± 5,81	127,07 ± 4,78	128,09 ± 8,99
ALT (UI)					
AAS + policosanol	21,72 ± 9,22		20,11 ± 8,05		19,04 ± 8,45^{+}
AAS + placebo	22,85 ± 14,30		20,87 ± 9,71		23,41 ± 11,73
AST (UI)					
AAS + policosanol	22,85 ± 6,88		25,15 ± 6,65		23,63 ± 7,83
AAS + placebo	24,44 ± 10,60		22,26 ± 7,72		24,15 ± 8,44
GGT (UI)					
AAS + policosanol	34,19 ± 17,52		35,07 ± 19,39		34,80 ± 21,21
AAS + placebo	36,74 ± 20,35		36,34 ± 19,08		34,38 ± 17,93
Glucosa (mmol/L)					
AAS + policosanol	4,55 ± 1,20		4,77 ± 1,45		4,71 ± 1,35
AAS + placebo	4,61 ± 1,64		4,74 ± 1,43		4,87 ± 1,40
Creatinina (μmol/L)					
AAS + policosanol	92,82 ± 27,83		90,42 ± 31,44		94,26 ± 29,32
AAS + placebo	91,89 ± 45,15		95,85 ± 40,03		97,85 ± 45,22

X: media, DE: desviación estándar, AAS ácido acetil salicílico (aspirina),

$^{+}p<0,05$; $^{++}p<0,01$ comparaciones vs placebo (Análisis de varianza)

3.2.1.1.3.2 Análisis de las EA

Cinco pacientes (2 placebo, 3 policosanol) reportaron EA, todas leves y transitorias, sin diferencias entre grupos (**Tabla 15**).

Tabla 15. Experiencias adversas (EA) ocurridas durante el estudio

EA reportadas	AAS + policosanol (n=46)		AAS + placebo (n=46)	
	n	**%**	**n**	**%**
Pirosis	0	0,0	2	4,3
Insomnio	3	6,5	0	0,0
Pacientes que reportaron EA	**3**	**6,5**	**2**	**4,3**

n: número de pacientes, AAS ácido acetil salicílico (aspirina).

Todas las comparaciones fueron no significativas (Probabilidad Exacta de Fisher)

3.2.1.2 Efectos sobre evolución neurológica y marcadores oxidativos en pacientes con ictus isquémico

3.2.1.2.1 Características basales, homogeneidad de los grupos y análisis de las bajas

La **Tabla 16** muestra las características basales de la población de estudio, las cuales resultaron similares en ambos grupos (ASA + placebo y AAS + policosanol). El tiempo entre el momento de ocurrir el ictus y el inicio de los tratamientos fue similar en ambos grupos (15 y 16 días en los grupos tratados con AAS + policosanol y AAS + placebo, respectivamente).

La edad promedio de los pacientes fue 64 ± 11 años, 26 eran hombres (42,6%) y 35 mujeres (57,4%). Además del ictus isquémico que motivó su inclusión en el estudio, los factores de riesgo más frecuentes (>30%) fueron: consumo de dieta rica en sal (98,4%), sedentarismo (96,7%), HTA (91,8%) y hábito de fumar (36,1%). La suma de pacientes con sobrepeso + obesos (kg/m2 ≥25) fue elevada (73,8%). El consumo de medicaciones concomitantes fue alto (91,8%) y estuvo equilibrado en ambos grupos. Los medicamentos más utilizados (>15%) fueron los IECA (78,7%) y los diuréticos (18%).

Todos los pacientes incluidos (61) culminaron el tratamiento. No se produjeron bajas durante el estudio.

Tabla 16. Características basales de la población de estudio

	AAS + policosanol		AAS + placebo		Total	
Edad (años) (X±DE)	65 ± 11		64 ± 11		64 ± 11	
Índice kg/m^2 (X±DE)	26,7 ± 2,2		27,1 ± 3,6		26,9 ± 3,0	
Puntaje de ENRm (X±DE)	2,8 ± 0,5		2,5 ± 0,5		2,7 ± 0,5	
	n	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**
Hombres	12	38,7	14	46,7	26	42,6
Mujeres	19	61,3	16	53,3	35	57,4
Historia personal						
Dieta rica en sal	30	96,8	30	100	60	98,4
Sedentarismo	29	93,5	30	100	59	96,7
HTA	27	87,1	29	96,7	56	91,8
Sobrepeso/Obesidad	25	80,6	20	66,7	45	73,8
Hábito de fumar	11	35,5	11	36,7	22	36,1
Dislipidemia	6	19,4	6	20,0	12	19,7
Diabetes mellitus	4	12,9	4	13,3	8	13,1
Enfermedad coronaria	2	6,4	2	6,7	4	6,6
Medicaciones concomitantes (MC)						
Pacientes que consumieron	27	87,1	29	96,7	56	91,8
IECA	23	74,2	25	83,3	48	78,7
Diuréticos	6	19,4	5	16,7	11	18,0
Antidiabéticos	3	9,7	3	10,0	6	9,8

X media, DE desviación estándar, n: número de pacientes, AAS ácido acetil salicílico (aspirina), IECA inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina; La tabla incluyó solo aquellas MC consumidas por >2 pacientes.

Todas las comparaciones fueron no significativas (U de Mann Whitney, Probabilidad Exacta de Fisher)

3.2.1.2.2 Análisis de eficacia

La adhesión al tratamiento fue buena (≥90%) y similar en los dos grupos, de acuerdo al conteo de tabletas remanentes y las declaraciones de los sujetos.

3.2.1.2.2.1 Efecto sobre la evolución neurológica

La **Tabla 17** muestra la recuperación neurológica según la distribución de casos por estratos de puntaje de la ENRm.

Tabla 17. Efectos sobre la recuperación neurológica: distribución de casos según puntaje de la ENRm

Valores ENRm	Basal		3 meses		6 meses	
	AAS + policosanol	AAS + placebo	AAS + policosanol	AAS + placebo	AAS + policosanol	AAS + placebo
	n	n	n	N	n	n
0	0	0	0	0	5	0
1	0	0	11^{+}	0	24^{++}	2
0 - 1	**0**	**0**	**11^{+}**	**0**	**29^{++}**	**2**
2 - 3	29	30	20^{+}	30	2^{+++}	28
4	2	0	0	0	0	0

ENRm Escala Rankin modificada, AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

$^{+}$p<0,001; $^{++}$p<0,0001; $^{+++}$p<0,00001. Comparaciones vs AAS + placebo (Probabilidad Exacta de Fischer)

La distribución inicial de los pacientes en los diferentes estratos de la ENRm fue similar en ambos grupos. Sin embargo, tras 3 meses de tratamiento, la frecuencia de pacientes tratados con AAS + policosanol con valores de ENRm ≤1 (11/31, 35,5%) fue significativamente mayor (p<0,001) que en el grupo AAS + placebo, en el cual ningún paciente alcanzó dicho puntaje, y al concluir el estudio (6 meses) 29/31 (93,5%) casos tratados con AAS + policosanol (p<0,0001) y solo 2 del grupo AAS + placebo (6,7%) obtuvieron esas cifras. Inversamente, mientras a los 6 meses de tratamiento 12/30 pacientes (40%) tratados con AAS + placebo presentaban valores de ENRm ≥3, ningún paciente (0/31) del grupo AAS + policosanol mantenía tales valores (p<0,0001).

La **Tabla 18** resume la mejoría del déficit neurológico residual post-evento evaluada a través de la media del puntaje de la ENRm.

Tabla 18. Efectos sobre la recuperación neurológica: Evolución de la ENRm (X ± DE)

Tratamiento	Basal	1,5 meses	3 meses	% ▲	4,5 meses	6 meses	% ▲
AAS + policosanol	2,8 ± 0,5	$2,0 \pm 0,6^{**+}$	$1,7 \pm 0,6^{**++}$	**-39,3**	1,0 ±	0,9 ±	**-67,9**
AAS + placebo	2,5 ± 0,5	2,5 ± 0,5	2,5 ± 0,5	**0**	2,4 ± 0,6	2,3 ± 0,6	**-8,0**

▲cambio, ENRm Escala Rankin modificada, X: media, DE: desviación estándar, AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

**p<0,0001 comparaciones vs basales (Wilcoxon para muestras pareadas, ajuste de Bonferroni)

$^{+}$p<0,01; $^{++}$p<0,00001 comparaciones vs AAS + placebo (U de Mann Whitney)

En las condiciones basales, el puntaje neurológico fue similar en ambos grupos. A partir de las 6 semanas (1,5 meses), el grupo tratado con AAS + policosanol, no el tratado con AAS + placebo, mostró una mejoría significativa de la evolución neurológica evaluada con la ENRm, ya que se produjo un descenso significativo ($p<0,0001$) del puntaje que se acentuó con el tiempo, obteniéndose diferencias significativas entre ambos grupos desde las 6 semanas ($p<0,01$) hasta los 6 meses de tratamiento ($p<0,00001$). Tras 6, 12, 18 y 24 semanas de terapia el puntaje ENRm en el grupo AAS + policosanol se redujo significativamente en un 28,6%, 39,3%, 64,3% y 67,9%, respectivamente.

Ningún paciente experimentó eventos recurrentes durante el estudio.

3.2.1.2.2.2 Efecto sobre las variables secundarias de eficacia

A. Efectos sobre el perfil lipídico

El tratamiento con AAS + policosanol redujo significativamente las cifras de LDL-C (20,1%) con relación al nivel basal ($p<0,000001$) y al grupo AAS + placebo ($p<0,01$) (**Tabla 19**). Por otra parte, también produjo una disminución significativa de los valores de CT (11,8%) ($p<0,0001$) vs nivel basal y $p<0,05$ vs el grupo AAS + placebo y un aumento de las cifras de HDL-C (8,9%) vs los valores basales y $p<0,05$ vs el grupo AAS + placebo. Los valores de TG no se modificaron significativamente.

Tabla 19. Efectos sobre el perfil lipídico (X ± DE)

Tratamiento	Basal	3 meses	6 meses	Cambio (%)
	LDL-C (mmol/L)			
AAS + policosanol	3,79 ± 0,81	3,64 ± 0,94	3,03 ± 0,83^{**++}	**-20,1**
AAS + placebo	3,68 ± 1,09	3,87 ± 1,08	3,77 ± 1,16	**2,4**
	Colesterol total (mmol/L)			
AAS + policosanol	5,77 ± 1,08	5,61 ± 1,19	5,09 ± 0,98^{*+}	**-11,8**
AAS + placebo	5,73 ± 1,30	5,80 ± 1,29	5,63 ± 1,28	**-1,7**
	HDL-C (mmol/L)			
AAS + policosanol	1,35 ± 0,45	1,40 ± 0,49	1,47 ± 0,43^{+}	**8,9**
AAS + placebo	1,37 ± 0,39	1,35 ± 0,32	1,29 ± 0,31	**-5,8**
	Triglicéridos (mmol/L)			
AAS + policosanol	1,71 ± 0,61	1,74 ± 0,69	1,58 ± 0,49	**-7,6**
AAS + placebo	1,72 ± 0,97	1,63 ± 0,84	1,71 ± 0,92	**-0,6**

X: media, DE: desviación estándar, AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

*p<0,0001, **p<0,000001 comparaciones vs valores basales (Wilcoxon para muestras pareadas)

$^{+}$p<0,05, $^{++}$p<0,01 comparaciones vs placebo (U de Mann Whitney)

B. Efectos sobre variables oxidativas

En condiciones basales ambos grupos mostraron valores similares de las variables oxidativas investigadas (**Tabla 20**). El tratamiento AAS + policosanol redujo significativamente los niveles de MDA (13,9%; p<0,01), los grupos sulfidrilos (19,2%; p<0,01) y aumentó significativamente la CAOTP (9,1%; p<0,05). En el grupo AAS + placebo no se produjeron cambios significativos de de estas variables.

Tabla 20. Efectos sobre variables oxidativas (X ± DE) (unidades)

Tratamiento	Basal	6 meses	Cambio (%)
	MDA (µmol/mL)		
AAS + policosanol	0,36 ± 0,11	0,31 ±	**-13,9**
AAS + placebo	0,38 ± 0,07	0,37 ± 0,09	**-2,6**
	GSF (nmoL)		
AAS + policosanol	0,52 ± 0,12	0,42 ± 0,12**	**-19,2**
AAS + placebo	0,52 ± 0,14	0,48 ± 0,16	**-7,7**
	Estado antioxidante total del plasma (mmol/L)		
AAS + policosanol	0,66 ± 0,18	0,72 ± 0,19*	**9,1**
AAS + placebo	0,65 ± 0,22	0,67 ± 0,21	**3,1**

X: media, DE: desviación estándar, AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

*p<0,05; **p<0,01 comparaciones vs valores basales (Wilcoxon para muestras pareadas)

$^{+}$p<0,05 comparaciones vs placebo (U de Mann Whitney)

3.2.1.2.3 Análisis de seguridad y tolerabilidad

3.2.1.2.3.1 Efectos sobre los indicadores de seguridad

En condiciones basales ambos grupos mostraron valores similares de los indicadores de seguridad investigados (**Tabla 23**). Los tratamientos resultaron seguros y bien tolerados. En ambos grupos se observó una reducción de las presiones diastólica y sistólica, más acentuada en el grupo AAS + policosanol, de modo que sus valores resultaron inferiores a los del grupo AAS + placebo a partir de las 6 semanas de tratamiento.

No se observaron diferencias significativas de las variables de bioquímica sanguínea (ALT, AST, GGT, glucosa, creatinina) entre los grupos de tratamiento (**Tabla 21**).

Tabla 21. Efectos sobre los indicadores de seguridad (X ± DE)

	Basal	1,5 meses	3 meses	4,5 meses	6 meses
Indicadores físicos					
Peso (kg)					
AAS + policosanol	73,19 ± 7,30	72,42 ± 7,16	71,71 ± 7,00	71,42 ± 6,91	71,19 ± 6,84
AAS + placebo	74,67 ± 12,73	74,63 ± 12,36	74,50 ± 12,34	74,37 ± 12,20	74,63 ± 12,37
Frecuencia Cardíaca (latidos/min)					
AAS + policosanol	76,65 ± 5,64	74,90 ± 5,89^{+}	74,65 ± 4,60	74,39 ± 5,57^{+}	74,90 ± 4,76
AAS + placebo	78,27 ± 5,53	77,80 ± 5,29	76,93 ± 5,82	77,50 ± 5,39	77,13 ± 4,63
Presión Arterial Diastólica (mm Hg)					
AAS + policosanol	81,45 ± 4,86	79,68 ± 3,40^{++}	78,07 ± 4,22^{+}	76,45 ± 4,69^{+++}	76,45 ± 4,86^{+++}
AAS + placebo	83,67 ± 4,54	81,83 ± 2,78	80,67 ± 3,41	80,33 ± 1,83	80,17 ± 2,45
Presión Arterial Sistólica (mm Hg)					
AAS + policosanol	131,94 ± 7,03	125,00 ±	122,90 ± 3,82^{++++}	120,81 ±	120,00 ± 3,16^{++++}
AAS + placebo	134,33 ± 6,12	130,17 ± 4,82	128,17 ± 5,17	127,50 ± 4,69	127,50 ± 5,04
Indicadores de laboratorio					
ALT (UI)					
AAS + policosanol	20,68 ± 4,87		17,84 ± 5,36		18,16 ± 6,12^{+}
AAS + placebo	27,60 ± 22,11		24,57 ± 16,33		23,43 ± 18,16
AST (UI)					
AAS + policosanol	24,84 ± 6,04		25,93 ± 6,70		25,39 ± 8,75
AAS + placebo	27,87 ± 14,89		30,30 ± 12,30		28,33 ± 13,79
GGT (UI)					
AAS + policosanol	43,22 ± 23,35		37,16 ± 22,00		32,84 ± 21,17^{+++}
AAS + placebo	44,03 ± 55,80		45,57 ± 57,13		44,17 ± 70,44
Glucosa (mmol/L)					
AAS + policosanol	4,91 ± 1,37		4,35 ± 1,26		4,79 ± 0,86
AAS + placebo	4,59 ± 0,92		4,05 ± 0,98		4,56 ± 1,30
Creatinina (μmol/L)					
AAS + policosanol	85,39 ± 28,01		82,19 ± 27,47		90,06 ± 35,08
AAS + placebo	92,50 ± 22,37		89,43 ± 25,50		99,43 ± 28,98

X media, DE desviación estándar, AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

$^{+}p<0,05$, $^{++}p<0,01$, $^{+++}p<0,001$, $^{++++}p<0,0001$ comparaciones con placebo (Análisis de varianza)

3.2.1.2.3.2 Análisis de las EA

No hubo fallecimientos ni EAS durante el estudio. Se reportaron 2 EA (3,3%): una leve (insomnio) en el grupo AAS + policosanol y otra moderada (gastritis) en el grupo AAS + placebo (**Tabla 22**).

Tabla 22. Experiencias adversas (EA) ocurridas durante el estudio

EA reportadas	AAS + policosanol (n=31)		AAS + placebo (n=30)	
	n	**%**	**n**	**%**
Insomnio	1	3,2	0	0,0
Gastritis	0	0,0	1	3,3
Pacientes que reportaron EA	**1**	**3,2**	**1**	**3,3**

n: número de pacientes, AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

Todas las comparaciones resultaron no significativas (Probabilidad Exacta de Fisher)

3.2.2 Estudio abierto

3.2.2.1 Efectos del policosanol en pacientes con ictus isquémico y ataques previos de isquemia transitoria. Seguimiento a largo plazo

3.2.2.1.1 Características basales de la población estudiada

Se incluyeron 55 pacientes 29 (52,7%) mujeres y 26 (47,3%) hombres (edad promedio: 65,5 años), de los cuales ninguno causó baja del estudio.

El tipo predominante de ictus isquémico fue el de tipo lacunar (52,7%), seguido del ictus trombótico (45,5%). Además del ATI previo, la frecuencia de otros factores de riesgo fue elevada: HTA (98,2%), dislipidemia (81,8%), hábito de fumar (32,7%) y EC (29,1%) (**Tabla 23**).

3.2.2.1.2 Terapia concomitante

Además de policosanol, a todos los pacientes se les administró AAS (125 mg/d) durante el estudio. Un total de 54 (98,2%) pacientes eran hipertensos y consumían algún IECA (49 enalapril, 4 captopril), uno fue tratado con atenolol y 5 (9,1%) eran diabéticos tratados con hipoglicemiantes orales y uno se controlaban con dieta solamente.

Tabla 23. Características basales de la población de estudio

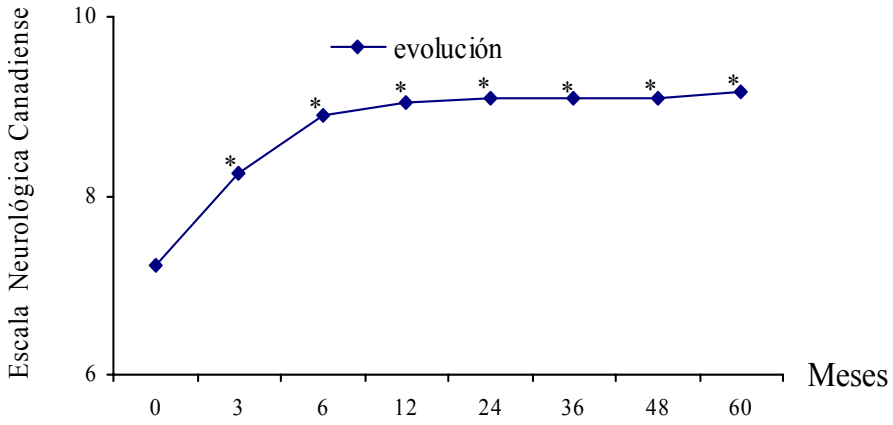
	AAS + policosanol (n=55)	
Edad (años) (X ± DE)	65,5 ± 11,0	
Índice kg/m^2 (X ± DE)	26,61 ± 2,50	
	n	**%**
Hombres	26	47,3
Mujeres	29	52,7
Ingreso por Ictus Lacunar	29	52,7
Ingreso por Ictus Trombótico	25	45,5
Ingreso por Ictus Cardioembólico	1	1,8
Historia Personal		
Ataques Transitorios de Isquemia	55	100,0
HTA	54	98,2
Dislipidemia	45	81,8
Hábito de fumar	18	32,7
Enfermedad Coronaria	16	29,1
Diabetes mellitus	6	10,0

n: número de pacientes, AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

Todas las comparaciones resultaron no significativas (Test de la Probabilidad Exacta de Fisher)

3.2.2.1.3 Análisis de eficacia

La evolución neurológica mejoró progresivamente como lo indica el aumento significativo y creciente de la ENC durante el primer año tras sufrir el ictus isquémico, mejora mantenida hasta la última consulta (5 años post-ictus) (**Fig. 1**).



*p<0,001. Comparaciones vs valores basales. Test de Wilcoxon con ajuste de Bonferroni.

Fig. 1. Efectos sobre la evolución neurológica durante 5 años.

Ningún paciente falleció durante el estudio. Cincuenta pacientes (90,9%) no sufrieron nuevos eventos vasculares, 1 (1,8%) tuvo un nuevo ictus isquémico y 4 (7,3%) un nuevo ATI (**Tabla 24**).

Tabla 24. Recurrencia de eventos vasculares durante 5 años de seguimiento

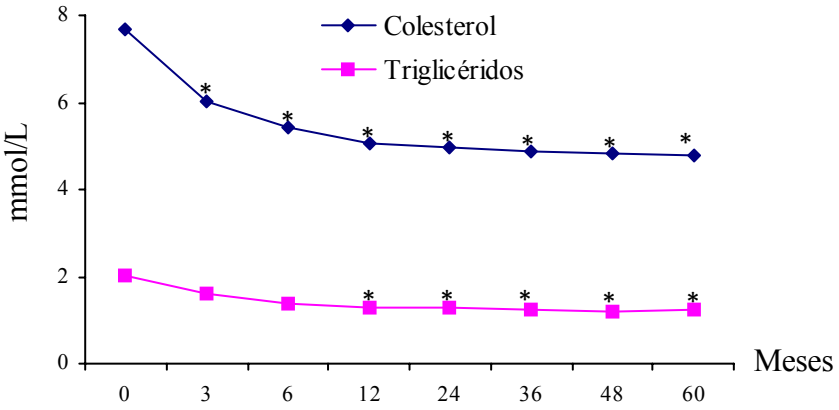
	AAS + policosanol (n=55)	
	n	**%**
Ningún evento nuevo	50	90,9
≥1 ictus recurrente	1	1,8
≥1 ATI recurrente	4	7,3
≥1 ictus + ATI recurrentes	5	9,1
Otros eventos vasculares	0	0,0

n: número de pacientes, AAS ácido acetil salicílico (aspirina), ATI (ataque transitorio de isquemia)

Todas las comparaciones resultaron no significativas (Test de la Probabilidad Exacta de Fisher)

La **Fig. 2** muestra los cambios en las cifras de CT y TG. El policosanol redujo los niveles de CT en suero después de 3 meses de tratamiento de 7,67 mmol/L al inicio del estudio a 6,04 mmol/L (21.3%), un efecto que se acentuó con la duración del tratamiento, hasta alcanzar valores de 5,07 (33.9%) y 4,76 (37.9%) mmol/L después de 1 y 5 años de tratamiento, respectivamente.

El incremento en el puntaje de la escala ENC se correlacionó significativamente con la reducción del CT (r=0,987). Tras 12 meses de tratamiento, las cifras de TG disminuyeron modesta, pero significativamente, con respecto a las basales.



*p<0,001. Comparaciones vs valores basales. Test de Wilcoxon con ajuste de Bonferroni.

Fig. 2. Efectos sobre las cifras de colesterol total y triglicéridos.

3.2.2.1.4 Análisis de seguridad y tolerabilidad

El policosanol fue muy bien tolerado. Se encontró también una disminución de la presión arterial sistólica y diastólica y disminución del peso corporal (**Tabla 25**)

Tabla 25. Efectos sobre los indicadores de seguridad (X ± DE)

Basal	3 meses	6 meses	12 meses	24 meses	36 meses	48 meses	60 meses
Peso (kg)							
74,05 ± 9,45	71,69 ± 8,43	70,82 ± 8,17	70,02 ± 7,77	69,84 ± 7,86	69,55 ± 7,83*	69,18 ± 7,51*	68,63 ± 7,32*
Frecuencia Cardíaca (latidos/min)							
80,40 ± 5,82	79,47 ± 4,70	78,29 ± 4,15	77,91 ± 4,88	77,18 ± 4,77*	78,93 ± 7,36	78,24 ± 4,39	78,00 ± 4,15
Presión Arterial Diastólica (mm Hg)							
93,36 ± 6,67	84,55 ±	81,55 ± 3,02*	79,36 ± 3,34*	77,91 ± 4,58*	78,15 ± 3,54*	77,50 ± 4,72*	78,21 ± 3,39*
Presión Arterial Sistólica (mm Hg)							
151,45	133,82 ±	128,55 ± 5,67*	125,35 ± 4,80*	122,82 ± 4,69*	122,41 ±7,19*	122,02 ± 4,14*	121,79 ± 2,79*
Glucosa (mmol/L)							
4,81 ± 1,17	4,76 ± 0,86	4,81 ± 0,70	4,71 ± 0,75	4,73 ± 0,69	4,78 ± 0,62	4,72 ± 0,61	4,73 ± 0,62

X media, DE desviación estándar

*p<0,006; **p<0,001 comparaciones vs niveles basales (Wilcoxon para muestras pareads, ajuste de Bonferroni)

Ningún paciente causó baja del estudio. La **Tabla 26** refleja las EA no vasculares ocurridas durante el estudio. Solo 7 pacientes (12,7%) presentaron EA moderadas: 6 reportaron insomnio y otro paciente presentó taquicardia. Todas las EA se consideraron relacionadas con el tratamiento.

Tabla 26. Experiencias adversas (EA) no vasculares

EA reportadas	**AAS + policosanol (n=55)**	
	N	**%**
Insomnio	6	10,9
Taquicardia	1	1,8
Total de EA	**7**	**12,7**
Total de pacientes que reportaron EA	**7**	**12,7**

n: número de pacientes, AAS ácido acetil salicílico (aspirina)

Todas las comparaciones resultaron no significativas (Probabilidad Exacta de Fisher)

CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN

CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN

4.1 Consideraciones generales

El presente trabajo incluye estudios experimentales y clínicos realizados para determinar si el uso del policosanol presenta ventajas en el manejo del ictus isquémico, primera causa de discapacidad resultante, la segunda de deterioro cognitivo y la tercera de mortalidad de la población adulta. [4-9]

Teniendo en cuenta los datos de la utilidad de los antiagregantes plaquetarios y los reductores de colesterol en la prevención secundaria y en la recuperación del ictus isquémico, [25, 26, 279] era lógico asumir que el policosanol podría, de acuerdo a sus efectos antiagregantes e hipocolesterolemizantes, resultar beneficioso en el manejo de esta condición. En tal sentido, la capacidad del policosanol para inhibir la agregación plaquetaria y la síntesis de colesterol sustentaba su eficacia potencial en el manejo del ictus isquémico, lo cual se veía reforzado por las evidencias de sus efectos antioxidantes y anti-inflamatorios como efectos pleiotrópicos adicionales.

El efecto antiagregante plaquetario del policosanol, demostrado en estudios experimentales y clínicos, [45-47, 191] se asocia a una reducción de las cifras séricas de TXA2, potente vasoconstrictor y pro-agregante plaquetario, responsable del mecanismo de hipoperfusión isquémica retardada, [191] motivada por la inhibición reversible de la actividad de la COX-1, mecanismo demostrado recientemente. [192] Por otra parte, su efecto reductor de colesterol implica la inhibición de la síntesis de colesterol debida a la modulación de la actividad de la HMGCoA reductasa por activación de la AMP kinasa. [41] En consecuencia, el policosanol aumenta el procesamiento receptor-dependiente de las LDL y reduce las cifras séricas de LDL-C y CT. [38]

No obstante, la posible utilidad del policosanol específicamente en la recuperación del ictus isquémico debía ser demostrada más allá de las evidencias iniciales que mostraron su efecto preventivo en modelos de isquemia cerebral [67, 256] y su utilidad en atenuar la progresión de lesiones en pacientes con aterosclerosis carotidea demostrada en un estudio piloto. [68]

Para demostrar la hipótesis asumida, los estudios experimentales investigaron los efectos preventivos y terapéuticos del policosanol en modelos de isquemia cerebral, ya demostrados con anterioridad,

pero esta vez en estudios comparativos e incluyendo aspectos no investigados con anterioridad, incluidos criterios histológicos para evidencia de efecto neuroprotector (reducción de la pérdida y daño de células piramidales de la región CA1 del hipocampo).

Por su parte, los estudios clínicos demuestran, por primera vez, los efectos del tratamiento sobre la evolución neurológica y marcadores de laboratorio en pacientes que han sufrido ictus isquémico, de modo coherente con las tendencias actuales en esta problemática.

Para ello esta discusión aborda primero los resultados de los estudios experimentales y posteriormente analiza los referentes a los estudios clínicos.

4.2 Estudios experimentales

Evidencias experimentales previas a la presente tesis habían demostrado los efectos preventivos y terapéuticos del policosanol en modelos de isquemia cerebral en *Mongolian gerbils,* incluyendo la comparación con AAS y los efectos de la terapia combinada AAS + policosanol. [67] Sin embargo, estos nuevos estudios compararon los efectos preventivos del policosanol con los de una sustancia antioxidante (ESU) y los terapéuticos con un hipolipemiante (atorvastatina), los cuales han demostrado su eficacia en modelos experimentales de isquemia; [257-259] e investigaron los efectos del tratamiento sobre otros indicadores no evaluados con anterioridad, incluido el criterio histológico.

El Polígono de Willis constituye el anillo vascular anastomótico de seguridad más importante del encéfalo humano, situado en la base del cráneo, para garantizar la circulación colateral. Esta estructura presenta diversas variantes anatómicas, en particular las relacionadas con el grado de anastomosis entre la circulación posterior o territorio vertebrobasilar y la circulación anterior o territorio carotídeo, la cual se establece a través de las arterias comunicantes posteriores, que se originan de las arterias carótidas y se unen a las arterias cerebrales posteriores[1,2] variabilidad también observada en el cerebro de roedores.[254,255]

Durante varias décadas los *Mongolian gerbils* han sido muy utilizados para evaluar sustancias con potencial efecto antiisquémico ya que estos animales desarrollan fácilmente la isquemia cerebral al ocluir sus arterias carótidas pues presentan un Polígono de Willis incompleto debido a la ausencia de

arterias comunicantes posteriores en esta estructura vascular. [254, 255] Aunque la validez de este modelo se mantiene, algunos estudios cuestionan su reproducibilidad al encontrarse variaciones del mencionado déficit en diferentes poblaciones de *Mongolian gerbils*, proponiéndose excluir de los experimentos aquellos animales que presenten arterias comunicantes posteriores con diámetros medianos o grandes, [284] o incluso la posición extrema de no considerar este modelo válido. [285]

No obstante, posiciones más equilibradas sustentan continuar con su uso, pero proponen aumentar el tiempo de oclusión de las carótidas de 5 a 15 minutos para aumentar el daño isquémico encefálico [7] y monitorear el nivel de anastomosis en el Polígono de Willis para realizar una mejor interpretación de los resultados. [286]

En estos experimentos no seguimos estas sugerencias, ya que la oclusión se mantuvo durante 5 min y no evaluamos el grado de anastomosis del Polígono de Willis. Sin embargo, dado que en ambos estudios la ligadura de carótidas fue bilateral (no unilateral), la respuesta no depende tanto del defecto anatómico de las arterias comunicantes posteriores característico de estos animales. A ello se suma que 5 min de oclusión se consideran suficientes para producir un elevado daño del hipocampo aun cuando exista un bajo nivel de anastomosis en esta estructura vascular. [284, 286] Teniendo en cuenta que el daño producido por la I/R fue constatada en el estudio histológico y congruente con la hiperlocomoción resultante, consideramos válidos los resultados, que por demás coinciden con otros autores. [287] En tal sentido, ha sido descrito que la ligadura bilateral de las arterias carótidas comunes durante 5 minutos y su reperfusión (I/R) durante 24 h conduce al daño selectivo de regiones vulnerables del cerebro, en particular de las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo. [263] La verificación del daño cerebral inducido por I/R se consolida con el estudio de otros indicadores, tales como la evaluación neurológica de los efectos conductuales mediante el puntaje de síntomas clínicos y la hiperlocomoción medida en la prueba de campo abierto, ya que en los gerbils la isquemia cerebral induce un aumento de la locomoción posterior a la reperfusión que alcanza su máximo a las 24 horas y persiste por varios días. [255] La administración de sustancias neuroprotectoras

protege del daño neuronal y previene el aumento de la locomoción de manera similar, sugiriendo que el daño del hipocampo y la hipermotilidad ocurren a través de un mismo mecanismo. [288]

De acuerdo a lo esperado, los controles positivos mostraron síntomas neurológicos, aumento de la locomoción y del puntaje histológico con respecto a los controles negativos, lo que subraya la validez del modelo utilizado.

Ello se refuerza en el estudio que compara los efectos terapéuticos del policosanol y la atorvastatina, ya que el tratamiento con AAS, sustancia de referencia, redujo significativamente la sintomatología clínica, la hiperlocomoción y el daño histológico producidos por I/R, lo que corrobora la validez del modelo.

El estudio que comparó los efectos preventivos del policosanol y el ESU demostró que ambos tratamientos fueron similarmente efectivos en prevenir la hiperlocomoción inducida por I/R. Las reducciones de la actividad locomotora con 100 mg/kg fueron moderadas (50,4% y 37,5% con policosanol y ESU, respectivamente), si bien la dosis de 200 mg/kg eliminó por completo la hiperlocomoción con relación al control positivo.

Por otra parte, de modo coherente con la presencia de daño en las células piramidales CA1 de los controles positivos y su ausencia en los controles negativos, el puntaje histológico del control positivo fue mayor que en el control negativo. El policosanol y el ESU (100 y 200 mg/kg) redujeron significativamente este puntaje (46,6 y 64,5% con policosanol; 35,4 y 60,0% con ESU), lo que muestra una protección efectiva contra el daño inducido por I/R. Aunque el número de grupos incluidos no permite analizar la existencia de una relación dosis-efecto, el efecto aumentó con las dosis ensayadas.

Las reducciones del puntaje histológico por ambos tratamientos concuerdan en general con las alcanzadas sobre la actividad locomotora, si bien presentan algunas diferencias, ya que los efectos logrados con la dosis mayor (200 mg/kg) de ambas sustancias sobre el puntaje fueron menores (≅65% de inhibición) que sobre la hiperlocomoción (100% de inhibición), lo que se corresponde con lo descrito para otros tratamientos. [263] No obstante, no podemos descartar que dosis mayores de

ambas sustancias hubieran logrado mayor protección del daño histológico, ya que no fueron estudiadas.

Por otra parte, el hecho de que tanto el policosanol como el ESU hayan reducido ambas variables (hiperlocomoción y puntaje histológico) favorece la hipótesis de que la hiperlocomoción en gerbils sometidos a isquemia cerebral global por I/R se asocia al daño extenso y selectivo de las neuronas de la región CA1 del hipocampo que ocurre tras 5 min de oclusión de las carótidas en este modelo. [263] Durante la reperfusión ocurre una re-oxigenación que, aunque permite la viabilidad neuronal, contribuye a la producción de EROS que propician el daño de lípidos, proteínas y ADN. [289]

En tal sentido, estudios experimentales han demostrado la eficacia de sustancias antioxidantes en reducir el daño neuronal y el aumento de marcadores oxidativos generados por el proceso de I/R. [290-292] La PL en particular es un marcador importante del EO cuya extensión puede determinarse mediante la medición de subproductos de dicho proceso como los niveles de MDA, mientras el grado de oxidación proteica puede evaluarse mediante diversos marcadores, como los GSF asociados a proteínas. [293]

Este estudio investigó los efectos sobre las concentraciones de MDA y GSF en plasma y no en cerebro, lo que parece una limitación. No obstante, lo hicimos porque en realidad queríamos saber si la isquemia global cerebral inducida por I/R aumentaba marcadores del EO detectables en fluidos biológicos (como los resultados evidenciaron) pues ello subraya su utilidad en los estudios clínicos.

De modo consistente, observamos un aumento de ambos marcadores (MDA y GSF) en el plasma de los controles positivos con respecto a los controles negativos, aumento reducido en los grupos sometidos a I/R tratados con policosanol o ESU. A la menor dosis el ESU fue más efectivo que el policosanol en reducir ambas variables oxidativas, mientras a la dosis mayor las reducciones logradas fueron estadísticamente similares en ambos grupos (aunque aparentemente mayores con el ESU), de modo que las cifras de MDA y GSF descendieron en un 93,6% y 89,4%, respectivamente, con el policosanol; y en un 100% y un 95,9%, respectivamente, con el ESU.

La eficacia antioxidante y neuroprotectora del ESU encontrada en el estudio no resulta sorprendente, sino congruente con resultados de otros autores, pese a que en este estudio solo se administró como dosis oral única. En tal sentido, ha sido demostrado que la inyección intraperitoneal de ESU (50 mg/kg) 5 min antes de inducir la hipoxia y 4 horas tras re-oxigenar mejoró el puntaje histológico en corteza, hipocampo y tálamo, y redujo el aumento de MDA a los 22 días de haberse producido la hipoxia en ratas neonatas. [294] Además, el tratamiento oral con ESU durante 4 días post-inducción de isquemia cerebral global por I/R en gerbils produjo un efecto neuroprotector por inhibición del daño oxidativo al ADN; [295] y la administración oral de una fórmula conteniendo ESU (30 mg/mL) durante los 4 días previos y posteriores a la inducción de la isquemia redujo la hiperlocomoción y el daño neuronal. [296]

Por su parte, estos resultados demuestran la eficacia preventiva del policosanol administrado por vía oral a dosis de 200 mg/kg en este modelo, lo que en sentido general concuerda con los datos de un primer estudio que investigó los efectos de dosis orales únicas administradas dos horas antes de ligar la carótida común en gerbils. [67] Dicho estudio demostró que mientras dosis de 25 y 50 mg/kg fueron ineficaces, la dosis de 200 mg/kg redujo significativamente la mortalidad y el aumento de las cifras séricas de TXB2 inducida por la isquemia cerebral, y aumentó significativamente las de prostaciclina con relación al control positivo. Aunque la terapia también redujo aparentemente los síntomas asociados a la isquemia (>50% vs el control positivo) la diferencia no fue significativa (p=0,67).

Este estudio confirma la eficacia de la dosis de 200 mg/kg y demuestra que una dosis intermedia mayor que las estudiadas previamente (100 mg/kg) no fue efectiva en prevenir la hiperlocomoción inducida por I/R, pero sí en reducir el puntaje histológico del daño neuronal, la cual es en definitiva la variable de eficacia más dura para ilustrar el efecto neuroprotector.

Existen diferencias en las condiciones e indicadores medidos en ambos estudios. En nuestro estudio no se produjo mortalidad o síntomas drásticos entre los animales, por lo cual no se investigaron los efectos sobre dichas variables. Estas diferencias pueden ser atribuidas a las distintas condiciones en que el daño cerebral fue inducido en ambos modelos: en el primer estudio se indujo la isquemia por

ligadura unilateral y permanente de carótida, pero no se indujo la reperfusión y por ende, no se permitió el desarrollo de la fase restauradora. En nuestro estudio la ligadura se mantuvo por el tiempo mínimo requerido para producir el daño de las neuronas CA1 del hipocampo, procediendo de inmediato a la reperfusión, lo cual conlleva a la hiperlocomoción, síntoma conductual observado y estudiado.

El primer estudio investigó además los efectos del tratamiento sobre las cifras séricas de TXB_2 y prostaciclina (indicadores relacionados con los efectos sobre el metabolismo del AA) y demostró los efectos sinérgicos de la administración conjunta de dosis inefectivas de policosanol (25 mg/kg) y AAS (30 mg/kg) en ese modelo, al reducir completamente (100%) la mortalidad. [67] En cambio, nuestro estudio incluyó la evaluación del daño histológico (variable no explorada con anterioridad pero confirmatoria de daño neuronal) y de los efectos sobre variables séricas oxidativas (MDA, GSF) relacionadas con los efectos antioxidantes del policosanol y del ESU, sustancia de comparación.

En su conjunto podemos afirmar que el estudio añade nuevos conocimientos sobre el efecto preventivo del policosanol en la isquemia cerebral inducida por ligadura de carótidas en gerbils, demuestra su protección a nivel estructural, su concomitante efecto antioxidante y permite comparar su efecto con el de una sustancia efectiva en este modelo (ESU) cuyo efecto se encuentra básicamente mediado por la reducción del EO en el tejido cerebral. [259] Por su parte, los efectos del policosanol sobre las variables oxidativas en este modelo son consistentes con los efectos antioxidantes del policosanol y el octacosanol referidos previamente. [48-50, 297]

Por otra parte, el otro estudio experimental que compara los efectos terapéuticos del policosanol y la atorvastatina es el segundo estudio experimental que demuestra la eficacia del tratamiento oral con policosanol (100 y 200 mg/kg) cuando se administra tras la inducción del daño isquémico, y demuestra por primera vez que esta resulta similar a la de la atorvastatina (10 y 20 mg/kg).

La administración oral de policosanol (100 y 200 mg/kg) o atorvastatina (10 y 20 mg/kg) redujo el puntaje de síntomas, efecto marcado (≥50%) con la dosis mayor de policosanol (73,3%) y atorvastatina (62,6%). En este estudio solo las dosis superiores de policosanol (200 mg/kg) y

atorvastatina (20 mg/kg) redujeron significativamente la hiperlocomoción inducida por I/R, sin diferencias significativas entre grupos, pese a que la reducción con policosanol (84,2%) fue aparentemente mayor que con atorvastatina (74,2%). Es importante resaltar que el efecto del policosanol sobre la hiperlocomoción en este experimento, en el cual se administra post-isquemia, fue algo inferior al observado en el estudio de sus efectos preventivos, en el cual esta dosis logró eliminar los síntomas. Por otra parte, solo el policosanol redujo significativamente (50%) la frecuencia de animales con síntomas con respecto al control positivo.

A diferencia del estudio comparativo con ESU, este estudio incluyó un grupo de referencia tratado con AAS. Todos los tratamientos (policosanol, atorvastatina, AAS) redujeron significativa, pero moderadamente (<50%) el puntaje del daño histológico inducido por I/R, excepto el grupo tratado con la dosis mayor de policosanol, en el cual,la reducción alcanzada fue de un 66,2%.

Al igual que en el estudio del efecto preventivo, el hecho de que el policosanol y la atorvastatina administrados post-isquemia hayan reducido la hiperlocomoción y el puntaje histológico refuerza la hipótesis de la asociación de ambas variables en gerbils sometidos a isquemia cerebral global por I/R. No obstante, la magnitud del antagonismo sobre el puntaje de daño histológico y sobre las manifestaciones conductuales no tiene que ser coincidente, dada la complejidad de estas últimas, las cuales no solo dependen de las lesiones de una estructura cerebral determinada, sino de interacciones entre redes neuronales y neurotransmisores.

De modo coherente con reportes previos de los efectos antioxidantes del policosanol y el octacosanol, [48-50, 297] el policosanol redujo significativamente el aumento de las concentraciones plasmáticas de MDA y GSF inducido por I/R. En cambio, el tratamiento con atorvastatina o AAS no modificó estas variables. En tal sentido, aunque se han referido efectos antioxidantes de la atorvastatina, [36, 298] estos se manifiestan tras la administración de dosis repetidas [299, 300] no de dosis únicas, [301] por lo cual nuestros resultados son coherentes con estos reportes. Por su parte, el hecho que el AAS no haya modificado las variables oxidativas era esperado, pues su eficacia en este modelo depende de sus efectos antiagregantes. [302]

Estos resultados confirman la eficacia terapéutica de la dosis de 200 mg/kg sobre la isquemia cerebral inducida por I/R en *Mongolian gerbils*, lo que concuerda con un primer estudio que demostró los efectos terapéuticos del policosanol en dicho modelo, [256] y muestra coincidencias, diferencias y aportes con relación a dicho estudio, el cual había demostrado que el tratamiento oral con policosanol (200 mg/kg) inmediatamente tras inducir isquemia (15 minutos) y recirculación (4 horas) de carótidas (I/R) en *Mongolian gerbils*, y re-administrarse cada 12 horas en las siguientes 48 horas redujo significativamente la mortalidad y los síntomas clínicos con respecto al control positivo. La dosis inferior (100 mg/kg), sin embargo, no fue efectiva. Además, demostró que el tratamiento con policosanol 200 mg/kg redujo la inflamación y necrosis de las zonas cerebrales estudiadas; el contenido de agua y aumentó el de AMPc en el tejido cerebral con respecto a los controles positivos. Estos resultados indicaban un efecto terapéutico anti-isquémico del policosanol administrado tras inducir la I/R. [256]

En este estudio no se produjeron muertes ni síntomas drásticos, por lo cual los efectos sobre dichas variables no se investigaron.

Estas diferencias pueden atribuirse a que las condiciones de I/R del primer estudio fueron más severas que en el nuestro. Al igual que en el estudio preventivo, en nuestros experimentos la ligadura se mantuvo por el tiempo requerido para producir el daño de las neuronas CA1 del hipocampo y el consiguiente aumento de la locomoción como síntoma conductual. Por otra parte, aunque el primer estudio demostró los efectos sobre alteraciones en diferentes zonas cerebrales (corteza frontal, hipocampo, estriado, tubérculo olfatorio), contenido de agua y AMPc en el tejido cerebral, [256] el nuestro evaluó efectos sobre el daño histológico de las neuronas CA1 del hipocampo, la hiperlocomoción y las variables oxidativas.

Por tanto, nuestro estudio añade nuevos conocimientos sobre el efecto terapéutico del policosanol en la isquemia cerebral inducida por I/R en gerbils, demuestra su protección a nivel estructural, su concomitante efecto antioxidante y lo compara con el de la atorvastatina, sustancia que ha resultado efectiva en modelos de isquemia cerebral e incluso en la prevención secundaria del ictus. [35, 257]

Los efectos de ambos tratamientos sobre las cifras de CT y LDL no se investigaron en este modelo dado el carácter agudo de la administración, ya que los efectos sobre el metabolismo de los lípidos suelen requerir esquemas de tratamiento con dosis repetidas.

Aunque estos estudios no estuvieron dirigidos a investigar los mecanismos involucrados en los efectos observados, los datos sugieren que los efectos del policosanol y el ESU pudieran asociarse, al menos parcialmente, a sus efectos antioxidantes. No obstante, el efecto anti-isquémico de la administración aguda del policosanol en el modelo de isquemia cerebral global en *Mongolian gerbils* puede resultar de un mecanismo multifactorial que involucra sus efectos antiplaquetarios, antiinflamatorios, y antioxidantes. [37] El no haber investigado los efectos sobre agregación plaquetaria y perfil lipídico impide elucubrar sobre otros mecanismos potencialmente participativos en el efecto antiisquémico.

Como en ambos estudios los efectos aumentaron con las dosis y no se investigaron dosis mayores, no puede concluirse que los efectos máximos sean los observados, excepto en el comparativo con ESU en que los síntomas se eliminaron completamente. Por ello, aunque en el estudio de los efectos terapéuticos del policosanol y atorvastatina los efectos de ambos tratamientos fueron estadísticamente similares, al no encontrarse un efecto máximo, no puede confirmarse que la eficacia de ambos tratamientos sea equivalente. Estudios ulteriores deben explorar esquemas de dosis más altas y/o repetidas.

Un aspecto llamativo es el haber incluido un estudio experimental del efecto preventivo del policosanol sobre la isquemia cerebral cuando la tesis se encamina a evaluar sus efectos sobre el manejo del ictus, específicamente sobre la fase recuperativa del ictus. No obstante, esta variante se incluyó para confirmar su efecto neuroprotector (válido para el manejo de la recuperación y de la prevención de ictus recurrentes) con criterios histológicos no utilizados en trabajos previos.

Una limitación aparente de ambos estudios experimentales consiste en no haber incluido la evaluación de las combinaciones AAS + policosanol en las condiciones estudiadas y sobre los nuevos indicadores evaluados dado que si bien el objetivo principal de la tesis consiste en demostrar

si el policosanol produce beneficios que sustenten su uso en el manejo del ictus isquémico, la parte clínica impone, por razones éticas, demostrar si la adición del policosanol a la terapia estándar con AAS proporciona ventajas sobre el tratamiento con AAS en pacientes que sufren ictus isquémico. En tal sentido, mientras esta comparación había sido realizada en el estudio inicial de los efectos preventivos, aunque sin evaluar el efecto sobre criterios histológicos, [67] no se ha realizado en el estudio previo que investigó los efectos terapéuticos, por lo cual debe reconocerse que desconocemos si el tratamiento AAS + policosanol en esas condiciones presenta ventajas sobre el tratamiento con AAS. No obstante, esta limitante queda resuelta en los estudios clínicos controlados realizados ya que en definitiva, aunque los resultados experimentales representan evidencias del beneficio potencial del uso del policosanol en el manejo del ictus isquémico, resulta imprescindible que ello se sustente con evidencias clínicas. En tal sentido, numerosas sustancias con promisorios efectos en modelos experimentales no han podido ser incorporadas a la clínica debido a falta de eficacia y/o efectos adversos, en ocasiones fatales, permaneciendo prácticamente invariable los tratamientos destinados a este fin pese al tiempo y dinero invertidos en su investigación-desarrollo.

En tal sentido, la Mesa Redonda Académica de la Industria para la Terapia del Ictus (*Stroke Therapy Academic Industry Roundtable -STAIR-*), ha realizado un conjunto de recomendaciones sobre los estudios experimentales y clínicos necesarios para lograr el éxito en el desarrollo de nuevos tratamientos que sugieren el uso de diferentes especies, animales de ambos sexos, inclusión de variables funcionales, morfológicas/histológicas y bioquímicas. [189]

Pese a ello se mantienen limitaciones por razones prácticas ya que los estudios experimentales se desarrollan fundamentalmente en animales adultos jóvenes y la mayoría de los ictus ocurren en sujetos de edad media y avanzada, en los cuales coexisten diversos factores de riesgo y condiciones comórbidas como hipertensión, diabetes, dislipidemia, entre otras, no presentes en los modelos experimentales.

En sentido general, los modelos experimentales para el estudio del ictus se dividen en dos categorías: los que estudian el modo en que los factores de riesgo (externos y genéticos) pueden contribuir al

daño vascular que conduce a la aparición de un ictus; y los que investigan las consecuencias fisiopatológicas del ictus y los efectos de diferentes estrategias de intervención (recanalizacion, neuroprotección, neuroreparación, terapias anti-inflamatorias) sobre esta entidad. [187-190]

Los estudios presentados en esta tesis se corresponden al uso del segundo tipo de modelos y consolidan los resultados iniciales al respecto, [67, 256] añadiendo nuevos elementos no explorados con anterioridad como el uso de diferentes esquemas de administración, criterios histológicos y bioquímicos. Sin embargo, estas evidencias requerían completarse con resultados clínicos que avalaran la utilidad del policosanol en el manejo del ictus isquémico.

4.3 Estudios clínicos

Los resultados de los estudios clínicos que conforman esta tesis demuestran que la administración oral de policosanol junto a la terapia convencional con AAS contribuye favorablemente a la recuperación del déficit neurológico post-ictus isquémico de acuerdo a las escalas utilizadas (ENRm, ENC), cuyos cambios representaron la variable primaria de eficacia en todos los estudios. Esta afirmación se sustenta fundamentalmente en las evidencias de los dos estudios aleatorizados, a doble ciegas y controlados con un grupo tratado con AAS + placebo; y como evidencias de soporte las obtenidas en el estudio abierto a largo plazo realizado en pacientes que recientemente habían sufrido un ictus isquémico y presentaban antecedentes de ATI previos.

Como otro beneficio del tratamiento se constataron cambios favorables del perfil lipídico, ya que se puso de manifiesto la reducción de los niveles séricos de CT, variable medida en todos los ensayos; mientras que en los aleatorizados, a doble ciegas y controlados con AAS + placebo se observó la reducción de las cifras séricas de LDL-C y el aumento de las de HDL-C. Teniendo en cuenta que el descenso de las cifras de LDL-C es la variable del perfil lipídico que mejor se asocia al descenso del RR de ictus isquémico;[35] este resultado sustenta, que además del impacto del tratamiento sobre la recuperación neurológica, la utilidad de añadir el policosanol a la terapia estándar con AAS en pacientes que han sufrido un ictus isquémico puede reforzar la disminución de factores de riesgo mayores modificables que puedan contribuir a la recurrencia del ictus. A ello se suma el aumento

observado en los niveles de HDL-C, efecto también vinculado, [35] aunque con menor consistencia, a la reducción del RR de sufrir un ictus isquémico.

Por otra parte, los estudios aleatorizados, controlados y a doble ciegas demostraron otros beneficios vinculados a los efectos pleiotrópicos beneficiosos del policosanol como sus efectos antiagregantes plaquetarios y antioxidantes.

Una discusión más detallada de las evidencias obtenidas requiere su diferenciación de acuerdo al tipo de estudios en que estas se generan. Para ello, discutiremos primero los resultados de los dos estudios controlados con AAS + placebo, y posteriormente los del estudio abierto a largo plazo.

4.3.1 Estudios aleatorizados, a doble ciegas y controlados con AAS + placebo

4.3.1.1. Poblaciones de estudio

En ambos estudios los grupos a comparar (AAS + policosanol vs AAS + placebo) fueron homogéneos como lo demuestra el hecho de que sus características basales estuvieron bien balanceadas. Ello avala la adecuada aleatorización de la asignación de tratamientos e indica que los resultados encontrados en el grupo AAS + policosanol son atribuibles al tratamiento investigado.

La edad promedio de los pacientes (64 - 66 años) es coherente con la edad de los pacientes incluidos en dos estudios previos realizados en el INN [11, 69] y con lo reportado por otros autores. [16]

La distribución por sexo estuvo totalmente equilibrada en el primer estudio (46 hombres, 46 mujeres); mientras en el segundo se aprecia un ligero predominio de mujeres (26 hombres, 35 mujeres), situación que remeda mejor la estadística habitual del ictus isquémico en la práctica clínica. [106]

Las características basales muestran que la población incluida en ambos estudios presentaba una elevada frecuencia de factores de riesgo modificables de sufrir ictus isquémico, los cuales también estuvieron bien balanceados en ambos grupos.

De particular interés es destacar que el puntaje de la ENRm fue prácticamente idéntico en ambos estudios (2,9 en el primero, 2,8 en el segundo) e indica la presencia de un grado promedio de déficit neurológico moderado.

La ingesta elevada de sal, el sedentarismo y la HTA constituyeron una tríada de factores de riesgo cuya frecuencia fue >90% en ambos estudios. Resulta congruente la coexistencia de la elevada frecuencia de HTA y la alta ingesta de sal, ya que un alto consumo de sodio tributa como factor de riesgo principalmente por su contribución al desarrollo de HTA. [24] Por su parte, la frecuencia de pacientes con un índice kg/m2 ≥25 (sobrepeso + obesidad) es consistente con la elevada frecuencia de sedentarismo y HTA. Aunque la obesidad y no el sobrepeso es un factor de riesgo de ictus reconocido, en nuestro trabajo lo consideramos en su conjunto porque tanto el sobrepeso como la obesidad se corresponden con el sedentarismo y los malos hábitos alimentarios, y porque además el sobrepeso contribuye al deterioro de la resistencia a la insulina y a la aparición de síndrome metabólico, [122] factores reconocidos como contribuyentes al riesgo vascular en su conjunto. [4]

La frecuencia del hábito de fumar fue alta (45,7% en el primer estudio, 36,1% en el segundo) si se tiene en cuenta que es un hábito tóxico que debe ser erradicado. La proporción de fumadores en ambos estudios es coherente con el papel del tabaquismo como factor de riesgo de ictus, [80] pero lamentablemente indica que la campaña para que nuestra población deje de fumar no ha logrado el efecto deseado, cuando debiera ser el primer factor a eliminar.

La frecuencia de dislipidémicos y diabéticos incluidos en ambos ensayos fue limitada (<20%) con respecto a los factores de riesgo ya mencionados, particularmente con relación a la HTA, si se tiene en cuenta la connotación de la diabetes y la dislipidemia como factores que contribuyen al desarrollo del ictus. A su vez, la frecuencia de enfermedad coronaria fue baja en los dos ensayos (6,5 y 6,6%).

De modo consistente con los factores de riesgo, la frecuencia total de consumo de medicaciones concomitantes fue alta, si bien en el segundo estudio fue mayor (91,8%) que en el primero (82,6%).

Aunque estadísticamente el consumo en ambos grupos fue similar, en el segundo estudio se aprecia una desproporción ya que 96,7% de los pacientes tratados con AAS + placebo y 87,1% de los que consumieron AAS + policosanol, respectivamente, consumieron otras medicaciones. Los IECA fueron los tratamientos concomitantes más usados (>70%), consistente con la frecuencia de hipertensos.

La cifra de abandonos fue muy baja (≤5%) si se tiene en cuenta que la duración del tratamiento fue de 6 meses y que los sujetos habían sufrido un ictus isquémico. En el primer estudio solo 2 pacientes causaron baja (2,2%) por un viaje al extranjero (1 tratado con AAS + policosanol) y por no deseos de continuar (1 tratado con AAS + placebo); mientras que en el segundo no hubo bajas. Ello avala el apego a las condiciones del estudio y su organización, indica la seguridad del tratamiento al no producirse bajas por EA y confiere validez a los resultados en ambos estudios

4.3.1.2. Análisis de la eficacia

La adhesión al tratamiento fue muy buena (90%) y similar en ambos grupos.

Teniendo en cuenta que la variable primaria del estudio consistía en obtener una reducción significativa de la ENRm con respecto a los valores basales y el placebo, de más de un 20% de diferencia entre ambos grupos, los resultados obtenidos sustentan la utilidad de la terapia AAS + policosanol con relación a la terapia AAS + placebo, la cual remeda a la terapia convencional con AAS en el manejo post-ictus isquémico. Al final del tratamiento, el grupo AAS + placebo mostró un descenso de los valores de la ENRm, alcanzando cifras significativas de 17,9% en comparación con los valores basales en uno de los estudios. Este resultado era de esperar teniendo en cuenta el tiempo transcurrido desde la ocurrencia del ictus y el valor terapéutico/preventivo de la terapia con AAS y medidas de cambio en el estilo de vida, base de la terapia convencional en estos casos.

En contraste, el tratamiento con AAS + policosanol mostró un descenso significativo del puntaje en los dos estudios realizados (>20%) a partir de las 6 semanas que se acentuó con el tiempo hasta obtener descensos de 55,2 y 67,9% en la consulta final (6 meses de tratamiento) con respecto a los valores basales. En consecuencia, la diferencia neta en el cambio de los valores de la ENRm en ambos estudios fue de 37,3 y 59,9%, lo cual sobrepasa el criterio de eficacia establecido en el protocolo. Si tenemos en cuenta que el estudio NINDS rt-PA, realizado en pacientes tratados durante la fase aguda del ictus, mostró una mejoría neurológica de la ENRm (entre 11 y 13%) con respecto al grupo placebo a los 90 días, [178] la relevancia clínica de los resultados son evidentes ya que logra un beneficio comparable en la recuperación del deficit neurológico residual posterior al alta hospitalaria

pese a que la terapia con AAS + policosanol se administra en un plazo mucho más amplio y retardado (2 - 35 días post ictus) y no estrictamente en la fase aguda del ictus como ocurre en el tratamiento trombolítico.

Por otra parte, estos resultados son consistentes con los de un estudio piloto realizado en Hospital Finlay en pacientes seguidos durante 6 meses post ictus, en el cual la terapia con AAS + policosanol (20 mg/d) redujo la ENRm en un 50% a los 6 meses de tratamiento con respecto a los valores basales y en un 27,8% con respecto al grupo placebo, si bien el número de abandonos ocurridos y el no haber alcanzado el tamaño muestral previsto limitó la extrapolación de tales resultados (datos no publicados), confirmados en nuestros estudios, pese a que en el estudio del Hospital Finlay el tratamiento con AAS + policosanol se inició 72 horas post ictus y en los nuestros se inició en un plazo entre 2 y 35 días post ictus.

La relevancia clínica de los resultados se refuerza por el análisis individual por pacientes, ya que al culminar los dos estudios más del 60% de los pacientes del grupo AAS + policosanol mostraban un puntaje ENRm $\leq$ 1, criterio de recuperación neurológica practicamente total, mientras que en el grupo placebo + AAS solo 15,2 y 6,5% de los pacientes, respectivamente, mostraron estos valores.

La ENRm es un instrumento confiable y seguro, que refleja la discapacidad global del paciente como una variable clínica utilizada en la evaluación de la recuperación del ictus, [270] y que se ha empleado con éxito en diversos estudios de intervención farmacológica para evaluar la recuperación del déficit neurológico postictus, [273, 274] entre los cuales destacan el clásico estudio NINDS rt-PA, en el cual el uso de rt-PA se asoció a mejorías neurológicas en todos los subtipos de ictus. [178]

Por su parte, el estudio ECASS-2 que investigó el efecto del rt-PA (0,9 mg/kg) o placebo dentro de las 6 primeras horas post-ictus utilizó como variable primaria de eficacia el porcentaje de casos que lograran un puntaje ENRm entre 0 y 1 a los 90 días, encontrándose cifras elevadas y sin diferencias entre los grupos (40,3% en los tratados, 36,6% en el placebo)[183] debido a que la severidad de los casos incluídos fue baja, lo que podría explicar la evolución tan favorable del grupo placebo, no coincidente con la de otros estudios. El estudio PROACT-2, el cual investigó el efecto de la terapia

con prourokinasa administrada localmente en un trombo de la arteria cerebral media dentro de las primeras 6 horas post-ictus, alcanzó la meta de puntaje ENRm a los 90 días (40% en el grupo tratado, 25% en el placebo). [185]

Con relación al efecto de las drogas hipolipemiantes, un estudio que investigó el efecto del pre-tratamiento con estatinas sobre el pronóstico del ictus definió como mal pronóstico un puntaje ≥4 de la ENRm al alta hospitalaria y encontró que del 23% de los 1360 casos que utilizaba previamente estatinas, un 42% tuvo un mal pronóstico. [176]

Los efectos del tratamiento AAS + policosanol sobre el perfil lipídico, en sentido general, fueron los esperados. Mientras en el grupo tratado con AAS + placebo no se produjeron cambios significativos, el tratamiento con AAS + policosanol redujo significativamente las cifras de LDL-C y CT e incrementó las HDL-C, este hecho es relevante, ya que ni las estatinas han logrado elevar significativamente las HDL-C, las cuales como es bien conocido tiene un papel protector sobre el endotelio vascular. El porcentaje de casos que lograron estas reducciones en el grupo AAS + policosanol fue superior al logrado en el grupo AAS + placebo lo que subraya que este hallazgo es atribuible al tratamiento y no simplemente a los cambios de estilo de vida recomendados.

El tratamiento con AAS + policosanol redujo la AP inducida por AA (3 mmol/L) (41,0%) resultado que cumple con el criterio de eficacia planteado para esta variable (reducciones de la AP al AA >15%) y se encuentra entre los valores reportados en estudios anteriores.

Es de notar que en condiciones basales se presentó una frecuencia relativamente alta de pacientes con bajos valores de AP (<10%) al AA (3 mmol/L), una buena respuesta al efecto antiagregante del AAS ya que en este momento todos los pacientes se encontraban bajo tratamiento con AAS. Así, se presentaron 5/92 (5,4%) casos que no agregaron al AA : 2 AAS + policosanol, 3 AAS + placebo, y 31/92 (33,7%) casos con valores bajos de agregación al AA :16 AAS + policosanol, 15 AAS + placebo. Así, la carencia de una significante reducción de la AP en el grupo AAS+placebo aquí encontrada es razonable, dado que todos los pacientes tenían al menos una semana de tratamiento con AAS en el momento de la aleatorización. Después de 12 y 14 semanas de tratamiento la AP inducida por AA

disminuyó significativamente en un 30,3 y 41%, respectivamente, con AAS+policosanol y no cambió con AAS+placebo. Estos resultados sustentan que el policosanol adicionado a la terapia con AAS incrementa la respuesta antiagregante plaquetaria frente a la AP inducida por AA, una variable sobre la cual el AAS produce un notable efecto inhibitorio.

Vale destacar que en esta población no se manifiestó *resistencia al AAS,* reportada para un 27,1% de los pacientes tratados, [129, 132] dado el mantenimiento de su efecto plateau con dosis repetidas por largo plazo lo cual subraya su utilidad como agente antiagregante efectivo, de fácil adquisición y con una extensa historia de uso en la práctica clínica.

Los resultados de este estudio son consistentes con la inhibición irreversible inducida por el AAS sobre la actividad de la COX-1 en plaquetas y megacariocitos, bloqueando la formación de TXA_2 (potente vasoconstrictor y antiagregante plaquetario). Debido a que las plaquetas son incapaces de regenerar la COX, el efecto antitrombótico inmediato del AAS se mantiene durante el tiempo de vida de las plaquetas (7 - 10 días), pero el 10% de las plaquetas circulantes se reemplaza cada 24 horas, por lo cual a los 5 ó 6 días de ingerir una dosis de AAS el 50% de las plaquetas ya funciona normalmente. De ahí que se recomienda su uso diario o en días alternos para lograr un efecto antiagregante mantenido, sin que exista mayor efecto tras dosis repetidas por largo plazo. De hecho, el efecto acumulativo del AAS produce inhibición máxima (>95%) de la función plaquetaria tras 4 ó 5 días de terapia. [129-131]

Además, la terapia AAS + policosanol también redujo significativamente la agregación al ADP, siendo conocido que el AAS ejerce un efecto marginal sobre esta variable, por lo cual el efecto, aunque de modesto ($p<0,05$ vs basal) a moderado (24,9% vs valores basales, 18,7% vs placebo) es atribuible sin lugar a dudas al policosanol. Así, la terapia con dosis repetidas de clopidogrel (300 - 600 mg), el cual inhibe la agregación al ADP y no al AA, inhibe la agregación plaquetaria al ADP entre un 50 - 60%, [136-140] lo que indica que la inhibición lograda con la terapia combinada es apreciable y contribuye, junto a su marcado efecto sobre la agregación al AA, a inhibir la AP global durante el proceso de aterotrombosis.

La agregación al colágeno, sin embargo, no fue modificada significativamente por la terapia AAS + policosanol, lo que aparentemente parece contradictorio si se tienen en cuenta los efectos sobre la agregación al AA, ya que agentes que inhiben la agregación por AA suelen reducir la agregación por colágeno. Sin embargo, este resultado parece relacionarse con los muy bajos valores basales de agregación al colágeno (<15%) en ambos grupos lo que indica una gran eficacia del AAS que permitió reducir las cifras al nivel observado.

El tratamiento AAS + policosanol disminuyó las cifras de endotelemia, lo cual concuerda con resultados previos en otras poblaciones, como en ancianos con dislipidemia. [209] Las cifras de endotelemia representan un indicador indirecto del funcionamiento del endotelio vascular y el aumento de las células endoteliales en sangre constituye un marcador de envejecimiento del mismo, habiéndose descrito que algunos tratamientos, como la pravastatina, y los inhibidores de la tromboxano sintetasa contribuyen a su reducción. [209] En el grupo tratado con AAS + placebo no se apreciaron cambios significativos sobre esta variable.

Este resultado refuerza el efecto beneficioso del tratamiento con policosanol adicionado a la terapia estándar con AAS, ya que demuestra su eficacia protectora sobre el funcionamiento del endotelio vascular, lo cual apoya la acción anti-aterosclerótica integral del policosanol dados sus efectos pleiotrópicos.

Por otra parte, el tratamiento con AAS + policosanol durante 6 meses produjo efectos beneficiosos sobre las variables oxidativas investigadas, ya que redujo significativamente los niveles plasmáticos de MDA (13,9%), los GSF (19,2%), así como incrementó significativamente la CAOTP (9,1%), a diferencia del grupo AAS + placebo que no modificó ninguna de estas variables oxidativas. Estos resultados concuerdan con resultados previos obtenidos por el policosanol en estudios a corto y mediano plazo realizados en otras poblaciones. [193, 215]

El encéfalo es particularmente vulnerable al EO y presenta menos mecanismos de defensa antioxidante con respecto a otros órganos. El sistema nervioso necesita para su adecuado funcionamiento de la presencia constante de oxígeno y glucosa de los cuales no presenta reservas y

al ocurrir la interrupción del flujo sanguíneo cerebral durante los eventos isquémicos se provoca un déficit energético que conlleva inevitablemente a la muerte celular por necrosis, iniciándose así una respuesta inmune, con activación de las células inflamatorias y generación de EROS, [292, 293] los cuales provocan un daño devastador al tejido cerebral, de esto se desprende la constante búsqueda de sustancias antioxidantes con efectos beneficiosos en el ictus isquémico. [19, 20]

Los resultados del presente estudio confirman el efecto beneficioso de la adición de policosanol a la terapia estándar de AAS ya que aportó efectos antioxidantes favorables al reducir la peroxidación lipídica, la oxidación proteica y estimular la capacidad antioxidante total del plasma, todo lo cual no se registró con el tratamiento convencional. Por tanto, la eficacia antioxidante del policosanol constituye uno de sus efectos pleiotrópicos favorables involucrado en su acción beneficiosa integral.

Por otra parte, ha sido documentado que los pacientes que han sufrido ictus isquémicos presentan elevados valores plasmáticos de peroxidación lipídica y decrecidos valores de su capacidad antioxidante total del plasma, [303, 304] así como que la neuro-rehabilitación, una práctica común, ha sido capaz de disminuir la peroxidación en plasma durante la recuperación neurológica de estos pacientes. [305] En consonancia con estos hallazgos, los resultados aquí presentados ofrecen una ventaja adicional con el uso del AAS + policosanol lo que contribuye a la recuperación post-ictus.

Como era esperado, ambos tratamientos resultaron seguros y bien tolerados, lo que coincide con datos previos de la seguridad a largo plazo del policosanol y el uso del AAS en la práctica clínica.

Es de notar que en ambos estudios se produce un descenso de la presión sistólica en el grupo AAS + policosanol, el cual resultó significativo respecto a los valores basales y al grupo AAS + placebo. Sin embargo, este descenso de la presión sistólica, en lugar de representar un posible EA del tratamiento, podría constituir un beneficio, ya que ningún caso presentó valores o síntomas de hipotensión y por otra parte, la reducción de las cifras de presión sistólica, aún y cuando sea moderada, tiene un efecto favorable sobre la morbilidad y mortalidad por causas vasculares, fundamentalmente en ancianos. En este caso en particular, dada la elevada frecuencia de casos con HTA en los estudios y que la HTA es el principal factor de riesgo modificable del ictus isquémico, podemos señalar que este resultado se

suma a los beneficios obtenidos, aún y cuando no haya sido una variable de eficacia. Estos resultados coinciden con los de algunos estudios a largo plazo en ancianos, si bien no habían sido observados en estudios previos en pacientes con ictus, por lo cual no pueden extrapolarse como un efecto esperado de la terapia.

Por otro lado, en uno de los estudios el policosanol produjo un descenso significativo del peso corporal con respecto al valor inicial y no con respecto al grupo placebo. Este resultado no se correponde con los obtenidos en los diferentes estudios clínicos controlados o abiertos de corto y largo término. Sin embargo, en dos estudios de vigilancia farmacológica que han incluido un total de 27 879 [252] y 6611 pacientes, [253] respectivamente, la pérdida de peso constituye uno de los EA más frecuentes (<0,5%) reportados por esta población.

Ningun paciente causó baja de los estudios por EA. Todas las EA referidas fueron leves y transitorias, solo una fue moderada, sin diferencias significativas entre grupos.

4.3.2 Estudio Abierto

Por otro lado, los resultados del estudio abierto confirman los anteriores. La administración de AAS + policosanol 20 mg en pacientes con ictus isquémico y un ATI previo mejoró la evolución neurológica evaluada a través de ENC, otra de las escalas más utilizadas y validada en la práctica clínica para el seguimiento de la recuperación neurológica en pacientes con ictus. [279-281] Muy significativo resulta el hecho de que menos del 10% de los pacientes sufrieron ATI recurrente en los 5 años de seguimiento del estudio, máxime teniendo en cuenta que es conocido que un alto porciento de los pacientes presentan recidiva de ATI o ictus principalmente en el primer año post ictus.

La población de estudio fue representativa de los pacientes tributarios del tratamiento post ictus isquémico. La edad media de los pacientes al inicio resulta consistente con la edad media estimada para la aparición del primer evento cerebrovascular (68,6 y 72,9 años en hombres y mujeres, respectivamente). También fue elevada en la población de estudio la frecuencia de factores de riesgo incluyendo un ATI previo en todos los pacientes destacándose además la HTA y la HC, mientras

otros factores de riesgo como el tabaquismo y las enfermedades coronarias estuvieron presentes en >25% de la población estudiada.

El número de mujeres afectadas superó ligeramente el número de hombres (29 y 26, respectivamente), lo que difiere del hecho de que otros estudios reportan que el ictus es más común en hombres que en mujeres de edad similar. [6, 23, 77] Sin embargo, es conocido que después del climaterio la posibilidad de sufrir un ictus isquémico se equipara entre hombres y mujeres, debido al cese de la protección hormonal, que hasta ese momento presenta la mujer, por lo cual, son razonables estos hallazgos teniendo en cuenta que la edad promedio del estudio fue de 65,5 años, lo que comprende una población de mujeres en edad postmenopáusica.

Además del uso del AAS (100% de los sujetos de estudio), la frecuencia de los casos tratados con antihipertensivos fue alta (98,2%), en consonancia con la alta frecuencia de los sujetos hipertensos, la mayoría de los pacientes recibieron IECA, principalmente enalapril.

La recurrencia de ictus (1; 1,8%) y de todos los eventos cerebrovasculares (1 ictus + 4 ATI; 9,1%) resultó muy baja considerando que el estudio abarcó 5 años de seguimiento.

Este hecho, unido a la ausencia de otros eventos vasculares durante el estudio resulta particularmente favorable en comparación con los datos de mortalidad y los eventos vasculares tras la ocurrencia de un ictus isquémico en adultos ≥65 años seguidos durante 3,2 años, en los que la aparición de ictus recurrentes fue de 105/1000 en el primer año después del accidente cerebrovascular inicial, y 52/1000 después de los 2 primeros años. [306] Sin embargo, la etiología de los eventos pudo haber contribuido a este resultado favorable, ya que el mayor número de ictus fue de tipo lacunar, el cual presenta una menor mortalidad que otros tipos de eventos CBV isquémicos como el cardioembólico, reportado en un solo paciente, conociéndose que se asocia a una mortalidad mucho más alta. [307]

En consonancia con datos anteriores de estudios a largo plazo el policosanol redujo los niveles de CT en suero después de 3 meses de tratamiento de 7,67 mmol/L al inicio del estudio a 6,04 mmol/L, un efecto que se acentuó con la duración del tratamiento, hasta alcanzar valores de 5,07 y 4,76 mmol/L después de 1 y 5 años de tratamiento, respectivamente. A pesar de que la diana fundamental en el

tratamiento es lograr la reducción de la LDL-C, este parámetro, no se considera entre los indicadores utilizados rutinariamente en la práctica clínica de Cuba para tratar a los pacientes después del accidente cerebrovascular (CT y triglicéridos), por lo tanto no fue evaluado en este estudio, considerándose este hecho una limitación de estos resultados, ya que no es posible evaluar si se alcanzan las metas establecidas para este tipo de pacientes según las "Guía actuales del manejo de las hiperlipidemias". [6]

El hecho de que la reducción de CT se correlacione con la mejora en la puntuación de la ENC sugiere que tal efecto es debido, al menos en parte, al tratamiento con policosanol, ya que no se han documentado efectos reductores del colesterol para el AAS o los fármacos antihipertensivos, terapia concomitante utilizada con más frecuencia por los sujetos de estudio.

En este estudio, se encontró una reducción significativa de los niveles séricos de TG después de 12 meses de terapia, lo que concuerda con los datos de algunos estudios, pero no con la mayoría de ellos, incluyendo estudios previos en pacientes con ictus. [69]

Aunque no podemos descartar que el policosanol ha contribuido a la disminución de TG, el énfasis en el seguimiento de una dieta saludable, baja en grasas, y el cambio en otros aspectos del estilo de vida de los pacientes, como la práctica de actividad física moderada y la eliminación de hábitos tóxicos después del evento cerebrovascular, podría ser responsable de este resultado.

No se puede concluir, sin embargo, que la mejoría neurológica y la baja frecuencia de eventos CBV recurrentes y/o ATI durante el estudio sea atribuible solo al uso del policosanol ya que el estudio no incluyó un grupo control tratado con placebo más AAS. Sin embargo, una comparación de los datos actuales con la recurrencia de eventos cerebrovasculares en pacientes tratados con AAS muestra que nuestros resultados son más alentadores, lo que sugiere que la adición de policosanol podría ser responsable, al menos parcialmente, de este hecho. [129, 132] La confirmación de que el policosanol tenga además de sus efectos hipolipemiantes otros efectos pleiotrópicos en esta población como antiagregante plaquetario, antioxidante y antiaterosclerótico apoya la razón de ser de tal afirmación. [37]

El tratamiento fue muy bien tolerado, como se esperaba, de acuerdo con estudios previos. [199-207] Ningún paciente abandonó el estudio y la frecuencia de EA (12,7%) fue baja para un estudio a largo plazo.

Tal y como sucedió en los estudios controlados con placebo, se encontró una reducción moderada, pero significativa, en la presión arterial, consistente con datos previos de estudios a largo plazo. [222-226] Sin embargo, ningún paciente tuvo valores de hipotensión y la frecuencia de HTA entre los pacientes del estudio fue muy alta, por lo que la disminución de la presión arterial podría ser potencialmente beneficioso para la recuperación del evento CBV, resultando un beneficio adicional del tratamiento en lugar de EA. Por otro lado, la reducción significativa del peso corporal observada, podría ser el resultado de la acción conjunta de una buena adhesión a la dieta hipolipemiante indicada y un buen cumplimiento del tratamiento. Teniendo en cuenta que el control del peso corporal es una parte de la estrategia para reducir el riesgo de eventos vasculares, tanto isquémicos como hemorrágicos, este resultado no implica un problema de seguridad. [102-105]

Los resultados indican que el policosanol ejerce efectos beneficiosos en la recuperación del paciente con ictus isquémico demostrados en la evolución clínica de los mismos, evaluada a través de diferentes escalas neurológicas específicas, validadas internacionalmente.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Conclusiones

En modelos experimentales

1. El tratamiento preventivo con dosis orales únicas de policosanol y ESU inhibió marcada y significativamente la isquemia cerebral global en *Mongolian gerbils* inducida por isquemia/reperfusión bilateral, indicando que ambos tratamientos produjeron eficacias equivalentes sobre indicadores de evaluación neurológica, daño histológico y estrés oxidativo.

2. El tratamiento terapéutico con dosis orales únicas de policosanol y atorvastatina inhibió significativamente la isquemia cerebral global en *Mongolian gerbils* inducida por isquemia/reperfusión bilateral, con igual eficacia sobre indicadores de evaluación neurológica y con mayor eficacia del policosanol sobre el daño histológico y estrés oxidativo.

En estudios clínicos en pacientes que han sufrido un ictus isquémico

3. El tratamiento AAS + policosanol mejora significativamente la recuperación del déficit neurológico en pacientes que han sufrido ictus isquémico a mediano y largo plazo, con mayor eficacia a la alcanzada con la terapia convencional de AAS.

4. El tratamiento AAS + policosanol reduce significativamente los niveles de CT, LDL-C y TG a la vez que eleva los niveles de HDL-C, con una mayor eficacia a la alcanzada con la terapia estándar de AAS.

5. El tratamiento AAS + policosanol reduce significativamente la agregación plaquetaria, los niveles de endotelemia, la peroxidación lipídica y la oxidación proteica así como incrementa la capacidad antioxidante total del plasma en pacientes que han sufrido ictus isquémico, con mayor eficacia a la del tratamiento convencional con AAS.

6. El tratamiento AAS + policosanol resultó ser tan seguro y bien tolerado como la terapia estándar con AAS.

2. Recomendaciones

1. Realizar estudios de más largo término de tratamiento que aporten nuevas evidencias acerca de las ventajas del uso del AAS + policosanol en pacientes con ictus isquémicos.

2. Realizar nuevos estudios comparativos con otros medicamentos hipolipemiantes en pacientes con ictus isquémicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sacco RL, Kasner SE, Broderick JP, et al. An updated definition of stroke for the 21st century: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. Stroke 2013; 44:2064-89.

2. Morris L, Fahy P, Delassus P, et al. An in vitro assessment of the cerebral hemodynamics through three patient specific Circle of Willis geometries. J Biomech Eng 2013; 136(1):011007-011012, B10-13-1202, doi: 10.1115/1.4025778.

3. Chen PH, Gao S, Wang YJ, et al. Classifying ischemic stroke, from TOAST to CISS. CNS Neurosci Ther 2012; 18:452-456.

4. Hong KS, Bang OY, Kang DW, et al. Stroke Statistics in Korea: Part I. Epidemiology and risk factors: A report from the Korean Stroke Society and Clinical Research Center for Stroke. J Stroke 2013; 15:2-20.

5. Likosky DJ, Lee K, Brown DM, et al. Evidence-based medicine: Review of guidelines and trials in the prevention of secondary stroke. J Hosp Med 2008; 3:S6-S19.

6. Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ, et al. American Heart Association; American Stroke Association Stroke Council. Primary prevention of ischemic stroke: A guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council: Co-sponsored by the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease Interdisciplinary Working Group; Cardiovascular Nursing Council; Clinical Cardiology Council; Nutrition, Physical Activity, and Metabolism Council; and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. Circulation 2006; 113:e873–923.

7. Spence JD. Secondary stroke prevention. Nat Rev Neurol 2010; 6:477-486.

8. Marsh JD, Keyrouz SG. Stroke prevention and treatment. J Am Coll Cardiol 2010; 24:56:683-691.

9. Vaartjes I, van Dis I, Grobbee DE, et al. The dynamics of mortality in follow-up time after an acute myocardial infarction, lower extremity arterial disease and ischemic stroke. BMC Cardiovasc Disorders 2010; 10:57-59.

10. Koton S, Tsabari R, Molshazki N, et al. NASIS Investigators. Burden and outcome of prevalent ischemic brain disease in a national acute stroke registry. Stroke 2013; 44:3293-3297.

11. Sánchez JV, Domínguez L, Wong L, et al. Ictus isquémico y alteraciones electrocardiográficas. Rev Cub Med Int Emerg 2012; 11:2408-2433.

12. Ministerio de Salud Pública, Dirección Nacional de Registros Médicos y Estadísticas de Salud. Anuario Estadístico de Salud 2009; pags 4, 31-41, 43, 45, 47, 49, 51, 56, 69, 70-74, 82, 94.

13. Klein-Ritter D. An evidence-based review of the AMA/AHA guideline for the primary prevention of ischemic stroke. Geriatrics 2009; 64:16-20.

14. Kunst MM, Schaefer PW. Ischemic stroke. Radiol Clin North Am 2011; 49:1-26.

15. Cucchiara B, Ross M. Transient ischemic attack: risk stratification and treatment 2008; 52:S27-S39.

16. Amarenco P, Bogousslavsky J, Caplan LR, et al. Classification of stroke subtypes. Cerebrovasc Dis 2009; 27:493-501.

17. Libby P, Ridker P, Hansson G. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. Nature 2011; 473: 317–325.

18. Ueda M. Pathology of atherothrombosis. Drugs 2010; 70(Suppl 1):3-8.

19. Deb P, Sharma S, Hassan KM. Pathophysiologic mechanisms of acute ischemic stroke: An overview with emphasis on therapeutic significance beyond thrombolysis. Pathophysiology 2010; 17:197-218.

20. Lakhan SE, Kirchgessner A, Hofer M. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: therapeutic approaches. J Transl Med 2009; 7:97-101.

21. De Keyser J, Uyttenboogaart M, Koch MW, et al. Neuroprotection in acute ischemic stroke. Acta Neurol Belg 2005; 105:144–148.

22. Bacigaluppi M, Comi G, Hermann DA. Animal models of ischemic stroke. Part one: modeling risk factors. Open Neurol J 2010; 4:26–33.

23. Bejot Y, Caillier M, Ben Salem D, et al. Ischemic stroke subtypes and associated risk factors: a French population-based study. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2008; 79:1344-1348.

24. Sacco RL, Adams R, Alberts G, et al. Guidelines for stroke prevention of stroke in patients with ischemic stroke or transient isquemic attack. Stroke 2006; 37:577-617.

25. Phillips RA. A review of therapeutic strategies for risk reduction of recurrent stroke. Prog Cardiovasc Dis 2008; 50:264-273.

26. Cornett O, Ocava LC, Singh M, et al. Antithrombotic and thrombolytic therapy for ischemic stroke. Cardiol Clin 2008; 26:251-65.

27. Field TS, Benavente OR. Current status of antiplatelet agents to prevent stroke. Curr Neurol Neurosci Rep 2011; 11:6-14.

28. Apostolakis S, Lip GY, Shantsila E. Pharmacokinetic considerations for antithrombotic therapies in stroke. Expert Opin Drug Metab Toxicol 2013; 9:1335-1347.

29. Hong KS, Oh MS, Choi HY, et al. ROLLERKOST Study Group. Statin prescription adhered to guidelines for patients hospitalized due to acute ischemic stroke or transient ischemic attack. J Clin Neurol 2013; 9:214-222.

30. Segall L, Oprisiu R, Fournier A, et al. Antihypertensive treatment and stroke prevention in patients with and without chronic kidney disease: a review of controlled trials. J Nephrol 2008; 21:374-83.

31. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4,444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). Lancet 1994; 344:1383-1389.

32. Sacks FM, Pfeffer MA, Moyé LA et al, for the Cholesterol and Recurrent Events Trial Investigators: The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. N Engl J Med 1996; 335:1001-1009.

33. The Long-Term Intervention with pravastatin in ischaemic disease (LIPID) study group: Prevention of cardiovascular events and deaths with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. N Engl J Med 1998; 339:1349-1357.

34. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled trial.

Lancet 2002; 360:7-22.

35. Amarenco P, Bogousslavsky J, Callahan A, et al. High-dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack. The Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels (SPARCL) Investigators. N Engl J Med 2006; 355:549-559.

36. Pedersen TR. Pleiotropic effects of statins: evidence against benefits beyond LDL-cholesterol lowering. Am J Cardiovasc Drugs 2010; 10 Suppl 1:10-17.

37. Mas R. Policosanol. Drugs of the Future 2000; 25:569-586.

38. Menéndez R, Fernández I, del Río A, et al. Policosanol inhibits cholesterol biosynthesis and enhances LDL processing in cultured human fibroblasts. Biol Res 1994; 27:199-203.

39. Menéndez R, Amor AM, González R, et al. Effect of policosanol on the hepatic cholesterol biosynthesis of normocholesterolemic rats. Biol Res 1996; 29:253-257.

40. Menéndez R, Amor A, Rodeiro I, et al. Policosanol modulates HMGCoA reductase activity in cultured fibroblasts. Arch Med Res 2001; 32:8-12.

41. Singh DK, Li L, Porter TD. Policosanol inhibits cholesterol synthesis in hepatoma cells by activation of AMP-kinases. J Pharmacol Exp Ther 2006; 106:107-144.

42. Oliaro- Bosso S, Calcio E, Mantegna S, et al. Regulation of HMGCoA reductase by policosanol and octacosadienol, a new synthetic analogue of octacosanol. Lipids 2009; 4:907-916

43. Banerjee S, Porter TD. Tea and policosanol act through different mechanisms to activate AMP-kinase and suppress HMG-CoA reductase to inhibit cholesterol synthesis. Proceedings of the FASEB meeting. FASEB J 2010; 541:23-27.

44. Menendez R, Marrero D, Mas R et al. In vitro and in vivo study of octacosanol metabolism. Arch Med Res 2005; 36:113-119.

45. Arruzazabala ML, Carbajal D, Mas R, et al. Effects of policosanol on platelet aggregation in rats. Thromb Res 1992; 69:321-327.

46. Castaño G, Fernández L, Mas R, et al. Comparison of the effects of policosanol and atorvastatin on lipid profile and platelet aggregation on patients with dyslipidemia and Type 2 diabetes mellitus. Clin Drug Invest 2003; 23:639-650.

47. Castaño G, Arruzazabala L, Fernández L, et al. Effects of combination treatment with policosanol and omega-3 fatty acids on platelet aggregation. A randomized double-blind clinical study. Curr Ther Res 2006; 67:174-192.

48. Fraga V, Menéndez R., Amor AM, et al. Effect of policosanol on in vitro and in vivo rat liver microsomal lipid peroxidation. Arch Med Res 1997; 28:355-360.

49. Menéndez R., Fraga V, Amor AM, et al. Oral administration of policosanol inhibits in vitro copper ion-induced rat lipoprotein peroxidation. Physiol Behav 1999; 67:1-7.

50. Menéndez R, Mas R, Amor AM et al: Effects of policosanol treatment on the susceptibility of low-density lipoprotein (LDL) isolated from healthy volunteers to oxidative modification in vitro. Brit J Clin Pharmacol 2000; 50:255-262.

51. Noa M, Mas R. Effect of policosanol on atherosclerotic plaque composition on aortas of Macaca arctoides monkeys. Arch Med Res 2005; 36:441-447.

52. Noa M, Mas R, Mesa R. Effect of policosanol on intimal thickening in rabbit cuffed carotid artery. Intern J Cardiol 1999; 67:125-132.

53. Noa M, Mas R, de la Rosa MC, et al. Effect of policosanol on lipofundin-induced atherosclerotic lesions in rats. J Pharm Pharmacol 1995; 47:289-291.

54. Noa M, la Rosa MC, Mas R. Effect of policosanol on foam cell formation in carrageenan-induced granulomas in rats. J Pharm Pharmacol 1996; 48:306-309.

55. Arruzazabala ML, Noa M, Menéndez R, et al. Effects of policosanol on atherosclerosis lesions in rabbits with exogenous hypercholesterolemia. Brazil J Med Biol Res 2000; 33:835-840.

56. Rodríguez C, Mesa R, Mas R, et al. Effect of policosanol chronically administered in male monkeys (Macaca arctoides). Fd Chem Toxicol 1994; 32:565-575.

57. Castaño G, Mas R, Fernández L, et al. A double-blind placebo-controlled study of the effects of policosanol in patients with intermittent claudication. Angiology 1999; 50:123-130.

58. Castaño G, Mas R, Fernández L, et al. A long-term study of policosanol in the treatment of intermittent claudication. Angiology 2001; 52:115-125.

59. Castaño G, Mas R, Fernández L, et al. Effects of policosanol and lovastatin in patients with

intermittent claudication: A double-blind comparative pilot study Angiology 2003; 54:25-38.

60. Castaño G, Mas R, Gámez, R et al. Effects of policosanol and ticlopidine in patients with intermittent claudication: A double-blinded pilot comparative study. Angiology 2003; 55:361-371.

61. Illnait J, Castaño G, Alvarez E, et al. Effects of policosanol (10 mg) vs aspirin (100 mg/d) in patients with intermittent claudication: a 10- week, randomized, comparative study. Angiology 2008; 59:269-277.

62. Mas R, Castaño G, Illnait J, et al: Effects of policosanol in patients with type II hypercholesterolemia and additional coronary risk factors. Clin Pharmacol Ther 1999; 65:439-447.

63. Castaño G, Mas R, Fernández JC et al: Effects of policosanol in older patients with type II hypercholesterolemia and high coronary risk. J Gerontol (Med Sci) 2000; 3:M186-M192.

64. Mas R, Castaño G, Fernández L, et al: Effects of policosanol on the lipid profile and cardiac events in older hypercholesterolemic patients with coronary disease. Clin Drug Invest 2001; 21:485-497.

65. Castaño G, Mas R, Fernández J, et al: Effects of policosanol in older patients with hypertension and Type II hypercholesterolemia. Drugs R&D 2002; 3:159-172.

66. Mas R, Castaño G, Fernández J, et al. Effects of policosanol on morbidity and mortality in older hypercholesterolemic patients. J Am Coll Cardiol 2002; 39 (Suppl B):429B.

67. Arruzazabala ML, Carbajal D, Molina V, et al. Effect of policosanol on cerebral ischemia in Mongolian gerbils: Role of prostacyclin and thromboxane A2. Prostag, Leuk & Ess Fatty Acids 1993; 49:695-697.

68. Batista J, Stusser R, Penichet M, et al. Doppler-ultrasound pilot study of the effects of long-term policosanol therapy on carotid-vertebral atherosclerosis. Curr Ther Res 1995; 56:906-914.

69. Ortega L, Sánchez J, Mas R, et al. Effects of policosanol on patients with ischemic stroke: A pilot open study. J Med Food 2006; 9:378–382.

70. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. Lancet 2012; 380:2095-2128

71. Wasserman J, Perry J, Dowlatshahi D, et al. Stratified, urgent care for transient ischemic attack results in low stroke rates. Stroke 2010; 41:2601-2605.

72. Uchiyama S. The concept of acute cerebrovascular syndrome. Front Neurol Neurosci 2014; 33:11-18.

73. Galea J, Brough D. The role of inflammation and interleukin-1 in acute cerebrovascular disease. J Inflam Res 2013; 6:121-128.

74. del Zoppo GJ. The neurovascular unit, matrix proteases, and innate inflammation. Ann N Y Acad Sci 2010; 1207:46-49.

75. del Zoppo GJ. Inflammation and the neurovascular unit in the setting of focal cerebral ischemia. Neuroscience 2009; 58:972-982.

76. Xu S, Pan S. The failure of animal models of neuroprotection in acute ischemic stroke to translate to clinical efficacy. Med Sci Monit Basic Res 2013; 19:37-45.

77. Furie KL, Kasner SE, Adams R, et al; Guidelines for the Prevention of Stroke in patients with stroke or transient ischemic attack. A Guideline for Healthcare Professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. Stroke 2011; 42:227-276.

78. Lawes CM, Vander Hoorn S, Rodgers A. International Society of Hypertension. Global burden of blood-pressure-related disease. Lancet 2008; 371:1513-1518.

79. Pedelty L, Gorelick PB. Management of hypertension and cerebrovascular disease in the elderly. Am J Med 2008; 121(Suppl 8):S23-31.

80. Peters SA, Huxley RR, Woodward M. Smoking as a risk factor for stroke in women compared with men: a systematic review and meta-analysis of 81 cohorts, including 3,980,359 individuals and 42,401 strokes. Stroke 2013; 44:2821-22828.

81. Nakamura K, Nakagawa H, Sakurai M, et al. Influence of smoking combined with another risk factor on the risk of mortality from coronary heart disease and stroke: pooled analysis of 10 Japanese cohort studies. Cerebrovasc Dis 2012; 33:480-491.

82. Meeuwisse-Pasterkamp SH, van der Klauw MM, Wolffenbuttel BH. Type 2 diabetes mellitus: prevention of macrovascular complications. Expert Rev Cardiovasc Ther 2008; 6:323-341.

83. Iso H, Jacobs DR Jr, Wentworth D, et al. Serum cholesterol levels and six-year mortality from stroke in 350,977 men screened for the multiple risk factor intervention trial. N Engl J Med 1989; 320:904-910.

84. Prospective Studies Collaboration. Cholesterol, diastolic blood pressure, and stroke: 13,000 strokes in 450,000 people in 45 prospective cohorts. Lancet 1995; 346:1647-1653.

85. Zhang X, Patel A, Horibe H, et al. Asia-Pacific Cohort Studies Collaboration. Cholesterol, coronary heart disease, and stroke in the Asia Pacific region. Int J Epidemiol 2003; 32:563-572.

86. Horenstein RB, Smith DE, Mosca L. Cholesterol predicts stroke mortality in the Women's Pooling Project. Stroke 2002; 33:1863–1868.

87. Iwashita M, Matsuhista Y, Sasaki J, et al. Relation of serum total cholesterol and other factors to risk of cerebral infarction in Japanese men with hypercholesterolemia – The Kyushu Lipid Intervention Study. Circ J 2005; 69:1-6.

88. Bots ML, Elwood P, Nikitin Y, et al. Total and HDL cholesterol and risk of stroke. EUROSTROKE: a collaborative study among research centres in Europe. J Epidemiol Community Health 2002; 56(Suppl 1): i19–i24.

89. Yeh PS, Yang CM, Lin SH, et al. Low levels of high-density lipoprotein cholesterol in patients with atherosclerotic stroke: a prospective cohort study. Atherosclerosis 2013; 228:472-477.

90. Berger JS, McGinn AP, Howard BV, et al. Lipid and lipoprotein biomarkers and the risk of ischemic stroke in postmenopausal women. Stroke 2012; 43:958-966.

91. Toth PP. When high is low: raising low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Curr Cardiol Rep 2008; 10:488-96.

92. Toth PP. Pharmacomodulation of high-density lipoprotein metabolism as a therapeutic intervention for atherosclerotic disease. Curr Cardiol Rep 2010; 12(6):481-487.

93. Pisciotta L, Bertolini S, Pende A. Lipoproteins, stroke and statins. Curr Vasc Pharmacol 2013; Oct 3, PubMed PMID 24188485.

94. Wang X, Dong Y, Qi X, et al. Cholesterol levels and risk of hemorrhagic stroke: a systematic review and meta-analysis. Stroke 2013; 44:1833-1839.

95. Mahmood A, Sharif MA, Khan MN, elt al. Comparison of serum lipid profile in ischaemic and haemorrhagic stroke. J Coll Physicians Surg Pak 2010; 20:317-320.

96. Ramírez JM, Casado I, Portilla JC, et al. Serum cholesterol LDL and 90-day mortality in patients with intracerebral hemorrhage. Stroke 2009; 40:1917-1920.

97. Holme I, Aastveit AH, Hammar N, et al. Relationships between lipoprotein components and risk of ischaemic and haemorrhagic stroke in the Apolipoprotein MOrtality RISk study (AMORIS). J Intern Med 2009; 265:275-287.

98. Foroughi M, Akhavanzanjani M, Maghsoudi Z, et al. Stroke and nutrition: a review of studies. Int J Prev Med 2013; 4(Suppl 2):S165-179.

99. Fung TT, Chiuve SE, McCullough ML, et al. Adherence to a DASH-style diet and risk of coronary heart disease and stroke in women. Arch Intern Med 2008; 168:713-720.

100. Chen GC, Lv DB, Pang Z, et al. Dietary fiber intake and stroke risk: a meta-analysis of prospective cohort studies. Eur J Clin Nutr 2013; 67:96-100.

101. Larsson SC, Virtamo J, Wolk A. Dietary protein intake and risk of stroke in women. Atherosclerosis 2012; 224:247-251.

102. English C, Manns PJ, Tucak C, et al. Physical activity and sedentary behaviors in people with stroke living in the community: a systematic review. Phys Ther 2014; 94(2):185-196.

103. Silva-Smith AL, Fleury J, Belyea M. Effects of a physical activity and healthy eating intervention to reduce stroke risk factors in older adults. Prev Med 2013; 57:708-711.

104. Skolarus LE, Sanchez BN, Levine DA, et al. Association of body mass index and mortality after acute ischemic stroke. Circ Cardiovasc Qual Outcomes 2014; 7(1):64-69.

105. The Global Burden of Metabolic Risk Factors for Chronic Diseases Collaboration (BMI Mediated Effects). Metabolic mediators of the effects of body-mass index, overweight, and obesity on coronary heart disease and stroke: a pooled analysis of 97 prospective cohorts with 1·8 million participants. Lancet 2014; 383:970-983.

106. Cove CL, Albert CM, Andreoti F, et al. Female sex as an independent risk factor for stroke in atrial fibrillation: Possible mechanisms. Thromb Haemost 2014; 111(3):385-391.

107. Bjorn K, Lynggaard F, Lynge M. High prevalence of atrial fibrillation among Greenlanders with ischemic stroke - atrial fibrillation found in more than 30% of cases. Int J Circumpolar Health 2013; 72:22-28.

108. Mandzia JL, Hill MD. Acute stroke management in patients with known or suspected atrial fibrillation. Can J Cardiol 2013; 29(7 Suppl):S45-53.

109. Díaz J. Cardioembolic stroke: epidemiology. Neurologia 2012; 1:4-9.

110. Grotta JC. Clinical practice. Carotid stenosis. N Engl J Med 2013; 369:1143-1150.

111. Gupta A, Baradaran H, Schweitzer AD, et al. Carotid plaque MRI and stroke risk: a systematic review and meta-analysis. Stroke 2013; 44:3071-3077.

112. Rozenberg S, Vandromme J, Antoine C. Postmenopausal hormone therapy: risks and benefits. Nat Rev Endocrinol 2013; 9:216-27.

113. Rantanen K, Tatlisumak T. Stroke in women - oral contraception, pregnancy, and hormone replacement therapy. Curr Vasc Pharmacol 2013; 11:58-73.

114. Mansoor AH, Mujtaba MT, Silver B. Antiplatelet therapy to prevent recurrent stroke: Three good options. Cleve Clin J Med 2013; 80:787-795.

115. Huang DY, Eisert WG. CHANCE Trial: Early Short-Term Dual Antiplatelet Treatment for Stroke Prevention. Stroke 2013; 44:3623-3624.

116. Malloy RJ, Kanaan AO, Silva MA, et al. Evaluation of antiplatelet agents for secondary prevention of stroke using mixed treatment comparison meta-analysis. Clin Ther 2013; 35:1490-1500.

117. Ducroquet A, Leys D, Al Saabi A, et al. Influence of chronic ethanol consumption on the neurological severity in patients with acute cerebral ischemia. Stroke 2013; 44:2324-2326.

118. Ashjazadeh N, Fathi M, Shariat A. Evaluation of homocysteine level as a risk factor among patients with ischemic stroke and its subtypes. Iran J Med Sci 2013; 38:233-239.

119. Blomstrand D, Kölbel T, Lindblad B, et al. Activated protein C-protein C inhibitor complex in

peripheral arterial disease. Ann Vasc Surg 2010; 24: 588-595.

120. Li SY, Gao Y, Ma WN, et al. The relationship between serum lipoprotein (a) levels and ischemic stroke risk: a cohort study in the Chinese population. Inflammation 2013; Dec 1. PubMed PMID 24292801.

121. Goldenberg NA, Bernard TJ, Hillhouse J, et al. Elevated lipoprotein (a), small apolipoprotein (a), and the risk of arterial ischemic stroke in North American children. Haematologica 2013; 98:802-807.

122. Balti EV, Kengne AP, Fokouo JV, et al. Metabolic syndrome and fatal outcomes in the post-stroke event: a 5-year cohort study in Cameroon. PLoS One 2013; 8(4):e60117.

123. Cojocaru IM, Cojocaru M, Sapira V, et al. Evaluation of oxidative stress in patients with acute ischemic stroke. Rom J Intern Med 2013; 51:97-106.

124. Ferretti G, Bacchetti T, Masciangelo S, et al. Lipid peroxidation in stroke patients. Clin Chem Lab Med 2008; 46:113-117.

125. Willcox BJ, Curb JD, Rodriguez BL. Antioxidants in cardiovascular health and disease: key lessons from epidemiologic studies. Am J Cardiol 2008; 101(10A):75D-86D.

126. Weikert C, Drogan D, di Giuseppe R, et al. Liver enzymes and stroke risk in middle-aged German adults. Atherosclerosis 2013; 228:508-514.

127. Inzitari D, Piccardi B, Sarti C. A critical review of aspirin in the secondary prevention of noncardioembolic ischaemic stroke. Int J Stroke 2010; 5:306-318.

128. Sanmuganathan P, Ghahramani P, Jackson P, et al. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials. Lancet 2009; 373:1849-1860.

129. Patrono C, Rocca B. Aspirin: promise and resistance in the new millennium. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2008; 28:s25-32.

130. Berger JS, Brown DL, Becker RC. Low-dose aspirin in patients with stable cardiovascular disease: a meta-analysis. Am J Med 2008; 121:43-49.

131. Ostergaard K, Hallas J, Bak S, et al. Long-term use of antiplatelet drugs by stroke patients: a

follow-up study based on prescription register data. Eur J Clin Pharmacol 2012; 68:1631-1637.

132. Gorelick P, Farooq M. Advances in Our Understanding of ‘‘Resistance’’ to Antiplatelet Agents for Prevention of Ischemic Stroke. Hindawi Publishing Corporation. Stroke Research and Treatment 2013; Article ID 727842, 7 pages

133. Bugnicourt JM, Roussel B, Garcia PY, et al. Aspirin non-responder status and early neurological deterioration: A prospective study. Clin Neurol Neurosurg. Clin Neurol Neurosurg 2011; 113:196-201.

134. Manson SC, Benedict A, Pan F, et al. Potential economic impact of increasing low dose aspirin usage on CVD in the US. Curr Med Res Opin 2010; 26:2365-2373.

135. Gebel JM. Heterogeneity and safety of antipletlet therapy in cardiovascular disease. Am J Cardiol 2010; 4:115-124.

136. Damman P, Varenhorst C, Koul S, et al. Treatment patterns and outcomes in patients undergoing percutaneous coronary intervention treated with prasugrel or clopidogrel (from the Swedish Coronary Angiography and Angioplasty Registry [SCAAR]). Am J Cardiol 2014; 113:64-69.

137. Uchiyama S. Antiplatelet therapy: update in secondary stroke prevention. Brain Nerve 2013; 65:771-782.

138. Gent M, Beaumont D, Blanchard J, et al. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). Lancet 1996; 348:1329-1338.

139. Cialdella P, Gustapane M, Camaioni C, Biasucci LM. What's new about clopidogrel. Minerva Cardioangiol 2013; 61:683-689.

140. Abbate R, Crea F, De Servi S, et al. Extent of platelet aggregation inhibition and clinical events: new evidence with prasugrel. G Ital Cardiol 2010; 11:127-137.

141. d' Esterre CD, Lee TY. Effect of dipyridamole during acute stroke: exploring antithrombosis and neuroprotective benefits. Ann N Y Acad Sci 2010; 1207:71-75.

142. Diener HC, Cunha L, Forbes C, et al. European Stroke Prevention Study 2: dipyridamole and acetylsalicylic acid in the secondary prevention of stroke. J Neurol Sci 1996; 143:1-13.

143. Fisher M, Davalos A. The MATCH Study results in the context of Secondary Stroke Prevention. Stroke 2004; 35:2609-2610.

144. Bhatt DL, Fox K, Hacke W, et al. The Clopidogrel for high atherothrombotic risk and ischemic stabilization, management, and avoidance (CHARISMA) study. N Engl J Med 2006; 354:1706-1717.

145. Bowry AD, Brookhart MA, Choudhry NK. Meta-analysis of the efficacy and safety of clopidogrel plus aspirin as compared to antiplatelet monotherapy for the prevention of vascular events. Am J Cardiol 2008; 101:960-966.

146. Reaume KT, Regal RE, Dorsch MP. Indications for dual antiplatelet therapy with aspirin and clopidogrel: evidence-based recommendations for use. Ann Pharmacother 2008; 42:550-557.

147. Gorter JW, De Schryver EL, Algra A. Secondary prevention after ischemic cerebral infarct. The ESPRIT Study: low dose anticoagulation, combined therapy with acetylsalicylic acid/dipyridamole or monotherapy with acetylsalicylic acid? Nervenarzt 1999; 70:368-370.

148. Lutsep HL. New developments in secondary stroke prevention: impact of the European/Australasian Stroke Prevention in Reversible Ischemia Trial (ESPRIT) on clinical management. J Stroke Cerebrovasc Dis 2007; 16:263-267.

149. Halkes PH, Gray LJ, Bath PM, et al. Dipyridamole plus aspirin versus aspirin alone in secondary prevention after TIA or stroke: a meta-analysis by risk. J Neurol Neurosurg Psychiatry. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2008; 79(11):1218-1223.

150. Verro P, Gorelick PB, Nguyen D. Aspirin plus dipyridamole versus aspirin for prevention of vascular events after stroke or TIA: a meta-analysis. Stroke 2008; 39:1358-1363.

151. Dunn JD. Managed care considerations. Am J Manag Care 2008; Jun 14 (Suppl 2):S227-237.

152. Thijs V, Lemmens R, Fieuws S. Network meta-analysis: simultaneous meta-analysis of common antiplatelet regimens after transient ischaemic attack or stroke. Eur Heart J 2008; 29:1086-1092.

153. Lee M, Saver JL, Hong KS, et al. Risk-benefit profile of long-term dual- versus single-antiplatelet therapy among patients with ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. Ann Intern Med 2013; 159:463-70.

154. Lansberg MG, O'Donnell MJ, Khatri P, et al. Antithrombotic and thrombolytic therapy for ischemic stroke: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. Chest 2012; 141(2 Suppl):e601S-36S.

155. Kimura K, Yamashita S, Shibazaki K. Cardioembolic stroke associated with atrial fibrillation. Rinsho Shinkeigaku 2013; 53:989-991.

156. Optimal Warfarin Management for Prevention of Thromboembolic Events in Patients with Atrial Fibrillation. CADTH Optimal Use Reports Ottawa, Canada 2011.

157. Hart RG, Pearce LA, McBride R, et al. Factors associated with ischemic stroke during aspirin therapy in atrial fibrillation: analysis of 2012 participants in the SPAF I-III clinical trials. The Stroke Prevention in Atrial Fibrillation (SPAF) Investigators. Stroke 1999; 30:1223-1229.

158. Alonso de Leciñana M, Huertas N, Egido JA, et al. Questionable reversal of anticoagulation in the therapeutic management of cerebral haemorrhage associated with vitamin K antagonists. Thromb Haemost 2013; 27:1145-1151.

159. Mikhailidis DP, Wierzbicki AS. The GREek Atorvastatin and Coronary-heart-disease Evaluation (GREACE) study. Curr Med Res Opin 2002; 18(4):215-219.

160. Athyros VG, Kakafika AI, Tziomalos K, et al. Statins for the prevention of first or recurrent stroke. Curr Vasc Pharmacol 2008; 6:124-133.

161. Downs JR, Clearfield M, Weis S, et al. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. JAMA 1998; 279:1615-1622.

162. The ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group. Major Outcomes in moderately hypercholesterolemic, hypertensive patients randomized to pravastatin vs usual care: The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT-LLT). JAMA 2002; 288:2998-3007.

163. Shepherd J, Blauw GJ, Murphy MB, et al. PROSPER study group. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomized controlled trial. Lancet 2002;

360:1623-1630.

164. O'Regan C, Wu P, Arora P, Perri D, Mills EJ. Statin therapy in stroke prevention: a meta-analysis involving 121,000 patients. Am J Med 2008; 121: 24-33.

165. Hitman GA, Colhoun H, Newman C, et al. Stroke prediction and stroke prevention with atorvastatin in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS). Diabet Med 2007; 24:1313-1321.

166. Naci H, Brugts JJ, Fleurence R, et al. Comparative effects of statins on major cerebrovascular events: a multiple-treatments meta-analysis of placebo-controlled and active-comparator trials. QJM 2013; 106:299-306.

167. Manocha D, Bansal N, Gumaste P, et al. Safety profile of high-dose statin therapy in geriatric patients with stroke. South Med J 2013; 106:658-664.

168. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. N Engl J Med 1995; 333:1301-1307.

169. Roberts CG, Guallar E, Rodriguez A. Efficacy and safety of statin monotherapy in older adults: a meta-analysis. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2007; 62:879-887.

170. Preobrazhenskiĭ DV, Sidorenko BA, Pataraia SA, et al. Hypercholesterolemia in men and women of various ages. Part II. The problem of efficacy and safety of statins. Kardiologia 2007; 47:75-85.

171. Hennekens CH, Schneider WR. The need for wider and appropriate utilization of aspirin and statins in the treatment and prevention of cardiovascular disease. Expert Rev Cardiovasc Ther 2008; 6:95-107.

172. Blum A, Shamburek R. The pleiotropic effects of statins on endothelial function, vascular inflammation, immunomodulation and thrombogenesis. Atherosclerosis 2009; 203:325-330.

173. Farmak D, Filippatos G, Lainscak M, et al. Anticoagulants, Antiplatelets, and Statins in Heart Failure. Cardiology Clinics 2008; 26:49-58.

174. Kikuchi K, Kawahara KI, Miura N, et al. Secondary prevention of stroke: Pleiotropic effects of

optimal oral pharmacotherapy. Exp Ther Med 2012; 4:3-7.

175. Phipps MS, Zeevi N, Staff I, et al. Stroke severity and outcomes for octogenarians receiving statins. Arch Gerontol Geriatr 2013; 57:377-382.

176. Reeves MJ, Gargano JW, Luo Z, et al. Effect of pretreatment with statins on ischemic stroke outcomes. Stroke 2008; 39:1779-1785.

177. Lorna M, Gibson LM, Brazzelli M, et al. A systematic review of clinical trials of pharmacological interventions for acute ischaemic stroke (1955-2008) that were completed, but not published in full. Trials 2010; 11:43-46.

178. The National Institute for Neurological Desorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group. N Engl J Med 1995; 333:1581-1587.

179. Chiu D, Krieger D, Villar-Cordova C, et al. Intravenous Tissue Plasminogen Activator for acute ischemic stroke. Feasibility, safety, and efficacy in the first year of clinical practice. Stroke 1998; 29:18-22.

180. Grond M, Neveling M, Lechleuthner A, et al. Early Intravenous Thrombolysis for Acute Ischemic Stroke in a community-based approach. Stroke 1998; 29:1544-1549.

181. Albers GW, Bates VE, Clark WM. Intravenous tissue-type plasminogen activator for treatment of acute strocke: The standard treatment with alteplase to reverse stroke (STARS) study. JAMA 2000; 283:1145-1150.

182. Hacke W, Kaste M, Fieschi C, et al. Intravenous thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator for acute hemispheric stroke: the European Cooperative Acute Stroke Study (ECASS). JAMA 1995; 274:1017-1025.

183. Hacke W, Kaste M, Fieschi C, et al. Randomized, double blind, placebo controlled trial of trombolytic therapy with intravenous alteplase in acute ischemic stroke (ECASS II) Second European Australasian Cooperative Acute Stroke Study Investigators. Lancet 1998; 352:1245-1251.

184. Clark WM, Wissman S, Alber GW, et al. Recombinant tissue-type plasminogen activator (alteplase) for ischemic Stroke 3 to 5 hours after symptoms onset. The Atlantis Trial. Jama 1999; 282:2019-2026.

185. Furlan AJ, Higashida R, Wescheler L, et al. PROACT II: recombinant prourokinase (R-proUK) in acute cerebral thromboembolism initial trial results. Stroke 1999; 30:234-237.

186. Amantea D., G. Nappi, G. Bernardi, G. Bagetta & M.T. Corasaniti. Post-ischemic brain damage: pathophysiology and role of inflammatory mediators. FEBS 2009; 276:13-26.

187. Bacigaluppi M, Comi G, Hermann DA. Animal models of ischemic stroke. Part One: Modeling Risk Factors. Open Neurol J 2010; 4:26-33.

188. García-Bonilla L, Rosell A, Torregrosa G, Salom JB, Alborch E, Gutiérrez M, Díez-Tejedor E, Martínez-Murillo R, Agulla J, Ramos-Cabrer P, Castillo J, Gasull T, Montaner J. Recommendations guide for experimental animal models in stroke research. Neurologia. 2011; 26:105-110.

189. Fisher M, Feuerstein G, Howells DW, et al. Update of the stroke therapy academic industry roundtable preclinical recommendations. Stroke 2009; 40:2244-2250.

190. Liu S, Zhen G, Meloni BP, Campbell K, Winn HR. Rodent stroke model guidelines for preclinical stroke trials (1st edition). J Exp Stroke Transl Med 2009; 2:2-27.

191. Carbajal D, Arruzazabala ML, Valdés S, et al. Effect of policosanol on platelet aggregation and serum levels of arachidonic acid metabolites in healthy volunteers. Prostagl Leukotr Essent Fatty Acids 1998; 58:61-64.

192. Pérez Y, Mas R, Oyarzábal A, Jiménez S, Molina V. Effects of policosanol (sugar cane wax alcohols) and D-003 (sugarcane wax acids) on cyclooxygenase (COX) enzyme activity in vitro. IJPSRR 2013; 19:18-23.

193. Menéndez R, Mas R, Amor A, et al. Effects of policosanol on the low density lipoprotein (LDL) isolated on hypercholesterolemic patients at high coronary risk to in vitro copper-mediated lipid peroxidation. A Randomised, Double-Blinded Pilot Study. Curr Ther Res Clin &Exptl 2000; 61:609-620.

194. Crespo N, Illnait J, Mas R, et al. Comparative study of the efficacy and tolerability of policosanol and lovastatin in patients with hypercholesterolemia and non insulin dependent diabetes mellitus. Int J Clin Pharmacol Res 1999; 19:105-116.

195. Noa M, Mas R, Mesa AR. Effect of policosanol in circulating endothelial cell in experimental

models in Sprague-Dawley rats and in rabbits. J Pharm Pharmacol 1997; 49:999-1002.

196. Borg J, Toazara J, Hietter H, et al. Neurotrophic effects of naturally occurring long-chain fatty alcohols in cultured CNS neurons. FEBS Lett 1987; 213:406-410.

197. Borg J. The neurotrophic factor, n-hexacosanol, reduces the neuronal damage induced by the neurotoxin, kainic acid. J Neuros Res 1991; 29:62-67.

198. Wang T, Liu YY, Wang X, et al. Protective effects of octacosanol on 6-hydroxydopamine-induced parkinsonism in rats via regulation of proNGF and NGF signalling. Acta Pharmacol Sin 2010; 31:765-774.

199. Castaño G, Mas R, Fernández L, et al. Effects of policosanol on patients with borderline to mildly increased serum cholesterol levels: A prospective, double-blinded placebo-controlled study. Curr Ther Res Clin & Exptl 2003; 64:522-537.

200. Aneiros E, Calderón B, Mas R, et al. Effects of successive dose increases of policosanol on the lipid profile and tolerability of treatment. Curr Ther Res Clin & Exptl 1993; 54:304-312.

201. Soltero I, Fuenmayor I, Colmenares J, et al. Ensayo doble ciego para la evaluación del policosanol en el tratamiento de la hiperlipoproteinemia tipo II. Arch Venezol Farmacol Terap 1993; 12:65-70.

202. Pons P, Rodríguez M, Robaina C, et al. Effects of successive dose increases of policosanol on the lipid profile of patients with type II hypercholesterolemia and tolerability to treatment. Int J Clin Pharmacol Res 1994; 14:27-33.

203. Aneiros E, Más R, Calderón B, et al. Effect of policosanol in lowering-cholesterol levels in patients with type II hypercholesterolemia. Curr Ther Res Clin & Exptl 1995; 56:176-182.

204. Campilongo R, Sandini P, Feldman R, et al. Eficacia, seguridad y tolerabilidad del policosanol en pacientes argentinos con hipercolesterolemia tipo II. Estudio abierto. La Prensa Médica Argentina 1996; 83:665-672.

205. Nikitin IP, Slepchenko NV, Gratsianskii NA, et al. Results of the multicenter controlled study of the hypolipidemic policosanol in Russia. Ter Arkh 2000; 72:7-10.

206. Castaño G, Mas R, Fernández L, et al. Effects of policosanol 20 versus 40 mg/day in the

treatment of patients with type II hypercholesterolemia: A 6 months double-blind study. Int J Clin Pharmacol Res 2001; 21:43-58.

207. Figuera SR, Soto I, Lara A, et al. Estudio comparativo de la eficacia y tolerancia del policosanol en pacientes con hipercolesterolemia Tipo II. Arch Venezol Farmacol Terap 2001; 20:88-91.

208. Ortensi G, Gladstein H, Valli H, et al. A comparative study of policosanol versus simvastatin in elderly patients with hypercholesterolemia. Curr Ther Res Clin & Exptl 1997; 58:390-401.

209. Castaño G, Más R, Arruzazabala ML, et al. Effects of policosanol and pravastatin on lipid profile, platelet aggregation, endothelemia in older hypercholesterolemic patients. Int J Clin Pharm Res 1999; 19:105-116.

210. Benítez M, Romero C, Más R, et al. A comparative study of policosanol versus pravastatin in patients with type II hypercholesterolemia. Curr Ther Res Clin & Exptl 1997; 58:859-867.

211. Prat H, Roman O, Pino E. Comparative effects of policosanol and two HMG-CoA reductase inhibitors on type II hypercholesterolemia. Rev Med Chil 1999; 127:286-294.

212. Wright CM, Zieike JC, Whayne TF. Policosanol, an aliphatic alcohol sugarcane derivative. Use in patients intolerant or inadequately responsive to statin therapy. Int J Angiol 2004; 13:173-175.

213. Wang Y, Yuan-nan KE, Wang JL, et al. Efficacy and safety of policosanol and pravastatin in the treatment of hyperlipidemia in Chinese patients. Chin J New Drugs Clin Res 2008; 2:27-35.

214. Fernández JC, Mas R, Castaño G, et al. Comparison of the efficacy, safety and tolerability of policosanol versus fluvastatin in elderly hypercholesterolemic women. Clin Drug Invest 2001; 21:103-113.

215. Castaño G, Menéndez R, Más R, et al. Effects of policosanol and lovastatin on lipid profile and lipid peroxidation in patients with dyslipidemia associated to type 2 diabetes mellitus. Int J Clin Pharmacol Res 2002; 22:89-100.

216. Castaño G, Mas R, Fernández L, et al. Comparison of the efficacy, safety and tolerability of policosanol versus atorvastatin in elderly patients with Type II hypercholesterolemia. Drugs & Aging 2002; 20:153-163.

217. Castaño G, Nodarse M, Mas R, et al. Estudio comparativo de la eficacia y tolerabilidad del policosanol, la simvastatina y de su terapia combinada en el tratamiento de la hipercolesterolemia tipo II. Rev CENIC Cien Biol 1998; 29:9-15.

218. Marcello S, Gladstein J, Tesone P, et al. Effects of combination policosanol-bezafibrate therapy in patients with combined dislipidemia: A pilot study. Curr Ther Res Clin & Exptl 2000; 61:346-357.

219. Alcocer A, Fernández L, Campos E, et al. A comparative study of policosanol vs acipimox in patients with type II hypercholesterolemia. Int J Tissue React 1999; 21:57-64.

220. Soltero I, Fuenmayor I, Colmenares J. Estudio comparativo doble ciego de la eficacia y tolerancia del policosanol vs bezafibrato en pacientes con hiperlipidemia tipo II. Arch Venezol Farmacol Terap 1993; 12:71-76.

221. Pella D, Rybar R, Trejbal D. Liecba dyslipidemic statiny a fibraty? je policosanol-bezpecne a efectivne hypolipidemikum? Medicinsky Monitor. Slovenska Lekakska Spolocnost 2002; 3:7-9.

222. Pons P, Rodríguez M, Mas R, et al. One-year efficacy and safety of policosanol in patients with type II hypercholesterolemia. Curr Ther Res Clin & Exptl 1994; 55:1084-1092.

223. Canetti M, Morera M, Illnait J, et al. One-year study on the effect of policosanol (5 mg-twice-a-day) on lipid profile in patients with type II hypercholesterolemia. Adv Ther 1995; 12:245-254.

224. Canetti M, Morera M, Illnait J, et al. A two years study on the efficacy and tolerability of policosanol in patients with type II Int J Clin Pharmacol Res 1995; 15:159-165.

225. Castaño G, Canetti M, Morera M, et al. Efficacy and tolerability of policosanol in elderly patients with type II hypercholesterolemia: A 12 months study. Curr Ther Res Clin & Exptl 1995; 56:819-828.

226. Canetti M, Morera MS, Mas R, et al. Effects of policosanol on primary hypercholesterolemia: A 3-year open follow-up. Curr Ther Res Clin & Exptl 1997; 58:868-875.

227. Chen JT, Wesley R, Shamburek RD, et al. Meta-analysis of natural therapies for hyperlipidemia: plant sterols and stanols versus policosanol. Pharmacotherapy 2005; 25:171-183.

228. Valdés S, Arruzazabala ML, Carbajal D, et al. Effect of policosanol on platelet aggregation in healthy volunteers. Int J Clin Pharmacol Res 1996; XVI:67-72.

229. Arruzazabala ML, Valdés S, Mas R, et al. Effect of policosanol successive dose increases on platelet aggregation in healthy volunteers. Pharmacol Res 1996; 34:181-185.

230. Arruzazabala ML, Molina V, Mas R, et al. Antiplatelet effects of policosanol 20 and 40 mg/d in healthy volunteers and dyslipidemic patients. Clin Exp Pharmacol Physiol 2002; 29:891-897.

231. Arruzazabala ML, Valdés S, Mas R, et al. Comparative study of policosanol, aspirin and the combination of policosanol-aspirin on platelet aggregation in healthy volunteers. Pharmacol Res 1997; 36:293-297.

232. Arruzazabala ML, Mas R, Molina V, et al. Effect of policosanol on platelet aggregation in type II hypercholesterolemic patients. Int J Tiss React 1998; 20:119-124.

233. Más R. Rivas P, Izquierdo JE, et al. Pharmacoepidemiologic study of policosanol. Curr Ther Res 1999; 60: 458-467.

234. Batista J, Stusser RJ, Padrón R, et al: Functional improvement in coronary artery disease after 20 month of lipid-lowering therapy with policosanol. Adv Ther 1996; 13:137-148

235. Moreno FL, Lagomasino AL, Ramírez M, et al. Utilidad del policosanol en pacientes obesos sometidos a revascularización miocárdica quirúrgica. 4th Virtual Congress of Cardiology, October 2005.

236. Castaño G, Mas R, Fernández L, et al. Effect of policosanol on postmenopausal women with type II hypercholesterolemia. Gynecol Endocrinol 2000; 13:187-195.

237. Mirkin A, Mas R, Martinto M, et al Efficacy and tolerability of policosanol in hypercholesterolemic postmenopausal women. Int J Clin Pharmacol Res 2001; 21:31-42.

238. Zardoya R, Tula L, Castaño G, et al. Effects of policosanol on hypercholesterolemic patients with disturbances on serum biochemical indicators of hepatic function. Curr Ther Res Clin & Exptl 1996; 57:568-577.

239. Musto D, Martorelli L, Russo M, et al. The efficacy of policosanols in the treatment of associated hyperlipidemia in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Minerva Gastroenterol Dietol 2010; 56:389-395.

240. Torres O, Agramonte A, Illnait J, et al. Treatment of hypercholesterolemia in NIDDM with

policosanol. Diabetes Care 1995; 18:393-397.

241. Crespo N, Alvarez R, Más R, et al. Effect of policosanol on patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) and hypercholesterolemia. Curr Ther Res Clin & Exptl 1997; 58:44-51.

242. Mas R, Castaño G, Fernández L, et al. Effects of policosanol in older hypercholesterolemic patients with coronary disease. Clin Drug Invest 2001; 21:485-497.

243. Castaño G, Mas R, Gamez R, et al. Concomitant use of policosanol and beta-blockers in older patients. Int J Clin Pharmacol Res 2004; 24:65-77.

244. Gámez R, Alemán C, Mas R, et al. A 6-month study on the toxicity of high doses of policosanol orally administered to Sprague Dawley rats. J Med Food 2001; 4:57-66.

245. Alemán C, Mas R, Hernández C, et al. A 12 months study of policosanol oral toxicity in Sprague-Dawley rats. Toxicol Lett 1994; 70:77-87.

246. Fernández I, Rendón A, Noa M, et al. Study of policosanol effects on mice germ cells. Rev CNIC Cien Biol 2006; 37:3-7.

247. Fernández I, Alfonso JL, Acosta PC. In vitro mutagenic evaluation of policosanol. Rev CNIC Cien Biol 2006; 37:9-12.

248. Rodríguez M, García H. Teratogenic and reproductive studies of policosanol in the rat and rabbit. Teratog Carcinog Mutag 1994; 14:107-113.

249. Rodríguez M, Sánchez M, García H. Multigeneration reproduction study of policosanol in rats. Toxicol Lett 1997; 90:97-106.

250. Alemán C, Mas R, Noa M, et al. Carcinogenicity of policosanol in Sprague Dawley rats: A 24 months study. Teratog Carcinog Mutag 1994; 14:239-249.

251. Alemán CL, Noa M, Cerejido E, et al. Carcinogenicity of policosanol in mice: A 18 months study. Food Chem Toxicol 1995; 33:573-578.

252. Fernández L, Mas R, Illnait J, et al. Policosanol: results of a post-marketing surveillance control on 27 879 cases. Curr Ther Res 1998; 59:717-722.

253. Fernández S, Mas R, Gamez R, et al. A pharmacological surveillance of policosanol tolerability

in the elderly. Am J Ger Pharmacotherapy 2004; 2:219-229.

254. Pentón G, Marín J, Pardo G, et al. C-Phycocyanin is neuroprotective against global cerebral ischemia/reperfusion injury in gerbils. Brain Res Bull 2011; 86(1-2):42-52.

255. Kaundal R, Iyer S, Kumar A, et al. Protective Effects of pioglitazone against global cerebral ischemic-reperfusion injury in gerbils. J Pharmacol Sci 2009; 109:361-367.

256. Molina V, Arruzazabala ML, Carvajal D, et al. Effect of policosanol on cerebral ischemia in Mongolian gerbils. Braz J Med Biol Res 1999; 32:1269-1276.

257. Gaur V, Kumar A. Neuroprotective potentials of candersatan, atorvastatin and their combination against stroke induced motor dysfunction. Inflammopharmacology 2011; 19:205-214.

258. Singh N, Agrawal M, Doré S. Neuroprotective properties and mechanisms of resveratrol in in vitro and in vivo experimental cerebral stroke models. ACS Chem Neurosci. 2013; 4(8):1151-1162.

259. Wang Q, Simonyi A, Li W,et al. Dietary grape supplement ameliorates cerebral ischemia-induced neuronal death in gerbils. Mol Nutr Food Res 2005; 49(5):443-451.

260. Kumihashi K, Uchida K, Miyazaki H, et al. Acetylsalicylic acid reduces ischemia-induced proliferation of dentate cells in gerbils. Neuroreport 2001; 12(5):915-917.

261. Ohyama H, Hosomi N, Takahashi T, et al. Thrombin inhibition attenuates neurodegeneration and cerebral edema formation following transient forebrain ischemia. Brain Res 2001; 902(2):264-71.

262. Ravinder K. Kaundal, Seethalakshmi Iyer, Ashutosh Kumar, and Shyam S. Sharma. Protective Effects of Pioglitazone Against Global Cerebral Ischemic-Reperfusion Injury in Gerbils. J Pharmacol Sci 2009; 109(3):361-367.

263. Katsumata N, Kuroiwa T, Ishibashi S, et al. Heterogeneous hyperactivity and distribution of ischemic lesions after focal cerebral ischemia in Mongolian gerbils. Neuropathology 2006; 26(4):283-292.

264. McGraw CP. Experimental cerebral infarction effects of pentobarbital in Mongolian gerbils. Arch Neurol 1977; 34:334-336.

265. Ohkawa H; Ohishi N; Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid

reaction. Anal Biochem 1979; 95:351-358.

266. Marxwell MA, Haas SM, Beiber LL, et al. A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane lipoprotein samples. Anal Biochem 1987; 87:206-209.

267. Miao-Lin H. Measurement of protein thiole groups and glutatione in plasma. Methods Enzimology 1994; 233:380-382.

268. Bartus R.T., Dean R.L., Mennerick S., Eveleth D., and Lybch G. Temporal ordering of pathogenic events following transient global ischemia. Brain Research 1998; 790:1-13.

269. World Medical Association. Declaration of Helsinki- Ethical Principles for Medical research Involving Human Subjects (2008).

270. van Swieten J, Koudstaal P, Visser M, et al. Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients. Stroke 1988; 19:604–607.

271. Chrusciel P, Goch A, Banach M, et al. Circadian changes in the hemostatic system in healthy men and patients with cardiovascular diseases. Med Sci Monit 2009; 15:RA203-208.

272. Naranjo CA, Busto U, Seller EM, et al. A method for estimating the probability of adverse drugs reaction. Clin Pharmacol Ther 1981; 30:239-245.

273. Bill O, Zufferey P, Faouzi M, et al. Severe stroke: patient profile and predictors of favourable outcome. J Thromb Haemost 2013; 11:92-99.

274. Leker RR, Molina C, Cockroft K, et al. Effects of Age on Outcome in the SENTIS Trial: Better Outcomes in Elderly Patients. Cerebrovasc Dis 2012; 34:263-271.

275. Hjalmarsson C, Bokemark L, Manhem K, et al. The effect of statins on acute and long-term outcome after ischemic stroke in the elderly. Am J Geriatr Pharmacother 2012; 10:313-322.

276. Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. Nature 1962; 194:927-929.

277. Hladovec J, Rossman P. Circulating endothelial cells isolated together with platelets and experimental modifications of their counts in rats. Thromb Res 1973; 3:665-674.

278. Friedewald WT, Levy RI; Friederickson SD. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972;

18:499-502.

279. National clinical guidelines for stroke. Second edition. June 2004. Royal College of Physicians of London.

280. Cote R, Hachinski VC, Shurvell BL, et al. The Canadian Neurologiacal Scale. A preliminary study in acute stroke. Stroke 1986; 17:731-737.

281. Bushnell C, Jhonston D, Goldstein L. Retrospective assessment of initial stroke severity. Comparison of the NIH stroke scale and the Canadian neurological scale. Stroke 2001; 32:656-659.

282. Cote R. Battista RN, Wolfson C, et al. The Canadian Neurologiacal Scale. Validation and reliability assessment. Neurology 1989; 39:638-643.

283. O'Brien PC, Shampo MA: Statistical considerations for performing multiple tests in a single experiment. Comparing two therapies with respect to several endpoints. Mayo Clin Proc 1988; 63:1140–1143.

284. Laidley DT, Colbourne F, Corbett D. Increased behavioral and histological variability arising from changes in cerebrovascular anatomy of the Mongolian gerbil. Curr Neurovasc Res 2005; 2:401-407.

285. Subirós N, Martín J, Pérez H, Coro RM, Berlanga JA, Rodríguez S, García G, Suárez J, García D. Global brain ischemia in Mongolian gerbils: Assessing the level of anastomosis in the cerebral circle of Willis. Acta Neurobiol Exp 2012; 72:377-384.

286. Seal JB, Buchh BN, Marks JD. New variability in cerebrovascular anatomy determines severity of hippocampal injury following forebrain ischemia in the Mongolian gerbil. Brain Res 2006; 1073:451-459.

287. Christie-Pope BC, Palmer G, Chronister RB et al. Adenylate cyclase and histopathological changes in the gerbil brain following prolonged unilateral ischemia and recirculation. Stroke 1985; 16:710-717.

288. Canal Castro C, Pagnussat As, orlandi L, et al. Coumestrol has neuroprotective effects before and after global ischemia in female rats. Brain Res 2012; 1474:82-90.

289. Pradeep H, Diya JB, Shashikumar S, et al. Oxidative stress-assassin behind the ischemic stroke.

Folia Neuropathol 2012; 50:219-230.

290. Fujita K, Yoshimoto N, Kato T, et al. Lycopene inhibits ischemia/reperfusion-induced neuronal apoptosis in gerbil hippocampal tissue. Neurochem Res 2013; 38:461-469.

291. Li H, Park JH, Lee JC, et al. Neuroprotective effects of Alpinia katsumadai against experimental ischemic damage via control of oxidative stress. Pharm Biol 2013; 51:197-205.

292. Cao Y, Mao X, Sun C, et al. Baicalin attenuates global cerebral ischemia/reperfusion injury in gerbils via anti-oxidative and anti-apoptotic pathways. Brain Res Bull 2011; 85:396-402.

293. Jacob KD, Noren Hooten N, Trzeciak AR, et al. Markers of oxidant stress that are clinically relevant in aging and age-related disease. Mech Ageing Dev 2013; 134:139-157.

294. Feng Y, Liu YM, Fratkins JD, et al. Grape seed extract suppresses lipid peroxidation and reduces hypoxic ischemic brain injury in neonatal rats. Brain Res Bull 2005; 66:120-127.

295. Hwang IK, Yoo KY, Kim DS, et al. Neuroprotective effects of grape seed extract on neuronal injury by inhibiting DNA damage in the gerbil hippocampus after transient forebrain ischemia. Life Sci 2004; 75:1989-2001.

296. Wang Q, Sun AY, Simonyi A, et al. Oral administration of grape polyphenol extract ameliorates cerebral ischemia/reperfusion-induced neuronal damage and behavioral deficits in gerbils: comparison of pre- and post-ischemic administration. J Nutr Biochem 2009; 20(5):369-377.

297. Ohta Y, Ohashi K, Mansura T. Octacosanol attenuates disrupted hepatic reactive oxygen species metabolism associated with acute liver injury progression in rats intoxicated with carbon tetrachloride. J Clin Biochem Nutr 2008; 42:118-125.

298. Violi F, Carnevale R, Pastori D, et al. Antioxidant and antiplatelet effects of atorvastatin by Nox2 inhibition. Trends Cardiovasc Med 2013; pii: S1050-1738.

299. Hadi NR, Abdelhussein MA, Alhamami OMO, Muhammad Rudha AR, Sabah E. Antioxidant effect of atorvastatin in Type 2 diabetic patients. Pharmacol & Pharm 2010; 1:53-59.

300. Rajesh P, Rajasekhar P. Chronotherapy studies of atorvastatin on antioxidant markers in cholesterol fed rabbit models. Int J Pharm Ind Res 2011; 1:251-260.

301. Elewa HF, Kozak A, El-Remessy AB, Frye RF, Johnson MH, Ergul A, Fagan SC. Early

atorvastatin reduces hemorrhage after acute cerebral ischemia in diabetic rats. J Pharmacol Exp Ther 2009; 330:532-540.

302. Inzitari D, Piccardi B, Sarti C. A critical review of aspirin in the secondary prevention of noncardioembolic ischaemic stroke. Int J Stroke 2010; 5:306-318.

303. Nanetti L, Rafaelli F, Vignini A, et al. Oxidative stress in ischaemic stroke. Eur J Clin Invets 2011; 41:1318-1322.

304. Ciancarelli I, De Amicis D, Di Massimo C, et al. Oxidative stress in post acute ischemic stroke patients after intensive neurorehabilitation. Curr Neurovasc Res 2012; 9:266-273.

305. Ciancarelli I, Di Massimo C, De Amicis D et al. Evidence of redox umbalance in post-acute ischemic stroke patiens. Curr Neurovascular Res 2012; 9:85-90.

306. Kaplan RC, Tirschwell DL, Longstreth WT Jr, et al. Vascular events, mortality, and preventive therapy following ischemic stroke in the elderly. Neurology 2005; 65:835-842.

307. Mérida L, Poveda F, Camafort M, et al. Long-term survival of ischemic stroke. Rev Clin Esp 2012; 212:223-228.

ANEXOS

ANEXO 1. ESCALA NEUROLÓGICA DE RANKIN MODIFICADA (ENRm)

EVALUACIÓN NEUROLÓGICA (0 – 6)	
Puntaje	**Descripción**
0 ____	**Ausencia de síntomas**
1____	Presenta síntomas, pero lleva a cabo todas las actividades usuales, no presenta discapacidad evidente.
2____	Ya no es capaz de hacer todo lo que hacía, pero todo lo ejecuta sin ayuda, lo que muestra ligera discapacidad.
3____	Puede caminar sin ayuda, pero requiere ayuda para ciertas actividades, por lo que muestra discapacidad moderada
4____	Es incapaz de caminar y realizar actividades elementales sin ayuda, por lo que presenta discapacidad moderadamente severa
5____	Se encuentra en cama y/o presenta incontinencia, requiere constante atención, por lo cual tiene severa discapacidad
6____	Es fallecido A los casos que fallezcan se les llenará el valor en la consulta correspondiente
Total (0 – 6): _____	

ANEXO 2. ESCALA DE EVALUACIÓN NEUROLÓGICA: ESCALA CANADIENSE

Escala Neurológica (0-10 puntos)

Defina los siguinetes Aspectos (marque con una cruz)

1. Estado mental del paciente

A) Nivel de Conciencia

Alerta ____ (3)

Obnubilado ____ (1.5)

B) Orientación

Orientado ____ (1)

Desoreintado o no aplicable ____ (0)

C) Lenguaje

Normal ____ (1)

Deficit de expresión ____ (0.5)

Deficit de comprensión ____ (0)

2. Afectación de áreas (si no existe deficit de la comprensión del lemguaje aplicar A, si está afectado se aplica B)**.**

A) a) Afectación de la cara

Ninguna ____ (0.5)

Presente ____ (0)

b) Del brazo proximal

Ninguna ____ (1.5)

Leve ____ (1)

Significativa ____ (0.5)

Completa ____ (0)

c) Del brazo distal

Ninguna ____ (1.5)

Leve ____ (1)

Significativa ____ (0.5)

Completa ____ (0)

d) De la pierna

Ninguna ____ (1.5)

Leve ____ (1)

Significativa ____ (0.5)

Completa ____ (0)

B) a) Afectación de la cara

Ninguna ____ (0.5)

Presente ____ (0)

b) Del brazo

Ninguna ____ (0.5)

Presente ____ (0)

c) De la pierna

Ninguna ____ (0.5)

Presente ____ (0)

Puntuación total máxima _____ (10)

ANEXO 3

PUBLICACIONES RELACIONADAS CON EL TEMA DE TESIS

1. Fernández L, Mas R, Illnait J, Sánchez J, Ortega L. **Farmacología de la prevención y el tratamiento del ictus: una breve revisión**. Rev CENIC Cien Biol 2005; 36(3):179-190.

2. Sanchez J, Mas R, Mendoza S, Fernández J, Ruiz D. **Effects of policosanol on patients with ischemic stroke with previous transient ischemic attack: a long-term follow-up.** Rev CENIC Cien Biol 2010; 41(1):23-29.

3. Sánchez J, Illnait J, Mas R, Perez Y, Mendoza S, Cabrera L, Fernández L, Mesa M, Fernández JC, Oyarzabal A, Molina V, Jimenez S, Reyes P. **Effects of policosanol plus aspirin therapy on the neurological recovery and plasma oxidative markers of patients with ischemic stroke.** IOSR Journal of Pharmacy 2013; 3(4):31-40.

4. Molina V, Ravelo Y, Noa M, Mas R, Valle M, Pérez Y, Oyarzábal O, Mendoza N, Jiménez S, Sánchez J. **Comparison of policosanol and grape seed extract on global cerebral isquemia in Mongolian gerbils.** Lat Am J Pharm 2013; 32(1):113-119.

5. Sánchez J, Fernández L, Illnait J, Arruzazabala ML, Molina V, Mas R, Mendoza S, Carbajal D, Mesa M, Fernández JC. **Effects of policosanol on the recovery of ischemic stroke: a randomized controlled study**. IOSR Journal of Pharmacy 2012; 2(6):14-24.

6. Molina V, Ravelo Y, Noa M, Mas R, Pérez Y, Oyarzábal A, Mendoza N, Valle M, Jiménez S, Sánchez J. **Therapeutic effects of policosanol and atorvastatin against global brain ischemia-reperfusion injury in gerbils.** Indian Journal Pharmaceutical Sciences 2013; 75(6):635-641.