

## · 综述 ·

# 脑卒中溶栓后出血转化的发生机制及治疗药物研究进展

孔令雷<sup>1</sup>, 马寅仲<sup>2</sup>, 李莉<sup>1</sup>, 陈燕霞<sup>3</sup>, 杜冠华<sup>1\*</sup>

(1. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京市药物靶点研究与药物筛选重点实验室, 北京 100050;  
2. 中国科学院深圳先进技术研究院, 广东 深圳 518055; 3. 包头医学院, 内蒙 包头 014060)

**摘要:** 出血转化 (hemorrhagic transformation, HT) 是急性脑卒中及其溶栓治疗的主要并发症, 是组织纤溶酶原激活剂 (tissue plasminogen activator, t-PA) 溶栓后致死和致残的主要原因。使用 t-PA 溶栓可以使 HT 的发生率增加 10 倍, 死亡率达 60%。较窄的治疗时间窗及较高的 HT 发生率限制了 t-PA 的临床应用, 只有约 3.4%~5.2% 的急性脑卒中患者能够接受 t-PA 治疗。由于 HT 发生机制和治疗靶点不明, 临床尚无有效防治药物。HT 发生的主要机制是血脑屏障的完整性丧失和神经血管稳态的破坏, 涉及多种分子信号通路。在动物及临床研究中已经发现一些药物与 t-PA 联用能够降低 HT 的发生, 增加溶栓治疗的安全性。本文就近年来溶栓引起 HT 的发生机制、靶点和治疗药物进行综述, 为 HT 的基础研究及药物研发提供参考。

**关键词:** 脑卒中; 出血转化; 组织纤溶酶原激活剂; 血脑屏障

中图分类号: R966

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 09-1467-10

## Advances in the study of mechanism of thrombolysis-induced hemorrhagic transformation and therapeutic drugs

KONG Ling-lei<sup>1</sup>, MA Yin-zhong<sup>2</sup>, LI Li<sup>1</sup>, CHEN Yan-xia<sup>3</sup>, DU Guan-hua<sup>1\*</sup>

(1. Beijing Key Laboratory of Drug Targets Identification and Drug Screening, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 2. Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China; 3. BaoTou Medical College, Baotou 014060, China )

**Abstract:** Hemorrhagic transformation (HT) is a common complication of ischemic stroke, especially after thrombolytic therapy, which is associated with increased morbidity and mortality. Thrombolysis with tissue plasminogen activator (t-PA) increases the rate of HT by as much as 10-fold, and the mortality by about 60%. The patients who are eligible for t-PA treatment are still between 3.4% and 5.2% of all patients with acute ischemic stroke because of the narrow therapeutic time window. Due to the unknown mechanism and therapeutic target of HT, there are no effective drugs to decrease the incidence of HT. The main mechanism of HT is disruption of the blood-brain barrier (BBB) integrity and neurovascular homeostasis, involving a variety of molecular signaling pathways. In animal and clinical studies, combining therapeutic agents with t-PA, which may help to minimize BBB perturbations, reduces the incidence of HT and increases the safety of thrombolytic therapy. This article is prepared to review the mechanisms, targets and therapeutic drugs of t-PA induced HT in recent years to provide a reference to the basic research and drug development of HT.

**Key words:** stroke; hemorrhagic transformation; tissue plasminogen activator; blood-brain barrier

收稿日期: 2018-04-03; 修回日期: 2018-04-24。

基金项目: 国家重点研发计划资助项目 (2016YFC1000905); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2016-I2M-3-007); 北京市自然科学基金面上项目 (7182113); “重大新药创制” 科技重大专项 (2018ZX09711001-009-009)。

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-63165184, E-mail: dugh@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0296

脑卒中是一种严重威胁人类健康的疾病，是我国第一位的死亡原因和致残原因。出血转化 (hemorrhagic transformation, HT) 是指急性脑梗死后发生的脑内出血现象，是脑卒中常见的严重并发症。HT 的发生会显著增加卒中患者的致死率和致残率，是影响预后的重要因素。临床研究表明，HT 的发生率为 13%~43%，尸检结果显示这一比例高达 38%~71%<sup>[1]</sup>。HT 的发生既是脑卒中病理发展的结果，也与药物治疗有关，如抗血小板药、抗凝药和溶栓药物的使用。

恢复缺血区的血液供应是目前唯一有效的治疗急性缺血性脑卒中的策略，但使用溶栓药物治疗能够显著增加 HT 的发生率。组织纤溶酶原激活剂 (tissue plasminogen activator, t-PA) 是目前临幊上唯一被美国 FDA 批准用于治疗急性脑缺血的溶栓药物，也是美国心脏学会和美国卒中学会发布的卒中治疗指南中一级推荐的药物。

临床研究表明，使用 t-PA 溶栓能够使 HT 的发生率增加 10 倍，死亡率达 60%。即使将治疗时间窗由 3 h 扩大到 4.5 h，仍然只有约 3.4%~5.2% 的急性脑卒中患者接受 t-PA 治疗<sup>[2]</sup>，较窄的治疗时间窗及较高的 HT 发生率限制了 t-PA 的临幊应用。溶栓导致 HT 的发生风险主要与溶栓药物的剂量、给药途径、给药时间和溶栓药物的类型有关。因此，研究溶栓所致 HT 的发生机制，寻找新靶点，开发新药物对于改善脑卒中的治疗和预后，增加溶栓治疗的安全性，对降低致死、致残率具有重要意义。本文就近年来溶栓引起 HT 的发生机制、靶点和治疗药物进行综述，为 HT 的基础研究及药物研发提供参考。

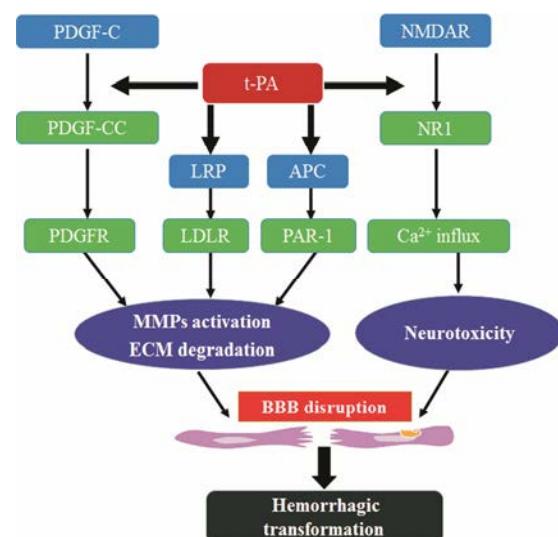
## 1 HT 的分类

临幊上将 HT 分为症状型和无症状型 HT，症状型 HT 的发生率为 0.6%~20%，主要与年龄、血糖水平、溶栓药物使用等相关，预后差，死亡率达到 45%~83%<sup>[3]</sup>。根据临幊影像学可将 HT 分为两类：出血性梗死 (hemorrhagic infarction, HI) 和脑实质血肿 (parenchymal hematoma, PH)。其中 HI 又分为 HI1 型 (小点状出血) 和 HI2 型 (多个融合的点状出血)；PH 分为 PH1 型 (脑血肿<30% 缺血区域，并有轻微占位效应) 和 PH2 型 (脑血肿≥30% 缺血区域，并有明显占位效应)。在急性缺血性脑卒中患者中，HI 的发生率高于 PH (9% vs 3%)<sup>[3]</sup>。

## 2 HT 发生的分子机制研究

HT 的发生是一个复杂、动态的病理过程，其确切的病理生理机制尚不清楚。目前的研究认为 HT 发

生的主要机制是血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 完整性的丧失和神经血管稳态的破坏<sup>[4]</sup>。t-PA 是一种丝氨酸蛋白酶，在缺血和非缺血条件下均可通过血脑屏障。t-PA 在血管内可使纤溶酶原转化为纤溶酶，进而使纤维蛋白溶解发挥溶栓作用，纤溶酶能进一步激活基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 导致 BBB 的破坏<sup>[5]</sup>。此外，t-PA 所致 HT 的发生与缺血时间密切相关<sup>[4]</sup>。临床资料显示，对于急性缺血性脑卒中患者而言，随缺血时间的延长，使用 t-PA 进行溶栓治疗会使 HT 的发生率显著升高<sup>[2]</sup>。因此，对于急性脑缺血患者，越早使用 t-PA 溶栓，HT 的发生率越低。已有多项研究表明，t-PA 所致 HT 的发生不仅是再灌注的结果，还与多种分子机制相关 (图 1)。



**Figure 1** The mechanisms of tissue plasminogen activator (t-PA) induced hemorrhagic transformation (HT). PDGF-C: Platelet-derived growth factor C; PDGFR: Platelet-derived growth factor receptor; LRP: Low density lipoprotein receptor-related protein; LDLR: Low density lipoprotein receptor; APC: Activated protein C; PAR-1: protease-activated receptor 1; NMDAR: N-Methyl-D-aspartate receptor; NR1: NMDAR1 subunit

### 2.1 t-PA-LRP 通路

LDL 受体相关蛋白 (LDL receptor-related protein, LRP) 是一种脂蛋白受体家族成员，通过与细胞外基质相关的不同配体结合参与脂蛋白的代谢，是 t-PA 在细胞表面的主要结合位点之一。t-PA 通过与 LRP 相互作用，调节 BBB 的通透性<sup>[6, 7]</sup>。

缺血条件下，t-PA 通过依赖或非依赖 LRP 的途径进入 BBB，与星形胶质细胞和血管内皮细胞上的 LRP 结合，激活核因子-κB (nuclear factor-κB, NF-κB)、蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 等通路，促进 MMP-9

的表达, 引起紧密连接蛋白 (tight junction protein, TJ) 的降解, 导致 BBB 破坏和 HT 的发生<sup>[8, 9]</sup>。在小胶质细胞中也发现, t-PA 与 LRP 相互作用引起 MMP-3/MMP-9 的表达, 导致 TJ 蛋白的降解<sup>[10]</sup>。使用 LRP 抗体和 LRP 拮抗剂受体相关蛋白 (receptor associated protein, RAP) 能够抑制 MMP-9 的表达, 降低 t-PA 介导的 BBB 损伤<sup>[7]</sup>。此外, LRP 还可以介导 t-PA 与谷氨酸受体的相互作用, 参与 t-PA 的神经毒性<sup>[11]</sup>。

## 2.2 t-PA-APC 通路

活化蛋白 C (activated protein C, APC) 是一种血浆丝氨酸蛋白酶, 具有抗凝血、抗炎和抗凋亡的活性。越来越多的证据表明, APC 在脑缺血的不同病理过程中发挥重要的调节作用, 参与凋亡、炎症、神经再生和神经功能恢复的过程。APC 的调节作用主要通过与蛋白酶激活受体 (protease-activated receptor 1, PAR-1) 结合实现的。

APC 通过抑制神经细胞凋亡减轻 t-PA 的神经毒性作用<sup>[12]</sup>。APC 及其类似物 3K3A-APC 能够通过抑制 NF-κB 介导的 MMP-9 途径降低 t-PA 诱导的 HT<sup>[13, 14]</sup>。然而, 在临床中发现, 血浆中高水平的 APC 与 t-PA 溶栓后 HT 发生率增加相关, 这说明升高的 APC 可能并不足以减轻溶栓后的脑损伤<sup>[15]</sup>。另外 APC 具有较长的治疗时间窗, 在缺血后 6~72 h 仍有神经保护作用, 并介导组织修复, 降低 HT 的发生<sup>[16]</sup>。

## 2.3 t-PA-PDGF-C 通路

血小板衍生因子 C (platelet-derived growth factor C, PDGF-C) 是促进间质细胞分裂与存活的主要生长因子, 其基因表达受转录因子 Egr-1 和 Sp-1 的调节, 以无活性的 PDGF-CC 形式分泌到细胞外基质。t-PA 可以将无活性的 PDGF-CC 激活, 与星形胶质细胞上的血小板衍生因子受体结合后磷酸化, 激活磷脂酰肌醇 3 激酶、丝裂原活化蛋白激酶等信号通路, 导致 BBB 损伤<sup>[17]</sup>。正常状态下, PDGF-CC 也能够诱导 BBB 的开放。使用 PDGF-CC 抗体及其拮抗剂 imatinib 能够抑制 BBB 损伤和 t-PA 引起的 HT<sup>[18]</sup>。此外, 血浆中 PDGF-CC 的升高也被认为是溶栓患者 HT 发生的预测因子<sup>[19]</sup>。

## 2.4 t-PA-NMDAR 通路

N- 甲基天冬氨酸受体 (*N*-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR) 是调控突触可塑性与学习记忆功能的谷氨酸受体, 与谷氨酸结合后, 引起兴奋性毒性。兴奋性毒性是脑卒中的主要病理机制之一, 而 NMDAR 在 t-PA 诱导的神经毒性中发挥重要作用<sup>[20]</sup>。t-PA 与 NMDAR 相互作用, 诱导钙内流和细胞外信

号调节激酶的激活, 产生兴奋性毒性。NMDAR 的不同亚基可以介导 t-PA 诱导的 NMDAR 的激活。体外实验发现, t-PA 通过剪切 NMDAR 的 NR1 亚基, 促进 NMDAR 介导的钙内流<sup>[21, 22]</sup>。特异性阻断 t-PA 与 NR1 的相互作用可以减轻脑缺血小鼠神经元的死亡<sup>[23]</sup>。

目前, 对于 HT 发生机制的研究已经取得了一些进展, 但这些机制并不是特异的, 受氧化应激、炎症等病理过程的调节, 而且针对以上分子机制的干预并未解决 t-PA 溶栓所致 HT 的问题。因此, 在临床使用 t-PA 进行溶栓时, 如何发挥 t-PA 的溶栓效果并抑制 t-PA 对神经血管单元的损伤和神经毒性作用仍是值得认真研究的问题。

## 3 HT 的治疗策略及治疗药物进展

### 3.1 基于 BBB 保护的 HT 治疗策略

t-PA 是一个多效因子, 除了脑卒中后溶栓作用外, 在神经血管单元上还发挥重要的信号和蛋白酶活性。t-PA 可以通过直接或间接地激活 MMPs, 参与 BBB 的破坏、水肿形成及 HT。此外还能促进血管重构、血管发生、神经发生和轴突再生, 从而促进脑卒中后的恢复。

BBB 是介于血液和脑组织之间对物质通过有选择性阻碍作用的动态界面, 由一系列相互作用的细胞 (内皮细胞、周细胞和星形胶质细胞等) 构成, 维持脑内环境的平衡。BBB 破坏是脑卒中的主要病理特征, 也是 HT 发生的标志。损伤的 BBB 增加了溶栓过程中致死性 HT 的发生, 促进脑水肿和神经炎症, 限制了 t-PA 的使用。因此, 抑制 t-PA 诱导的 BBB 的破坏能够降低 HT 发生。t-PA 诱导的 BBB 破坏是个复杂的病理过程, 是多种因素共同作用的结果。已有的研究发现, 针对 BBB 损伤的靶点进行干预能够保护 BBB 进而抑制 HT 的发生<sup>[24~26]</sup>。因此保护 BBB 是目前 HT 治疗中最主要的策略。

### 3.2 HT 治疗药物的研究进展

围绕 HT 发生机制和相关靶点, 在动物实验中发现了一些药物能够抑制 t-PA 溶栓引起的 HT (表 1)<sup>[27~43]</sup>, 有些药物在初步的临床试验中也得到了进一步确认, 但仍然需要进一步的评价确定其有效性和安全性。下面就对这些药物进行分类介绍。

**3.2.1 基质金属蛋白酶 (MMPs) 抑制剂** MMPs 通过降解细胞外基质和 TJ, 破坏 BBB 的结构和完整性, 是 t-PA 溶栓后 HT 发生的直接因素。在 MMP 家族中, 与 BBB 损伤关系密切的是 MMP-2、MMP-3 和 MMP-9, 其中 MMP-9 与 HT 的发生直接相关<sup>[44]</sup>。MMP-9 在卒中患者血清中显著增加, 且与不良预后相关, 已经成

**Table 1** Drugs that have therapeutic effects on HT in animal experiments. SHR: Spontaneously hypertensive rats; MCAO: Middle cerebral artery occlusion; *iv*: Intravenous injection; *ig*: Intragastric administration; *ip*: Intraperitoneal injection; *sc*: Subcutaneous injection

Drug classification	Drug	Experimental model	Dosage	Treatment time point and path	Ref
MMPs inhibitors	Batimastat	SHR MCAO	Batimastat: 50 mg·kg <sup>-1</sup> t-PA: 10 mg·kg <sup>-1</sup>	Batimastat: before and 3, 6 h after ischemia, <i>ip</i> t-PA: 6 h after ischemia, intravenous infusion	27
	Minocycline	SHR MCAO	Minocycline: 3 mg·kg <sup>-1</sup> t-PA: 10 mg·kg <sup>-1</sup>	Minocycline: 4 h after ischemia, <i>iv</i> t-PA: 6 h after ischemia, intravenous infusion	28
Free radical scavengers	Edaravone	Hyperglycemia rats MCAO	Edaravone: 3 mg·kg <sup>-1</sup> t-PA: 10 mg·kg <sup>-1</sup>	Edaravone: onset of occlusion, 0 and 1 h after reperfusion, <i>ip</i> t-PA: 6 h after ischemia, intravenous infusion	29
	NXY-059	Rabbit MCAO	NXY-059: 100 mg·kg <sup>-1</sup> t-PA: 10 mg·kg <sup>-1</sup>	NXY-059: 5 min after ischemia, intravenous infusion t-PA: 6 h after ischemia, intravenous infusion	30
Anti-inflammation	Fingolimod	Rats MCAO	Fingolimod: 0.5 mg·kg <sup>-1</sup> t-PA: 10 mg·kg <sup>-1</sup>	Fingolimod: 3, 24, 48 h after ischemia, <i>ip</i> t-PA: 3 h after ischemia, intravenous infusion	31
	Tacrolimus	SHR MCAO	Tacrolimus: 1 mg·kg <sup>-1</sup> t-PA: 3.3 mg·kg <sup>-1</sup>	Tacrolimus: 3 h after ischemia, <i>iv</i> t-PA: 3 h after ischemia, intravenous infusion	32
Natural products	Baicalin	Rats MCAO	Baicalin: 50, 100, 150 mg·kg <sup>-1</sup> t-PA: 10 mg·kg <sup>-1</sup>	Baicalin: 4.5 h after ischemia, <i>iv</i> t-PA: 4.5 h after ischemia, intravenous infusion	33
	Tanshinone IIA	Rats MCAO	Tanshinone IIA: 10, 20, 30 mg·kg <sup>-1</sup>	Tanshinone IIA: 5 min after ischemia, <i>ip</i>	34
	Huperzine A	Rats MCAO	Huperzine A: 0.1 mg·kg <sup>-1</sup>	Huperzine A: 6 h after ischemia, <i>iv</i>	35
Anticoagulants	Cilostazol	Mice MCAO	Cilostazol: 10 mg·kg <sup>-1</sup> t-PA: 10 mg·kg <sup>-1</sup>	Cilostazol: 6 h after ischemia, <i>ip</i> t-PA: 6 h after ischemia, intravenous infusion	36
	Dabigatran	Rats MCAO	Dabigatran: 20 mg·kg <sup>-1</sup>	Dabigatran: 7 days before ischemia, twice/day, <i>ig</i>	37
	Rivaroxaban	Rats MCAO	Rivaroxaban: 2 mg·kg <sup>-1</sup> t-PA: 10 mg·kg <sup>-1</sup>	Rivaroxaban: 7 days before ischemia, once/day, <i>ig</i> t-PA: 2 h after ischemia, intravenous infusion	38
Hormones	Apixaban	Rats MCAO	Apixaban: 10 mg·kg <sup>-1</sup> t-PA: 10 mg·kg <sup>-1</sup>	Apixaban: 7 days before ischemia, twice/day, <i>ig</i> t-PA: 2 h after ischemia, intravenous infusion	38
	Estrogens	Rats MCAO	Estrogens: 100 µg·kg <sup>-1</sup> t-PA: 10 mg·kg <sup>-1</sup>	Estrogens: 2 h after ischemia, <i>sc</i> t-PA: 2 h after ischemia, intravenous infusion	39
	Progesterone	Rats MCAO	Progesterone: 8 mg·kg <sup>-1</sup> t-PA: 5 mg·kg <sup>-1</sup>	Progesterone: 2 h after ischemia, <i>ip</i> t-PA: 4.5 h after ischemia, intravenous infusion	40
Rho kinase inhibitor	Melatonin	Mice MCAO	Melatonin: 5 mg·kg <sup>-1</sup> t-PA: 10 mg·kg <sup>-1</sup>	Melatonin: 6 h after ischemia, <i>ip</i> t-PA: 6 h after ischemia, intravenous infusion	41
	Fasudil	Mice MCAO	Fasudil: 3 mg·kg <sup>-1</sup> t-PA: 10 mg·kg <sup>-1</sup>	Fasudil: 6 h after ischemia, <i>ip</i> t-PA: 6 h after ischemia, intravenous infusion	42
Statins	Simvastatin	SHR MCAO	Simvastatin: 20 mg·kg <sup>-1</sup> t-PA: 9 mg·kg <sup>-1</sup>	Simvastatin: 15 min after ischemia, <i>ip</i> t-PA: 3 h after ischemia, intravenous infusion	43

为卒中的生物标志物<sup>[45]</sup>。

t-PA 可以通过多种通路上调炎性细胞、内皮细胞和胶质细胞中 MMP-9 的表达和活性，降解 TJ，导致 BBB 损伤和 HT 发生。已有许多文献报道 MMP-9 抑制剂能够保护 BBB，抑制 HT 的发生，如巴马司他 (batimastat, BB-94)<sup>[27]</sup> 和米诺环素 (minocycline)<sup>[28]</sup> 等。但是，Suzuki 等<sup>[46]</sup> 用 MMP-3 和 MMP-9 的转基因小鼠研究发现，敲除 MMP-3 能够降低 t-PA 诱导的出血，敲除 MMP-9 对出血没有影响。同时发现 t-PA 不影响 MMP-9 在脑内的表达和分布，使用 MMPs 抑制剂 GM6001 降低野生小鼠的出血风险，对 MMP-3 敲除小鼠没有影响。因此认为 MMP-3 在 t-PA 治疗引起的出血中发挥关键的作用。MMPs 抑制剂虽然在动物水平能够发挥保护 BBB 和抗 HT 的作用，但临幊上并未在 HT 的防治中表现出显著的作用。这可能是由于

MMPs 本身是一类下游信号分子，受许多信号通路的调控，只针对 MMPs 并不能产生良好的治疗作用。另外，在缺血后期，MMPs 参与了血管再生等组织修复过程，抑制 MMPs 反而会加重损伤。

**3.2.2 自由基清除剂** 自由基介导的氧化应激是脑缺血的主要病理机制之一，在脑缺血损伤中发挥重要作用。t-PA 溶栓引起的再灌注能够产生大量的自由基，引起 BBB 损伤、神经毒性和炎症反应，导致 HT 的发生。依达拉奉 (edaravone) 作为自由基清除剂，临幊用于脑卒中的治疗。动物实验显示，依达拉奉与 t-PA 联用能够保护神经血管单元，提高神经功能和生存率，降低 HT 发生。Okamura 等<sup>[29]</sup> 应用高血糖大鼠脑缺血模型，在缺血同时及再灌和再灌 1 h 后 3 次静脉注射依达拉奉，能够显著降低脑梗死面积及出血面积。但在临幊试验中还存在一定争议。Kimura

等<sup>[47]</sup>在一项初步的临床试验中发现, t-PA 静滴同时静脉注射依达拉奉 30 mg 使血管再通率明显提高 (56.5% vs 11.8%, t-PA+依达拉奉组 vs t-PA 组), 具有明显改善的患者数量显著增加 (80.1% vs 45.5%), 并认为依达拉奉通过抑制内皮细胞损伤, 维持内皮细胞对 t-PA 的释放, 从而提高再通率。其他一些研究也发现, 脑卒中 3 h 内使用 t-PA 溶栓, 同时 24 h 内给予依达拉奉能够显著增加再通率, 降低出血风险, 提高神经功能<sup>[48, 49]</sup>。此外, 其他一些自由基清除剂如 NXY-059 和尿酸等也具有改善神经功能, 降低 HT 的作用。NXY-059 与 t-PA 联用能够降低兔脑缺血模型的出血发生率 (47% vs 67%, NXY-059+t-PA vs t-PA)<sup>[30]</sup>。大规模 I 期临床试验发现缺血 6 h 内给予 NXY-059 能够降低 t-PA 溶栓患者的致残率, 降低 HT 的发生及症状性颅内出血<sup>[50]</sup>。但在 II 期临床试验中发现 NXY-059 不能降低症状性或无症状型出血, 对于急性脑卒中的治疗无效<sup>[51]</sup>。尿酸是血液中的主要抗氧化剂, 在脑缺血中具有神经保护作用<sup>[52]</sup>。II 期临床试验证明与 t-PA 联用是安全的, 能够使患者获益, 但仍需进一步验证<sup>[53]</sup>。

**3.2.3 抗炎药物** t-PA 溶栓引起的氧化应激能够激活炎症反应, 引起炎性因子的释放和炎性细胞的浸润, 浸润的炎性细胞通过释放 MMP-9 引起 BBB 的破坏, 因此抑制炎症反应能够发挥 BBB 保护作用。芬戈莫德 (fingolimod, FTY720) 是一种免疫调节剂, 用于多发性硬化的治疗。芬戈莫德可以通过抑制细胞凋亡和降低血管通透性保护脑缺血损伤。Campos 等<sup>[31]</sup>用小鼠血栓性脑卒中模型, 在缺血后 45 min、24 h 和 48 h 后单独腹腔注射芬戈莫德 ( $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 能够显著改善神经功能, 降低梗死面积。缺血 3 h 后与 t-PA 联用同样可以改善神经功能, 降低 HT 风险。在一项小规模的临床研究中, 缺血后 4.5 h 内静注 t-PA 同时口服芬戈莫德 (每天 0.5 mg, 连续 3 天) 能够降低循环中的淋巴细胞, 降低梗死体积和出血, 改善神经功能, 无严重不良反应<sup>[11]</sup>。但是, 仍然需要大规模的临床试验证实。他克莫司 (tacrolimus, FK-506) 是一种免疫抑制剂, 临床用于器官移植。研究发现他克莫司具有神经保护作用, 低剂量 ( $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 能够扩大 t-PA 的治疗时间窗, 并且不增加出血风险<sup>[54]</sup>。Maeda 等<sup>[32]</sup>用光化反应法在自发性高血压大鼠上制备脑缺血模型, 发现缺血 3 h 后, 静脉注射 t-PA ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 与他克莫司 ( $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 能够降低 HT, 这种作用与保护脑微血管内皮细胞有关。

**3.2.4 天然产物** HT 的发生是一个复杂的病理过程, 涉及氧化应激、炎症等多种病理过程和多个靶点。这些靶点之间可能独立或协同发挥作用, 调节一个靶点可能影响其他靶点, 而不同靶点之间也可能有直接作用。前面介绍的针对单一靶点的药物治疗目前还没有取得较好的治疗效果。因此针对 HT 的药物治疗, 多靶点可能会产生更好的效果。天然产物具备多靶点的特性, 并且具有较好的安全性和有效性, 目前已经成为创新药物发现的热点。已有许多研究报道了天然产物在 HT 治疗中的潜力<sup>[55]</sup>。黄芩苷是来源于黄芩根的一种黄酮类化合物, 研究发现, 在脑缺血模型中, 黄芩苷可以通过作用于活性氧族 (reactive oxygen species, ROS)、NF-κB、NMDAR 和 MMP-9 发挥抗氧化、抗炎和抗神经毒性作用, 保护 BBB<sup>[56]</sup>。Chen 等<sup>[33]</sup>在大鼠 MCAO 模型中的研究发现, 黄芩苷 ( $50, 100, 150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 在缺血 4.5 h 后与 t-PA 联合给药能够降低死亡率, 抑制 t-PA 介导的 BBB 破坏和 HT 的发生。同时, 黄芩苷能够透过 BBB, 因此在 HT 的治疗中具有很好的潜力<sup>[56]</sup>。丹参酮 IIA 是来源于丹参根的一种活性化合物, 通过作用于 NF-κB、MMP-9、高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box-1, HMGB1) 和活性氮族 (reactive nitrogen species, RNS) 降低脑梗死体积和脑水肿, 改善神经功能, 维持 BBB 通透性和内皮细胞功能<sup>[57]</sup>。Tang 等<sup>[34]</sup>在大鼠 MCAO 模型中发现丹参酮 IIA ( $10, 20, 30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 抑制胞间黏附分子 1 和 MMP-9 的表达, 抑制紧密连接蛋白 ZO-1 和 occludin 的降解, 保护 BBB, 具有潜在的抗 HT 作用。石杉碱甲是来源于石杉中的一种生物碱, 是乙酰胆碱酯酶抑制剂, 临床用于阿尔茨海默病的治疗。在脑缺血模型中, 石杉碱甲抑制 ROS 的产生保护线粒体; 抑制 NF-κB 的表达减轻小胶质细胞的激活; 与 NMDAR 相互作用, 抑制谷氨酸诱导的钙内流和神经毒性。同时, 石杉碱甲也能透过 BBB, 具有治疗 HT 的潜力<sup>[35, 58]</sup>。此外, 还有一些天然产物如葛根素、厚朴酚和仙茅苷等在脑缺血中都可作用于多个靶点, 发挥保护 BBB 的作用<sup>[55]</sup>。本实验室发现的抗脑缺血 I 类新药匹诺塞林是来源于蜂胶中的一种黄酮类化合物, 正在进行 II 期临床试验。最近的研究发现再灌前 5 min 静脉注射匹诺塞林 ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 能够扩大 t-PA 的治疗时间窗, 抑制 t-PA 诱导的 HT<sup>[59]</sup>。以上研究结果表明, 天然产物通过作用于多靶点保护 BBB, 在 HT 治疗药物的开发中具有广阔前景。

**3.2.5 抗凝药** 抗凝药在 HT 治疗中的作用尚不明确,

抗凝药本身存在出血的不良反应，临幊上有效抗凝的卒中患者 HT 发生的风险仍然不清楚。凝血和纤溶系统是 t-PA 溶栓后 HT 发生的独立危险因子，针对凝血系统的治疗能够改善溶栓的安全性，但是调节凝血系统对卒中患者的神经功能和死亡率也有负面影响。目前抗血小板药物主要在卒中患者溶栓后使用防止复发，其对 HT 的作用并不明确。一些回顾性研究发现预先给予抗血小板治疗加重溶栓后 HT 的风险，但是另外一些研究发现抗血小板药与 t-PA 联用也能降低 HT 的发生。西洛他唑作为磷酸二酯酶抑制剂，能够抑制血小板聚集，恢复脑血流。Ishiguro 等<sup>[36]</sup>用小鼠 MCAO 模型研究发现，西洛他唑 ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 在缺血 6 h 后与 t-PA 联用能够抑制 HT 发生，但对梗死体积无效，主要通过抑制 MMP-9 活性保护内皮功能，抑制 TJ 蛋白降解保护 BBB。临床试验发现脑卒中患者服用西洛他唑能够降低 HT 发生，较阿司匹林作用更好<sup>[60]</sup>。依替巴肽和替罗非班是血小板 glycoprotein II b/IIIa 受体拮抗剂。II 期临床试验发现在急性脑卒中患者中，依替巴肽与 t-PA 联用能够降低系统性 HT 的发生，但有效性还需要进一步评价<sup>[61]</sup>。替罗非班的 II 期临床结果显示，脑卒中后 2~7 天的出血发生率与标准治疗没有差别，但 5 个月的死亡率降低<sup>[62]</sup>。凝血酶抑制剂达比加群是目前临床使用的新型口服抗凝药。Kwon 等<sup>[37]</sup>在大鼠 MCAO 模型上比较了大面积梗死后华法林与达比加群对出血转化的影响。结果发现，在缺血前 7 天每天灌胃达比加群 ( $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 2 次，出血风险低于华法林，具有更好的安全性。Kono 等<sup>[38]</sup>在大鼠 MCAO 模型上的研究发现凝血因子 Xa 抑制剂利伐沙班 ( $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 和阿哌沙班 ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 连续灌胃 7 天，能够抑制 MMP-9 的激活，保护神经血管单元完整性，降低 t-PA 溶栓后 HT 的发生。目前，抗凝药在 HT 治疗中的作用还不明确，需要谨慎使用，尤其要考虑使用时间和剂量。

**3.2.6 其他药物** 除了上面提到的作用于不同机制和靶点的药物，还发现了一些具有潜在治疗 HT 作用的药物。激素类药物如雌激素、孕酮和褪黑素等均发现在脑缺血模型中与 t-PA 联用能够保护 BBB，降低 HT 的发生<sup>[39–41]</sup>。Rho 激酶抑制剂法舒地尔通过抑制 Rho 激酶降低 MMP-9 的活性，保护 BBB，抑制 HT<sup>[42]</sup>。动物实验发现他汀类药物能够降低 t-PA 诱导的 HT，但在临床试验中并未得到确认<sup>[43, 63]</sup>。有些研究甚至发现服用他汀类药物患者的 HT 发生率反而升高，而且他汀类药物的剂量与 HT 发生相关，高剂量增加 HT 的发生<sup>[64]</sup>。此外，近期的一些研究还发现

对 TLR4<sup>[65]</sup>、GSK-3 $\beta$ <sup>[66]</sup>、NURR1<sup>[67]</sup>、NLRP3<sup>[68]</sup>、TGF- $\beta$ 1<sup>[69]</sup>、connexin43<sup>[70]</sup>和 NADPH oxidase<sup>[71]</sup>等靶点具有调节作用的化合物也具有潜在的治疗 HT 的作用。

**3.2.7 非药物治疗** 临幊对 HT 的治疗除了药物治疗外，还有一些非药物疗法。脑低温治疗通过降低脑代谢抑制炎症反应和氧化应激，保护线粒体，抑制细胞凋亡发挥神经保护作用<sup>[72]</sup>。而脑低温治疗可以提高 t-PA 的治疗作用，降低 HT 的发生，但是治疗时间窗和适合的温度还需要进一步确定<sup>[73]</sup>。高压氧可以通过抑制炎症和氧化应激、降低脑水肿、抑制细胞凋亡保护 BBB，降低 HT 的发生<sup>[74]</sup>。此外，氢气<sup>[75]</sup>和硫化氢<sup>[76]</sup>等也具有一定的治疗潜力。因此，在 HT 治疗药物研发受阻的情况下，非药物的治疗方法为 HT 的治疗开辟了新的途径。

#### 4 总结与展望

HT 的病理机制复杂，是多种机制综合作用的结果。针对当前发现的机制和靶点进行的药物研发并没有解决 HT 的治疗和预防问题。因此，需要针对 HT 发生的各个环节开展新的机制研究，发现新靶点。对于 HT 防治药物开发过程中的问题，也需要进一步的明确和解决。<sup>①</sup> 动物实验与临床试验结果相差较大。有些药物在动物水平证明有效，而在临床无效甚至加重 HT，这主要与动物模型的选择、人和动物的生理差异以及药效评价标准造成的。因此，需要尽可能选择符合人类 HT 发生病理机制的动物模型和与人类接近的药效学评价方法进行 HT 药物的开发。<sup>②</sup> 药物有效性尚需进一步验证。同一种药物在相同的动物模型中的药效存在差异，这与药物治疗策略的选择（预防或治疗）、给药时间（缺血后多长时间）、给药剂量和观察指标有关。<sup>③</sup> 天然产物成为研究热点。天然产物以其多靶点的特点已经成为 HT 治疗药物研究的重点。但是天然产物的研究还需进一步的规范，尤其是给药剂量，不同研究中药物剂量差别可达千倍<sup>[77, 78]</sup>。此外，尽管天然产物安全性较好，但与 t-PA 联用也要考虑药物–药物相互作用。<sup>④</sup> 开发新一代溶栓药物。t-PA 作为第二代溶栓药物，也是唯一被美国 FDA 批准用于脑卒中溶栓治疗的药物，其治疗时间窗窄和 HT 的高发生率限制了临床使用。目前第三代的溶栓药物如瑞替普酶、去氨普酶等，与 t-PA 相比特异性更强，安全性更好。因此，开发溶栓效果好，不良反应低的新一代溶栓药物也是重要的研究方向。综上所述，HT 治疗药物的开发虽然艰难，但随着新机制、新靶点的不断发现，必将促进 HT 治疗药物的发展。

## References

- [1] Zhu Z, Fu Y, Tian D, et al. Combination of the immune modulator fingolimod with alteplase in acute ischemic stroke: a pilot trial [J]. *Circulation*, 2015, 132: 1104–1112.
- [2] Jickling GC, Liu D, Stamova B, et al. Hemorrhagic transformation after ischemic stroke in animals and humans [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2014, 34: 185–199.
- [3] Zhang J, Yang Y, Sun H, et al. Hemorrhagic transformation after cerebral infarction: current concepts and challenges [J]. *Ann Transl Med*, 2014, 2: 81.
- [4] Wang W, Li M, Chen Q, et al. Hemorrhagic transformation after tissue plasminogen activator reperfusion therapy for ischemic stroke: mechanisms, models, and biomarkers [J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 52: 1572–1579.
- [5] Suzuki Y, Nagai N, Umemura K. A review of the mechanisms of blood-brain barrier permeability by tissue-type plasminogen activator treatment for cerebral ischemia [J]. *Front Cell Neurosci*, 2016, 10: 2.
- [6] Zhao Y, Li D, Zhao J, et al. The role of the low-density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP-1) in regulating blood-brain barrier integrity [J]. *Rev Neurosci*, 2016, 27: 623–634.
- [7] Yepes M, Sandkvist M, Moore EG, et al. Tissue-type plasminogen activator induces opening of the blood-brain barrier via the LDL receptor-related protein [J]. *J Clin Invest*, 2003, 112: 1533–1540.
- [8] Wang X, Lee SR, Arai K, et al. Lipoprotein receptor-mediated induction of matrix metalloproteinase by tissue plasminogen activator [J]. *Nat Med*, 2003, 9: 1313–1317.
- [9] Zhang X, Polavarapu R, She H, et al. Tissue-type plasminogen activator and the low-density lipoprotein receptor-related protein mediate cerebral ischemia-induced nuclear factor- $\kappa$ B pathway activation [J]. *Am J Pathol*, 2007, 171: 1281–1290.
- [10] Zhang C, An J, Haile WB, et al. Microglial low-density lipoprotein receptor-related protein 1 mediates the effect of tissue-type plasminogen activator on matrix metalloproteinase-9 activity in the ischemic brain [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2009, 29: 1946–1954.
- [11] Martin AM, Kuhlmann C, Trossbach S, et al. The functional role of the second NPXY motif of the LRP1 beta-chain in tissue-type plasminogen activator-mediated activation of *N*-methyl-D-aspartate receptors [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283: 12004–12013.
- [12] Liu D, Cheng T, Guo H, et al. Tissue plasminogen activator neurovascular toxicity is controlled by activated protein C [J]. *Nat Med*, 2004, 10: 1379–1383.
- [13] Cheng T, Petraglia AL, Li Z, et al. Activated protein C inhibits tissue plasminogen activator-induced brain hemorrhage [J]. *Nat Med*, 2006, 12: 1278–1285.
- [14] Wang Y, Zhao Z, Chow N, et al. Activated protein C analog protects from ischemic stroke and extends the therapeutic window of tissue-type plasminogen activator in aged female mice and hypertensive rats [J]. *Stroke*, 2013, 44: 3529–3536.
- [15] Mendioroz M, Fernández-Cadenas I, Alvarez-Sabín J, et al. Endogenous activated protein C predicts hemorrhagic transformation and mortality after tissue plasminogen activator treatment in stroke patients [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2009, 28: 143–150.
- [16] Wang Y, Zhao Z, Chow N, et al. Activated protein C analog promotes neurogenesis and improves neurological outcome after focal ischemic stroke in mice via protease activated receptor 1 [J]. *Brain Res*, 2013, 1507: 97–104.
- [17] Fredriksson L, Li H, Fieber C, et al. Tissue plasminogen activator is a potent activator of PDGF-CC [J]. *EMBO J*, 2004, 23: 3793–3802.
- [18] Su EJ, Fredriksson L, Geyer M, et al. Activation of PDGF-CC by tissue plasminogen activator impairs blood-brain barrier integrity during ischemic stroke [J]. *Nat Med*, 2008, 14: 731–737.
- [19] Rodríguez-González R, Blanco M, Rodríguez-Yáñez M, et al. Platelet derived growth factor-CC isoform is associated with hemorrhagic transformation in ischemic stroke patients treated with tissue plasminogen activator [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 226: 165–171.
- [20] Nicole O, Docagne F, Ali C, et al. The proteolytic activity of tissue-plasminogen activator enhances NMDA receptor-mediated signaling [J]. *Nat Med*, 2001, 7: 59–64.
- [21] Fernández-Monreal M, López-Atalaya JP, Benchenane K, et al. Arginine 260 of the amino-terminal domain of NR1 subunit is critical for tissue-type plasminogen activator-mediated enhancement of *N*-methyl-D-aspartate receptor signaling [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 50850–50856.
- [22] Henry VJ, Lecointre M, Laudenbach V, et al. High t-PA release by neonate brain microvascular endothelial cells under glutamate exposure affects neuronal fate [J]. *Neurobiol Dis*, 2013, 50: 201–208.
- [23] Rodier M, Prigent-Tessier A, Béjot Y, et al. Exogenous t-PA administration increases hippocampal mature BDNF levels. plasmin- or NMDA-dependent mechanism? [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e92416.
- [24] Sifat AE, Vaidya B, Abbruscato TJ. Blood-brain barrier protection as a therapeutic strategy for acute ischemic stroke [J]. *AAPS J*, 2017, 19: 957–972.
- [25] Jin R, Yang G, Li G. Molecular insights and therapeutic

- targets for blood-brain barrier disruption in ischemic stroke: critical role of matrix metalloproteinases and tissue-type plasminogen activator [J]. *Neurobiol Dis*, 2010, 38: 376–385.
- [26] Zhang L, Zhang ZG, Chopp M. The neurovascular unit and combination treatment strategies for stroke [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2012, 33: 415–422.
- [27] Sumii T, Lo EH. Involvement of matrix metalloproteinase in thrombolysis associated hemorrhagic transformation after embolic focal ischemia in rats [J]. *Stroke*, 2002, 33: 831–836.
- [28] Murata Y, Rosell A, Scannevin RH, et al. Extension of the thrombolytic time window with minocycline in experimental stroke [J]. *Stroke*, 2008, 39: 3372–3377.
- [29] Okamura K, Tsubokawa T, Johshita H, et al. Edaravone, a free radical scavenger, attenuates cerebral infarction and hemorrhagic infarction in rats with hyperglycemia [J]. *Neurol Res*, 2014, 36: 65–69.
- [30] Lapchak PA, Araujo DM, Song D, et al. Effects of the spin trap agent disodium-[tert-butylimino)methyl]benzene-1,3-disulfonate *N*-oxide (generic NXY-059) on intracerebral hemorrhage in a rabbit large clot embolic stroke model: combination studies with tissue plasminogen activator [J]. *Stroke*, 2002, 33: 1665–1670.
- [31] Campos F, Qin T, Castillo J, et al. Fingolimod reduces hemorrhagic transformation associated with delayed tissue plasminogen activator treatment in a mouse thromboembolic model [J]. *Stroke*, 2013, 44: 505–511.
- [32] Maeda M, Furuichi Y, Noto T, et al. Tacrolimus (FK506) suppresses rt-PA-induced hemorrhagic transformation in a rat thrombotic ischemia stroke model [J]. *Brain Res*, 2009, 1254: 99–108.
- [33] Chen H, Guan B, Chen X, et al. Baicalin attenuates blood-brain barrier disruption and hemorrhagic transformation and improves neurological outcome in ischemic stroke rats with delayed t-PA treatment: involvement of ONOO--MMP-9 pathway [J]. *Transl Stroke Res*, 2017. DOI: 10.1007/s12975-017-0598-3.
- [34] Tang C, Xue H, Bai C, et al. The effects of tanshinone IIA on blood-brain barrier and brain edema after transient middle cerebral artery occlusion in rats [J]. *Phytomedicine*, 2010, 17: 1145–1149.
- [35] Wang ZF, Wang J, Zhang HY, et al. Huperzine A exhibits anti-inflammatory and neuroprotective effects in a rat model of transient focal cerebral ischemia [J]. *J Neurochem*, 2008, 106: 1594–1603.
- [36] Ishiguro M, Mishiro K, Fujiwara Y, et al. Phosphodiesterase-III inhibitor prevents hemorrhagic transformation induced by focal cerebral ischemia in mice treated with tPA [J]. *PLoS One*, 2010, 5: e15178.
- [37] Kwon I, An S, Kim J, et al. Hemorrhagic transformation after large cerebral infarction in rats pretreated with dabigatran or warfarin [J]. *Stroke*, 2017, 48: 2865–2871.
- [38] Kono S, Yamashita T, Deguchi K, et al. Rivaroxaban and apixaban reduce hemorrhagic transformation after thrombolysis by protection of neurovascular unit in rat [J]. *Stroke*, 2014, 45: 2404–2410.
- [39] Li M, Zhang Z, Sun W, et al. 17 $\beta$ -estradiol attenuates breakdown of blood-brain barrier and hemorrhagic transformation induced by tissue plasminogen activator in cerebral ischemia [J]. *Neurobiol Dis*, 2011, 44: 277–283.
- [40] Won S, Lee JH, Wali B, et al. Progesterone attenuates hemorrhagic transformation after delayed tPA treatment in an experimental model of stroke in rats: involvement of the VEGF-MMP pathway [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2014, 34: 72–80.
- [41] Chen TY, Lee MY, Chen HY, et al. Melatonin attenuates the post ischemic increase in blood-brain barrier permeability and decreases hemorrhagic transformation of tissue-plasminogen activator therapy following ischemic stroke in mice [J]. *J Pineal Res*, 2006, 40: 242–250.
- [42] Ishiguro M, Kawasaki K, Suzuki Y, et al. A Rho kinase (ROCK) inhibitor, fasudil, prevents matrix metalloproteinase-9-related hemorrhagic transformation in mice treated with tissue plasminogen activator [J]. *Neuroscience*, 2012, 220: 302–312.
- [43] Campos M, García-Bonilla L, Hernández-Guillamon M, et al. Combining statins with tissue plasminogen activator treatment after experimental and human stroke: a safety study on hemorrhagic transformation [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2013, 19: 863–870.
- [44] Turner RJ, Sharp FR. Implications of MMP9 for blood brain barrier disruption and hemorrhagic transformation following ischemic stroke [J]. *Front Cell Neurosci*, 2016, 10: 56.
- [45] Lakhan SE, Kirchgessner A, Tepper D, et al. Matrix metalloproteinases and blood-brain barrier disruption in acute ischemic stroke [J]. *Front Neurol*, 2013, 4: 32.
- [46] Suzuki Y, Nagai N, Umemura K, et al. Stromelysin-1 (MMP-3) is critical for intracranial bleeding after t-PA treatment of stroke in mice [J]. *J Thromb Haemost*, 2007, 5: 1732–1739.
- [47] Kimura K, Aoki J, Sakamoto Y, et al. Administration of edaravone, a free radical scavenger, during t-PA infusion can enhance early recanalization in acute stroke patients—a preliminary study [J]. *J Neurol Sci*, 2012, 313: 132–136.

- [48] Lee XR, Xiang GL. Effects of edaravone, the free radical scavenger, on outcomes in acute cerebral infarction patients treated with ultra-early thrombolysis of recombinant tissue plasminogen activator [J]. Clin Neurol Neurosurg, 2018, 167: 157–161.
- [49] Yamaguchi T, Awano H, Matsuda H, et al. Edaravone with and without  $.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  alteplase within 4.5 hours after ischemic stroke: a prospective cohort study (PROTECT4.5) [J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2017, 26: 756–765.
- [50] Lees KR, Zivin JA, Ashwood T, et al. NXY-059 for acute ischemic stroke [J]. N Engl J Med, 2006, 354: 588–600.
- [51] Shuaib A, Lees KR, Lyden P, et al. NXY-059 for the treatment of acute ischemic stroke [J]. N Engl J Med, 2007, 357: 562–571.
- [52] Li R, Huang C, Chen J, et al. The role of uric acid as a potential neuroprotectant in acute ischemic stroke: a review of literature [J]. Neurol Sci, 2015, 36: 1097–1103.
- [53] Amaro S, Laredo C, Renú A, et al. Uric acid therapy prevents early ischemic stroke progression: a tertiary analysis of the URICO-ICTUS trial (efficacy study of combined treatment with uric acid and r-tPA in acute ischemic stroke) [J]. Stroke, 2016, 47: 2874–2876.
- [54] Okubo S, Igarashi H, Kanamatsu T, et al. FK-506 extended the therapeutic time window for thrombolysis without increasing the risk of hemorrhagic transformation in an embolic rat stroke model [J]. Brain Res, 2007, 1143: 221–227.
- [55] Chen HS, Qi SH, Shen JG. One-compound-multi-target: combination prospect of natural compounds with thrombolytic therapy in acute ischemic stroke [J]. Curr Neuropharmacol, 2017, 15: 134–156.
- [56] Liang W, Huang X, Chen W. The effects of baicalin and baicalein on cerebral ischemia: a review [J]. Aging Dis, 2017, 8: 850–867.
- [57] Li DC, Bao XQ, Sun H, et al. Research progress in the study of protective effect of tanshinone IIA on cerebral ischemic stroke [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2015, 50: 635–639.
- [58] Wang R, Yan H, Tang XC. Progress in studies of huperzine A, a natural cholinesterase inhibitor from Chinese herbal medicine [J]. Acta Pharmacol Sin, 2006, 27: 1–26.
- [59] Ma YZ, Li L, Kong LL, et al. Pinocembrin protects blood-brain barrier function and expands the therapeutic time window for tissue-type plasminogen activator treatment in a rat thromboembolic stroke model [J]. Biomed Res Int, 2018. DOI: 10.1155/2018/8943210.
- [60] Shinohara Y, Katayama Y, Uchiyama S, et al. Cilostazol for prevention of secondary stroke (CSPS 2): an aspirin-controlled, double-blind, randomised non-inferiority trial [J]. Lancet Neurol, 2010, 9: 959–968.
- [61] Adeoye O, Sucharew H, Khouri J, et al. Recombinant tissue-type plasminogen activator plus eptifibatide versus recombinant tissue-type plasminogen activator alone in acute ischemic stroke: propensity score-matched post hoc analysis [J]. Stroke, 2015, 46: 461–464.
- [62] Siebler M, Hennerici MG, Schneider D, et al. Safety of tirofiban in acute ischemic stroke: the SaTIS trial [J]. Stroke, 2011, 42: 2388–2392.
- [63] Zhang L, Zhang ZG, Ding GL, et al. Multitargeted effects of statin-enhanced thrombolytic therapy for stroke with recombinant human tissue-type plasminogen activator in the rat [J]. Circulation, 2005, 112: 3486–3494.
- [64] Meier N, Nedeltchev K, Brekenfeld C, et al. Prior statin use, intracranial hemorrhage, and outcome after intra-arterial thrombolysis for acute ischemic stroke [J]. Stroke, 2009, 40: 1729–1737.
- [65] García-Culebras A, Palma-Tortosa S, Moraga A, et al. Toll-like receptor 4 mediates hemorrhagic transformation after delayed tissue plasminogen activator administration in *in situ* thromboembolic stroke [J]. Stroke, 2017, 48: 1695–1699.
- [66] Wang W, Li M, Wang Y, et al. GSK-3 $\beta$  inhibitor TWS119 attenuates rtPA-induced hemorrhagic transformation and activates the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway after acute ischemic stroke in rats [J]. Mol Neurobiol, 2016, 53: 7028–7036.
- [67] Merino-Zamorano C, Hernández-Guillamon M, Jullienne A, et al. NURR1 involvement in recombinant tissue-type plasminogen activator treatment complications after ischemic stroke [J]. Stroke, 2015, 46: 477–484.
- [68] Guo Z, Yu S, Chen X, et al. Suppression of NLRP3 attenuates hemorrhagic transformation after delayed rtPA treatment in thromboembolic stroke rats: involvement of neutrophil recruitment [J]. Brain Res Bull, 2018, 137: 229–240.
- [69] Cai Y, Liu X, Chen W, et al. TGF- $\beta$ 1 prevents blood-brain barrier damage and hemorrhagic transformation after thrombolysis in rats [J]. Exp Neurol, 2015, 266: 120–126.
- [70] Yang X, Chu H, Tang Y, et al. The role of connexin43 in hemorrhagic transformation after thrombolysis *in vivo* and *in vitro* [J]. Neuroscience, 2016, 329: 54–65.
- [71] Tuo YH, Liu Z, Chen JW, et al. NADPH oxidase inhibitor improves outcome of mechanical reperfusion by suppressing hemorrhagic transformation [J]. J Neurointerv Surg, 2017, 9: 492–498.
- [72] Hong JM, Lee JS, Song HJ, et al. Therapeutic hypothermia after recanalization in patients with acute ischemic stroke [J]. Stroke, 2014, 45: 134–140.
- [73] Cai L, Thibodeau A, Peng C, et al. Combination therapy of

- normobaric oxygen with hypothermia or ethanol modulates pyruvate dehydrogenase complex in thromboembolic cerebral ischemia [J]. *J Neurosci Res*, 2016, 94: 749–758.
- [74] Soejima Y, Hu Q, Krafft PR, et al. Hyperbaric oxygen preconditioning attenuates hyperglycemia-enhanced hemorrhagic transformation by inhibiting matrix metalloproteinases in focal cerebral ischemia in rats [J]. *Exp Neurol*, 2013, 247: 737–743.
- [75] Chen CH, Manaenko A, Zhan Y, et al. Hydrogen gas reduced acute hyperglycemia-enhanced hemorrhagic transformation in a focal ischemia rat model [J]. *Neuroscience*, 2010, 169: 402–414.
- [76] Liu H, Wang Y, Xiao Y, et al. Hydrogen sulfide attenuates tissue plasminogen activator-induced cerebral hemorrhage following experimental stroke [J]. *Transl Stroke Res*, 2016, 7: 209–219.
- [77] Liou KT, Shen YC, Chen CF, et al. Honokiol protects rat brain from focal cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting neutrophil infiltration and reactive oxygen species production [J]. *Brain Res*, 2003, 992: 159–166.
- [78] Cui HS, Huang LS, Sok DE, et al. Protective action of honokiol, administered orally, against oxidative stress in brain of mice challenged with NMDA [J]. *Phytomedicine*, 2007, 14: 696–700.