

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.09.005

◆ 校庆约稿 ◆



杨清武

专家简介

杨清武(1971 -),男,博士,教授,主任医师,博士研究生导师,博士后合作导师,陆军(第三)军医大学脑与智能研究院副院长,陆军军医大学第二附属医院神经内科主任。1992年毕业于川北医学院。国家杰出青年科学基金获得者,教育部“长江学者”特聘教授,国家“万人计划”科技创新领军人才,科技部科技创新领军人才,重庆市科技创新领军人才,2015年科学中国人杰出青年科学家奖。国家自然科学基金委医学科学部二审专家、中国神经科学会神经病学基础与临床分会常委,中国医师协会神经病学分会脑血管专业委员会委员、国家卫计委脑卒中防治办公室出血性卒中专家委员会副主任委员、国家卫计委脑卒中防治办公室缺血性卒中介入专家委员会常委、中国医师协会神经调控委员会委员、中国研究型医院学会眩晕专业委员会副主任委员、中国介入医师协会神经介入专业委员会委员、全军神经内科分会委员,重庆市神经病学临床医学研究中心、重庆市脑血管病防治创新团队、国家高级卒中中心的学科学术带头人。主要从事脑卒中防治的基础与临床研究。主持国家自然科学基金重大项目、重点项目、杰青等课题 20 余项。在 JAMA、JAMA Neurology、Circulation、Ann Neurol、Prog Neurobiol、Stroke 等神经病学领域国际权威杂志发表 SCI 论文 70 篇。获省部级科技进步一等奖 4 项,主编专著 1 部,副主编专著 4 部。招收培养博士后、博、硕士研究生 50 余名。

聚焦脑缺血再灌注时代的神经保护:新的挑战 and 策略

杨清武

(陆军军医大学第二附属医院神经内科,重庆 400038)

【摘要】 血管内治疗技术的发展开启了急性脑梗死救治的新纪元。然而,临床实践表明,尽管血管内治疗可有效改善部分患者预后,但较低的临床获益比例与较高的血管再通率显著不匹配,这可能与缺血再灌注损伤及再灌注后的神经保护缺失有关。针对当前尚无有效神经保护剂的临床困境及血管内治疗对神经保护提出的新要求,本综述结合神经保护研究现状与临床研究进展,提出急性脑梗死血管内治疗时代神经保护的潜在研究方向:(1)进行多靶点联合治疗(鸡尾酒疗法);(2)将研究重点转向建立有效血流灌注、增加功能性侧枝循环和阐明脑血屏障损伤机制以减少脑梗死后出血转化等。以血管再通为基础,建立血管内治疗前、后的综合神经保护体系可能是进一步改善急性脑梗死患者预后的有效途径。

【关键词】 急性脑梗死;血管内治疗;神经保护;侧枝循环;脑出血性转化

【中图分类号】 R651.15

【文献标志码】 A

Refocusing neuroprotection in cerebral reperfusion era: new challenges and strategies

YANG Qing-wu

(Department of Neurology, the second Affiliated Hospital of Army Medical University Chongqing 400038, China)

【Abstract】 Development of endovascular therapy opens up a new era in the treatment of acute cerebral infarction. However, clinical practice has shown that although endovascular treatment is effective in improving the prognosis of some patients, the lower percentage of clinical benefit is significantly mismatched with the higher rate of revascularization, this may be related to ischemia-reperfusion injury and the lack of neuroprotection after reperfusion. In response to the current clinical dilemma of no effective neuroprotective agent and the new requirements for neuroprotection from endovascular therapy, this review combines the current status of neuroprotection research with clinical research advances to propose potential research directions for neuroprotection in the era of endovascular treatment of acute cerebral infarction: (1) Perform multi-targeted combination therapy (cocktail therapy), (2) Shift the research focus to establishing recirculation, increasing functional collateral circulation and elucidating the mechanisms of cerebral blood barrier damage to reduce hem-

orrhagic transformation after cerebral infarction. Based on revascularization, the establishment of an integrated neuroprotection system before and after endovascular treatment may be an effective way to further improve the prognosis of patients with acute cerebral infarction.

[Key words] Acute cerebral infarction; Endovascular treatment; Neuroprotection; Lateral circulation; Cerebral hemorrhagic transformation

过去 10 年,急性脑梗死已成为世界范围内第三大死因,是导致患者永久性残疾的主要原因,造成了巨大社会和经济负担^[1]。虽然随着降脂、降糖、改善血压、提倡运动等诸多预防措施的实施,急性脑梗死患者的标准化年龄发病率有所降低,但目前患者临床症状改善率仍不足一半^[1]。因此,这样的临床治疗现状迫使研究人员进一步探索急性脑梗死治疗策略,以期实现临床应用转化,改善目前的治疗困境。

大量的在体与离体实验结果均表明,急性脑梗死后的神经损伤的病理生理过程复杂,其中兴奋性毒性、氧化和亚硝化应激及炎症机制在缺血性脑损伤中占主导地位^[2-3]。这些脑损伤的关键病理机制为研究人员制定治疗措施提供了干预靶点。然而,基于上述研究结论的超过 1 000 种被视为有望改善缺血性脑损伤的前景药物在临床试验中均取得了令人失望的结果^[4]。对于此,神经学界开展了大量的专题讨论,并提出了多种假说,如质疑临床患者与基于啮齿类动物的脑梗死模型的不可比性,批评临床神经保护试验的设计等^[5]。急性脑梗死治疗学术产业圆桌会议(stroke therapy academic industry roundtable, STAIR)为此提出了相应建议和指南,并极大地改进、标准化了急性脑梗死临床试验的方法。然而,数十年过去了,目前仍然没有任何神经保护药物可通过三期临床试验,这一现状使得神经病学家开始进一步重新思考神经损伤保护药物失败的原因。

急性脑梗死是一种由供血动脉阻塞导致的血管-神经疾病。闭塞动脉的成功再通使得向可挽救的脑组织更好地运送营养物质和神经保护剂成为可能。血管内治疗是过去 20 年来急性脑梗死治疗的最大进展,已成为急性脑梗死患者的标准治疗手段之一^[6]。这一技术在使得患者可直接获益的同时,也为评估神经保护剂的有效性创造了巨大的机会。然而,闭塞动脉的再通也可能导致如脑缺血再灌注损伤(甚至出血性转化)等。因此,这一新治疗技术的出现对急性脑梗死患者血管开通治疗的神经保护研究提供了新机遇和新挑战^[7]。本文旨在结合神经保护研究现状与当前多中心随机对照试验的进展,尝试提出急性脑梗死血管内治疗时代神经保护的潜在研究方向与治疗策略。

1 神经保护药物研究历史

急性脑梗死后的神经保护是指通过靶向脑实质,直接或间接,单独或联合应用,拮抗由缺血引起的有害分子和细胞事件,使得缺血半暗带中的神经元细胞存活^[8]。“神经保护”研究从 20 世纪 70 年代开始逐渐兴起,在近 30 年来获得了巨大关注。为了探索减少神经元损伤的策略,研究者开始关注缺血性脑损伤的潜在机制。在 20 世纪 90 年代,由血供紊乱引起的神经元能量衰竭,进一步导致的神经元兴奋性毒性被首先发现并确定为急性脑梗死后发生的核心损伤性分子机制^[2]。继而,探索神经元死亡机制、直接干预神经元、减少神经元死亡被视为干预治疗的核心靶点^[2]。N-甲基-D-天冬氨酸受体信号通路和钙通道等加速神经元细胞的死亡的通路被相应发现,但几乎所有靶向这些通道的药物在临床试验中均无效^[9-10]。

除了快速的神经元兴奋性毒性外,越来越多的研究开始关注随后发生的氧化损伤和中枢与外周炎症反应。多种神经和血管疾病细胞(例如,小胶质细胞/巨噬细胞、星形胶质细胞、神经元和内皮细胞)被证实参与这些级联反应。这些结论也进一步支持了急性脑梗死不仅仅是一种血管疾病的观点。近年来,为了进一步深入阐述急性脑梗死后病理生理学过程,血管神经网络这一概念被提出^[11]。该概念在原有神经血管单元的基础上,进一步结合了脑静脉系统,并着重强调,急性脑梗死引起的脑损伤的治疗不应只专注于靶向神经元^[11]。基于该理论的新药,2,4-二硫苯基-N-叔丁基硝酮二钠(NXY-059,一种具有自由基捕获特性的新型硝酮^[12]),可显著减少啮齿动物^[13]和灵长类动物^[14]脑梗死模型中梗死体积并促进神经功能恢复。然而,NXY-059 在临床试验时被证实神经保护作用为阴性结果^[15]。此外,少量研究也报道依达拉奉是一种新型自由基清除剂,通过改善神经元损伤进而实现神经保护作用。尽管依达拉奉由于其潜在的神经保护作用已经在一些亚洲国家(如日本和中国)临床使用,但其在欧洲或美国仍未获得上市许可^[16]。Nerinetide(NA-1)是一种可以与突触后密度蛋白 95(PSD95)相互作用的二十肽,其通过终止细胞内一氧化氮的产生,抑制细胞死亡信号,从而减少脑梗死体积^[17]。在前期研

究中科学家发现它可以有效减少猴模型中的缺血再灌注梗死体积,并改善其神经功能^[17]。但在2021年公布的ESCAPE-NA1研究中,证实在全部队列中,NA-1组和安慰剂组卒中后90天mRS 0~2的患者比例没有统计学差异^[17]。

此外,近年来,天然免疫反应在急性脑梗死后脑损伤中的作用受到了极大的关注^[18]。例如,浸润到大脑中的外周先天免疫细胞可加重或减轻由急性脑梗死引起的神经细胞损伤^[19]。针对这些先天免疫反应,一些临床前研究和单中心小规模临床试验结果表明,患者的神经功能在用药后得到显著改善^[20-21]。这些结果也有力地表明,急性脑梗死不仅是一种大脑损伤的疾病,而且还可能是一种受外周先天免疫细胞和一些其他已知和未知因素影响的全身性疾病。尽管这些临床试验已显示出基于神经免疫药物对急性脑梗死的神经保护作用,但仍需要进一步的大规模、多中心临床试验来重新评估其神经保护作用。

多种具有多靶点的药物在动物脑梗死模型中也被证实可发挥积极的神经保护作用。例如,DL-3-n-丁基苯酞(N-butylphthalide, NBP)可能通过改善线粒体功能和能量代谢^[22]、减少氧化损伤和细胞凋亡^[23]、减少炎症反应^[24]及增强区域血流量和血管生成来发挥作用^[25],进而防止缺血性脑损伤并减少梗死体积^[26]。此外,也有少量研究表明,他汀类药物^[27]、胞磷胆碱^[28]和干细胞^[29]也对急性脑梗死具有多种保护作用。目前需要大型随机、双盲、安慰剂对照研究来进一步评估这些药物在改善急性脑梗死患者预后中的安全性和有效性。

迄今为止,尽管临床试验屡屡失败,但神经保护仍然是急性脑梗死治疗的研究前沿与热点。为了解决这个问题,神经病学界已经提出了许多建议和指南来改善研究现状。例如,STAIR委员会建议使用非人类灵长类动物应用于临床前、脑梗死转化研究,以解决动物和人类研究之间的潜在差异^[30]。该委员会还建议进行临床前多中心研究,以提高数据的稳定性与研究转化的可能性^[30]。然而,尽管一些研究遵从上述STAIR指南,但临床研究结果仍表明药物干预未能改善患者的预后。例如,Green研究的NXY-059的神经保护作用是根据STAIR(56)提出的标准开发的,但仍未达到预期的功效^[31]。这些意想不到的结果促使科学家和临床医生开始重新思考与探索急性脑梗死神经保护药物。

2 急性脑梗死血管内治疗时代神经保护的新策略

近年来,血管内治疗技术的发展,为急性脑梗死

的治疗开创了新的时代,除显著提高治疗时间窗内血管开通率外,还可确保将神经保护剂递送到可挽救的脑组织,并在血管开通后继续发挥保护作用^[32]。因此,急性脑梗死的治疗应建立一个系统化的干预体系,包括重新开通闭塞的动脉、使用神经保护剂来恢复神经功能。此外,由于梗死后病理生理变化的复杂性,同时干预多个靶点可能会更好地实现神经保护。

2.1 血管再通术前后的神经保护

急性脑梗死治疗最重要的神经保护策略是对闭塞的动脉进行早期再通,使缺血脑区的血流得到恢复,以输送更多的血液、氧气和神经保护剂,从而改善患者临床结局。尽管在基于急性脑梗死的临床试验中对1000多种具有潜在神经保护作用的药物进行了研究,但很少聚焦于闭塞动脉重新开通的患者。尽管这些药物可能存在更大的神经保护作用,但可能因为这些药物无法成功进入可被挽救的脑组织导致这种神经保护策略失效。因此,我们推测血运重建可能是神经保护策略的第一步。

然而,再通治疗的有效性在脑梗死发病后7.3 h显著降低^[33],这一狭窄的治疗时间窗口使得10%或更少的患者可进行血管再通治疗^[34]。因此,院前急救和急救护理在提高急性脑梗死患者预后水平中的发挥着重要作用。使用救护车进行院前溶栓已被证明可增加溶栓再通率,而不增加不良事件^[35]。然而,在院前发病后2 h内开始使用硫酸镁拮抗神经兴奋性毒性的研究发现,并未改善急性脑梗死的患者90天时临床结局^[36]。此外,血管内治疗可导致症状性颅内出血等手术并发症^[37],因为脑缺血后再灌注的时间越长,出血性转化率就越高^[7]。因此,我们希望缩短从中风发作到入院和血管内治疗的时间。在介入干预治疗前,如在救护车中采取保护措施,缩短从急性脑梗死发作到入院和血管内治疗的时间,也可通过减少患者出血性转化,进而改善患者预后。综上,未来的临床试验应设计一个更全面的策略,通过将血管再通治疗与药物保护策略相结合的方式,以进一步提高改善患者预后。

2.2 鸡尾酒疗法

脑缺血损伤的机制十分复杂,在不同的时间点由不同的关键信号的级联放大反应共同参与。例如,兴奋性毒性可在几分钟内发生,并在几小时内达到顶峰,随后发生氧化应激和炎症反应等,在缺血后数小时内发生,并在数天内维持在较高水平。这些损伤机制有时在脑缺血后同时发生,发挥协同作用。因此,单个神经保护剂可能不足以抑制不同部位不同反应的级联放大效应造成的细胞损伤。基于脑梗

死后的病理生理特征,我们建议在未来的转化研究中应该以连续给药、序贯的方式,针对多个关键分子和细胞事件(鸡尾酒疗法),以减少急性期的缺血损伤^[18]。尽管自 2007 年来鸡尾酒疗法被提出^[38],但目前仍未有此类策略的在急性脑梗死中应用的临床报道。此外,我们也建议在临床前试验应首先进行大型动物脑梗死模型,将失败的神经保护药物(如抗兴奋性毒性 + 抗炎 + 抗氧化剂)与安全性和耐受性试验相结合,进一步筛选最佳组合神经保护剂,并基于该结果再进一步开展人群临床试验。

2.3 血管有效再通

尽管血管内治疗的血运重建成功率较高,一过性缺血缺氧导致的微血管结构和功能的改变可能导致无复流现象^[39]。在啮齿类动物和灵长类动物脑梗死模型中均发现,血管成功再通后,部分毛细血管中仍然挤满了被包埋的血小板、白细胞、纤维蛋白以及被激活的血小板^[40]。此外,氧化-亚硝化应激诱导的周细胞收缩也被证明可损害缺血后的毛细血管功能^[41],抗氧化-亚硝化应激药物可以通过恢复周细胞功能障碍,进而通畅微血管来挽救毛细血管微循环功能^[42]。无复流现象已成为制约接受血管内治疗患者获益的重要临床问题。但是,目前临床仍没有有效的方法(如影像学或超声检查)或者手段可以及时检测以及干预急性脑梗死患者的无复流现象。基于周细胞在急性脑梗死中调控微血管的重要作用及其对缺氧环境的敏感性,探究周细胞的作用与调控机制可能是解决这一问题的有效途径^[43]。当神经保护剂与脑梗死后的促再循环策略联合使用时,可能将进一步促进患者恢复、减少脑组织损伤,并值得在未来的研究和临床试验中进一步进行广泛探索。

2.4 侧枝循环

良好的软脑膜或软脑膜侧枝循环已被证明可以延长患者接受血管内治疗的时间窗^[44]。例如,在较晚时间点进行再灌注治疗的患者中有 40% 仍然获得了功能独立的临床结局^[45],这表明侧枝循环有利于改善患者临床结局^[46-47]。IMS III 试验的亚组分析也证实了更高评分的侧枝循环级别与更好的临床结局成显著正相关^[48]。良好的侧枝循环也可显著降低症状性颅内出血的风险,促进溶栓和血管内治疗后早期神经功能恢复^[49]。此外,良好的术前侧枝循环已被证明与 3 和 6 个月时良好的功能预后呈正相关^[49]。因此,增加急性脑梗死高危人群的侧枝循环,可有效保护梗死后脑组织,也可为向可挽救脑组织输送神经保护剂提供更多的血管通道。

侧枝循环是恢复缺血区域血液流动的重要途

径^[50]。基于血流动力学以增加脑血流的策略包括诱发高血压^[50]、平头卧位^[51]和容积扩张^[52]等。其他的策略,比如高氧^[53]、远端缺血预处理^[54]和生理缺血训练^[55]也被证明可以增加缺血区域的脑血流量。虽然这些基于侧枝循环的治疗策略已经在急性脑梗死的临床前和/或临床研究中进行了研究,但尚未应用于临床实践。因此,改善缺血区域脑血流量的策略研究仍然充满了挑战性。

2.5 血管生成

增强血管生成来重建侧枝循环也可能有利于急性脑梗死患者。各种药物治疗,包括磷酸二酯酶 5 型抑制剂西地那非^[56],血管内皮生长因子-a^[57],已被证明可以促进血管生成。然而,在急性脑梗死患者中进行的大型随机试验显示该类药物呈现阴性结果^[58]。这一研究的失败可能源于患者适应证选择不当,以及缺乏对侧枝血管和侧支血流干预措施影响的评估^[59]。此外,侧支循环增加可能导致出血性转化,在研究中应当对侧枝循环增加的并发症给予更多的关注^[60]。重新建立有效的以及支持使用抗血小板药物等预防策略的功能性侧支循环,而不仅仅是促进新血管形成,对于改善这一人群的预后具有至关重要的作用。

2.6 血管再通术后的出血性转化

出血转化是血管再通后最严重的并发症之一,将显著增加患者死亡率^[61]。在接受溶栓或血管内治疗的急性脑梗死患者中,约 10% ~ 40% 的患者可能出现出血性转化^[62],但目前临床尚缺乏有效干预措施。相较于脑组织,血管再通后出血转化在其他缺血组织,如缺血的心脏、肝脏和肾脏中却较为少见。究其原因,我们不难发现,脑血管和外周血管的血管成分(如周细胞、内皮细胞和平滑肌细胞)及其生物功能存在显著差异,血管受损可能是引起这一现象的罪魁祸首。毛细血管结构细胞缺血导致的血管通透性异常可使得血液通过血脑屏障进行外渗^[63]。经多类动物模型验证,多种因素,如活性氧^[64]、白细胞^[65],都可显著影响血脑屏障通透性。尽管针对这些因素的多种化合物在动物实验中被证实可以有效减少出血性转化^[66],但迄今为止,均未被成功转化。例如,在兔急性脑梗死模型中,NXY-059 显示出减少出血转化的前景^[67],但未在临床试验中证实其有效性。

3 结论

尽管在急性脑梗死患者中实现神经保护的途径极具挑战性,但血管内治疗技术的出现在显著提升闭塞动脉成功再通率的同时,也为向可挽救脑组织

有效运输神经保护剂成为了可能。由于急性脑梗死涉及到多个分子事件引起的脑组织损伤,单一的神 经保护靶点可能不会提供预期的治疗效果,而在成 功血运重建后立即给予患者多靶点神经保护剂(鸡 尾酒疗法)可能有望进一步提高患者的临床获益。 此外,应注意加强侧支循环,防止脑缺血后出现无复 流现象和出血性转化。

参考文献

- [1] Feigin VL, Forouzanfar MH, Krishnamurthi R, *et al.* Global and regional burden of stroke during 1990-2010; findings from the Global Burden of Disease Study 2010 [J]. *Lancet*, 2014, 383(9913): 245 - 254.
- [2] Lai TW, Zhang S, Wang YT. Excitotoxicity and stroke: identifying novel targets for neuroprotection [J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 115: 157 - 188.
- [3] Chamorro A, Dirnagl U, Urra X, *et al.* Neuroprotection in acute stroke: targeting excitotoxicity, oxidative and nitrosative stress, and inflammation [J]. *Lancet Neurol*, 2016, 15(8): 869 - 881.
- [4] O'Collins VE, Macleod MR, Donnan GA, *et al.* 1,026 experimental treatments in acute stroke [J]. *Ann Neurol*, 2006, 59(3): 467 - 477.
- [5] Cook DJ, Tymianski M. Translating promising preclinical neuroprotective therapies to human stroke trials [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2011, 9(4): 433 - 449.
- [6] Goyal M, Hill MD, Saver JL, *et al.* Challenges and Opportunities of Endovascular Stroke Therapy [J]. *Ann Neurol*, 2016, 79: 11 - 17.
- [7] 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(2): 185 - 199.
- [8] Sutherland BA, Minnerup J, Balami JS, *et al.* Neuroprotection for ischaemic stroke: translation from the bench to the bedside [J]. *Int J Stroke*, 2012, 7(5): 407 - 418.
- [9] Ginsberg MD. Neuroprotection for ischemic stroke: past, present and future [J]. *Neuropharmacology*, 2008, 55(3): 363 - 389.
- [10] Sacco RL, Chong JY, Prabhakaran S, *et al.* Experimental treatments for acute ischaemic stroke [J]. *Lancet*, 2007, 369(9558): 331 - 341.
- [11] Chen S, Chen Y, Xu L, *et al.* Venous system in acute brain injury: Mechanisms of pathophysiological change and function [J]. *Exp Neurol*, 2015, 272: 4 - 10.
- [12] Williams HE, Claybourn M, Green AR. Investigating the free radical trapping ability of NXY-059, S-PBN and PBN [J]. *Free Radic Res*, 2007, 41(9): 1047 - 1052.
- [13] Sydeserff SG, Borelli AR, Green AR, *et al.* Effect of NXY-059 on infarct volume after transient or permanent middle cerebral artery occlusion in the rat; studies on dose, plasma concentration and therapeutic time window [J]. *Br J Pharmacol*, 2002, 135(1): 103 - 112.
- [14] Marshall JW, Cummings RM, Bowes LJ, *et al.* Functional and histological evidence for the protective effect of NXY-059 in a primate model of stroke when given 4 hours after occlusion [J]. *Stroke*, 2003, 34(9): 2228 - 2233.
- [15] Shuaib A, Lees KR, Lyden P, *et al.* NXY-059 for the treatment of acute ischemic stroke [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(6): 562 - 571.
- [16] Wu S, Sena E, Egan K, *et al.* Edaravone improves functional and structural outcomes in animal models of focal cerebral ischemia: a systematic review [J]. *Int J Stroke*, 2014, 9(1): 101 - 106.
- [17] Hill MD, Goyal M, Menon BK, *et al.* Efficacy and safety of nerinetide for the treatment of acute ischaemic stroke (ESCAPE-NA1): a multicentre, double-blind, randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2020, 395: 878 - 887.
- [18] Xiong XY, Liu L, Yang QW. Functions and mechanisms of microglia/macrophages in neuroinflammation and neurogenesis after stroke [J]. *Prog Neurobiol*, 2016, 142: 23 - 44.
- [19] Iadecola C, Anrather J. The immunology of stroke: from mechanisms to translation [J]. *Nat Med*, 2011, 17(7): 796 - 808.
- [20] Fu Y, Zhang N, Ren L, *et al.* Impact of an immune modulator fingolimod on acute ischemic stroke [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(51): 18315 - 18320.
- [21] 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(12): 1104 - 1112.
- [22] Li J, Li Y, Ogle M, *et al.* DL-3-n-butylphthalide prevents neuronal cell death after focal cerebral ischemia in mice via the JNK pathway [J]. *Brain Res*, 2010, 1359: 216 - 226.
- [23] Chang Q, Wang XL. Effects of chiral 3-n-butylphthalide on apoptosis induced by transient focal cerebral ischemia in rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2003, 24(8): 796 - 804.
- [24] Zhang P, Guo ZF, Xu YM, *et al.* N-Butylphthalide (NBP) ameliorated cerebral ischemia reperfusion-induced brain injury via HGF-regulated TLR4/NF-kappaB signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 83: 658 - 666.
- [25] Liao SJ, Lin JW, Pei Z, *et al.* Enhanced angiogenesis with dl-3-n-butylphthalide treatment after focal cerebral ischemia in RHSP [J]. *Brain Res*, 2009, 1289: 69 - 78.
- [26] Peng Y, Xu S, Chen G, *et al.* 1-3-n-Butylphthalide improves cognitive impairment induced by chronic cerebral hypoperfusion in rats [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 321(3): 902 - 910.
- [27] Garcia-Bonilla L, Campos M, Giralto D, *et al.* Evidence for the efficacy of statins in animal stroke models: a meta-analysis [J]. *J Neurochem*, 2012, 122(2): 233 - 243.
- [28] Gutierrez-Fernandez M, Rodriguez-Frutos B, Fuentes B, *et al.* CDP-choline treatment induces brain plasticity markers expression in experimental animal stroke [J]. *Neurochem Int*, 2012, 60(3): 310 - 317.
- [29] Marei HE, Hasan A, Rizzi R, *et al.* Potential of Stem Cell-Based Therapy for Ischemic Stroke [J]. *Front Neurol*, 2018, 9: 34.
- [30] Stroke Therapy Academic Industry R. Recommendations for standards regarding preclinical neuroprotective and restorative drug development [J]. *Stroke*, 1999, 30(12): 2752 - 2758.
- [31] Green AR. Pharmacological approaches to acute ischaemic stroke: reperfusion certainly, neuroprotection possibly [J]. *Br J Pharmacol*, 2008, 153(S1): S325 - S338.
- [32] Zi W, Qiu Z, Wu D, *et al.* Assessment of Endovascular Treatment for Acute Basilar Artery Occlusion via a Nationwide Prospective Registry [J]. *JAMA Neurol*, 2020, 77(5): 561 - 573.
- [33] Saver JL, Goyal M, van der Lugt A, *et al.* Time to Treatment With Endovascular Thrombectomy and Outcomes From Ischemic Stroke: A Meta-analysis [J]. *JAMA*, 2016, 316(12): 1279 - 1288.
- [34] Henninger N, Fisher M. Extending the Time Window for Endovascular and Pharmacological Reperfusion [J]. *Transl Stroke Res*, 2016, 7(4): 284 - 293.

- [35] Ebinger M, Winter B, Wendt M, *et al.* Effect of the use of ambulance-based thrombolysis on time to thrombolysis in acute ischemic stroke; a randomized clinical trial [J]. *JAMA*, 2014, 311 (16): 1622 – 1631.
- [36] Saver JL, Starkman S, Eckstein M, *et al.* Prehospital use of magnesium sulfate as neuroprotection in acute stroke [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372 (6): 528 – 536.
- [37] Badhiwala JH, Nassiri F, Alhazzani W, *et al.* Endovascular Thrombectomy for Acute Ischemic Stroke: A Meta-analysis [J]. *JAMA*, 2015, 314 (17): 1832 – 1843.
- [38] Garber K. Stroke treatment—light at the end of the tunnel? [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25 (8): 838 – 840.
- [39] Ames A, Wright RL, Kowada M, *et al.* Cerebral ischemia [J]. *Am J Pathol*, 1968, 52 (2): 437 – 453.
- [40] Jickling GC, Liu D, Ander BP, *et al.* Targeting neutrophils in ischemic stroke: translational insights from experimental studies [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35 (6): 888 – 901.
- [41] Hall CN, Reynell C, Gesslein B, *et al.* Capillary pericytes regulate cerebral blood flow in health and disease [J]. *Nature*, 2014, 508 (7494): 55 – 60.
- [42] Massberg S, von Andrian UH. Fingolimod and sphingosine-1-phosphate-modifiers of lymphocyte migration [J]. *N Engl J Med*, 2006, 355 (11): 1088 – 1091.
- [43] Ostergaard L, Engedal TS, Aamand R, *et al.* Capillary transit time heterogeneity and flow-metabolism coupling after traumatic brain injury [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2014, 34 (10): 1585 – 1598.
- [44] Ribo M, Flores A, Rubiera M, *et al.* Extending the time window for endovascular procedures according to collateral pial circulation [J]. *Stroke*, 2011, 42 (12): 3465 – 3469.
- [45] Nogueira RG, Smith WS, Sung G, *et al.* Effect of time to reperfusion on clinical outcome of anterior circulation strokes treated with thrombectomy: pooled analysis of the MERCI and Multi MERCI trials [J]. *Stroke*, 2011, 42 (11): 3144 – 3149.
- [46] Galimanis A, Jung S, Mono ML, *et al.* Endovascular therapy of 623 patients with anterior circulation stroke [J]. *Stroke*, 2012, 43 (4): 1052 – 1057.
- [47] Leng X, Lan L, Liu L, *et al.* Good collateral circulation predicts favorable outcomes in intravenous thrombolysis: a systematic review and meta-analysis [J]. *Eur J Neurol*, 2016, 23 (12): 1738 – 1749.
- [48] Liebeskind DS, Tomsick TA, Foster LD, *et al.* Collaterals at angiography and outcomes in the Interventional Management of Stroke (IMS) III trial [J]. *Stroke*, 2014, 45 (3): 759 – 764.
- [49] Liu J, Wang Y, Akamatsu Y, *et al.* Vascular remodeling after ischemic stroke: mechanisms and therapeutic potentials [J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 115 (2): 138 – 156.
- [50] Ginsberg MD. Expanding the concept of neuroprotection for acute ischemic stroke: The pivotal roles of reperfusion and the collateral circulation [J]. *Prog Neurobiol*, 2016, 145 – 146: 46 – 77.
- [51] Olavarria VV, Arima H, Anderson CS, *et al.* Head position and cerebral blood flow velocity in acute ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2014, 37 (6): 401 – 408.
- [52] Defazio RA, Zhao W, Deng X, *et al.* Albumin therapy enhances collateral perfusion after laser-induced middle cerebral artery branch occlusion: a laser speckle contrast flow study [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2012, 32 (11): 2012 – 2022.
- [53] Shin HK, Dunn AK, Jones PB, *et al.* Normobaric hyperoxia improves cerebral blood flow and oxygenation, and inhibits peri-infarct depolarizations in experimental focal ischaemia [J]. *Brain*, 2007, 130 (6): 1631 – 1642.
- [54] Ma J, Ma Y, Dong B, *et al.* Prevention of the collapse of pial collaterals by remote ischemic preconditioning during acute ischemic stroke [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2017, 37 (8): 3001 – 3014.
- [55] Zhen X, Zheng Y, Hong X, *et al.* Physiological Ischemic Training Promotes Brain Collateral Formation and Improves Functions in Patients with Acute Cerebral Infarction [J]. *Front Neurol*, 2016, 7 (6): 235.
- [56] Silver B, McCarthy S, Lu M, *et al.* Sildenafil treatment of subacute ischemic stroke: a safety study at 25-mg daily for 2 weeks [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2009, 18 (5): 381 – 383.
- [57] Clayton JA, Chalothorn D, Faber JE. Vascular endothelial growth factor-A specifies formation of native collaterals and regulates collateral growth in ischemia [J]. *Circ Res*, 2008, 103 (9): 1027 – 1036.
- [58] Investigators ET. Efficacy of nitric oxide, with or without continuing antihypertensive treatment, for management of high blood pressure in acute stroke (ENOS): a partial-factorial randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2015, 385 (9968): 617 – 628.
- [59] Bang OY, Goyal M, Liebeskind DS. Collateral Circulation in Ischemic Stroke: Assessment Tools and Therapeutic Strategies [J]. *Stroke*, 2015, 46 (11): 3302 – 3309.
- [60] Lyden PD, Zivin JA. Hemorrhagic transformation after cerebral ischemia: mechanisms and incidence [J]. *Cerebrovasc Brain Metab Rev*, 1993, 5 (1): 1 – 16.
- [61] Khatri P, Wechsler LR, Broderick JP. Intracranial hemorrhage associated with revascularization therapies [J]. *Stroke*, 2007, 38 (2): 431 – 440.
- [62] Beslow LA, Smith SE, Vossough A, *et al.* Hemorrhagic transformation of childhood arterial ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2011, 42 (4): 941 – 946.
- [63] Alvarez-Sabin J, Maisterra O, Santamarina E, *et al.* Factors influencing haemorrhagic transformation in ischaemic stroke [J]. *Lancet Neurol*, 2013, 12 (7): 689 – 705.
- [64] Fraser PA. The role of free radical generation in increasing cerebrovascular permeability [J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 51 (5): 967 – 977.
- [65] Jickling GC, Ander BP, Stamova B, *et al.* RNA in blood is altered prior to hemorrhagic transformation in ischemic stroke [J]. *Ann Neurol*, 2013, 74 (2): 232 – 240.
- [66] Ishrat T, Soliman S, Guan W, *et al.* Vascular protection to increase the safety of tissue plasminogen activator for stroke [J]. *Curr Pharm Des*, 2012, 18 (25): 3677 – 3684.
- [67] 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 (6): 1665 – 1670.