

Traitement des accidents ischémiques cérébraux en phase aiguë: bilan et perspectives

■ F. Nicoli, J. Bogousslavsky

Service de neurologie, CHUV, Lausanne

Résumé

Nicoli F, Bogousslavsky J. [Treatment of acute ischemic stroke: outcome and perspectives.] *Schweiz Arch Neurol Psychiatr* 1998;149:145-56.

La mise au point d'un traitement efficace des accidents vasculaires cérébraux ischémiques aigus (AICA) représente un problème important de santé publique. Des avancées significatives sont en train de se produire concernant les traitements thrombolytiques et neuroprotecteurs. Cette revue se propose de faire le point sur ces progrès thérapeutiques et d'évaluer quelles pourraient être les stratégies thérapeutiques futures des AICA. Cette mise au point est basée, en partie, sur une recherche par MEDLINE, des articles publiés entre 1993 et 1997, et dont le sujet principal concerne l'ischémie cérébrale, les traitements thrombolytiques et les médicaments neuroprotecteurs. L'utilisation d'un activateur du plasminogène tissulaire (rt-PA) chez des patients sélectionnés présentant un AICA datant de moins de 3 heures a récemment été approuvée, aux Etats-Unis, par la Federal Drug Administration. Mais, en Europe, ce traitement est encore en phase d'expérimentation clinique compte tenu des résultats contradictoires de l'essai européen ECASS évaluant cette molécule. Le traitement par streptokinase, quant à lui, s'est révélé non seulement inefficace mais aussi associé à un risque accru d'hémorragie cérébrale. Toutefois, ce dernier n'a pas été évalué avec un délai d'initiation du traitement aussi précoce que celui imposé concernant l'utilisation du rt-PA. L'efficacité de diverses stratégies neuroprotectrices a été démontrée dans des modèles animaux, mais ces résultats expérimentaux n'ont jamais pu être extrapolables à l'homme jusqu'à présent. Plusieurs médicaments

neuroprotecteurs sont en cours d'évaluation dans le cadre d'essais thérapeutiques déjà avancés, dont certains pourraient démontrer un effet bénéfique clinique suffisant pour qu'ils soient approuvés comme traitement des AICA. Dans l'avenir, la combinaison des deux stratégies, thrombolytique et neuroprotectrice, sera utilisée pour essayer d'obtenir une récupération neurologique maximale. Mais, cela ne sera possible que par une sélection et une gestion thérapeutique rigoureuses des patients présentant un AICA. La rapidité d'intervention thérapeutique, en particulier, restera une condition *sine qua non* pour espérer atteindre cet objectif.

Introduction

Plusieurs avancées ont eu lieu ces dernières années dans le but de mettre au point des traitements efficaces des AICA [1]. Les plus importantes concernent les résultats de l'essai du NIH évaluant l'efficacité d'un inhibiteur du plasminogène tissulaire (rt-PA) qui démontrent, pour la première fois, que les AICA pourraient être traités efficacement, mais à certaines conditions qui seront détaillées par la suite. Le fait que le rt-PA améliore significativement l'état fonctionnel neurologique, s'il est initié dans les 3 heures suivant l'apparition des premiers signes cliniques, peut être considéré comme un premier pas encourageant sur la voie d'un traitement efficace d'une maladie qui touche plus de 40000 nouveaux patients par an aux Etats-Unis et représente la troisième cause de décès. Dans cette présentation de l'état actuel des lieux concernant les efforts de mise au point d'un traitement des AICA, nous allons analyser les trois principales stratégies thérapeutiques. D'une part, celle de la thrombolyse, en étudiant l'ensemble des données fournies par les grands essais cliniques évaluant l'efficacité du rt-PA et de la streptokinase dans les AICA. D'autre part, nous résumerons les connaissances actuelles sur les traitements neuroprotecteurs, en présentant aussi bien les échecs que les nouvelles molécules prometteuses en

Correspondance:
Pr J. Bogousslavsky,
Service de neurologie,
CHUV,
CH-1011 Lausanne

phase de développement clinique ou pré-clinique. Ces deux grands axes thérapeutiques ont été analysés à partir d'une revue de la littérature effectuée à l'aide d'une recherche par MEDLINE concernant la période 1993 à 1997, en utilisant les items «ischémie cérébrale», «thrombolyse» et «neuroprotection» comme critères de recherche. Nous avons ainsi évalué 30 articles sur la thrombolyse et 45 articles sur les médicaments neuroprotecteurs en rapport avec l'ischémie cérébrale, en se concentrant sur les essais cliniques randomisés en phase II ou III. Enfin, nous essaierons de prédire quelles pourraient être les stratégies thérapeutiques futures, en évoquant la possibilité de développement de combinaisons thérapeutiques thrombolytiques et neuroprotectrices et de nouvelles méthodes de neuro-imagerie à même de déterminer lesquelles de ces associations thérapeutiques auraient le plus de chance d'entraîner une amélioration de l'état fonctionnel neurologique.

Traitement thrombolytique

Historique

Ce n'est qu'à partir du développement du scanner X cérébral, qui permet une reconnaissance facile des hémorragies cérébrales, que l'évaluation de la thrombolyse a vraiment pu commencer à se faire. Une méta-analyse effectuée à partir des données provenant d'une douzaine d'essais cliniques hétérogènes incluant environ 3000 patients mettait en évidence une réduction de 20% de la morbidité sévère combinée aux décès [2]. Toutefois, ceci était contrebalancé par un risque d'hémorragie cérébrale multiplié par trois, associé à un taux de mortalité d'environ 50%. L'évaluation ultérieure de la thrombolyse par voie intraveineuse dans les AICA fut ensuite encouragée par la constatation des effets bénéfiques de ce type de traitement à la phase aiguë de l'infarctus du myocarde (IDM). Les thrombolytiques évalués dans l'indication des AICA sont la streptokinase, l'urokinase, la pro-urokinase et le rt-PA. L'intérêt clinique se porte actuellement sur le rt-PA, principalement du fait des résultats positifs de l'essai NINDS [3], contrastant avec les trois essais négatifs utilisant la streptokinase [4-6].

Thromboses vasculaires cérébrales et AICA

Un thrombus frais occluant une artère a de meilleures chances de répondre aux drogues throm-

bolytiques qu'un vieux thrombus organisé. A l'opposé, les thrombi riches en cholestérol, calcium et pauvres en fibrine, de même que les sténoses athéromateuses avec seulement un petit thrombus surajouté, ont moins de chance de répondre au traitement thrombolytique. Ainsi, le fait de recueillir plus de renseignements sur l'efficacité de la thrombolyse en fonction de la topographie, du type, de l'âge, de la taille et de l'origine du thrombus pourrait être critique pour sélectionner, parmi les patients présentant un AICA, ceux qui seront les plus à même de bénéficier de ce type de traitement. Mais, cela reste encore à valider.

En effet, les grands essais cliniques randomisés évaluant la thrombolyse intraveineuse dans les AICA n'incluaient pas d'exploration angiographique et ne faisaient que *présumer* qu'une ou plusieurs artères de petit ou grand calibre étaient occluses, ce qui est le cas d'environ trois-quarts des patients ayant eu une exploration angiographique dans un délai de 6 à 8 heures après le début de l'AICA. On ne connaît pas l'influence de ce paramètre d'occlusion artérielle sur l'efficacité de la thrombolyse. D'autant que, même en l'absence d'occlusion visible, la thrombolyse pourrait être efficace si de microvaisseaux distaux, non visibles à l'angiographie, sont occlus.

Essais randomisés concernant la thrombolyse intraveineuse

Cinq grands essais randomisés ont été réalisés concernant la thrombolyse intraveineuse. Un seul, celui de l'étude NINDS évaluant l'efficacité du rt-PA [3], était positif. L'autre essai ayant concerné le rt-PA, ECASS [7], était équivoque, tandis que les trois essais ayant évalué la streptokinase (MAST-I, MAST-E, ASK) [4-6] étaient négatifs. Les résultats négatifs de la streptokinase ont de multiples explications. La streptokinase elle-même et la posologie employée relativement élevée (comparativement au rt-PA dans l'étude NINDS) pourraient expliquer l'augmentation du risque hémorragique. Les traitements anti-thrombotiques (héparine, aspirine) étaient autorisés dans les trois essais utilisant la streptokinase, excepté dans un sous-groupe de MAST-I, ce qui pourrait avoir facilité des saignements. En outre, le *délai de mise en route du traitement* pourrait être un facteur critique. En effet, alors que les 624 patients de l'essai NINDS furent traités dans un délai de 3 heures après le début de l'AICA (dont 302 [48%] dans les 90 premières minutes), les trois-quarts des patients des études MAST-I et ASK furent traités après ce délai. De plus, le délai moyen

d'initiation du traitement après la survenue des premiers signes neurologiques était de 5 heures dans l'essai MAST-E et de 4,3 heures dans ECASS.

L'étude NINDS [3] et ses conséquences

Dans les deux bras de cet essai randomisé évaluant l'efficacité du rt-PA (<3 heures; 0,9 mg/kg; maximum 90 mg; bolus suivi d'une perfusion d'une heure) versus placebo chez 624 patients, il y avait une tendance à l'amélioration neurologique (évaluée par la NIH stroke scale). Mais, au troisième mois, il y avait un tiers de plus de patients traités qui avait peu ou pas de handicap par rapport aux patients contrôles, avec un odd ratio pour l'évolution favorable de 1,7 (1,2 à 2,6; intervalle de confiance de 95%). Le taux d'hémorragie cérébrale symptomatique était exceptionnellement faible dans le groupe placebo (0,6%), mais était augmenté d'un facteur 10 sous rt-PA (6,4%) ($p < 0,001$). Malgré cela, la mortalité à 3 mois restait discrètement inférieure dans le groupe rt-PA (54/32; 17%) à celle observée dans le groupe placebo (64/312; 21%), mais de façon non significative ($p = 0,3$). Le bénéfice apporté par le rt-PA était curieusement indépendant du sous-type d'AICA diagnostiqué à l'entrée dans l'essai. Bien que ces résultats aient entraîné d'importantes controverses concernant l'applicabilité et la généralisation du traitement par rt-PA, ce dernier a été approuvé en juin 1996 aux Etats-Unis et recommandé, sous certaines conditions, par l'American Academy of Neurology et l'American Heart Association stroke council [8].

L'étude ECASS (European Cooperative Acute Stroke Study) [7]

Dans cet essai, 620 patients ayant présenté un AICA modéré à sévère furent randomisés (<6 heures) selon deux bras, placebo ou rt-PA (1,1 mg/kg; maximum 100 mg; 10% en bolus suivis d'une perfusion d'une heure). La présence d'un signe précoce d'infarctus majeur intéressant plus d'un tiers du territoire sylvien (disparition de tous les sillons corticaux, faible différenciation entre la substance blanche et la substance grise, hypodensité diffuse) constituait un signe scannographique d'exclusion. Au troisième mois, les critères primaires de sortie d'étude (une différence de 15 points à l'index de Barthel et une différence d'un point sur l'échelle modifiée de Rankin) ne montraient pas de différence significative entre

les deux bras. Toutefois, le rt-PA était associé à un taux accru de récupération et à une plus courte durée d'hospitalisation. La mortalité était plus élevée dans le bras rt-PA à 30 jours (17,9% versus 12,7%; $p = 0,08$) et, de façon significative, à 3 mois (22,4% versus 15,8%; $p = 0,04$). Contrairement à l'essai NINDS, la fréquence de survenue d'hémorragies cérébrales dans le bras placebo (36,8%) était voisine de celle rapportée dans la littérature et ne différait pas significativement de celle observée dans le bras rt-PA (42,8%). Toutefois, le risque d'hémorragie cérébrale majeure était augmenté d'un facteur 3 dans le bras rt-PA (19,8% versus 6,5%; $p < 0,01$). Ceci conduisait à une augmentation significative du risque de décès par hémorragie cérébrale dans le bras rt-PA (6,3% versus 2,4%; $p = 0,02$). Bien que ECASS soit un essai négatif, il faut souligner que 109 des 620 patients randomisés n'auraient pas du être inclus, notamment du fait de la présence d'anomalies scannographiques (54 patients). Si l'on exclut ces 109 patients, l'analyse du pronostic de la population ciblée des 511 patients restants montre une évolution significative ($p = 0,035$) du score de l'échelle modifiée de Rankin, qui passe de 3 (handicap modéré) à 2 (handicap léger) au troisième mois. L'autre critère primaire de sortie d'étude (index de Barthel) ne montrait pas de différence significative. L'importance des données du scanner X initial, dont l'interprétation erronée dans le contexte de la prise en charge en urgence de ces patients, même dans des centres «experts», semble être en partie responsable des résultats négatifs de ECASS, a bien été pris en compte par le AHA stroke council. En effet, ce dernier a inclus dans son guide pour la prescription de rt-PA dans les AICA, à côté des critères d'inclusion/exclusion de l'étude NINDS, une recommandation spécifique pour exclure les patients dont le scanner initial met en évidence des anomalies évocatrices d'infarctus étendu [8, 9]. En Europe, le traitement par rt-PA, par voie intraveineuse, reste donc encore un traitement essentiellement expérimental [9], justifiant l'essai en cours ECASS-2 (rt-PA 0,9 mg/kg dans les 6 heures suivant le début de l'AICA).

Enfin, il faut noter que, même en enlevant de l'analyse de ECASS les patients inclus à tort, le pourcentage d'hémorragies cérébrales symptomatiques reste trois fois plus élevé dans le bras rt-PA suggérant, comme dans l'essai NINDS, que, même dans une population ciblée, le rt-PA par voie intraveineuse présente un risque significatif d'hémorragie cérébrale.

Les essais utilisant la streptokinase

Les trois essais (Australian Streptokinase Trial ASK [5]; Multicenter Acute stroke Trial – Europe MAST-E [6]; Multicenter Acute stroke Trial – Italy MAST-I [4]) furent interrompus sur les recommandations du comité d'enregistrement des données, en raison de risques inacceptables. L'absence de différence de pronostic à 6 mois entre les deux bras streptokinase et non-streptokinase des essais MAST-E et MAST-I pourrait être due à l'effet combiné d'un excès de mortalité précoce spontanée et d'une amélioration du handicap des survivants. Malgré cela, un autre essai évaluant la streptokinase pourrait être indiqué, mais il devrait probablement être comparé avec le rt-PA dans un délai de 3 heures après le début de l'AICA chez des patients mieux sélectionnés.

De l'importance d'une sélection des candidats à la thrombolyse intraveineuse

Même en suivant les recommandations approuvées du guide d'utilisation du rt-PA par voie intraveineuse dans les 3 heures suivant la survenue de l'AICA, il est difficile de dire quels sont les patients qui ont le plus de chances de bénéficier de ce traitement et quels sont ceux qui sont à risque. L'absence de réponse à cette interrogation constitue un obstacle majeur à la diffusion du traitement par rt-PA en pratique courante. Plusieurs facteurs pourraient être critiques pour sélectionner de façon optimale les candidats au rt-PA en fonction du meilleur rapport bénéfice sur risque.

La fenêtre temporelle d'intervention

La différence de résultats entre les essais NINDS et ECASS, de même que les données fournies par ASK, suggèrent que le délai de mise en route du traitement est un facteur critique. Toutefois, les données de l'imagerie fonctionnelle (tomographie d'émission positronique, IRM de diffusion) suggèrent que la fenêtre temporelle pourrait s'étendre au-delà de trois heures chez certains patients, tandis que, chez d'autres, elle pourrait être réduite à moins d'une heure [10]. Un outil simple permettant de détecter chez un individu donné, quel que soit son délai d'admission, le tissu cérébral ischémié mais viable, serait très utile pour sélectionner les candidats à la thrombolyse, en particulier si cet outil pouvait aussi démontrer que des artères sont occluses et qu'elles sont donc

potentiellement reperméabilisables. Le développement des techniques de RMN, dont l'angio-IRM, l'IRM de diffusion, l'IRM de perfusion et la spectroscopie de RMN *in vivo* [11], pourrait apporter des renseignements précieux permettant de répondre à certaines de ces questions, mais ceci reste à valider.

Les paramètres prédictifs de la récupération

Un jeune âge, l'absence de cardiopathie et de diabète, une tension artérielle basse à l'admission, un score neurologique faible, l'absence de signes précoces d'ischémie parenchymateuse et de thrombus de grosse artère visible sur le scanner cérébral initial non injecté, et une circulation collatérale bien développée sont des facteurs associés à un meilleur pronostic. Des facteurs prédictifs spécifiques d'un bon ou d'un mauvais pronostic suite à la thrombolyse restent encore à définir.

Les paramètres prédictifs d'hémorragie cérébrale

Le délai d'initiation du traitement, la dose de thrombolytique, le niveau de tension artérielle, la sévérité du déficit neurologique et la sévérité de l'ischémie sont des facteurs de risque de survenue d'une hémorragie cérébrale qui correspond principalement à un saignement symptomatique au sein d'un infarctus évolutif. La reperméabilisation artérielle peut, théoriquement, être un facteur à la fois de récupération et de saignement au sein d'une zone ischémiée, mais, la plupart des cas anecdotiques rapportés d'hémorragie sévère intra-infarctus *ne comportaient pas de reperméabilisation*. Cette donnée, qui mériterait d'être évaluée prospectivement sur de grandes séries, pourrait être importante à considérer, car elle suggère que le bénéfice (désobstruction vasculaire) et le risque potentiel (hémorragie) de la thrombolyse intraveineuse n'évoluent pas parallèlement. Il est aussi possible que les hémorragies les plus sévères aient tendance à se produire plus volontiers au sein de zones ischémiées s'étendant rapidement, de telle façon que l'aggravation clinique pourrait être attribuée à tort à l'hémorragie au lieu que ce soit à l'infarctus évolutif.

La thrombolyse *in situ*

La thrombolyse intra-artérielle locale, dite *in situ*, a l'avantage de délivrer localement une plus

forte concentration du médicament parallèlement à une plus faible concentration systémique. Un autre avantage est que cette administration se fait chez des patients mieux sélectionnés puisque l'artériographie permet d'objectiver l'occlusion artérielle cérébrale responsable de l'AICA. Plus de 10 petites séries non contrôlées apportent une preuve anecdotique du bénéfice de la thrombolyse intra-artérielle chez les patients présentant un AICA sévère principalement en rapport avec une thrombose du tronc basilaire, habituellement avec l'urokinase ou le rt-PA [12, 13]. Un seul essai randomisé préliminaire est arrivé à son terme, il s'agit du Prolyse in Acute Cerebral Thromboembolism Trial (PROACT) [14], au cours duquel 26 patients présentant un AICA dans le territoire sylvien ont reçu 6 mg de pro-urokinase comparativement à 14 patients qui ne recevaient que du placebo, dans les 6 heures suivant le début de l'AICA. Ces deux groupes recevaient de l'héparine par voie intraveineuse. Il n'y avait aucune différence de pronostic entre les deux bras de cette étude, mais, l'angiographie de contrôle réalisée une heure après chaque injection a montré qu'il existait une reperméabilisation partielle ou complète plus fréquente dans le groupe traité (15/26; 58%) comparativement au groupe contrôle (2/14; 14%). L'essai PROACT-2 (avec 9 mg de pro-urokinase) est en cours et d'autres études sont programmées, dont des essais associant prothèse intravasculaire (stent) et thrombolyse artérielle, pour éviter la rethrombose artérielle. La thrombolyse intraveineuse *in situ* a également été réalisée avec des résultats bénéfiques anecdotiques au cours de thromboses veineuses cérébrales. Néanmoins, malgré l'effet prometteur et spectaculaire rapporté dans des cas individuels, l'utilisation de la thrombolyse *in situ* restera probablement inapplicable à la plupart des patients.

Etat actuel de la thrombolyse

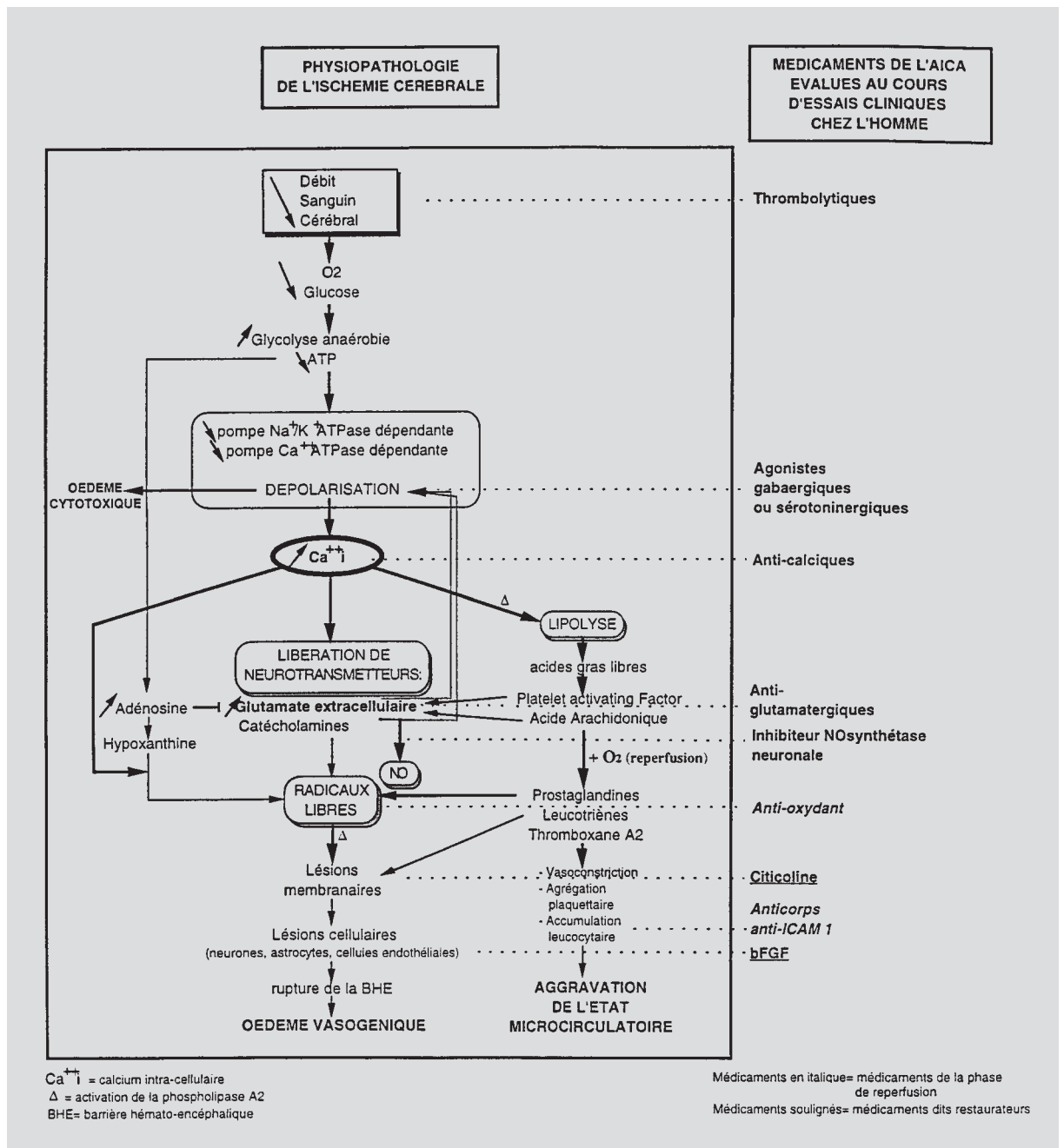
Suite à l'essai NINDS, la thrombolyse intraveineuse par rt-PA a été recommandée, aux Etats-Unis, comme traitement des AICA dans les trois heures suivant l'apparition des premiers signes neurologiques et sous réserve du respect des critères d'inclusion et d'exclusion appliqués à cet essai. Toutefois, cette fenêtre temporelle d'intervention et d'autres critères font que ce traitement concerne moins de 5% des patients présentant un AICA. Il est capital que la décision de mettre en route un tel traitement ne soit prise que par un *neurologue expert* (ayant les connaissances neuro-radiologiques requises pour l'évaluation du scan-

ner initial), avec l'accès approprié aux soins d'urgence optimaux. En effet, c'est sans doute le mérite le plus important de l'essai NINDS que d'avoir renforcé la prise de conscience de l'AICA *en tant qu'urgence neurologique*. Les résultats des essais en cours tels que ECASS-2 et PROACT-2 seront bientôt disponibles. Un développement futur potentiel du traitement thrombolytique de l'AICA pourrait être son association à des agents neuroprotecteurs qui pourraient agrandir la fenêtre temporelle d'intervention thérapeutique. L'association à un traitement anti-thrombotique, en particulier des anti-agrégants plaquettaires comme les inhibiteurs du complexe plaquettaire GIIb/IIIa, est également séduisante compte tenu de l'effet pro-agrégant propre du processus thrombolytique. De nouvelles molécules thrombolytiques (Retepase, une forme dérivée du t-PA endogène; TNK t-PA, une variante du t-PA spécifique de la fibrine et à demi-vie longue; E6010, une seconde génération de t-PA à la demi-vie plus longue) sont en cours d'étude et pourraient offrir un meilleur rapport bénéfice sur risque que le rt-PA.

Traitement neuroprotecteur

Les événements cellulaires qui se produisent au sein d'un parenchyme cérébral soumis à une ischémie focale sont complexes et probablement différents selon le moment évolutif et la localisation au sein du territoire ischémié [30]. La connaissance de ces anomalies métaboliques en réponse à une ischémie cérébrale focale a considérablement progressé, permettant de s'appuyer sur une base rationnelle pour développer des médicaments visant à diminuer la souffrance cellulaire (fig. 1). Plusieurs thérapeutiques neuroprotectrices différentes ont été proposées parallèlement à une meilleure compréhension des conséquences cellulaires de l'ischémie focale. La raison première de l'utilisation de médicaments neuroprotecteurs est qu'il existe différents degrés de flux sanguin cérébral résiduel au sein du territoire ischémié. Cet apport sanguin résiduel explique la variabilité du délai d'irréversibilité des lésions cellulaires et autoriserait l'accès de la cible thérapeutique aux médicaments neuroprotecteurs. Dans les modèles animaux d'AICA, plusieurs types différents de médicaments neuroprotecteurs ont démontré une capacité à réduire de façon très importante le volume de la zone ischémiée [16]. Malheureusement, aucun d'entre eux ne s'est révélé efficace chez l'homme, bien que quelques bénéfices aient pu être observés. Mis à part

Figure 1
 Physiopathologie de l'ischémie cérébrale et essais thérapeutiques dans l'accident ischémique cérébral aigu.



les phénomènes d'intolérance, ceci pourrait être expliqué par le fait que la majorité des molécules dites neuroprotectrices évaluées chez l'animal ne sont efficaces qu'injectées au plus tard une demi-heure à une heure après le début de l'ischémie cérébrale expérimentale. En pratique, ceci est difficilement réalisable chez l'homme, à moins d'envisager l'utilisation de drogues ayant démontré leur innocuité, même en association, et pouvant être administrées en urgence au domicile du patient en cas de suspicion d'AICA, sans conséquence néfaste s'il s'agit d'une hémorragie cérébrale ou d'une pathologie finalement non vasculaire.

Thérapeutiques anti-calciques

La prise de conscience précoce que l'élévation du calcium intracellulaire était en grande partie responsable de la mort neuronale a conduit à la mise en place d'essais thérapeutiques évaluant des molécules inhibitrices des canaux calciques voltage-dépendants et ligand-dépendants.

La nimodipine a été évaluée de façon extensive, dans de nombreux essais cliniques qui se sont tous avérés négatifs [16]. Ce qui n'était pas surprenant, puisque la fenêtre temporelle autorisée pour l'initiation du traitement était de 24 à 48 heures après le début de l'AICA. Une méta-analyse des neuf principaux essais ayant évalué l'effet

de la nimodipine a montré une amélioration significative du pronostic fonctionnel neurologique chez les patients dont le traitement avait été instauré dans les 12 heures suivant le début de l'AICA [17]. Sur cette base, un essai clinique évaluant l'effet de la nimodipine, prescrite *per os* dans un délai de 6 heures, doit être initié aux Pays-Bas.

Les canaux calciques ligand-dépendants sont des canaux à courant rapide activés principalement par un acide aminé excitateur, le glutamate. Le complexe NMDA (n-méthyl-d-aspartate), un canal calcique ligand-dépendant important et bien caractérisé, contient des sites modulateurs activés par la glycine et les polyamines, qui représentent donc aussi des cibles thérapeutiques potentielles. Dans les modèles animaux d'AICA, les antagonistes compétitifs et non compétitifs du récepteur NMDA réduisent la taille de l'infarctus quand ils sont débutés au plus 1 heure après le début de l'ischémie. Le dextrorphan et le selfotel sont deux antagonistes compétitifs du récepteur NMDA dont le développement clinique a dû être interrompu étant donné les effets secondaires induits par le premier et l'inefficacité du second [16]. Le Cerestat, un antagoniste non-compétitif du récepteur NMDA, a démontré un semblant d'efficacité et un profil de tolérance raisonnable dans un essai de phase III [18]. Mais, récemment, un essai de phase III a été interrompu du fait d'un rapport bénéfice sur risque insuffisant. Des informations complémentaires à ce propos seront bientôt disponibles et permettront de dire si le développement de ce produit doit être poursuivi ou interrompu. Plusieurs antagonistes du site glycine réduisent également la taille de l'infarctus dans les modèles expérimentaux animaux et le GV150026A, une molécule de cette famille, commence à être évaluée dans un essai de phase II. L'Eliprodil, un antagoniste du site des polyamines, a été largement évalué dans deux grands essais de phase III, mais tous deux ont dû être interrompus du fait d'une inefficacité.

Une autre façon de diminuer l'activité du complexe NMDA est de réduire la libération présynaptique de glutamate en agissant sur les canaux sodiques présynaptiques. La phénytoïne, antiépileptique largement utilisé, a un effet neuroprotecteur dans certains modèles animaux et un essai de phase II a démontré une bonne tolérance [19]. Une information sur l'efficacité potentielle de la phénytoïne sera bientôt disponible à partir d'un essai de phase III. Le lubeluzole est une autre molécule qui agit sur la libération présynaptique du glutamate et a d'autres effets neuroprotecteurs potentiels qui ont été évalués au cours de deux

essais de phase III [20]. L'essai européen était totalement négatif quels que soient les critères d'analyse [21]. Tandis que l'essai américain montrait une tendance non significative à la réduction de mortalité, critère d'évaluation principal, et une amélioration discrète mais significative du pronostic fonctionnel neurologique [22]. Un troisième essai de phase III est en cours et évaluera prioritairement le pronostic fonctionnel neurologique.

Le récepteur à l'AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxalone propionique acid) est un autre canal ionique ligand-dépendant activé par le glutamate, qui induit non seulement une augmentation de calcium intracellulaire mais aussi une augmentation de sodium intracellulaire dans le parenchyme cérébral ischémié [23]. Les antagonistes de l'AMPA semblent être généralement plus toxiques que les antagonistes du NMDA. Ainsi, le développement du NBQX, prototype d'antagoniste de l'AMPA, a été interrompu du fait d'une néphrotoxicité [16]. Mais, plusieurs nouveaux antagonistes de l'AMPA sont maintenant disponibles et sont en phase précoce de développement clinique.

Thérapeutiques restauratrices potentielles

L'utilisation de facteurs de croissance cellulaire endogènes offre une voie originale pour essayer d'améliorer le pronostic neurologique après une ischémie cérébrale focale. Le bFGF (basic fibroblast growth factor) est le plus largement étudié de ces facteurs. Il a une action trophique positive directe sur les astrocytes et les cellules endothéliales et, indirecte, sur les neurones par l'intermédiaire d'une stimulation de la sécrétion de NGF (nerve growth factor) par les astrocytes. Dans les modèles expérimentaux animaux d'AICA, le bFGF réduit le volume de l'infarctus s'il est administré peu de temps après le début de l'ischémie focale [24]. Un essai de phase II récemment arrivé à son terme a montré que le bFGF était bien toléré chez des patients présentant un accident vasculaire cérébral et des essais de phase III sont en cours. D'autres facteurs de croissance comme l'IGF (insuline-like growth factor) et le BDNF (brain-derived neurotrophic factor) ont montré un effet neuroprotecteur dans des modèles animaux, mais il est difficile de dire s'ils seront évalués au cours d'essais cliniques.

La citicoline est un autre traitement qui a un intérêt potentiel dans la prise en charge thérapeutique des AICA. Dans des modèles animaux, la citicoline réduit le volume de l'infarctus si elle est initiée dans les 90 à 120 minutes suivant le début de l'ischémie focale et si le traitement est

poursuivi pendant 7 jours [25]. Deux essais thérapeutiques ont montré une amélioration significative du pronostic fonctionnel neurologique au 90^e jour après l'AICA, chez des patients qui recevaient une dose orale de 500 mg de citicoline initiée au plus tard 24 heures après le début de l'ischémie cérébrale [26]. Dans le second de ces essais, seuls les patients présentant un déficit initial sévère à modéré présentaient une amélioration significative, l'évolution des autres patients étant favorable qu'ils aient reçu de la citicoline ou un placebo. Le mécanisme par lequel la citicoline entraîne une amélioration neurologique chez les patients présentant un AICA n'est pas clairement élucidé, mais correspond probablement plus à un processus de restauration que de neuroprotection. Ce composé est non seulement un précurseur de la phosphatidylcholine, composant clé de la membrane cellulaire, mais a aussi un effet anti-oxydant [27]. Si l'efficacité de cette molécule était confirmée, celle-ci serait largement prescrite du fait de son innocuité et de son efficacité qui semble se prolonger jusqu'à la 24^e heure après le début de l'ischémie cérébrale.

Autres stratégies neuroprotectrices

Deux autres types de traitement neuroprotecteur ont été évalués en phases pré-clinique et clinique et pourraient avoir un intérêt potentiel utilisés en combinaison avec les traitements assurant une reperméabilisation vasculaire. Ces deux traitements sont l'anti-oxydant et l'anti-adhésion leucocytaire. Dans les modèles expérimentaux animaux, ces deux catégories de produit réduisent le volume de l'infarctus cérébral dans les modèles d'ischémie focale transitoire, mais ont peu ou pas d'effet sur la taille de l'infarctus dans les modèles d'ischémie focale permanente [16]. Ces résultats expérimentaux impliquent que ces traitements anti-oxydant et anti-adhésion leucocytaire devraient préférentiellement être employés chez des patients présentant un AICA en phase de reperméabilisation. Le Tirilazad, un 21-amino-stéroïde dérivé de la méthylprednisolone, et à l'effet anti-oxydant, s'est révélé inefficace dans un essai de phase III qui l'évaluait comme traitement de première intention de l'AICA, et son développement dans cette indication a apparemment été interrompu [28]. Un anticorps monoclonal dirigé contre les molécules d'adhésion I-CAM1 des cellules endothéliales a été testé dans un essai de phase III [29]. Il était associé à une augmentation significative de la mortalité et à un moins bon pronostic neurologique que le placebo, ses effets

délétères ayant été rattachés directement à une augmentation du pourcentage de fièvre et d'infection.

Plusieurs autres thérapeutiques neuroprotectrices sont en train d'être explorées. Le GABA (acide gamma-amino-butyrique) est le plus important neurotransmetteur inhibiteur du système nerveux central et s'oppose aux effets des neurotransmetteurs excitateurs que sont le glutamate et la glycine. Il a aussi été démontré, dans des modèles expérimentaux animaux, que des ondes de dépolarisation se déplaçaient en vagues au sein du tissu cérébral ischémié de façon focale [30]. Ces vagues de dépolarisations favorisent l'entrée de calcium dans les cellules et augmentent le besoin en ATP dont les neurones sont déjà plus ou moins privés suite à l'ischémie (fig. 1). Ces phénomènes métaboliques en cascade aggravent la souffrance cellulaire pour finalement aboutir à la mort neuronale et donc contribuer à l'extension des lésions irréversibles. L'augmentation de l'activité gabaergique pourrait partiellement contrecarrer cette aggravation des lésions ischémiques induite par ces dépolarisations. Des agonistes gabaergiques tels que le muscimol et le clométhiazole réduisent aussi le volume de l'infarctus cérébral dans des modèles animaux d'AICA et un essai clinique de phase III est récemment arrivé à son terme concernant le clométhiazole. Les résultats globaux de cet essai étaient négatifs, mais une amélioration significative du pronostic fonctionnel neurologique fut observé chez les patients aux lésions ischémiques cérébrales étendues et dont le traitement par clométhiazole avait pu être initié avant la 12^e heure après le début de l'ischémie [31]. Un essai de phase III de suivi ciblé d'une telle sous-population d'AICA est en train d'être organisé.

Les agonistes sérotoninergiques favorisent aussi l'hyperpolarisation et réduisent la taille de l'infarctus dans les modèles animaux d'AICA. Un essai clinique de phase II est actuellement en cours pour évaluer un de ces agonistes sérotoninergiques.

Au cours de l'ischémie cérébrale, l'oxyde nitrique (NO), produit en excès par les cellules endothéliales et surtout les neurones, a un effet neurotoxique. L'inhibition spécifique de la NO-synthétase neuronale réduit la taille de l'infarctus dans l'ischémie cérébrale expérimentale [32]. La mise à disposition de tels inhibiteurs spécifiques de la NO-synthétase neuronale permet d'envisager l'initiation rapide d'essais cliniques visant à évaluer cette stratégie thérapeutique dans l'AICA.

L'activation du récepteur de l'adénosine inhibe la libération de glutamate et les agonistes de l'adénosine ont un effet neuroprotecteur dans

l'ischémie cérébrale expérimentale [33]. Malheureusement, ces composés ont des effets cardiovasculaires délétères limitant leur utilisation.

Récemment, la contribution du phénomène de mort cellulaire programmée (apoptose) dans l'évolution du processus ischémique a suscité un regain d'intérêt [34]. Le phénomène d'apoptose pourrait être important dans certaines zones ischémiques où la diminution initiale du débit sanguin est restée modeste, ou après reperméabilisation. Si cette implication de l'apoptose se confirmait, l'utilisation de stratégies thérapeutiques anti-apoptotiques serait à évaluer dans l'AICA.

Directions futures

Le grand nombre de thérapeutiques de l'AICA en cours de développement pré-clinique ou clinique laisse espérer que plusieurs nouvelles molécules pourraient faire montre, à court terme, de leur efficacité en améliorant le pronostic fonctionnel neurologique. Toutefois, étant donné la complexité de la physiopathologie et de la dynamique de constitution de l'infarctus cérébral, il est fort probable que chaque monothérapie n'aura qu'un effet bénéfique modeste. Pour améliorer le pronostic d'un pourcentage absolu de 30 à 40%, si tant est que cela soit possible, il faudra sans doute utiliser plusieurs stratégies thérapeutiques différentes simultanément, visant chacune des cibles qui leur sont spécifiques, chez des patients sélectionnés de façon appropriée. En théorie, et sans tenir compte des stratégies de reperméabilisation vasculaire, l'idéal serait de pouvoir associer plusieurs neuroprotecteurs bien tolérés et antagonisant chacun un des principaux facteurs bien identifiés responsables de la souffrance neuronale au cours de l'ischémie cérébrale. Ainsi, par exemple, pourraient être associés un antagoniste des acides aminés excitateurs, un anti-oxydant et un inhibiteur de la NO-synthétase neuronale. Même si évalué isolément chacun de ces produits se révélait inefficace, cela ne préjugerait pas obligatoirement de l'inefficacité de l'association des trois compte tenu de la protection neuronale théoriquement optimale qui ne peut être obtenue que par ce type d'association, à moins que l'on ne découvre une molécule active simultanément sur plusieurs des voies de la souffrance neuronale. Mais ceci doit bien évidemment d'abord être évalué dans des modèles expérimentaux animaux [35, 36].

Les polythérapies: traitement d'avenir de l'AICA

Comment de futures polythérapies de l'AICA pourraient-elles donc être développées et ensuite améliorées? Plusieurs scénarios sont envisageables mais nous ne présenterons que les plus probables sur la base des connaissances actuelles et des thérapeutiques disponibles. La fenêtre temporelle actuellement recommandée pour l'utilisation du rt-PA est seulement de 3 heures. Il est possible que les conclusions des essais cliniques en cours puissent étendre cette fenêtre à 5-6 heures dans certains sous-groupes sélectionnés d'AIC. L'utilisation, dans des modèles animaux expérimentaux d'ischémie cérébrale, d'agents neuroprotecteurs avant la reperméabilisation vasculaire permet d'agrandir cette fenêtre temporelle autorisant ainsi une meilleure efficacité des techniques de reperméabilisation vasculaire [37]. Dès lors, pourrait être envisagée la mise en place d'essais cliniques évaluant l'utilisation précoce d'une molécule neuroprotectrice reconnue et réglementairement approuvée, suivie de l'administration du rt-PA. Les groupes contrôles pourraient être représentés par des patients ayant reçu une seule de ces thérapeutiques. Si, par exemple, la citicoline est approuvée, un autre essai futur pourrait consister à comparer l'utilisation précoce du rt-PA au placebo ou à la citicoline initiée dans les 24 heures après le début de l'AICA. Un troisième essai potentiel de polythérapie serait d'évaluer la combinaison d'une utilisation précoce du rt-PA intraveineux suivi d'un traitement supposé diminuer les inconvénients de la reperfusion, comme un anti-oxydant ou un agent anti-adhésion leucocytaire bien toléré. Le groupe contrôle recevrait le rt-PA suivi d'un placebo. Un problème important à considérer avec l'utilisation du rt-PA utilisé seul ou en combinaison avec d'autres traitements est d'arriver à optimiser le bénéfice en réduisant le risque hémorragique. Il est logique de penser que les patients ayant un déficit documenté de la perfusion cérébrale sont ceux qui bénéficieraient le plus probablement d'une reperméabilisation précoce. Ainsi, documenter un tel déficit de l'apport sanguin cérébral par IRM de perfusion, SPECT ou méthodes ultrasonores devraient être considéré dans la mise au point de futurs essais cliniques évaluant le rt-PA ou un autre thrombolytique par voie intraveineuse.

Quels traitements pour quels patients?

Un des points importants à prendre en compte dans les futurs essais cliniques concernant les AICA est de savoir identifier les patients les plus appropriés

à recevoir telle ou telle thérapeutique, unique ou combinée.

Le choix d'une fenêtre temporelle de 3 à 6 heures effectué dans les essais thérapeutiques actuels n'est pas seulement basé sur des données scientifiques mais aussi sur le souci réaliste de recrutement d'un nombre suffisant de patients. Cette notion de fenêtre temporelle pour l'initiation du traitement de l'AICA est et restera critique. Si un traitement efficace ne peut être prescrit que dans les trois heures suivant le début de l'ischémie, alors l'utilité de ce type de traitement restera probablement très limitée. Des données issues d'expérimentations animales et d'essais cliniques chez l'homme suggèrent que cette fenêtre thérapeutique, où les lésions cérébrales sont encore potentiellement réversibles, pourrait amplement dépasser 3 heures chez certains patients [38, 39]. Malheureusement, il est impossible pour les cliniciens de dire, à un moment donné, s'il existe ou non, chez un individu, une souffrance parenchymateuse cérébrale ischémique réversible. Aucune technique actuellement disponible ne permet de répondre à cette question. Toutefois, l'IRM de diffusion/perfusion pourrait, dans un futur proche, fournir une approximation raisonnable de cette réponse [40]. Si cette méthode, amenée à être largement répandue, permet de sélectionner rapidement les patients qui conservent une zone de souffrance parenchymateuse potentiellement réversible, alors la détermination individuelle de la largeur de la fenêtre d'intervention thérapeutique pourrait être réalisée. Une telle approche individuelle permettrait de sélectionner les patients potentiellement à même de répondre à telle ou telle stratégie thérapeutique.

Tous les sous-types principaux d'accident ischémique cérébral sont habituellement inclus dans les essais, de telle façon qu'aucune différence n'est faite entre les pathologies athéroscléreuses des grosses artères, les pathologies lacunaires des petits vaisseaux ou les accidents cardio-emboliques. Dans le futur, et particulièrement si l'évolution se fait vers les polythérapies, nous devons tenir compte de ces catégories différentes d'AICA si l'on veut espérer obtenir un jour une réponse thérapeutique optimale. Vouloir définir les sous-types d'AIC et leur traitement correspondant le plus approprié, n'est pas un objectif facile. Par exemple, la substance blanche ne contient pas de synapses ni certains complexes de récepteurs [41] et les accidents lacunaires sont, par définition, strictement localisés à ce niveau. Il serait donc surprenant que des antagonistes des récepteurs NMDA soient efficaces dans ce sous-type d'AICA. En outre, l'évolution naturelle spontanée des accidents lacunaires est favorable dans au moins

70% des cas [42]. Si un essai clinique évaluant un antagoniste des récepteurs NMDA incluait un pourcentage non négligeable d'accidents lacunaires, il est peu probable qu'un effet thérapeutique puisse être détecté. De même, les résultats récemment rapportés de l'essai clinique évaluant le clométhiazole sont globalement négatifs, mais, les patients dont les critères cliniques suggéraient une lésion corticale étendue avaient un bénéfice significatif avec cet agoniste gabaergique [31].

L'idée de corrélérer la sévérité initiale de l'AICA avec le pronostic ultérieur et le choix du traitement est quelque peu intuitive, mais son importance a été soulignée par deux essais récents: TOAST [43] et celui évaluant la citicoline. Ces essais, effectués chez des patients ayant un déficit neurologique initialement modéré, côté à 7 ou plus à l'échelle du NIH, ont un fort pourcentage de récupération sous placebo ou sous traitement. Les résultats de ces essais et les précédentes études évaluant l'histoire naturelle des AIC suggèrent fortement que la plupart des patients qui présentent un AICA responsable d'un déficit neurologique d'intensité modérée récupèrent et ne nécessitent pas le même traitement intensif que les patients plus touchés [44]. Si de trop nombreux patients modérément touchés sont inclus dans un essai thérapeutique, il y a un risque pour que l'effet bénéfique potentiel du traitement soit masqué. A l'opposé, d'autres essais récents, celui du lubeluzole et du rt-PA (NIH), montrent que les patients sévèrement touchés, dont le score est de 22 à l'échelle du NIH, pourraient ne pas répondre au traitement [3, 22].

La thérapeutique des AICA évoluant vers les polythérapies, il devient de plus en plus critique que les essais cliniques soient précautionneusement conçus pour répondre à des hypothèses précises. Le passé a montré qu'il était difficile de concevoir un essai thérapeutique positif avec une seule molécule comparée à un placebo. Ce groupe placebo ne sera plus présent dans les essais futurs. Comme suggéré précédemment, il est probable que ces essais comporteront trois bras, ceux de chaque molécule évaluée seule et celui de l'association des deux molécules [45]. Si ces essais n'exigent pas des critères de sélection qui optimisent l'effet synergique potentiel de cette association, il sera alors difficile de démontrer statistiquement l'efficacité de cette combinaison comparée à une des molécules déjà efficace à elle seule. Il est maintenant possible de concevoir et de mettre en place des essais cliniques évaluant diverses polythérapies dans le traitement des AICA. Plusieurs molécules prometteuses pourront ainsi être évaluées dans cette configuration et, au

mieux, grâce aux progrès rapides de la neuro-imagerie. On peut espérer que ces cinq prochaines années verront l'émergence de stratégies thérapeutiques permettant de minimiser les conséquences d'une affection dévastatrice, mais qu'il sera enfin possible de considérer comme curable.

Références

- 1 Fisher M, Bogousslavsky J. Evolving towards effective therapy for acute ischemic stroke. *JAMA* 1993;270:360-4.
- 2 Sandercock P. Thrombolytic therapy for acute ischemic stroke: promising, perilous, or unproven? *Lancet* 1995;346:1504-5.
- 3 The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Study Group. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 1995;333:1581-7.
- 4 Multicenter Acute Stroke Trial - Italy (MAST-I). Randomized controlled trial of streptokinase, aspirin, and combination of both in treatment of acute ischemic stroke. *Lancet* 1996;346:1509-14.
- 5 Donnan GA, Davis SM, Chambers BR, et al. for the Australian Streptokinase (ASK) Trial Study Group. Streptokinase for acute ischemic stroke with relationship to time of administration. *JAMA* 1996;276:961-6.
- 6 Multicenter Acute Stroke Trial - Europe Study Group. Thrombolytic therapy with streptokinase in acute ischemic stroke. *Lancet* 1996;346:1509-14.
- 7 Hacke W, Kaste M, Fieschi C, et al. for the ECASS Study Group. Intravenous thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator for acute hemispheric stroke. *JAMA* 1995;274:1017-25.
- 8 Adams HP, Brodt TG, Furlan AJ, et al. Guidelines for thrombolytic therapy for acute stroke: a supplement to the guidelines for the management of patients with acute ischemic stroke. *Circulation* 1996;94:1167-74.
- 9 Boysen G, Vostrup S, Bogousslavsky J. Thrombolysis for stroke: time for a consensus. *Cerebrovasc Dis* 1996;6:376-80.
- 10 Silver B, Fisher M. Trends in protecting ischemic brain. In: Bogousslavsky J (editor). *Acute stroke treatment*. London: Martin Dunitz Publ.; 1997. pp 150-162.
- 11 Gillard JH, Barker JB, VanZijl PC, Bryan RN, Oppenheimer SM. Proton MR spectroscopy in acute middle cerebral artery stroke. *AJNR* 1996;17:873-86.
- 12 Brodt TG. Reopening occluded cerebral arteries. In: Bogousslavsky J (editor). *Acute stroke treatment*. London: Martin Dunitz Publ.; 1997. pp 109-148.
- 13 Mitchell PJ, Gerraty R, Donnan GA, et al. Thrombolysis in the vertebrobasilar circulation: the Australian Urokinase Stroke Trial (AUST). A pilot study. *Cerebrovasc Dis* 1997;7:94-9.
- 14 Del Zoppo GJ, Higashida RT, Furlan AJ, Pessin MS, Gent M, Driscoll RM for the PROACT investigators. The prolyse in acute cerebral thromboembolism trial (PROACT): results of 6-mg-dose titer. *Stroke* 1996;27:164.
- 15 Paczynski R, Hsu CY, Diringner MN. Pathophysiology of ischemic injury. In: Fisher M (editor). *Stroke therapy*. Boston: Butterworth-Heinemann; 1995. pp 29-64.
- 16 Silver B, Weber J, Fisher M. Medical therapy for acute ischemic stroke. *Clin Neuropharmacol* 1995;19:101-28.
- 17 Mohr JP, Orgogozo JM, Harrison MJG, et al. Meta-analysis of oral nimodipine trials in acute ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 1994;4:197-203.
- 18 Edwards K and the CNS 1102-008 Study Group. Cerestat (aptoganel hydrochloride) in the treatment of acute ischemic stroke: Results of phase III trial [abstract]. *Neurology* 1996;46(Suppl 1):A424.
- 19 Tietjen GE, Dombi T, Pulsinelli WA, et al. A double-blind, safety and tolerance study of single intravenous doses of fosphenytoin in patients with acute ischemic stroke [abstract]. *Neurology* 1996;46(Suppl 1):A424.
- 20 Scheller D, Kolb J, Szathmary S, et al. Extracellular changes of glutamate in the peri-infarct zone: effects of lubeluzole [abstract]. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995;15(Suppl 1):S379.
- 21 Diener HC, Kaste M, Hacke W, et al. Lubeluzole in acute ischemic stroke. *Stroke* 1997;28:271.
- 22 Grotta J, for the US and Canadian Lubeluzole Stroke Study Group. Lubeluzole treatment for acute ischemic stroke. *Stroke* 1997;28:2338-46.
- 23 Koh J, Goldberg MP, Hartley DM, Choi DW. Non-NMDA receptor-mediated neurotoxicity in cortical culture. *J Neurosci* 1990;10:693-705.
- 24 Fisher M, Meadows ME, Do T, et al. Delayed treatment with intravenous basic fibroblast growth factor reduces infarct size following permanent focal cerebral ischemia in rats. *Cereb Blood Flow Metab* 1995;15:953-9.
- 25 Scabitz WR, Weber J, Takano K, et al. The effects of prolonged treatment with citicoline in temporary experimental focal ischemia. *J Neurol Sci* 1996;138:21-5.
- 26 Clark WM, Warach SJ, Pettigrew LC, et al. A randomized dose-response trial of citicoline in acute ischemic stroke. *Neurology* 1997;49:671-8.
- 27 D'Orlando KJ, Sandage BW. Citicoline (CDP-choline) mechanisms of action and effects in ischemic brain injury. *Neurol Res* 1995;17:281-4.
- 28 The RANTASS Investigators. A randomized trial of Tirilazad Mesylate in patients with acute ischemic stroke. *Stroke* 1996;27:1453-8.
- 29 The Enlimomab Acute Stroke Trial Investigators. The Enlimomab acute stroke trial: final results [abstract]. *Neurology* 1997;48:A270.
- 30 Hossmann KA. Viability thresholds and the penumbra of focal ischemia. *Ann Neurol* 1994;36:557-65.
- 31 Walgren NG. Clomethiazole Acute Stroke Study Collaborative Group. The clomethiazole acute stroke study (CLASS) [abstract]. *Cerebrovasc Dis* 1997;7(Suppl 4):19.
- 32 Zhang AD, Reif D, MacDonald J, et al. ARL 17477, a potent and selective neuronal NOS inhibitor decreases infarct volume after transient middle cerebral artery occlusion in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997;16:599-604.
- 33 Schubert P, Rudolphi KA, Fredholm BB, Nakamura Y. Modulation of nerve and glial function by adenosine. Role in the development of ischemic damage. *Int J Biochem* 1994;26:1227-36.
- 34 Chopp M, Chan PN, Hsu CY, Cheung ME, Jacobs TP. DNA damage and repair in central nervous system injury. *Stroke* 1996;27:363-9.

-
- 35 Lyden P, Lonzo L, Nuñez S. Combination chemotherapy extends the therapeutic window to 60 minutes after stroke. *J Neurotrauma* 1995;12:223–30.
-
- 36 Barth A, Barth L, Morrison RS, Newell DW. bFGF enhances the protective effects of MK-801 against ischemic neuronal injury *in vitro*. *Neuroreport* 1996;7:1461–4.
-
- 37 Minematsu K, Fisher M, Li L, Sotach CH. Diffusion and perfusion MRI studies to evaluate a non-competitive NMDA antagonist and reperfusion in experimental stroke. *Stroke* 1993;24:2074–81.
-
- 38 Touzani O, Young AR, Derlon JM, et al. Sequential studies of severely hypometabolic tissue volumes after permanent middle cerebral artery occlusion: a positron emission tomographic investigation in anesthetized baboons. *Stroke* 1995;26:2112–9.
-
- 39 Baird AE, Benfield A, Schlaug G, et al. Enlargement of human cerebral ischemic lesion volumes measured by diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *Ann Neurol* 1997;41:581–9.
-
- 40 Fisher M, Prichard JW, Warach S. New magnetic resonance techniques for acute ischemic stroke. *JAMA* 1995;274:908–11.
-
- 41 Fern R, Ransom BR, Waxman SG. Autoprotective mechanisms in the CNS: some new lessons from white-matter. *Mol Chem Neuropathol* 1996;27:107–29.
-
- 42 Samuelsson M, Soderfeldt B, Olsson GB. Functional outcome in patients with lacunar infarction. *Stroke* 1996;27:842–6.
-
- 43 Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, et al. 3d. Classification of subtype of acute ischemic stroke. definitions for use in a multi-center clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in acute stroke treatment. *Stroke* 1993;24:35–41.
-
- 44 Jorgensen HS, Nakayama H, Raaschou HO, Olsen TS. Acute stroke: prognosis and a prediction of the effect of medical treatment on outcome and health care utilization. *Neurology* 1997;49:1335–42.
-
- 45 Grotta J. The current status of neuronal protective therapy: why have all neuronal protective drugs worked in animals but none so far in stroke patients? *Cerebrovasc Dis* 1994;4:115–20.
-