



经颅超声辅助溶栓技术在缺血性脑卒中动物模型的应用

朱晓霞^{1,2}, 周琛云¹, 周洁宏¹, 唐琳^{1,2}, 周裕卿², 马朗², 罗燕¹, 阎锋^{1,2*}

(1. 四川大学华西医院超声科, 成都 610041; 2. 四川大学华西医院超声影像药物研究室, 成都 610041)

【摘要】 经颅超声辅助溶栓, 简称“超声溶栓”, 是一种使用超声技术辅助治疗缺血性脑卒中的方法, 可以促进血栓的溶解, 加快堵塞血管的再通, 提高溶栓成功率, 并且不增加症状性颅内出血等并发症的发生率。该溶栓技术进入临床试验已有十余年, 但尚未得到普遍的认可。一个重要的原因是对该方法的安全性和有效性缺乏系统、严谨的研究和评估。本文总结了近十多年来国内外使用缺血性脑卒中动物模型进行超声溶栓的研究, 并探讨了目前超声溶栓研究存在的一些问题及解决思路。

【关键词】 缺血性脑卒中; 超声溶栓; 动物模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2018) 06-0809-06

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2018.06.022

Application of transcranial ultrasound-assisted thrombolysis in animal models of ischemic stroke

ZHU Xiaoxia^{1,2}, ZHOU Chenyun¹, ZHOU Jiehong¹, TANG Lin^{1,2}, ZHOU Yuqing²,
MA Lang², LUO Yan¹, YAN Feng^{1,2*}

(1. Department of Ultrasound, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China.

2. Department of Laboratory of Ultrasound Imaging Drug, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041)

Corresponding author: YAN Feng. E-mail: 1421962585@qq.com

【Abstract】 Transcranial ultrasound-assisted thrombolysis, also called sonothrombolysis (STL), is a method of treatment using ultrasound to promote clot dissolution and accelerate recanalization of occluded vessels in the brain with ischemic stroke. It has been demonstrated that STL can enhance the rate of thrombolysis without increasing complications such as symptomatic intracranial hemorrhage. Sonothrombolysis has been used in clinical trials for more than a decade, but has yet to be widely accepted. One of the main reasons is the lack of systematic and rigorous assessment of the safety and effectiveness of this approach. In this review, we summarize STL studies performed in animal models of ischemic stroke reported during the last 10 years and highlight some current issues and potential solutions.

【Keywords】 ischemic cerebral stroke; sonothrombolysis; animal model

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

缺血性脑卒中是由大脑血管闭塞, 引起局部脑组织供血不足, 最终导致脑梗死、神经功能障碍的一种严重急症, 具有高发病率、高病死率、高致残

率、高复发率等特点^[1-3]。早期快速的溶栓治疗能够挽救患者生命, 恢复脑细胞的生理功能^[4-5]。重组组织型纤溶酶原激活剂 (rtPA) 是目前唯一被

【基金项目】 国家自然科学基金项目 (81571131, 51703141)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (81571131, 51703141).

【作者简介】 朱晓霞 (1985—), 女, 硕士研究生, 主要从事超声医学研究。Email: zxxia2005@163.com

【通信作者】 阎锋 (1958—), 男, 博士, 博士生导师, 主要从事超声造影药物研究。Email: 1421962585@qq.com

FDA 认证用于急性脑缺血溶栓治疗的静脉注射药物,但其较窄的治疗时间窗、出血性并发症一直是其临床应用的瓶颈^[6]。由于时间窗的限制(< 4.5 h),rtPA 的临床治疗的适用率在美国仅在 5% 左右。在中国,6 h 内静脉注射尿激酶(urokinase, UK)是治疗超早期脑卒中的主要溶栓方案^[7]。由于各种原因,我国卒中患者的溶栓率仅在 1.6% ~ 4%^[8]。因此,卒中治疗急需寻找一种及时、安全和有效的治疗方法或手段。

超声溶栓是一种采用物理手段辅助溶栓的方法。超声溶栓根据超声频率和强度的不同,分为低频高强度超声和高频低强度超声。低频高强度超声(< 1 MHz)的优点是颅脑的穿透性强,但缺点是易产生不稳定空化效应,导致脑内出血风险^[9]。目前国外的研究主要采用高频率(1 ~ 2 MHz)、低强度超声联合微泡来进行辅助溶栓^[10-14]。同时经颅超声溶栓根据溶栓过程中是否需要溶栓药物或微泡进行联合溶栓,又分为以下四种方法:超声波直接辐照血栓溶栓、超声联合溶栓药物溶栓、超声联合微泡溶栓、超声联合微泡及溶栓药物溶栓^[15]。

尽管超声溶栓已应用于临床试验以及卒中患者康复。但其安全性和有效性任未得到广泛认可。因此本文对经颅超声溶栓技术的作用机制以及在动物缺血性卒中模型近十余年来进行研究进行总结,希望为将来的动物实验和临床试验及应用提供参考。

1 超声溶栓原理

1.1 超声联合溶栓药物的溶栓机理

超声溶栓的主要原理为超声波在组织内传播时产生机械振动,增加溶栓药物向血栓内部的渗透及转运,增加药物与血栓的作用面积,增强溶栓药物与纤维蛋白的结合能力,辅助溶栓药物切断血栓纤维内的分子连接,从而加快纤维蛋白基质的降解,缩短血管再通时间,提高溶栓的成功率。超声辅助溶栓还可减少溶栓药物的使用剂量,进而降低溶栓药物导致的出血风险^[16-17]。

1.2 微泡增强溶栓的机理

微泡(microbubbles, MB)型超声造影剂(例如声诺维, SonoVue)是一种含有稳定惰性气核及磷脂外壳微米级气泡。其平均直径约 2 μm , 小于人体红细胞。微泡造影剂经静脉注射后可随血液循环到达人体各器官组织但不逸出于血管。当受到超声激

励时,微泡会随着声波周期性压力变化发生有规律的膨胀与收缩,在血液里形成稳定的空化核,可降低单独由超声波机械振动产生的空化效应的阈值(能量),增强溶栓药物对血栓的渗透和扩散作用从而避免了溶栓药物在体内半衰期短的问题,提高了药物的溶栓效果及安全性^[18]。

血栓靶向微泡是利用血栓形成时激活的血小板表面会表达高密度的血小板糖蛋白 GP II b/III a 受体,人为将其靶向配体(蛋白质、抗体、肽类等)连接到微泡表面,使微泡能识别 GP II b/III a 等血栓受体,从而能与血栓表面或内部靶点受体分子特异性结合并积聚,增强微泡与血栓之间的相互作用^[19]。因此采用具有特异性的靶向微泡可进一步增加超声溶栓的有效性。

2 经颅超声在缺血性脑卒中动物模型中的溶栓研究

2.1 超声联合尿激酶在缺血性脑卒中动物模型的应用

尿激酶静脉溶栓是我国治疗超早期脑梗死的主要方法之一^[7]。刘巍松等^[20]研究证明超声可增强尿激酶在新西兰白兔脑血栓的溶栓效果,促进血栓溶解,使缺血脑组织及时得到血流再灌注,从而保障神经系统功能缺损及时的恢复。毕建中等^[21]在研究超声辅助尿激酶治疗急性脑梗死大鼠的溶栓效果时,发现低频超声(频率 800 kHz、声强 1.2 W/cm², 占空比 1:5)加小剂量尿激酶组(1 万单位)辐照 30 min 后,大鼠神经系统功能较治疗前明显改善,与单独应用大剂量尿激酶的实验组无差异。实验表明超声不仅增强尿激酶溶栓作用,还可减少尿激酶用量,降低脑出血的风险。同时该实验发现超声对颅骨和脑组织无损伤。

2.2 超声联合 rtPA 在动物缺血性脑卒中模型的应用

Daffertshofer 等^[22]在大鼠自体血栓脑缺血模型中发现,与单独 rtPA 溶栓效果相比,超声(27.5 kHz, 0.6 W/cm², 20% DC)联合 rtPA 可明显减少脑梗死体积(26% vs. 11%),证明超声能增强 rtPA 溶栓效果。Saguchi 等^[17]在 Wistar 大鼠注射 rtPA 后用 US(490 kHz, 0.8 W/cm², MI 0.22)间断累计照射 32 min 后,发现与 rtPA 对照组相比,超声组的大鼠神经功能修复明显好于对照组($P = 0.008$),溶栓率增高($P = 0.041$),脑梗死体积也明显减少($P = 0.047$)。

3 经颅超声联合微泡在动物缺血性脑卒中模型的溶栓应用

3.1 经颅超声联合微泡在兔缺血性脑卒中模型的应用

Culp 等^[10]比较了 US 联合不同微泡(lipid MB、3 μm MB、tagged 3 μm MB)、US 联合 rtPA、rtPA 等 5 种治疗方案在自体血栓建立新西兰白兔缺血性脑卒中模型溶栓效果。结果, lipid MB + US、3 μm MB + US、tagged 3 μm MB + US 三组的 24 h 脑梗死体积显著小于空白对照(无药物或超声干预)组($1.0\% \pm 0.6\%$ 、 $0.7\% \pm 0.9\%$ 、 $0.8\% \pm 0.8\%$ vs $3.5\% \pm 0.8\%$, $P < 0.05$)。rtPA($2.2\% \pm 0.6\%$)与 rtPA + US 组的梗死体积($1.7\% \pm 0.8\%$)之间差异无显著性($P > 0.05$)。该实验证明超声联合微泡即便在不使用溶栓药物时,也可以有效地减小脑梗死体积,其有效性甚至略高于超声联合 rtPA 时的溶栓效果。Brown 与 Flores 等^[11, 23]在兔大脑中动脉血栓梗塞模型中,均证实超声联合微泡不仅可以减小梗死体积,还能够显著的降低脑梗死区外的出血。Liu 等^[19]比较了尿激酶和尿激酶联合超声微泡溶栓效果,结果尿激酶组溶栓效果差于尿激酶联合超声微泡组(再通率为 31.3%、梗死率为 13.9% vs. 再通率为 56.3%、梗死率为 9.1%)。HE 检查两组动物大脑均未发现脑出血,证实尿激酶联合超声微泡溶栓的有效性和安全性。

Ren 等^[24]发现兔自体血栓卒中模型梗塞 6 h 后低频超声(PW 0.8 MHz, 2.787 W/cm², 20% DC, 30 min)联合动脉注射微泡溶栓效果好于静脉注射。Wang 等^[25]将血栓靶向微泡分别通过静脉或动脉途径注入兔自体血栓模型,并用低频超声(800 kHz, 2.4 w/cm², pulse-wave)进行辐照溶栓,发现靶向微泡在两种途径下的超声溶栓效果均好于非靶向微泡。

3.2 经颅超声联合微泡在猪缺血性脑卒中模型的应用

Culp 等^[12]用 1 MHz 脉冲波联合人体白蛋白氟碳微泡辐照自体血栓建立的猪脑缺血模型,发现血栓溶解度及血流速度显著高于生理盐水对照组。此后 Culp 等^[13]采用靶向血栓拮抗药物依替巴肽制备的微泡联合低频超声(1 MHz, 2.0 W/cm²)对猪自体血脑缺血模型行超声溶栓。结果表明,靶向微泡联合超声组溶栓效果显著好于依替巴肽对照组及生理盐水对照组($P = 0.007$, $P = 0.02$)。由此可

见在没有溶栓药物的作用下,低频超声联合靶向微泡也可以对猪脑缺血模型进行有效的溶栓。

3.3 经颅超声联合微泡在大鼠缺血性脑卒中模型的应用

临床研究报告表明,与血管再通相比,再灌注的好坏是一个更好的预测急性缺血性卒中临床预后的重要指标^[26-27]。Schleicher 等^[28]比较了无药物及超声干预的空白对照组、rtPA 组、rtPA 联合超声微泡组对大鼠大脑中动脉梗塞 1.5 h 模型溶栓效果,结果发现 rtPA 联合超声微泡不仅能促进大血管的完全再通,还能促进微循环的改善,为脑缺血再通后持续低灌注患者提供新的治疗方案。同时 HE 染色发现 rtPA + 超声 + BR38 微泡组脑梗死体积明显小于空白对照组($P = 0.044$)。同时 Lu 等^[29]用自体血制备的 70 μm 和 100 μm 的富含红细胞(或血小板)的微栓子,经右侧颈动脉注射 24 h 后,大鼠形成大脑皮质层(小部分皮质下区域)梗死灶,结果发现超声联合微泡(US + MB)和超声微泡联合 rtPA(US + MB + rtPA)的梗死体积和神经评分显著小于对照组($P < 0.01$)。由此证明微泡介导的超声溶栓能够溶解富含红细胞(或血小板)的微血栓,促进闭塞微血管再通,减轻脑损伤。

4 总结

本文对近十余年来的动物缺血性卒中模型研究进行总结,发现已报道的临床前动物经颅超声溶栓研究主要在大鼠(Wistar, SD),新西兰白兔体内研究较多。在大鼠自体血超声溶栓的研究中,绝大多数动物研究都是从颈外动脉注入血栓到大脑中动脉。在新西兰白兔中,大多数是从颈内动脉注入。但对各研究进行比较时,发现每个研究不仅实验条件、实验参数不同,而且最后溶栓效果参数也不相同,各项研究很难进行溶栓效果相互比较。因此,超声溶栓还存在以下几个问题需要更加系统、深入和严谨的研究和解决:

4.1 优化超声溶栓的参数和条件

体外实验证明在不同参数的超声作用下,微泡浓度和体积会发生变化,可能也会影响溶栓的效果^[30]。Auboire 等^[31]对国外超声溶栓的动物研究进行总结,发现各研究使用的超声参数以及评价方法相差很大,缺乏一致性,与本文总结国内外研究结论相同。同时虽然动物实验证明超声辅助溶栓有效且并未增加出血风险,但在临床应用中却得到

相反的结果。这可能与动物卒中模型和临床患者之间存在较大差别相关^[32]。例如颅内出血是急性缺血性脑卒中 rtPA 溶栓过程中一个严重的并发症^[23]。Stroick 等^[14]在大鼠脑出血模型的研究中证实 SonoVue 微泡联合诊断超声是不会增加颅内出血。但 Daffertshofer 等^[9]在 300 KHz 低频超声联合 rtPA 溶栓 II 期临床实验中,超声 + rtPA 组出血率 (13/14) 远高于 rtPA 组 (5/12)。其可能的原因之一是超声波在人脑颅骨内传播是能产生驻波,其峰值的叠加可能导致超声溶栓时出血风险。因此,Baron 等^[33]认为通过模拟计算来设计和优化超声溶栓参数,避免生成驻波在缺血性卒中治疗方案中是非常重要的。综上所述还需要对超声参数和条件进行摸索。

4.2 血栓类型

脑卒中临床治疗的难点之一是个体差异性很大,不仅体现在患者的时间窗不同,脑血管及脑组织的异质性,侧枝循环的功能差异,还存于梗死血管的血栓来源及组成成份的不同导致目前临床 rtPA 溶栓效果存在差异^[34]。相比红色血栓,白色血栓要更为致密,并随着血栓凝龄的增加其内部血小板固缩导致血栓结构更为紧密,将更难被溶栓剂或超声微泡所溶解。基于此,Lu^[29]比较了大鼠自体白色血栓和红色血栓经颅超声溶栓效果,发现在白色栓子组中超声 + 微泡组与超声 + 微泡 + rtPA 组梗死体积和神经评分均显著小于 rtPA 组 ($P < 0.05$);而在红色栓子治疗组中,rtPA 组与超声 + 微泡组的梗死体积和神经评分基本相同,超声 + 微泡 + rtPA 组梗死体积和神经评分显著小于 rtPA 组 ($P < 0.05$)。上述结果说明超声溶栓的效率与血栓类型相关。目前在大多数临床前动物溶栓模型中,制备同类血栓的方法差异也很大,因此很难对不同研究溶栓效果进行比较^[5, 35]。

4.3 靶向微泡在超声溶栓中的研发

目前还没有临床卒中治疗专用溶栓特异性的微泡,临床所使用的微泡均为诊断用的微泡。Wang 等^[25]用血栓靶向微泡进行溶栓时发现,无论是经动脉或静脉注射的靶向微泡,其超声溶栓效果均好于非靶向微泡。但 Culp 等^[10]用全氟丙烷脂质微泡 (Definity)、白蛋白微泡、含有依替巴肽 (糖蛋白 2b3a 抑制剂) 及人体 D 二聚体纤维蛋白降解产物单克隆抗体的靶向白蛋白微泡三种不同类型的微泡联合超声进行超声溶栓,发现靶向白蛋白微泡并没

有表现出更高的溶栓效率。因此,靶向微泡可为携带溶栓药物或基因针对病变部位进行靶向治疗,有待大规模动物模型研究。

4.4 超声溶栓是否会开放血脑屏障

研究表明超声联合微泡能打开血脑屏障,可用于大分子药物的传递^[36]。然而在缺血性卒中治疗中,超声溶栓可能会导致血脑屏障破坏和颅内出血性转化的机率增加^[37-38]。因此,优化超声参数、溶栓药物以及微泡的剂量,探索减轻溶栓并发症以及延长溶栓治疗时间窗对超声溶栓的临床转化具有重要的意义。

4.5 不同脑缺血部位超声溶栓结果不同

2004 年, Alexandrov 等^[39]用 2 MHz 超声联合 rtPA 的方法,对 64 位大脑中动脉闭塞患者行经颅超声溶栓治疗。结果发现经颅超声溶栓治疗后 2 h,治疗组中动脉完全再通和临床恢复率显著高于对照组 ($P = 0.02$)。但治疗后 24 h 及 3 个月后再进行检测时,治疗组临床恢复率与对照组相比差异无显著性 ($P > 0.05$)。这一结果表明 2 MHz 超声虽然能加快大脑中动脉的完全再通,却并没有显著地改善大脑中动脉闭塞患者的临床预后。而同年, Alexandrov 等^[40]在一个多中心随机临床研究 (Clotbust Trial) 的 1 期结果显示,对大脑前动脉闭塞的 56 位患者采用同样的 2 MHz 诊断用超声波持续监测,显示在梗塞后 24 h 行超声联合 rtPA 溶栓治疗是安全有效的。鉴于目前多数超声溶栓临床前研究仅限于大脑中动脉梗塞模型,我们还需研究不同部位血栓模型。

4.6 超声溶栓是否存在时间窗

目前动物经颅超声溶栓研究中,通常是在建模后即刻溶栓,因此血管再通后的出血风险或再灌注损伤较小。但需要指出的是,缺血时间的长短与脑损伤的程度有着极大的关系^[41]。在临床,溶栓药物 rtPA 与尿激酶的使用均有严格的治疗时间窗。因此,我们认为超声溶栓的研究除了考虑实验参数及方案,还应该考虑建模后梗塞的时间即超声溶栓是否存在时间窗的问题。

综上所述,动物经颅超声溶栓技术无论是在动物模型的构建还是血栓的制备,超声参数的标准化,溶栓效果和安全性评估都需要大量的临床前研究。只有全面、系统的研究,获取详实的实验数据,把握超声溶栓的各种机理,才可能最终使超声溶栓从动物模型走向临床应用。

参 考 文 献 (References)

- [1] 宋映周, 孙琳琳, 任贞贞, 等. 电针对脑缺血/再灌注模型大鼠双侧脑区 IL-1 β /ICAM-1 表达的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2015, (3): 278–284.
Song YZ, Sun LL, Ren YZ, et al. IL-1 β and ICAM-1 in bilateral brain tissues of rats with cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2015, (3): 278–284.
- [2] 闫峰, 左玮, 罗玉敏. 小鼠局灶性脑中风模型研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(2): 50–53.
Yan F, Zuo W, Luo YM. Research progress of mouse models of focal cerebral stroke [J]. Chin J Comp Med, 2015, 25(2): 50–53.
- [3] 高志, 赵海苹, 罗玉敏, 等. 小鼠脑缺血神经功能障碍行为学评价的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(11): 68–72.
Gao Z, Zhao HP, Luo YM, et al. The behavioral testing in mice after cerebral ischemia [J]. Chin J Comp Med, 2012, 22(11): 68–72.
- [4] Meairs S. Sonothrombolysis [J]. Front Neurol Neurosci, 2015, 36:83–93.
- [5] Tomkins AJ, Schleicher N, Murtha L, et al. Platelet rich clots are resistant to lysis by thrombolytic therapy in a rat model of embolic stroke [J]. Exp Transl Stroke Med, 2015, 7:2.
- [6] Yu S, Liu X, Shen Y, et al. Therapeutic benefits of combined treatment with tissue plasminogen activator and 2-(4-methoxyphenyl) ethyl-2-acetamido-2-deoxy- β -D-pyranoside in an animal model of ischemic stroke [J]. Neuroscience, 2016, 327: 44–52.
- [7] Chen C, Li T, Zhao Y. Platelet glycoprotein receptor 1b blockade ameliorates experimental cerebral ischemia-reperfusion injury by strengthening the blood-brain barrier function and anti-thrombo-inflammatory property [J]. Brain Behav Immun, 2018, 69:255–263.
- [8] Jin H, Zhu S, Wei JW, et al. Factors associated with prehospital delays in the presentation of acute stroke in urban China [J]. Stroke, 2012, 43(2): 362–370.
- [9] Daffertshofer M, Gass A, Ringleb P, et al. Transcranial low-frequency ultrasound-mediated thrombolysis in brain ischemia: increased risk of hemorrhage with combined ultrasound and tissue plasminogen activator: results of a phase II clinical trial [J]. Stroke, 2005, 36(7):1441–1446.
- [10] Culp WC, Flores R, Brown AT, et al. Successful microbubble sonothrombolysis without tissue-type plasminogen activator in a rabbit model of acute ischemic stroke [J]. Stroke, 2011, 42(8):2280–2285.
- [11] Brown AT, Flores R, Hamilton E, et al. Microbubbles improve sonothrombolysis in vitro and decrease hemorrhage in vivo in a rabbit stroke model [J]. Invest Radiol, 2011, 46(3): 202–207.
- [12] Culp WC, Erdem E, Roberson PK, et al. Microbubble potentiated ultrasound as a method of stroke therapy in a pig model: preliminary findings [J]. J Vasc Interv Radiol, 2003, 14(11): 1433–1436.
- [13] Culp WC, Porter TR, Lowery J, et al. Intracranial clot lysis with intravenous microbubbles and transcranial ultrasound in swine [J]. Stroke, 2004, 35(10): 2407–2411.
- [14] Stroick M, Alonso A, Fatar M, et al. Effects of simultaneous application of ultrasound and microbubbles on intracerebral hemorrhage in an animal model [J]. Ultrasound Med Biol, 2006, 32(9):1377–1382.
- [15] Petit B, Yan F, Tranquart F, et al. Microbubbles and ultrasound-mediated thrombolysis: a review of recent in vitro studies [J]. J Drug Deliv Sci Tec, 2012, 22(5):381–392.
- [16] Bader KB, Bouchoux G, Holland CK. Sonothrombolysis [J]. Adv Exp Med Biol, 2016, 880:339–62.
- [17] Saguchi T, Onoue H, Urashima M, et al. Effective and safe conditions of low-frequency transcranial ultrasonic thrombolysis for acute ischemic stroke: neurologic and histologic evaluation in a rat middle cerebral artery stroke model [J]. Stroke, 2008, 39(3): 1007–1011.
- [18] Petit B, Bohren Y, Gaud E, et al. Sonothrombolysis: the contribution of stable and inertial cavitation to clot lysis [J]. Ultrasound Med Biol, 2015, 41(5): 1402–1410.
- [19] Liu WS, Huang ZZ, Wang XW, et al. Effects of microbubbles on transcranial Doppler ultrasound-assisted intracranial urokinase thrombolysis [J]. Thromb Res, 2012, 130(3):547–551.
- [20] 刘巍松, 张黎明, 李国霖. 经颅多普勒超声辅助尿激酶溶栓的实验研究 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2007, 24(01): 44–46.
Liu WS, Zhang LM, Li GL. 2MHz ultrasound enhanced thrombolysis in occlusion of the middle cerebral artery of rabbits during urokinase infusion [J]. J Apopl Nerv Dis, 2007, 24(01): 44–46.
- [21] 毕建忠, 杨红霞, 谢兆宏, 等. 超声助溶治疗大鼠急性脑梗死 [J]. 中华物理医学与康复杂志, 2006, 28(12): 793–795.
Bi JZ, Yang HX, Xie ZH, et al. The therapeutic effects of low frequency ultrasound enhanced thrombolysis on acute cerebral infarction in rats [J]. Chin J Phys Med Rehabil, 2006, 28(12): 793–795.
- [22] Daffertshofer M, Fatar M. Therapeutic ultrasound in ischemic stroke treatment: experimental evidence [J]. Eur J Ultrasound, 2002, 16(1–2):121–30.
- [23] Flores R, Hennings LJ, Lowery JD, et al. Microbubble-augmented ultrasound sonothrombolysis decreases intracranial hemorrhage in a rabbit model of acute ischemic stroke [J]. Invest Radiol, 2011, 46(7):419–24.
- [24] Ren ST, Long LH, Wang M, et al. Thrombolytic effects of a combined therapy with targeted microbubbles and ultrasound in a 6 h cerebral thrombosis rabbit model [J]. J Thromb Thrombolysis, 2012, 33(1):74–81.
- [25] Wang B, Wang L, Zhou XB, et al. Thrombolysis effect of a novel targeted microbubble with low-frequency ultrasound in vivo

- [J]. *Thromb Haemost*, 2008, 100(2): 356–361.
- [26] Eilaghi A, Brooks J, d' Esterre C, et al. Reperfusion is a stronger predictor of good clinical outcome than recanalization in ischemic stroke [J]. *Radiology*, 2013, 269(1): 240–248.
- [27] Cho TH, Nighoghossian N, Mikkelsen IK, et al. Reperfusion within 6 hours outperforms recanalization in predicting penumbra salvage, lesion growth, final infarct, and clinical outcome [J]. *Stroke*, 2015, 46(6): 1582–1589.
- [28] Schleicher N, Tomkins AJ, Kampschulte M, et al. Sonothrombolysis with BR38 microbubbles improves microvascular patency in a rat model of stroke [J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0152898.
- [29] Lu Y, Wang J, Huang R, et al. Microbubble-mediated sonothrombolysis improves outcome after thrombotic microembolism-induced acute ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2016, 47(5): 1344–1353.
- [30] 高原, 郭梦娇, 高文宏, 等. 不同声学参数对血栓内微泡介导的超声辅助溶栓效果的影响 [J]. *中国医学影像技术*, 2015, 31(12): 1783–1786.
- Gao Y, Guo MJ, Gao WH, et al. Influence of acoustic parameters changes on sonothrombolysis effect mediated by transcatheter injection of microbubble [J]. *Chin J Med Imaging Technol*, 2015, 31(12): 1783–1786.
- [31] Auboire L, Sennoga CA, Hyvelin JM, et al. Microbubbles combined with ultrasound therapy in ischemic stroke: A systematic review of in-vivo preclinical studies [J]. *PLoS One*, 2018, 13(2): e0191788.
- [32] Sommer CJ. Ischemic stroke: experimental models and reality [J]. *Acta Neuropathol*, 2017, 133(2): 245–261.
- [33] Baron C, Aubry JF, Tanter M, et al. Simulation of intracranial acoustic fields in clinical trials of sonothrombolysis [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2009, 35(7): 1148–1158.
- [34] Marder VJ, Chute DJ, Starkman S, et al. Analysis of thrombi retrieved from cerebral arteries of patients with acute ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2006, 37(8): 2086–2093.
- [35] Roessler FC, Ohlrich M, Marxsen JH, et al. The platelet-rich plasma clot: a standardized in-vitro clot formation protocol for investigations of sonothrombolysis under physiological flows [J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2011, 22(5): 407–415.
- [36] Meairs S. Facilitation of drug transport across the blood-brain barrier with ultrasound and microbubbles [J]. *Pharmaceutics*, 2015, 7(3): 275–293.
- [37] Bing C, Ladouceur-Wodzak M, Wanner CR, et al. Trans-cranial opening of the blood-brain barrier in targeted regions using a stereotaxic brain atlas and focused ultrasound energy [J]. *J Ther Ultrasound*, 2014, 4, 2: 13.
- [38] Fan CH, Liu HL, Huang CY, et al. Detection of intracerebral hemorrhage and transient blood-supply shortage in focused-ultrasound-induced blood-brain barrier disruption by ultrasound imaging [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2012, 38(8): 1372–1382.
- [39] Alexandrov AV, Molina CA, Grotta JC, et al. Ultrasound-enhanced systemic thrombolysis for acute ischemic stroke [J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(21): 2170–2178.
- [40] Alexandrov AV, Demchuk AM, Burgin WS, et al. Ultrasound-enhanced thrombolysis for acute ischemic stroke: phase I. Findings of the CLOTBUST trial [J]. *J Neuroimaging*, 2004, 14(2): 113–117.
- [41] 刘建勋, 林咸明. 不同时程电针预处理对脑缺血大鼠血脑屏障功能的保护效应 [J]. *上海针灸杂志*, 2014, (12): 1169–1172.
- Liu JX, Lin XM. Protecting effects of different time-course electroacupuncture pretreatments on blood-brain barrier function in cerebral ischemia rats [J]. *Shanghai J Acup Moxib*, 2014, (12): 1169–1172.

[收稿日期] 2018-04-18